



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

TÍTULO: UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS DE IMAGEN MUSCULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE UN GRUPO DE MIOPATÍAS CON DEBILIDAD AXIAL.

DOCTORANDO: AÍDA ALEJALDRE MONFORTE

DIRECTORES DE TESIS:

ISABEL ILLA SENDRA

JORDI DÍAZ MANERA

EDUARD GALLARDO VIGO.

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona

2016

A CANDELA Y LORIÉN

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN.....	pag 9
1.1 Miopatías hereditarias.....	pag 9
1.1.1 Clasificación.....	pag 9
1.1.2 Clínica.....	pag 13
1.1.3 Diagnóstico.....	pag 17
1.2 Enfermedad de Pompe.....	pag 25
1.2.1 Enfermedad de Pompe forma infantil clásica.....	pag 26
1.2.2 Enfermedad de Pompe forma infantil no clásica.....	pag 26
1.2.3 Enfermedad de Pompe de inicio tardío.....	pag 27
1.2.4 Diagnóstico.....	pag 31
1.2.5 Tratamiento.....	pag 36
1.3 Miopatías producidas por mutación en el gen <i>LMNA</i> y <i>EMD</i>	pag 38
1.3.1 Otras enfermedades producidas por mutaciones en el gen <i>EMD</i>	pag 42
1.3.2 Otras enfermedades producidas por mutaciones en el gen <i>LMNA</i>	pag 42
1.4 Radiología y músculo esquelético.....	pag 45
1.4.1 Tomografía computerizada muscular.....	pag 47
1.4.2 Resonancia magnética muscular.....	pag 56

2. HIPÓTESIS.....	pag 77
3. OBJETIVOS.....	pag 77
3.1 Objetivo 1.....	pag 78
3.2 Objetivo 2.....	pag 78
4. RESULTADOS O PUBLICACIONES ORIGINALES.....	pag 79
4.1 “ <i>Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients</i> ”.....	pag 79
4.2 “ <i>Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.</i> ”.....	pag 89
5. SÍNTESIS DE LOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	pag 105
5.1. Resultados “ <i>Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients</i> ”	pag 105
5.2. Discusión “ <i>Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients</i> ”	pag 108
5.3. Resultados. “ <i>Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.</i> ”.....	pag 109
5.4 Discusión. “ <i>Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.</i> ”.....	pag 114
6. DISCUSIÓN GENERAL.....	pag 117
7. CONCLUSIONES.....	pag 125
8. ANEXO.....	pag 129
9. BIBLIOGRAFÍA.....	pag 149

Abreviaturas:

AGA (α -Glucosidasa ácida)
ALT (Alanina Aminotransferasa)
AST (Aspartato Aminotransferasa)
BM (biopsia muscular)
CK (Creatin Kinasa)
CMD1A (Miocardiopatía dilatada con defectos en la conducción cardíaca)
CMD 1S (Miocardiopatía familiar dilatada)
CMH1 (Miocardiopatía familiar hipertrófica)
COX(tinción Citocromo oxidasa)
DM1 (Distrofia Miotónica tipo 1)
DOF (Distrofia Oculofaríngea)
ECG (electrocardiograma)
ECM (Esternocleidomastoideo)
EDMD (Distrofia muscular Emery-Dreifuss)
EP (Enfermedad de Pompe)
EPIT (Enfermedad de Pompe de inicio tardío)
ERT (terapia sustitutiva enzimática con AGA recombinante)
FSHD (Distrofia Facio Escapulo Humeral)
Glc4 (Glucosa Tetrasacárido)
GGT (Gamma Glutamil Transpeptidasa)
HE (Hematoxilina Eosina)
HSS-S (*The heart–hand syndrome of the Slovenian type*)
LDH (Lactato Deshidrogenasa)
LGMDs (*Limb girdle muscular dystrophies*)
MYHC (*Myosin heavy chain*)
MYH7 (*Myosin heavy chain 7*)
RMN (Resonancia magnética nuclear)
SDH (Succinil Deshidrogenasa)
TC (Tomografía computerizada)
TE (Tiempo de eco)

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Miopatías hereditarias:

Las miopatías son enfermedades que afectan al músculo esquelético. Dichas enfermedades pueden ser clasificadas según diferentes variables. Una clasificación aceptada es según si son de etiología adquirida o de etiología hereditaria. Las miopatías hereditarias son enfermedades poco prevalentes y heterogéneas que pueden ser heredadas de forma autosómica dominante, recesiva o ligada al X (1;2;3). En general, en las miopatías hereditarias, las mutaciones en un gen determinado provocan la disfunción de una proteína o enzima necesarias para el funcionamiento, metabolismo o arquitectura del músculo provocando una disfunción y en ocasiones una destrucción progresiva del mismo (4;5)

1.1.1 Clasificación:

Las miopatías hereditarias se pueden clasificar en:

- **Distrofias Musculares:** producidas por disfunción de proteínas localizadas en la matriz extracelular, el sarcolema, el citoplasma o en la membrana nuclear, provocando una destrucción progresiva muscular (Figura 1). En la mayoría de los casos se manifiesta como una debilidad muscular progresiva, que se puede iniciar en cualquier momento de la vida desde el nacimiento (distrofias musculares congénitas) hasta la vejez (3;4;6). Son un grupo heterogéneo de miopatías que tiene presentaciones clínicas diferentes, entre ellas se incluyen las llamadas *Limb girdle muscle dystrophies* (LGMDs) o distrofias de cinturas. La distrofia muscular se define por un patrón característico anatomo-patológico en la biopsia muscular en la que se encuentra un incremento de la variabilidad del tamaño de las fibras musculares con presencia de núcleos internalizados, fibras partidas y fibras regenerantes, con aumento endomisial y perimisial del tejido conectivo y adiposo

(Figura 2). Dentro de estas miopatías se incluyen la Distrofia muscular Emery-Dreifuss (EDMD) que son miopatías en las que se centra la presente tesis. (7).

- **Miopatías congénitas:** Son miopatías que se producen por mutación de algún gen, que de forma característica puede dar lugar a diferentes fenotipos o patologías musculares, incluso tratándose de la misma mutación. Por otro lado una misma miopatía congénita puede estar causada por mutaciones en diferentes genes. Estas miopatías cursan con hipotonía y debilidad muscular estática o muy lentamente progresiva de inicio en el nacimiento o en los primeros meses de vida. Algunos pacientes tienen otras características clínicas como son la espina rígida y contracturas articulares. Una de las clasificaciones más aceptadas de las miopatías congénitas es según los rasgos histológicos en la biopsia muscular: (5;8)
 - Miopatía nemalínica: Miopatía en la que se puede observar unas estructuras generalmente citoplasmáticas en forma de bastón llamadas *rods* (bastones). En la enfermedad producida por mutaciones en el gen ACTA1 los *rods* se pueden localizar en el núcleo.
 - Miopatías Core: Se incluyen la miopatía central core y la multi-minicore. En estas miopatías se observan áreas desprovistas de mitocondrias en el centro o en la periferia de la fibra muscular. Reciben el nombre de *core* (Figura 3) o *minicore* según el número y tamaño de los mismos. Pueden estar producidas por mutaciones en los genes *SEPN1*, *RYR 1* y *MEGF10*.
 - Miopatía centronuclear: Como su nombre indica, viene definida por la disposición central de los núcleos en la fibra muscular (Figura 3). En tinciones de enzimas oxidativas estos núcleos son oscuros con un halo pálido alrededor.

Puede estar producida por mutaciones en los genes *DNM2*, *BIN1*, *RYR1*, *TTN* y *SPEG*.

- Miopatía por cuerpos hialinos: Se caracteriza por presentar en la histología áreas focales de aspecto granular, positivas en la tinción de ATPasa y de *Slow Myosin*. Se produce por mutaciones en el gen *MYH7* y otros genes hasta la fecha desconocidos.
- Miopatía congénita por desproporción de fibras: Se define como una miopatía congénita en la que en la biopsia muscular se encuentra un diámetro de las fibras tipo 1 entre un 35-40% menor que el diámetro de las fibras tipo 2. Se produce por mutaciones en los genes *ACTA1*, *SEPN1*, *TPM3*, *RYR1* y *MYH7*.
- **Miotonías y Canalopatías:** La miotonía se define como la existencia de dificultad de la relajación muscular siendo necesario el ejercicio o los movimientos repetidos para poder producir la relajación de las fibras musculares. Existe otro fenómeno que es la miotonía paradójica o la paramiotonía que, al contrario que la miotonía, esta se exagera con el ejercicio y con el frío. Estos pacientes pueden tener otros síntomas o signos asociados como debilidad muscular permanente o fluctuante, rigidez y/o hipertrofia muscular. Esta clase de miopatías se deben a mutaciones en genes que codifican los canales de sodio y cloro. La biopsia muscular puede mostrar variabilidad del tamaño de las fibras y núcleos centrales. (9;10;11;12;13)
- **Miopatías metabólicas:** Se producen por disfunción de alguno de los pasos del metabolismo del glucógeno o de los ácidos grasos, dando lugar a una alteración en el ciclo de Krebs y en la cadena respiratoria mitocondrial (Figura 4). La edad de inicio puede ser desde el nacimiento donde se puede encontrar un bebé hipotónico

y con retraso en el desarrollo motor, hasta la edad adulta donde los síntomas pueden presentarse de forma aguda, recurrente y en

muchas ocasiones reversible con clínica de intolerancia al ejercicio, mialgias, calambres musculares y/o mioglobulinuria. También pueden cursar con debilidad muscular fija y en ocasiones progresiva. En la biopsia muscular se puede observar desproporción del tipo de fibras, atrofia, hipertrofia, necrosis o fibras regenerantes, vacuolas o la presencia de materiales de depósito como lípidos o glucógeno, incluso fibras rojo rotas indicando un defecto en la cadena respiratoria mitocondrial. Dentro de estas miopatías se incluye la Enfermedad de Pompe (EP) o Glucogenosis tipo II, es una de las miopatías en la cual se centra la presente tesis (Figura 3). (14;15;16;17)

- **Miopatías mitocondriales:** Se producen por mutaciones en el DNA mitocondrial o en el DNA nuclear codificante de componentes que conformen la mitocondria, dando lugar a un fallo en su función de generación de energía y provocando un aumento de producción de radicales libres dando lugar a una enfermedad que en muchas ocasiones es multisistémica. La miopatía mitocondrial suele cursar con síntomas como intolerancia al ejercicio y fatiga con debilidad muscular asociada que puede afectar de forma selectiva o generalizada a diferentes grupos musculares como puede ser la musculatura extraocular, la bulbar, la axial y/o la musculatura de extremidades. En la biopsia muscular el rasgo más característico es encontrar signos de disfunción mitocondrial como fibras rojo rotas en la tinción de Triocrómico de Gomori y fibras que no se tiñen con la reacción de Citocromo c Oxidasa. En general más de un 2% de fibras rojo rotas en adultos es criterio diagnóstico de miopatía mitocondrial, pero estas se pueden observar en otros tipos de patología neuromuscular y además pueden no encontrarse en la biopsia muscular de niños con miopatías mitocondriales (Figura 3). (18;19;20;21).

1.1.2 Clínica:

La debilidad muscular progresiva es el síntoma común de la mayoría de las miopatías hereditarias. La debilidad afecta a diferentes áreas musculares de forma que, dependiendo de la preferencia de afectación muscular, dan lugar a debilidad de la musculatura proximal de las extremidades, de las cinturas escapular y pelviana, debilidad axial, debilidad de la musculatura distal, debilidad facial y/o combinaciones de los diferentes grupos musculares afectados (Figura 5).

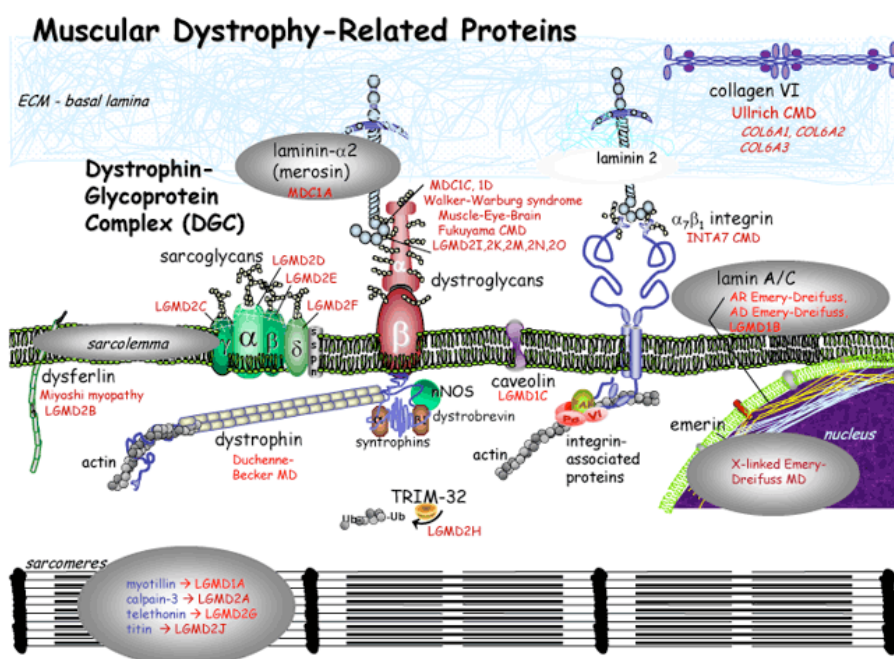


Figura 1. Organización molecular de la fibra muscular. La ausencia o disfunción de alguna de estas proteínas dan lugar a una determinada distrofia muscular. (Steven A. Moore, MD, PhD; www.healthcare.uiowa.edu)

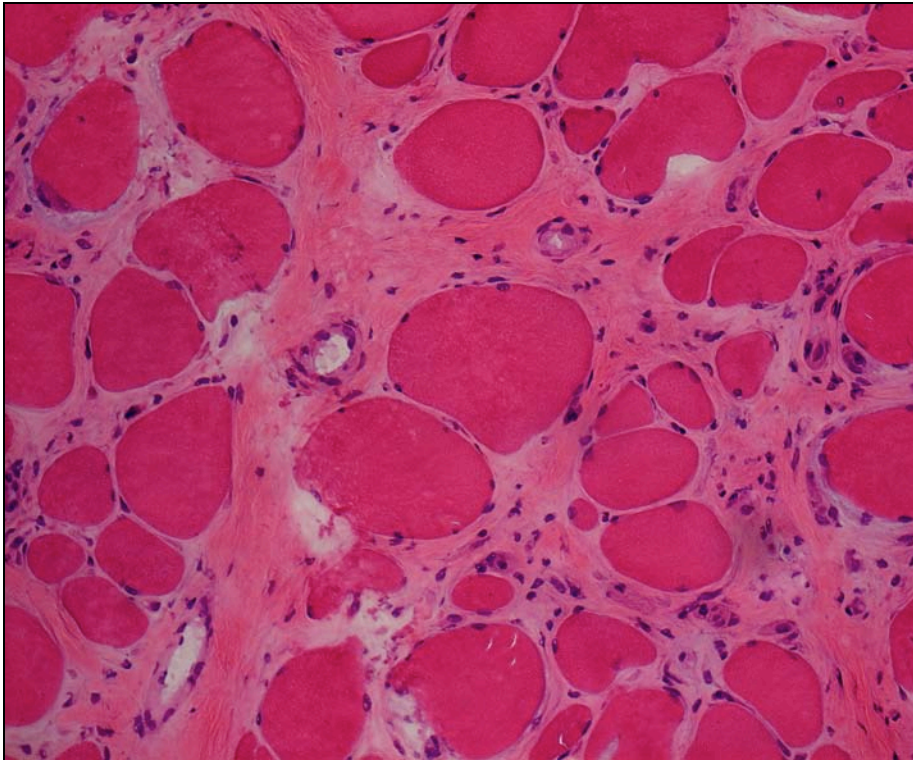


Figura 2. Corte de biopsia muscular abierta con tinción de Hematoxilina Eosina. Se puede observar las características del denominado patrón distrófico.

Definir la distribución de la debilidad muscular es el primer paso hacia el diagnóstico preciso de cada una de las miopatías. La presente tesis se centra en miopatías que presentan debilidad de la musculatura proximal y axial. Las miopatías que cursan con debilidad de la musculatura axial suponen un reto diagnóstico puesto que la identificación de esta debilidad en la práctica clínica es difícil y es preciso de otras pruebas complementarias para la identificación de patología muscular a este nivel. Además cada vez se están conociendo más miopatías que cursan con este tipo de debilidad, por lo que es importante tener en cuenta y conocer bien esta distribución de la debilidad para poder llegar al diagnóstico de la miopatía en concreto.(22;23;24;25;26;27;28;29)

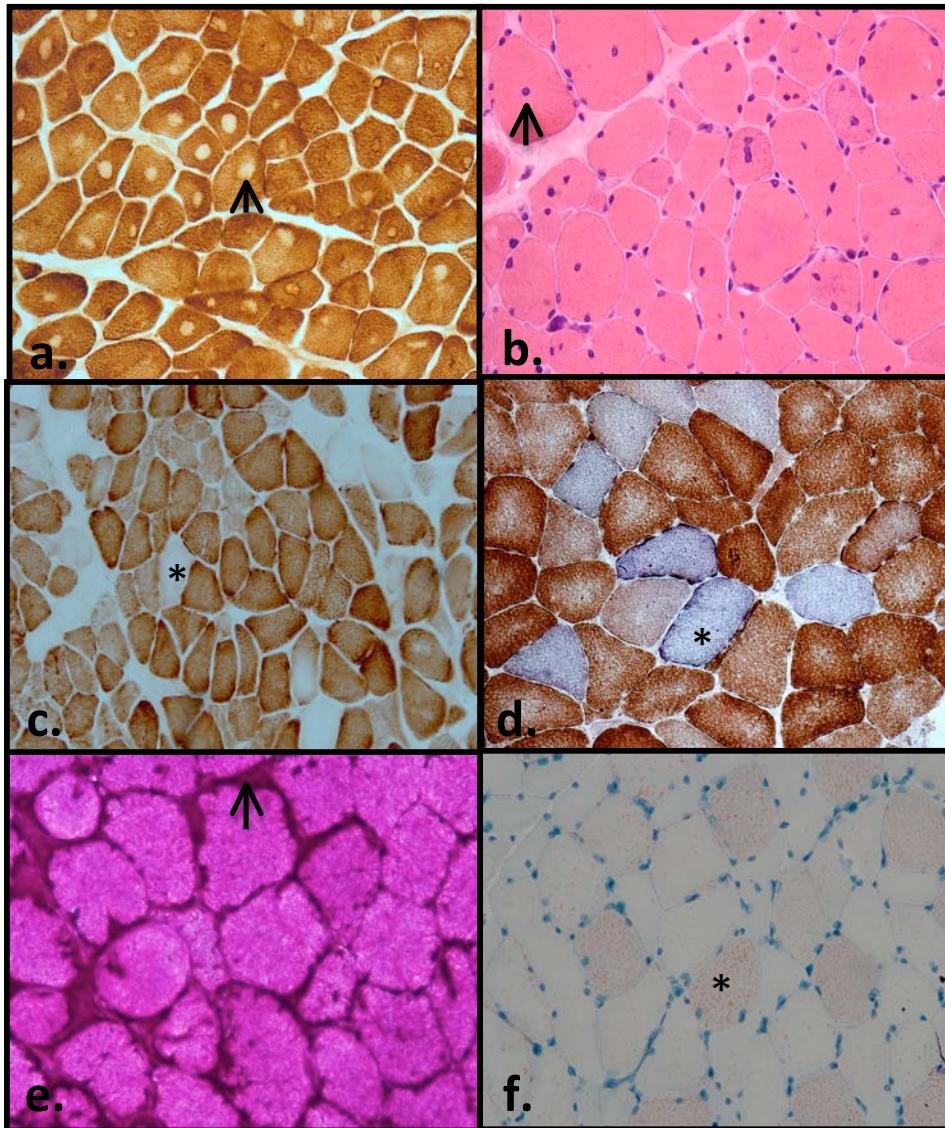


Figura 3. Cortes de biopsia muscular (BM). a. Corte de BM con tinción Citocromo oxidasa (COX) de paciente con miopatía central core, véase las estructuras llamadas core (flecha). b. Corte de BM teñida con Hematoxilina Eosina (HE) de paciente con miopatía centronuclear, véase los núcleos centrales dispuestos en la fibra muscular (flecha). c. Corte de BM con tinción COX de paciente con miopatía mitocondrial, véase fibras COX negativas (asterisco). d. Corte de BM con tinción COMBO (Succinil Deshidrogenasa (SDH)/COX) de paciente con miopatía mitocondrial, véase como las fibras COX negativas se tiñen de azul debido a la tinción SDH (asterisco). e. Corte de BM teñida con tinción PAS de paciente con glucogenosis tipo II, véase vacuolas subsarcolemales con cúmulo de material PAS positivo (flecha). f. Corte de BM teñida con Oil Red de paciente con miopatía lipídica, véase cúmulos de material Oil Red positivo en vacuolas en el interior de algunas fibras (asterisco).

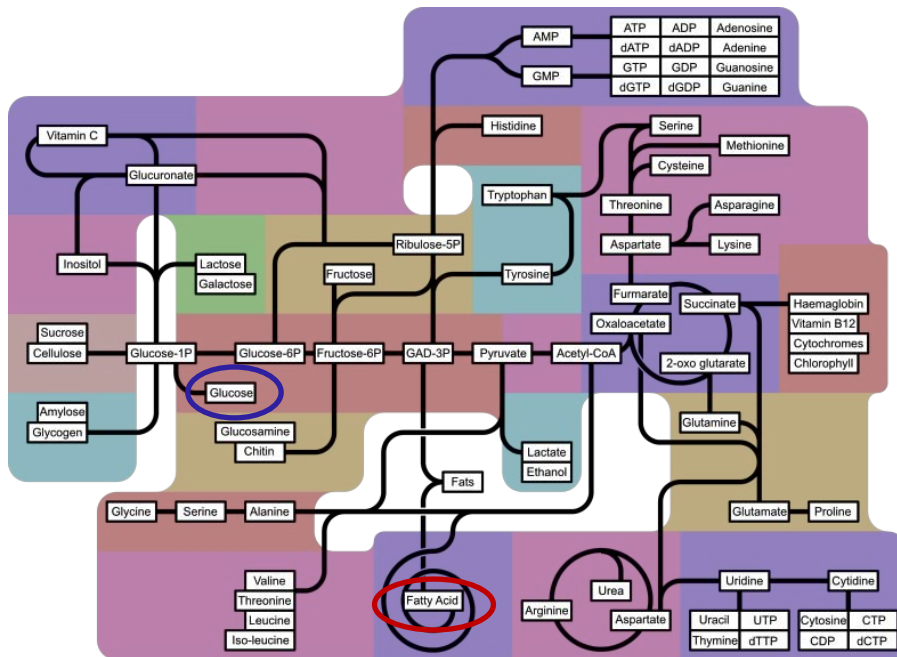


Figura 4. Rutas afectadas en las metabolopatías. Las elipses marcan las rutas que producen miopatía. (*encognitive.com*)

Asociados a la debilidad muscular pueden aparecer otros síntomas como calambres, mialgias, intolerancia al ejercicio, rigidez o miotonía. (3;5;9;14). Por lo tanto una historia clínica y exploración física detalladas pueden ayudarnos a hacer un diagnóstico del tipo de miopatía que estamos examinando. Esto puede suceder en pacientes con rasgos característicos como por ejemplo en la Distrofia Miotónica tipo 1 (DM1) en la que es característica la presencia de debilidad facial, cervical y de la musculatura distal junto con otros signos como miotonía, atrofia de temporales y del músculo Esternocleidomastoideo (ECM), además de poder presentar calvicie y disartria (13;30;31;32). O por ejemplo en la Distrofia Facio Escapulo Humeral (FSHD) en la que se suele encontrar un patrón característico de debilidad muscular facial, de la musculatura escapular y proximal de extremidades superiores, axial y en ocasiones debilidad de extremidades inferiores, asociado a signos como atrofia de musculatura pectoral y de los músculos Supinadores además de presentar una asimetría de la distribución de la debilidad (33;34;35;36).

Además del músculo esquelético, algunas de estas miopatías pueden cursar con patología concomitante en el corazón dando lugar a una miocardiopatía o a alteraciones del ritmo cardiaco, afectar al diafragma provocando disfunción ventilatoria, acompañarse de patología en el sistema nervioso central y periférico e incluso dar lugar a una enfermedad multisistémica (3; 14; 37; 38; 39).

A pesar de todos estos signos y síntomas, que nos podemos encontrar en la historia clínica y en la exploración, en muchas otras ocasiones los pacientes no presentan rasgos característicos, incluso comparten patrones de afectación muscular que hace que la orientación diagnóstica precisa sea de una elevada dificultad. En estos casos nos deberemos de apoyar en las pruebas complementarias para realizar un diagnóstico más preciso.

1.1.3 Diagnóstico:

Realizar el diagnóstico de un tipo de miopatía hereditaria es un desafío ya que hay más de 100 tipos distintos conocidos, además de un gran número aún por definir. Llegar al diagnóstico preciso es muy importante por diversos motivos que van desde el consejo genético a la predicción de complicaciones específicas, el manejo del enfermo y por supuesto poder acceder a un posible tratamiento específico.

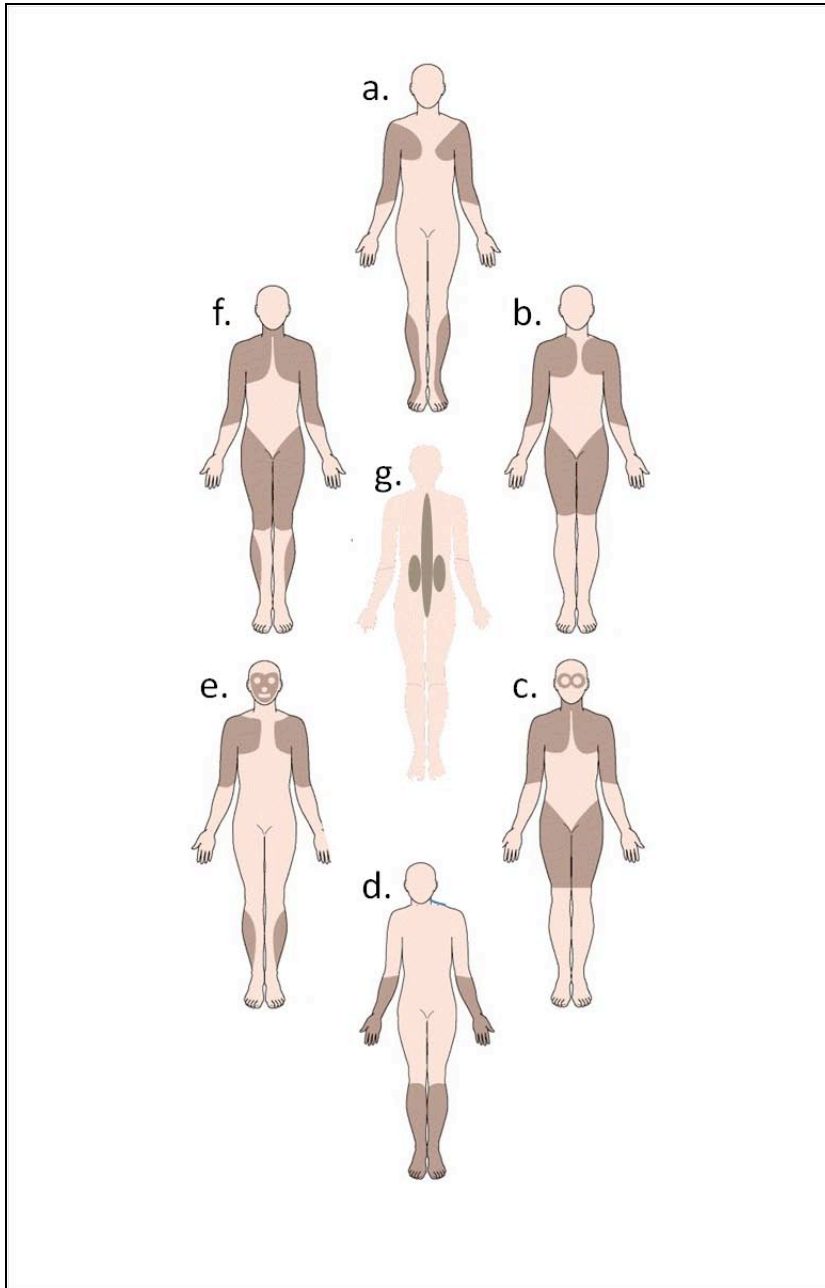


Figura 5. Ilustración de la distribución de la debilidad muscular en las miopatías hereditarias, generando 7 fenotipos diferentes. Las zonas marcadas en marrón oscuro indican las zonas de debilidad muscular (Emery AE. BMJ. 1998, modificado). a. Fenotipo Emery Dreifuss b. Fenotipo miopatía de cinturas. c. Fenotipo Distrofia Oculofaríngea (DOF). d. Fenotipo miopatía distal. e. Fenotipo distrofia Facio escapulo humeroperoneal. f. Fenotipo distrofia muscular de Becker o Duchenne. g. Fenotipo axial.

El diagnóstico se basa fundamentalmente en:

- La forma de presentación de la clínica: Es necesaria una historia clínica y exploración física detalladas para poder comenzar a perfilar el diagnóstico sindrómico del paciente y su patrón de herencia y así poder orientar las futuras pruebas complementarias a realizar (40; 41)

- Las pruebas complementarias usadas en la práctica clínica ante la sospecha de una miopatía: (3;16;19;40;42)

a. Analítica sanguínea: en la que se incluyen la determinación de los niveles de la enzima Creatin Kinasa (CK), Lactato Deshidrogenasa (LDH), Aldolasa, Lactato, Piruvato y de Transaminasas.

b. Electromiografía: Ante un paciente con debilidad, las conducciones nerviosas y el estudio con aguja del músculo nos ayudan a diferenciar una debilidad producida por una enfermedad localizada en el nervio periférico, raíz nerviosa, neurona motora o en la unión neuromuscular de la producida por una miopatía (3). Ciertas miopatías cursan con algunas características típicas en el electromiograma y por lo tanto puede ser de utilidad para orientar a un tipo de miopatía en concreto, como por ejemplo las descargas miotónicas en la DM1 y en otras miopatías miotónicas (10) o las descargas de alta frecuencia en la musculatura paravertebral que se pueden observar, por ejemplo, en la Glucogenosis tipo II o EP (43).

c. Biopsia muscular: Es una prueba complementaria de gran utilidad en el diagnóstico de las miopatías, sobretodo si el músculo a biopsiar ha sido debidamente seleccionado. De hecho, la definición de la miopatía tipo distrofia muscular es histopatológica, es decir, como ya hemos descrito anteriormente una distrofia muscular se define por tener un patrón

histopatológico con incremento de la variabilidad del tamaño de las fibras musculares con presencia de núcleos internalizados, fibras partidas y fibras regenerantes, con aumento endomisial y perimisial del tejido conectivo y adiposo (7) (Figura 2).

- Las tinciones histoquímicas básicas son:
 - Hematoxilina-eosina: Es la más usada, con ella podemos ver la estructura del tejido muscular, sus fibras, núcleos, tejido fibroso y adiposo, presencia de células inflamatorias etc.(Figura 2).
 - Tricrómico de Gomori: Es una tinción muy útil para ver incrementos del tejido conectivo, además de poder objetivar cúmulos de mitocondrias, vacuolas ribeteadas o estructuras patológicas llamadas rods.
 - Combo (SDH/COX): estudia las enzimas oxidativas SDH y COX, es útil para identificar fibras deficientes en COX, que se tiñen de azul a diferencia de las fibras normales en las que el marrón de la actividad COX no permite ver el azul de la SDH. Este tipo de fibras pueden traducir por ejemplo, una patología mitocondrial (Figura 3).
 - NADH: Es otra enzima oxidativa que puede ser útil para valorar la disposición de las miofibrillas y la estructura interna de la fibra.
 - ATPasa: Es una hidrolasa, útil para valorar el tipo de fibras y por tanto la presencia de agrupamientos de fibras anómalos.
 - Fosforilasa: Es una enzima que degrada el glucógeno, por lo que se debe de realizar en las biopsias de pacientes en los que se sospecha de una

glucogenopatía. Se puede ver ausencia de fosforilasa en la enfermedad de McArdle.

- Oil red: Es una técnica para valorar los lípidos en el músculo, dependiendo de la disposición de estos y sus cúmulos en las fibras musculares (Figura 3).
- PAS: Esta tinción se usa para valorar el glucógeno y otros polisacáridos en músculo. Por ejemplo se pueden ver vacuolas con contenido en el interior PAS positivo en el músculo de pacientes que sufren la EP (Figura 3).

d. Inmunohistoquímica y Western Blot: Además del estudio histopatológico con microscopía óptica sobre el músculo biopsiado, es posible realizar estudios de inmunohistoquímica y western blot de proteínas y enzimas musculares implicadas en procesos miopáticos utilizando anticuerpos monoclonales marcados, además del análisis del músculo mediante microscopía electrónica (3;7;44) (Figura 6 y 7).

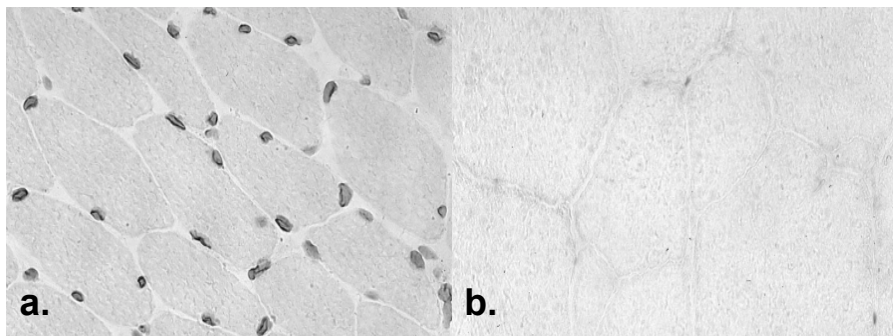


Figura 6. Cortes de biopsia abierta de músculo esquelético. **a.** Inmunocitoquímica de Emerina de un músculo sano control. **b.** Inmunocitoquímica de Emerina de un paciente con EDMD por mutación en el gen de la Emerina, se puede observar la ausencia de Emerina en los núcleos de las fibras.

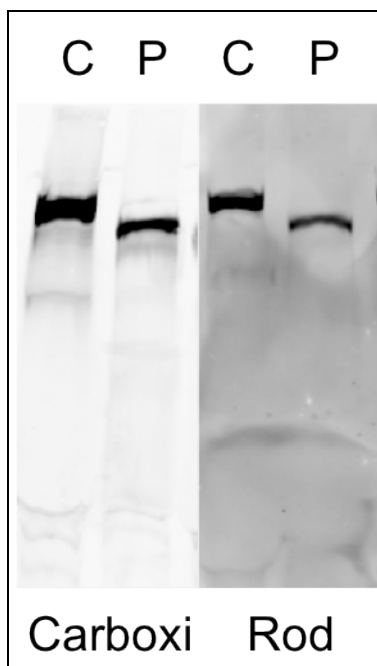


Figura 7. Imagen de un estudio Western Blot (WB) de la proteína Distrofina en el músculo esquelético de un individuo control (C) y un paciente con Distrofinopatía (P). Véase que la banda del paciente se encuentra por delante de la del control debido a que el peso de la proteína alterada es menor y por lo tanto tiene un recorrido mayor en el gel de electroforesis.

e. Test de isquemia: Valora la integridad de las vías que participan en el metabolismo anaeróbico muscular. Se realiza la medición en sangre de el Lactato y el Amonio en condiciones de ejercicio muscular e isquemia. Es útil para el estudio de miopatías metabólicas, como por ejemplo en la enfermedad de McArdle o la miopatía por déficit de MADA (14;15;16;17).

f. Test cardiológicos: Las miopatías también pueden cursar con patología cardiaca como por ejemplo en la DM1, EDMD o en la miopatía producida por mutación en el gen MYH7 (32;37;39) entre muchas otras. En los pacientes con sospecha de cardiopatía asociada a la miopatía se debe realizar un electrocardiograma o estudio holter y una ecocardiografía, con el fin del diagnóstico y tratamiento de enfermedades potencialmente mortales (3;45).

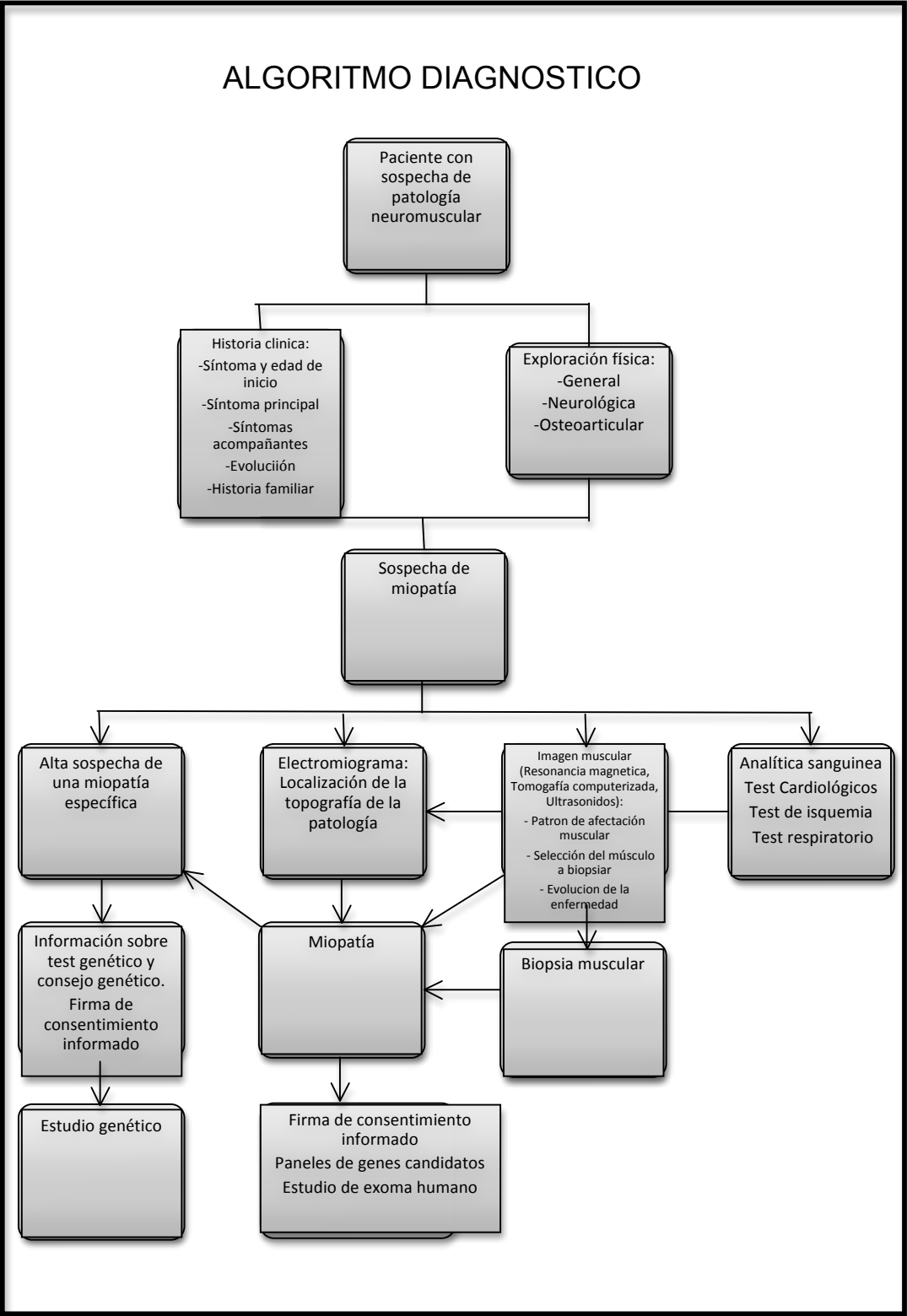
g. Test respiratorios: Otros músculos que pueden estar involucrados en una miopatía son el diafragma y los músculos intercostales, pudiendo dar lugar a una neumopatía de características ventilatorias o a un síndrome de apnea del sueño,

llegando incluso a producir una insuficiencia respiratoria que comprometa la vida del paciente. Por ello ante la sospecha en el diagnóstico o en la evolución de desarrollo de alteración respiratoria es recomendable realizar pruebas funcionales respiratorias y estudio polisomnográfico (38;41)

h. Secuenciación del gen diana: La prueba diagnóstica de referencia es el estudio genético que consiste en la secuenciación del gen candidato a estudio en sangre periférica o en tejido mediante extracción del mRNA (3;40). A pesar de todas las herramientas diagnósticas que existen hoy en día, un tercio aproximadamente de estas enfermedades carecen de diagnóstico etiológico preciso (3). En la actualidad se están utilizando en la práctica clínica otros test de búsqueda de la mutación patogénica, como es la secuenciación del exoma humano y el estudio de paneles de genes candidatos (46;47).

A estas pruebas complementarias se ha unido recientemente la imagen radiológica muscular, a la que se le dedica un capítulo de la presente tesis y en la que se basan los trabajos que se presentan.

ALGORITMO DIAGNOSTICO



1.2 Enfermedad de Pompe

A La enfermedad de Pompe (EP) también denominada déficit de Maltasa ácida o Glucogenosis tipo II se le dedica este apartado puesto que es una de las miopatías que forman parte del trabajo de la tesis. Es una miopatía hereditaria autosómica recesiva, producida por mutaciones en el gen *GAA*. Dicho gen codifica la enzima α -Glucosidasa ácida (AGA), cuya función es catalizar el metabolismo del glucógeno almacenado en los lisosomas a glucosa. Un déficit de AGA provoca un cúmulo de glucógeno en lisosomas, provocando la alteración de la arquitectura de diferentes tejidos como son el tejido muscular esquelético, músculo liso, el miocardio e hígado y recientemente se ha observado que puede existir patología en sistema nervioso central y periférico, hueso, vasos sanguíneos, riñones, oídos, a nivel gastrointestinal y de vejiga urinaria (16;48;49; 50;51;52;53).

En la actualidad se conocen más de 400 mutaciones en el gen *GAA*, que determina la actividad de la enzima AGA. Dependiendo de la actividad de dicha enzima, el fenotipo varía en gravedad y en la edad de inicio. Un 50% de actividad de la AGA es suficiente para la correcta degradación del glucógeno en los lisosomas y por lo tanto no padecer esta enfermedad (Figura 8) (52;54;55).

La prevalencia de la EP es variable según su fenotipo y localización geográfica, varía de un caso cada 40.000 a 300.000 habitantes, siendo más prevalente en el sur de China y Taiwán.

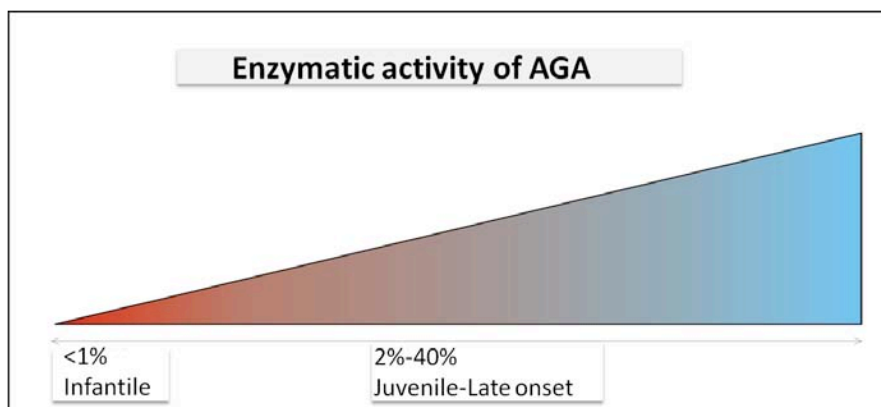


Figura 8. Esta figura ilustra que la forma infantil se produce cuando hay menos de un 1 % de actividad de la α -glucosidasa ácida, a partir del 2 % de la actividad la clínica varía desde la forma juvenil hasta la de inicio tardío. A partir de un 40% de actividad de dicha enzima es compatible con la normalidad.

Existen tres formas definidas de EP:

1.2.1 Enfermedad de Pompe forma infantil clásica:

Se produce por un déficit de alrededor el 0.8% de la actividad de la AGA. La forma clásica se ha usado para definir a la enfermedad que comprende aquellos niños que fallecen en el primer año de vida. El debut de la enfermedad, que de media es los 3 primeros meses de vida, suele ser en forma de problemas para la alimentación (disfagia o problemas gastrointestinales) en la mitad de los casos. El diagnóstico se realiza de media sobre los 6 meses de vida. Esta forma cursa con miocardiopatía hipertrófica, macroglosia, hepatomegalia, problemas respiratorios, hipotonía y debilidad muscular. La forma infantil clásica es la forma de debut en un 40% de los pacientes con EP. En un 90% de estos pacientes la esperanza de vida es menor de un año y suelen fallecer por causa cardiorrespiratoria (48;51;53;56).

1.2.2 Enfermedad de Pompe forma infantil no clásica:

Se produce por un déficit de AGA con una actividad residual en torno al 2,4% del valor normal. Es una forma más larvada que la forma infantil clásica, iniciándose la sintomatología a los 6 meses de vida de media. Los pacientes presentan una debilidad muscular progresiva, que se traduce en un retraso en el desarrollo psicomotor. Estos pacientes también tienen problemas en la

alimentación debido a disfagia y alteraciones gastrointestinales. También presentan problemas respiratorios como infecciones de repetición e insuficiencia respiratoria precisando en la mayoría de los casos de soporte ventilatorio. La miocardiopatía, la macroglosia y la hepatomegalia típica de la forma clásica, son menos frecuentes y más leves. La esperanza de vida sin tratamiento es de aproximadamente dos años y la causa principal de fallecimiento son las complicaciones cardiorrespiratorias (48;51;56).

1.2.3 Enfermedad de Pompe de inicio tardío (EPIT):

Se produce por un déficit de AGA de entre un 1%-40%. Dentro de este grupo se pueden distinguir dos fenotipos según la edad de presentación de los síntomas (38;49;51;52):

a. EPIT en la infancia o juventud:

Cursa con un retraso en el desarrollo psicomotor debido a una debilidad muscular progresiva de predominio proximal en extremidades inferiores y axial, dando lugar a dificultades en la deambulación y en la bipedestación. Además estos pacientes presentan deformidades osteoarticulares como hiperlordosis lumbar, escoliosis o espina rígida. La patología respiratoria también puede estar presente en forma de hipoventilación nocturna e infecciones respiratorias de repetición pudiendo dar lugar a una insuficiencia respiratoria y precisar de soporte respiratorio. En la literatura se han reportado casos de afectación cardíaca, aunque en este subgrupo ya no es tan frecuente como en los anteriores fenotipos, aun así la EP se considera una patología multisistémica por lo que se recomienda un estudio más allá de la patología muscular o respiratoria, lo que incluye el estudio del corazón (51;57).

b. EPIT en el adulto:

También llamada Enfermedad de Pompe del adulto. En este fenotipo se centra parte del trabajo de la tesis. Los pacientes con EP del adulto inician los síntomas sobre los 30-40 años de vida, presentando una edad media al diagnóstico alrededor de los 40 años. Este grupo presenta una clínica más heterogénea que dificulta el diagnóstico siendo la media de retraso en el mismo de unos 10 años desde el inicio de los síntomas. La mutación más frecuente en caucásicos, que se presenta en un 40-70% de estos pacientes, es la c.32-13T>G, la mayoría son heterocigotos para dicha mutación, presentando en el otro alelo una mutación diferente. En la actualidad se desconoce la relación genotipo-fenotipo a pesar de diferentes estudios centrados en este aspecto. Se cree que existen diferentes factores modificadores que hacen que una misma mutación pueda producir una importante variabilidad fenotípica en esta enfermedad. En general los pacientes suelen debutar con dolor muscular frecuentemente localizado a nivel lumbar, fatiga generalizada y debilidad muscular. La debilidad muscular es progresiva y suele predominar en la musculatura axial, principalmente en músculos abdominales y paraespinales lumbares, posteriormente se produce una debilidad de cinturas con predominio de la debilidad en la cintura pelviana, condicionando una marcha dandinante e hiperlordótica (Figura 9). En general la musculatura distal suele estar respetada. En otros casos los síntomas respiratorios pueden ser los síntomas del debut de la enfermedad. Se produce por una debilidad progresiva del músculo Diafragma y la musculatura respiratoria accesoria, dando lugar a una hipoventilación nocturna y a un síndrome de apnea del sueño.

Un tercio de los pacientes requieren de algún tipo de soporte ventilatorio en el curso de su enfermedad, siendo la causa respiratoria la que provoca la mayor mortalidad en estos pacientes. Una característica que la diferencia de otras miopatías es que el paciente puede ser ambulante y presentar una insuficiencia respiratoria y viceversa, es decir la EP del adulto puede tener una disociación entre la clínica motora y la respiratoria (38;49;50;52;57;58;59).

Hoy en día se conocen diferentes fenotipos que al encontrarlos en la práctica clínica hacen que se piense en EPIT como posibilidad diagnóstica. Estos fenotipos son:

- **Hiperckemia asintomática o paucisintomática:** La mayoría de pacientes con o sin síntomas presentan una elevación de los parámetros de CK en sangre, con una media de 500 UI/L. Además esta determinación se puede ver asociada a una elevación de la Alanina Aminotransferasa (ALT) y Aspartato Aminotransferasa (AST) en la mitad de los pacientes con EPIT.

- **Fenotipo LGMDs/debilidad de cinturas:** Es el fenotipo más frecuente. Como ya se ha explicado antes, la mayoría de los pacientes presentan debilidad de la musculatura proximal de las piernas y de la musculatura axial, dando lugar a una marcha dandinante y a un signo de *Gower's* positivo. Alrededor de un 80% de pacientes presentan hiperckemia en sangre y un 50% de pacientes con este fenotipo padecen de insuficiencia respiratoria debida a una debilidad diafragmática. Además al ser una enfermedad ya considerada como multisistémica se pueden asociar síntomas y signos como disfagia, debilidad facial, alteración de pares craneales, hipoacusia neurosensorial, disfonía, macroglosia, etc.

- **Fenotipo de espina rígida:** Es un fenotipo menos frecuente pero interesante, por que al encontrarnos con éste al explorar a un paciente debemos pensar también en la posibilidad de que el paciente padezca una EP. Su edad de inicio es algo más temprana, entre los 12-20 años. Cursa con una debilidad axial de cuello y tronco grave, comparado con la debilidad en extremidades que en estos casos suele ser leve. Asociado a la espina rígida es frecuente que los pacientes presenten hiperlordosis lumbar, escoliosis y un índice de masa corporal bajo debido a la importante atrofia muscular que padecen. Además puede haber pacientes que presenten contracturas articulares y escápula alada asociadas. Casi todos estos pacientes padecen de insuficiencia respiratoria precisando de ventilación mecánica.

- **Fenotipo Cardio-Cerebrovascular:** Se han reportado alteraciones cardiacas en alrededor un 30% de pacientes sin relación con el fenotipo osteomuscular que presentan los pacientes. Estas alteraciones pueden ser de carácter rítmico como disfunción del seno, bloqueos auriculoventriculares y síndrome de Wolff-Parkinson-White. También podemos encontrar pacientes con alteraciones de tipo estructural como por ejemplo una hipertrofia del ventrículo izquierdo o del derecho, sin relación con hipertensión pulmonar u otros problemas respiratorios. Por otro lado se han encontrado casos de pacientes con aneurismas de aorta, de la arteria basilar, de la arteria cerebral media y de ICTUS isquémicos sin factores de riesgo vascular asociados.

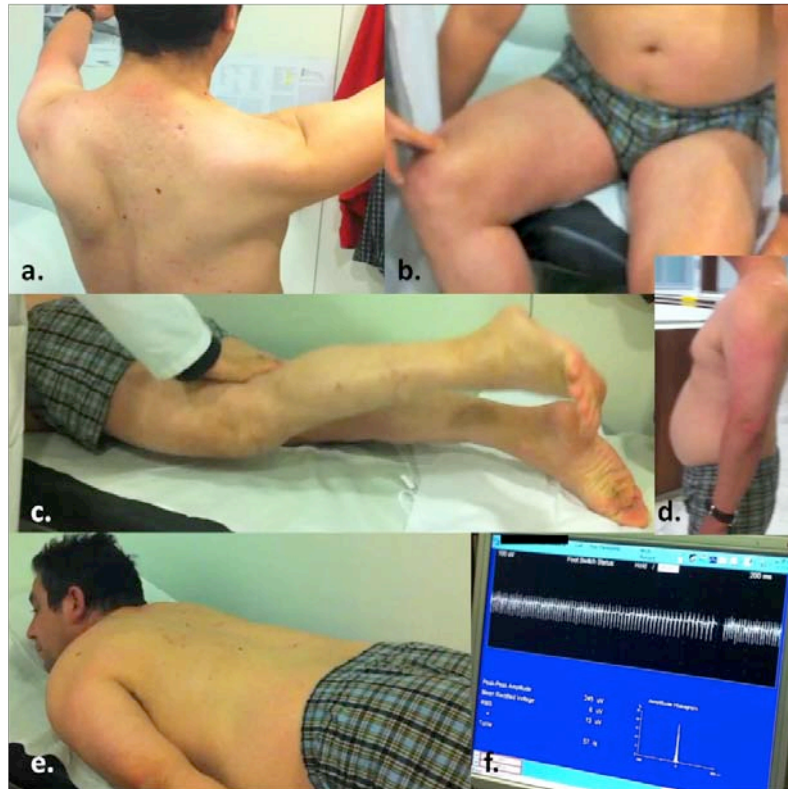


Figura 9. Paciente con enfermedad de Pompe del adulto. **a.** Escápula alada, signo de debilidad de la cintura escapular. **b y c.** Debilidad de psoas y de glúteos respectivamente. Signo de debilidad de cintura pelviana. **d y e.** Hiperlordosis y debilidad de la musculatura paravertebral lumbar respectivamente que sugieren debilidad de la musculatura axial. **f.** Electromiografía, estudio con aguja de la musculatura paravertebral, se puede ver en la imagen la gráfica de una descarga repetitiva compleja.

1.2.4 Diagnóstico:

El diagnóstico de la EP es un desafío, debido a la heterogenicidad clínica con la que se presenta esta patología. Como ya se ha mencionado, existe un retraso importante en el diagnóstico y por lo tanto, supone un retraso en el inicio del tratamiento si el paciente cumple criterios para recibirlo. Para realizar el diagnóstico de la EP es necesario una historia clínica detallada y una exploración física adecuada. Con los datos aportados en la historia clínica y en la exploración se puede comenzar a hacer un diagnóstico diferencial con otras enfermedades musculares como LGMDs, miopatías inflamatorias, congénitas y otras miopatías metabólicas además de con enfermedades de neurona motora o de la unión neuromuscular (44;52;60;61).

Las pruebas complementarias útiles para el diagnóstico de la EP son:

- **Test sanguíneos rutinarios:** La determinación de la CK puede ser normal pero por norma general se encuentra aumentada de 1,5 a 15 veces por encima del límite superior de la normalidad. Es importante mantener la sospecha diagnóstica de EP ante una hiperCKemia ya que es la forma de presentación en muchos pacientes. Por otro lado el diagnóstico de EP se debe tener en cuenta ante la sospecha de una clínica de LGMDs con patrón de herencia autosómica recesiva con los niveles de CK en sangre normales o levemente aumentados, ya que las LGMDs de herencia autosómica recesiva presentan niveles sanguíneos de CK mucho más elevados. La AST y la ALT suelen encontrarse elevadas en sangre, estando la gamma glutamil transpeptidasa (GGT) en los límites de la normalidad (44;57;60;61).
- **Determinación de la actividad de la AGA:** Se puede medir en músculo, fibroblastos y en sangre periférica (linfocitos) o mediante la prueba llamada gota seca (gota de sangre recogida en un papel de filtro). La gota seca se puede analizar mediante dos métodos, la fluorimetría o mediante espectrometría de masas, ambas son dos buenas técnicas. Además la gota seca es fácil de realizar, económica, accesible y precisa. Esta es una de las primeras pruebas complementarias a realizar ante la sospecha de EP, debido a que el estudio en fibroblastos o en músculo esquelético puede tardar meses. Además en la actualidad en los estudios sanguíneos de la actividad de AGA se usa la acarbosa, ya que compite selectivamente con la actividad de la enzima Maltasa-Glucoamilasa, evitando así el enmascaramiento de la deficiencia de la AGA en sangre. Si el resultado en el análisis sanguíneo es patológico entonces se

recomienda confirmar este resultado en otro tejido o realizar el estudio genético para descartar falsos positivos (44;60;62;63;64).

- **Electromiografía:** El estudio mediante aguja coaxial puede poner de manifiesto un patrón miopático con potenciales de unidad motora polifásicos y de pequeña amplitud asociado a la presencia de actividad espontánea en forma de ondas positivas y fibrilaciones. De forma característica se pueden observar descargas repetitivas complejas principalmente en el estudio de la musculatura lumbar (Figura 9). Pero se ha de tener en cuenta que a pesar de un estudio electromiográfico correcto hay alrededor de un 10% de pacientes en los que el estudio electromiográfico es normal o no concluyente (43;52).
- **Biopsia muscular:** Un 80% de los pacientes con EP presenta un contenido anormal de glucógeno en vacuolas en la biopsia muscular en el estudio convencional mediante microscopia óptica. Conforme avanza la enfermedad este depósito de glucógeno puede verse acumulado primero en lisosomas y posteriormente en citosol. Estos cambios se encuentran con menor frecuencia en las biopsias de pacientes con EP juvenil e infantil, así que la biopsia muscular en estos pacientes puede ser normal, dando lugar a falsos negativos. Por lo tanto con una biopsia muscular normal no es posible descartar la EP y debido a que solo entre un 70-80% de pacientes presentan biopsias características de esta enfermedad, no se considera la primera prueba complementaria a realizar ante la sospecha de EP. Cuando la biopsia muscular es patológica, se pueden encontrar cambios miopáticos inespecíficos como núcleos internalizados y variabilidad del tamaño de las fibras. Dependiendo del músculo biopsiado y del estado de afectación del paciente se pueden

encontrar de un 1% a un 90% de fibras musculares con vacuolización conteniendo material PAS positivo en la tinción de fosfatasa ácida (Figura 3). Mediante microscopía electrónica se han definido 5 patrones histopatológicos conforme avanza la enfermedad (Figura 10) (44;53;65).

- **Pruebas de función respiratoria:** En las que se debe determinar la capacidad vital forzada en sedestación y en decúbito supino. Cuando existe una caída de más del 10% del valor de la primera con respecto a la segunda es indicador de debilidad diafragmática, que es la que se produce típicamente en la afectación respiratoria de la EP. Otras determinaciones que pueden estar alteradas son la presión inspiratoria y espiratoria máximas que son reflejo de disfunción de la musculatura accesoria.
- **Polisomnografía:** Se pueden encontrar valores patológicos en la polisomnografía, en rango de Síndrome de Apnea del sueño en etapas tempranas de la enfermedad incluso antes de que se alteren las pruebas funcionales respiratorias.
- **Determinación de Glucosa tetrasacárido en orina:** La glucosa tetrasacárido (Glc4) se produce por la digestión del glucógeno y de otros polímeros de glucosa que contienen enlaces α 1-6 glicosídicos. Se ha probado una excreción aumentada en orina de la Glc4 en enfermedades de depósito de glucógeno. Esta excreción aumentada no es específica de estas enfermedades pudiendo aparecer en otras como en la Pancreatitis, los Sarcomas, la Distrofia muscular de Duchenne incluso en estados fisiológicos como el embarazo. Con el fin diagnóstico y

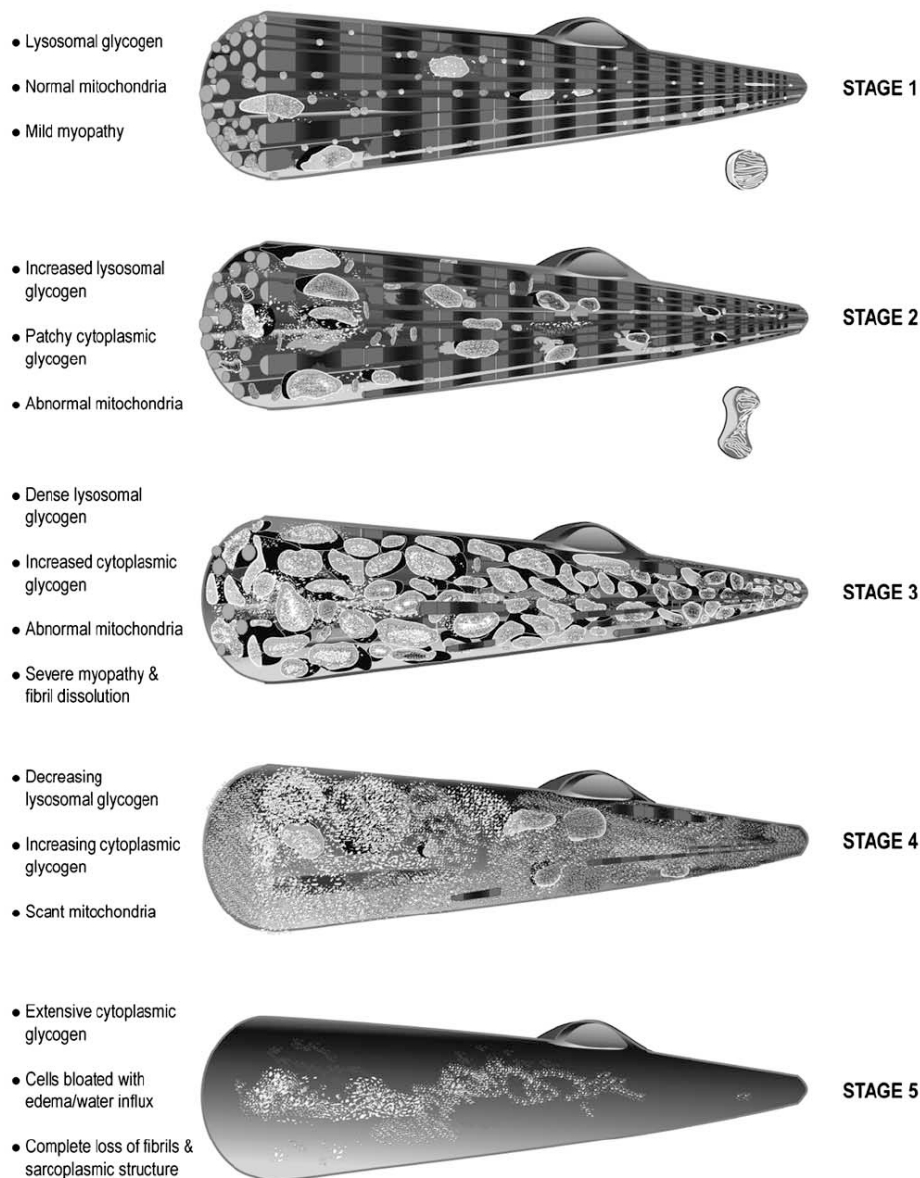


Figura 10. Estadios evolutivos que se pueden encontrar en la microscopía electrónica de una biopsia muscular de pacientes con EP (53).

de monitorización del tratamiento en la EP se ha desarrollado una determinación de la Glc4 en orina mediante espectrometría de masas que junto con la determinación de la actividad de la AGA se ha probado como un buen biomarcador no invasivo para el diagnóstico y seguimiento en la EP. Este biomarcador tiene una sensibilidad del 94% y una especificidad del 84% ajustado por la edad del paciente. Se ha visto que hay una disminución significativa de la excreción de Glc4 en pacientes con mayor edad y sin tratamiento mediante la enzima recombinante,

respecto a los pacientes jóvenes o niños. Este hecho puede ser debido a que con la edad se reduce la degradación del glucógeno acumulado. Por otro lado se conoce una correlación positiva en pacientes con EP infantil tratados con la enzima recombinante, entre los niveles de CK en sangre y los de Glc4 en orina. A su vez se correlaciona con los niveles de depósito de glucógeno en biopsias musculares de Cuádriceps en EP juvenil e infantil. A pesar de ello se precisan más estudios principalmente en pacientes tratados, para valorar el uso de esta determinación como marcador evolutivo (66).

- **Estudio genético:** La secuenciación del gen *GAA* sirve para el diagnóstico de confirmación. El gen *GAA* contiene 19 exones codificantes y se necesita que las dos copias del gen tengan una secuencia patogénica para producir una alteración de la actividad de la AGA. La mutación más frecuente en la EP es la c.32-13T > G. Esta mutación ha sido descrita como fundadora en raza caucásica. Se han descrito otras mutaciones patogénicas tipo nonsense, deleciones o inserciones de uno, dos o múltiples nucleótidos (54;59).

La radiología muscular como prueba complementaria de la EP se abordará en un capítulo a parte, puesto que la presente tesis se centra en el estudio de la misma.

1.2.5 Tratamiento:

El tratamiento de los pacientes con EP es multidisciplinar como cualquier otra miopatía, prestando especial atención en el control respiratorio ya que a lo largo de su enfermedad los pacientes con EP pueden precisar de soporte ventilatorio. La dieta hiperproteica, el uso de esteroides y adrenérgicos, el trasplante de médula ósea y la terapia sustitutiva tiroidea no han tenido resultados satisfactorios (67).

En 2007 tras un ensayo clínico en EP infantil fue aprobado el tratamiento con la terapia sustitutiva enzimática con AGA recombinante (ERT) (Myozyme®) en pacientes con EP. El tratamiento se administra por vía endovenosa, cada 15 días, a dosis de 20 mg por kilogramo de peso del paciente. Se objetivó que aumentaba la actividad de la AGA en los tejidos diana y disminuía el volumen del ventrículo izquierdo a las 36 semanas de tratamiento a pesar de no disminuir el depósito de glucógeno. Además todos los pacientes que iniciaron la terapia con ERT antes de los 6 meses de vida estaban vivos al año del inicio del tratamiento. Posteriormente se realizó un ensayo clínico doble ciego y randomizado en pacientes con EP del adulto donde se objetivó una mejoría en la distancia que se recorría en el test de los 6 minutos y también de la función respiratoria. En la actualidad no existen unos criterios establecidos de cuando se debe iniciar esta terapia y tampoco existe un biomarcador concreto para la monitorización del efecto de la ERT. Por ello hoy en día se pone especial interés en el estudio de dichos marcadores de diagnóstico y evolución de la EP (68;69; 70;71;72).

En la actualidad se están desarrollando en distintos laboratorios, estudios con terapia génica mediante inyección intravenosa o intramuscular de vectores virales que llevan asociado el gen de GAA, esta potencial terapia se encuentra en fase II (73;74).

Por lo comentado en este capítulo la EP y en especial la EP del adulto presenta una clínica heterogénea, que hace que halla un retraso en su diagnóstico. Debido a que puede afectar tanto al corazón como al aparato respiratorio siendo la causa principal de fallecimiento de estos pacientes la EP no sólo produce discapacidad si no también es una enfermedad que acorta la esperanza de vida. Y dado que a día de hoy ya se conocen tratamientos que pueden mejorar tanto la calidad como

la esperanza de vida, es necesario tener buenos biomarcadores tanto para poder realizar un diagnóstico mas temprano como para monitorizar los tratamientos implantados.

1.3 Miopatías producidas por mutaciones en el gen de *LMNA* y *EMD*.

A estas miopatías se les dedica este apartado puesto que son miopatías que forman parte del trabajo de la tesis. *LMNA* y *EMD* son dos genes que codifican tres proteínas de la envoltura nuclear (Figura 11). El gen *LMNA* codifica las proteínas Lamina A y Lamina C. El gen *EMD* codifica la proteína llamada Emerina. El defecto de estas proteínas puede causar una patología en el músculo esquelético y/o cardiopatía o afectar a otros tejidos como el nervio periférico o la grasa.

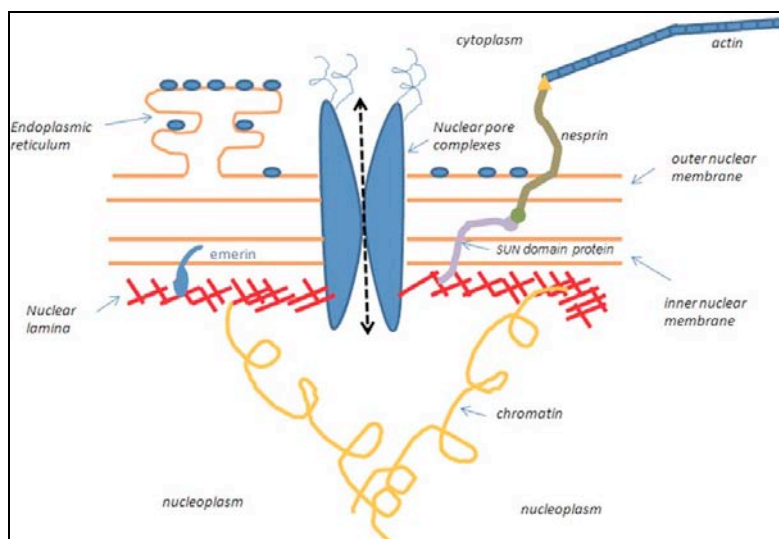


Figura 11: Esquema de la envoltura nuclear, véase el rol de la proteína Emerina y la Lamina para el mantenimiento de la misma (75).

Cuando estos dos genes sufren una mutación pueden dar lugar a un tipo de distrofia muscular que comparte un fenotipo en común, la denominada distrofia muscular tipo Emery-Dreifuss (EDMD), descrita por primera vez en 1966 en una familia Inglesa, con un patrón de herencia ligada al X. La EDMD ha sido descrita asociada a mutaciones en el gen que codifica la proteína Emerina, el que codifica la Lamina y el que codifica la FHL1 entre otros menos frecuentes como el SYNE 1 y

2 y TMEM43. Todos estos genes están implicados en la arquitectura de la membrana nuclear (76;77;78;79;80).

El fenotipo Emery-Dreifuss cursa con debilidad muscular lenta y progresiva a nivel proximal en extremidades superiores y distal en extremidades inferiores, la llamada distribución escapulo-humero-peroneal. Además los pacientes presentan atrofia muscular y contracturas articulares en codos, tobillos y columna. En ocasiones también puede existir debilidad facial (Figura 12). A la exploración encontramos signos como escápula alada, marcha en puntillas y dandinante, contracturas articulares y en ocasiones ausencia de reflejos musculares profundos. La edad de inicio suele ser en la adolescencia, pero puede presentarse desde el periodo neonatal hasta la 3^a-4^a década de la vida. La forma de herencia de este fenotipo es ligada al X en el caso de las mutaciones en el gen *EMD* y autosómica dominante en la mayoría de los casos, aunque también puede ser autosómica recesiva en la producida por mutación en el gen *LMNA*. La CK en sangre suele estar elevada. A la clínica muscular se le asocia generalmente en torno a la 2^a-3^a década de la vida una miocardiopatía y/o cardiopatía por alteración de la conducción como fibrilación auricular, flutter auricular, bloqueos en la conducción cardiaca o arritmias ventriculares que condicionan la supervivencia del paciente y en la que en ocasiones, es necesaria la implantación de un marcapasos o desfibrilador. Por ello cuando se sospecha de esta enfermedad es mandatorio un estudio cardiológico, siendo en el electrocardiograma (ECG) en ocasiones insuficiente puesto que la mayoría de las arritmias en dichos pacientes suelen aparecer por la noche. Por ello se aconseja un estudio Holter de mínimo 24 horas de duración, además de una Ecocardiografía para el estudio de miocardiopatías que se suelen producir en etapas más tardías de la enfermedad (75;81;82;83;84).

Respecto a otras pruebas complementarias para el diagnóstico de estos pacientes, el estudio mediante electromiografía muestra rasgos miopáticos y de forma ocasional algún paciente presenta fibrilaciones. En la biopsia muscular encontraremos un patrón distrófico y ausencia de Emerina o de Lamina en los núcleos de la fibra muscular (Figura 6), aunque el estudio inmunohistoquímico de la lamina en la biopsia muscular puede dar lugar a falsos negativos ya que normalmente se observan niveles normales de expresión de la misma. También se puede encontrar ausencia de Emerina en otros tejidos como fibroblastos de biopsia de piel o linfocitos de sangre periférica. El diagnóstico definitivo se realizará mediante secuenciación génica.



Figura 12. Figura de paciente afecto de distrofia muscular Emery Dreifuss con contracturas en tobillos rodillas y codos. J.L V. Broers et al. *Nuclear Lamins: Laminopathies and their role in premature ageing. Physiol. Rev.* 2006. (modificada)

Según el gen mutado (*LMNA* o *EMD*) podemos encontrar algunas características en la EDMD que a continuación se explican:

- **EMD:** Es el gen que se muta en los 2/3 de los casos de EDMD ligada al X o EDMD tipo 1. Codifica como ya se ha dicho la proteína Emerina, localizada en la envoltura nuclear y encargada de estabilizar la membrana tras el estrés mecánico generado en la contracción muscular. Se ha descrito una relación genotipo-fenotipo, es decir, si existe una ausencia completa de Emerina debida a determinadas mutaciones el fenotipo es más severo que los fenotipos producidos por

mutaciones que producen sólo un déficit parcial de la proteína. Además se conocen mujeres portadoras sintomáticas. Como ya se ha mencionado la biopsia muscular es inespecífica salvo el estudio inmunohistoquímico. En 2005 se publicaron dos casos en la que la biopsia muscular presentaba abundantes vacuolas ribeteadas aunque esta característica es poco frecuente (76; 77;85).

- **LMNA**: Las mutaciones en este gen son las responsables del 45 % de los casos de EDMD de herencia autosómica dominante o EDMD tipo 2. También existe una EDMD de herencia autosómico recesiva denominada EDMD tipo 3, éstos se han descrito como fenotipos más severos y de edad de inicio más temprana. A diferencia de las mutaciones en el gen *EMD*, en el caso de las mutaciones en el gen *LMNA* no hay una clara relación genotipo-fenotipo, existiendo una gran variabilidad intra e interfamiliar. Este hecho sugiere la existencia de factores modificadores de la expresión génica. Pero en 2007 también se publicó que las mutaciones *missense* y *las Oframe deletions* en el gen *LMNA* son más frecuentes en el fenotipo EDMD, y las frameshift son más frecuentes los fenotipo LGMDs producidos por mutaciones en dicho gen. Se conoce además que los pacientes con mutación en el gen *LMNA* pueden tener fenotipos más severos tanto a nivel de músculo esquelético como cardíaco y presentan una pérdida de deambulación más temprana que los pacientes con EDMD secundario a mutación en el gen *EMD*. Cabe destacar que la cardiopatía puede estar presente antes de desarrollar los síntomas musculares. (26;37;75;77; 78;86).

1.3.1 Otras enfermedades producidas por mutaciones en el gen *EMD*:

Además de la EDMD tipo 1, las mutaciones en dicho gen pueden causar miocardiopatía sin miopatía asociada y disfunción del nodo sinusal de forma aislada. Además se han descrito casos aislados LGMDs secundarias a mutación en el gen *EMD*, con un inicio de los síntomas tanto en la infancia como en la edad adulta, presentando debilidad proximal y leves contracturas articulares asociado a alteraciones del ritmo cardiaco (87;88).

1.3.2 Otras enfermedades producidas por mutaciones en el gen *LMNA*:

- **LGMD 1B/Distrofia muscular de cinturas 1B:** Se trata de una distrofia muscular heredada de forma autosómica dominante, que cursa con debilidad de cintura pelviana y escapular. El inicio de los síntomas puede a cualquier edad de la vida aunque generalmente suele ser de inicio tardío. Se asocia a leves contracturas articulares y espinales. Ocasionalmente pueden presentar una pseudohipertrofia de gemelos. En más de un 60% de los casos puede haber una cardiopatía en forma de arritmia cardiaca o cardiomiopatía, con alto riesgo de arritmias ventriculares y de desarrollar insuficiencia respiratoria. En algunos casos puede existir un solapamiento fenotípico con otras patologías causadas por la mutación en este gen. Los niveles de CK en sangre pueden ser normales o levemente aumentados y la biopsia muscular suele ser inespecífica (37;41;42;75;86;89).

- **Distrofia muscular congénita:** La edad de inicio puede ser desde el nacimiento hasta el primer año de vida. Los pacientes suelen presentar una debilidad de la musculatura axial junto con hipotonía. La debilidad se asocia a contracturas articulares de inicio a nivel distal. Además los pacientes pueden tener una historia

previa de alteración de los movimientos fetales. A la exploración se objetiva atrofia de la musculatura axial del cuello, la humeroescapular y del compartimento posterior de las piernas. Las contracturas pueden afectar a cualquier articulación y además pueden dar lugar a una espina rígida. En otro grupo de pacientes se describió un fenotipo cabeza caída o *drophead* producida por una debilidad de la musculatura extensora del cuello, con posterior progresión a debilidad de extremidades y del resto de la musculatura axial. En la distrofia muscular congénita también se han descrito alteraciones cardíacas además de importantes complicaciones respiratorias (75;86;90)

- *The heart–hand syndrome of the Slovenian type (HSS-S):*

Descrito por primera vez en 2005, se presenta como una cardiopatía en forma de alteraciones del ritmo y miocardiopatía dilatada asociada a bradidactilia. El inicio de los síntomas se produce alrededor de la 4ª década de la vida y se asocia en algunos pacientes a debilidad muscular proximal en la evolución de la enfermedad (75;91).

-Charcot-Marie-Tooth tipo 2B1: Se trata de una polineuropatía periférica de carácter axonal y de herencia autosómica recesiva, aunque se han reportado casos en pacientes asociado a distrofia muscular con herencia autosómica dominante (75;86)

- Miocardiopatía dilatada con defectos en la conducción cardíaca (CMD1A): Se trata de una miocardiopatía dilatada, que puede preceder a la alteración del ritmo o asociarse con fibrilación auricular, con bloqueos auriculoventriculares o con arritmias ventriculares malignas (75;86;92;93).

- **Otras entidades:** El Fenotipo letal asociado a mutaciones en el gen *LMNA* descrito en un caso de un niño pretérmino de padres consanguíneos afectados de LGMD1B. Otra patología es la dermatopatía restrictiva, se trata de otro síndrome letal. Ambos son de inicio intrauterino. Otra entidad es la Lipodistrofia parcial familiar de tipo *Dunningan*, se trata de pacientes que al inicio de la pubertad presentan una desaparición progresiva del tejido adiposo subcutáneo de las extremidades junto con acúmulo del mismo en cara y cuello. Además estos pacientes pueden desarrollar una diabetes mellitus secundaria a una resistencia a la insulina. También existen síndromes de envejecimiento prematuro como el síndrome de progeria de *Huntchinson Gilford* o la forma atípica de síndrome de *Werner* en las que se produce un envejecimiento multisistémico provocando el fallecimiento de los pacientes por causa cardiovascular sobre la 2ª década de la vida. Otra enfermedad secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* es la displasia mandibulo acral, de herencia autosómica recesiva que cursa con un retraso en el crecimiento postnatal con dismorfia facial, malformaciones esqueléticas, alteraciones de la pigmentación de la piel y lipodistrofia asociada a resistencia a la insulina (75;86).

De nuevo en este capítulo describimos una patología que a pesar de tener dos genes responsables presenta una gran variabilidad fenotípica que en algunos casos es de difícil diagnóstico diferencial con otras enfermedades musculares. Puesto que estas entidades se pueden presentar con una afectación cardíaca importante, incluso con el riesgo de muerte súbita es necesario que el diagnóstico se realice de forma temprana y certera para poder evaluar la necesidad de implante de marcapasos o desfibrilador. El diagnóstico de certeza además puede ofrecer un tratamiento multidisciplinar para poder

atender todas las necesidades que se presentan a lo largo de la evolución de esta enfermedad, principalmente encaminada a la terapia física y a cirugías que mejoren la calidad de vida de los pacientes. Por todo ello es necesario el estudio de las mismas desde el punto de vista de marcadores y pruebas complementarias que nos ayuden al diagnóstico y a profundizar en el conocimiento de la evolución de esta patología como podrían ser las técnicas de imagen muscular (77;81).

1.4 Radiología y músculo esquelético

Desde hace más de 60 años, la imagen muscular se ha convertido en una prueba complementaria útil para el estudio, tanto en la práctica clínica como en investigación, de enfermedades neuromusculares.

A lo largo de estos años se han usado diferentes técnicas radiológicas. Los primeros trabajos publicados sobre ello datan de principios de los años 50 y mediados de los 60, en los que se utilizó la radiología convencional para valorar el depósito de grasa en el músculo esquelético, siendo un signo de enfermedad muscular. Un dato interesante fue que se llegó a correlacionar de forma positiva el depósito de grasa en el músculo valorado por la imagen con el grado de depósito de tejido adiposo en la biopsia muscular correspondiente. A pesar del bajo coste y el escaso consumo de tiempo de la radiología convencional es una técnica que se encuentra en desuso. Esta es superada por otras técnicas con mayor definición anatómica y mayor sensibilidad para detectar cambios en el musculo a lo largo de las etapas de una patología muscular (94;95).

En los años 80 se inició el uso de otras técnicas de imagen como es la ultrasonografía o ecografía muscular. Esta consiste en la formación de la imagen a través del procesamiento de los ecos de pulsos de los ultrasonidos reflejados en las estructuras corporales. Por lo tanto es una técnica que no usa ninguna radiación ionizante y además es una

técnica de bajo coste. Todo ello lo hace uno de los mejores métodos para la evaluación muscular en pacientes pediátricos, principalmente para el uso en el despistaje inicial de miopatías (96;97;98;99). La ecografía muscular es una técnica que es útil para la medición del espesor de un músculo en concreto y para valorar la intensidad ecogénica de los músculos con el fin de evaluar la infiltración grasa o de tejido conectivo que se producen en las miopatías. A su vez la ecografía es una de las técnicas que permite la elección de un músculo idóneo para biopsiar. En contrapartida con la ecografía sólo se pueden evaluar grupos musculares superficiales. Este hándicap se produce principalmente si existe una interposición de varios grupos musculares o se encuentran cercanos a otras estructuras como hueso o aire, donde la calidad de la imagen es peor que otras técnicas radiológicas como la Resonancia magnética nuclear (RMN) o la Tomografía computerizada (TC) muscular (Figura 13) (96;97;100;101;102). Por otro lado la ecografía muscular es útil para evaluar la actividad muscular en el momento de la exploración, ya que proporciona una imagen a tiempo real. Además se han desarrollado diferentes técnicas para la cuantificación de la ecogenicidad del músculo. Este hecho hace que la ecografía sea una prueba útil para el seguimiento y la cuantificación de la afectación muscular en determinadas enfermedades. Se ha valorado por ejemplo en las glicogenosis tipo I y III, en la miopatía por mutación en el gen *GNE* y en la enfermedad de Duchenne. A pesar de estas nuevas técnicas de cuantificación otros autores defienden que debido a que la ecografía es una prueba observador dependiente el uso de la misma para la cuantificación de la afectación muscular es controvertido (103;104;105;106).

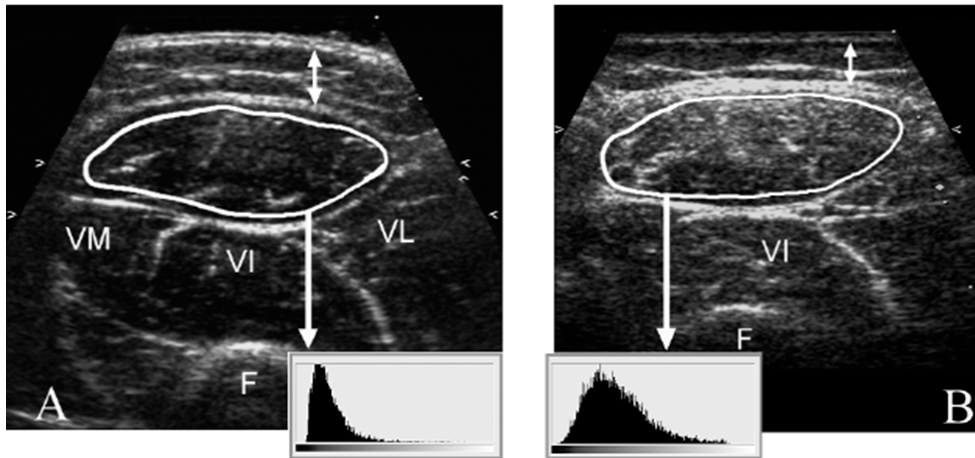


Figura 13. Imagen de Ecografía muscular. A. Ecografía del muslo de una persona sana. B. Ecografía del muslo de un paciente con Distrofia muscular de Duchenne. La zona redondeada corresponde al recto femoral. Se puede visualizar un aumento de la ecointensidad en el recto femoral del paciente enfermo (107).

En este capítulo se describirá con más detalle las dos técnicas utilizadas para el presente trabajo de tesis.

1.4.1 Tomografía computerizada muscular:

La TC fue una de las primeras técnicas radiológicas en usar la imagen digital en el año 1972. Este hecho hacía posible superar aspectos como la distinción entre tejidos blandos y la obtención de imágenes tridimensionales que no eran posibles mediante la radiología convencional. Desde esta fecha los equipos de TC han ido evolucionando con el fin de disminuir los tiempos de exploración y aumentar la sensibilidad de la imagen.

Las imágenes de una TC se obtienen a partir de una serie de señales en proyecciones planares, obtenidas desde las diferentes posiciones que adopta el tubo de rayos X en su rotación alrededor del paciente. Estas proyecciones se filtran matemáticamente y posteriormente se retroproyectan para reconstruir la imagen del corte. Los cortes obtenidos mediante TC son imágenes digitales constituidas por una matriz de píxeles. A cada píxel se le da un tamaño en función de la región anatómica a explorar, llamado voxel (es el píxel al que se le añade una dimensión que es la anchura del

corte). Cada tejido tiene su valor según la escala *Hounsfield*, por ejemplo el agua tiene un valor 0, el aire de -1000 y el hueso de 1000, encontrándose la mayoría de los tejidos en unos valores entre -100 y 100. La imagen presenta una escala de grises seleccionada según el rango de tejidos que se desee visualizar. En la TC muscular la densidad del músculo es isodensa, con respecto a la densidad del tejido adiposo, que tiene una densidad disminuida (hipodenso) y a la del tejido óseo, en la que la densidad es mayor que la del músculo (hiperdenso) (Figura 14) (96;97;108).

Los primeros trabajos que existen en la literatura sobre TC muscular y miopatías datan de los años 70, principalmente destinados a los pacientes con una de las distrofias musculares más prevalentes y conocidas en aquella época y a sus portadoras, las distrofinopatías. En las distrofinopatías ya se podía observar cambios a nivel de la imagen muscular en aquellos músculos que presentaban una fuerza normal a la evaluación física. Por otro lado se empezaba a perfilar un patrón característico de infiltración grasa muscular. Posteriormente se comenzó a estudiar otro tipo de distrofias musculares clínicamente bien definidas en aquella época como eran la DM1 y la FSHD. En esta última distrofia se describió un patrón de imagen muscular característico que la hacía distinguible mediante radiología de otras distrofias conocidas en aquel momento (109;110;111;112;113;114;115).

En la actualidad existen numerosos estudios en los que se evidencia la utilidad de la TC muscular para la evaluación de patrones de infiltración grasa muscular en diferentes miopatías. Sin embargo hay estudios que concluyen ciertas limitaciones para la definición de patrones de infiltración muscular en determinadas miopatías. Por otro lado se ha probado la utilidad de la misma para conocer y monitorizar la evolución de algunas miopatías. Además

se conoce que la TC muscular es una técnica útil para seleccionar el músculo idóneo si se desea realizar una biopsia muscular (116; 117;118).

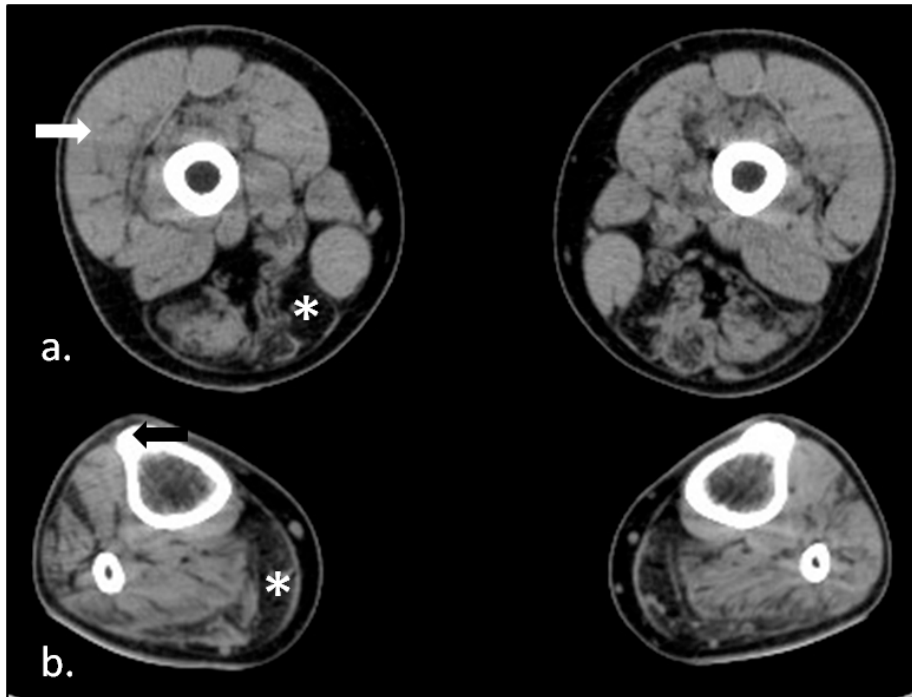


Figura 14. Imagen de TC muscular corte axial de muslo (a.) y pierna (b.) de un paciente con distrofia muscular Emery Dreifuss. La flecha blanca indica la isodensidad de un músculo sano. La flecha negra indica la hiperdensidad del hueso. El asterisco indica la hipodensidad visualizada en un músculo infiltrado por tejido adiposo.

Existen en la literatura varios trabajos que definen patrones de infiltración grasa muscular en diferentes miopatías demostrando así que la TC muscular es útil para el diagnóstico de determinadas miopatías hereditarias. Por ejemplo en el caso de las Distrofias musculares producida por mutación en el gen *DYSF* y en el gen *ANO5*. Estas son dos enfermedades clínicamente similares, pueden dar lugar tanto a un fenotipo LGMDs como dar lugar a una miopatía distal (Fenotipo *Miyoshi*). Se realizó un estudio con 34 imágenes (5 RMN y 29 TC musculares) y se observó que el patrón de infiltración grasa del músculo era similar en ambas enfermedades. Esta infiltración predominaba en glúteo, en el compartimento posterior de muslo y de la pierna. Llamó la atención que el músculo Gracilis no estaba infiltrado en estos pacientes,

como en muchas otras distrofias musculares. Además se observó que existía una pequeña diferencia en la frecuencia de afectación del compartimento anterior de la pierna y del músculo Recto Femoral, siendo más frecuente en la distrofia secundaria a la mutación en el gen *DYSF*. Además existía una mayor infiltración grasa de la Cabeza Corta del músculo Bíceps Femoral en el grupo de los pacientes con mutación en el gen de la *ANO5*. A pesar de ello concluyen que sólo son diferencias pequeñas y que debería completarse el estudio de este tipo de miopatías mediante el test genético (119).

Otro trabajo reciente estudió 70 TC de cuerpo entero en la FSHD, una de las miopatías que cursan con debilidad axial. En este trabajo se objetivó una infiltración grasa predominante en la musculatura del tronco, principalmente en la musculatura abdominal y extensora de la espalda (músculos Trapecio y Serrato). Además se pudo empezar a definir con más exactitud un patrón de infiltración muscular previamente observado en otros estudios. Este patrón presentaba una infiltración más frecuente y grave en el músculo Deltoides y Bíceps Braquial en extremidades superiores. El músculo Trapecio y el Latissimus Dorsal estaban infiltrados en más del 90% de estos pacientes. Y los músculos más frecuentemente infiltrados por grasa en extremidades inferiores fueron el Semimembranoso, el Adductor Mayor y el músculo Tibial Anterior. Se objetivó a su vez una asimetría en la infiltración predominando ésta en el lado derecho en los pacientes diestros, no siendo así en los zurdos sin encontrar explicación a este fenómeno. Un dato interesante de este trabajo fue la correlación inversa que se encontró entre el grado de infiltración grasa muscular en la imagen en extremidades inferiores y el tamaño del defecto genético. Este hallazgo indica que la longitud del defecto genético puede ser un factor implicado en la infiltración grasa de estos músculos (35).

Respecto a la EP, que es una de las miopatías estudiadas en el presente trabajo de tesis, se han publicado dos artículos sobre la TC muscular y la EP. Estos trabajos describen un patrón de infiltración grasa muscular mediante TC de extremidades y de cuerpo entero. Se objetivó una mayor infiltración grasa de la musculatura del tronco, en concreto de la musculatura paraespinal y abdominal y también del musculo Psoas en la cintura pelviana. En la musculatura del muslo se observó una mayor infiltración con respecto a la pierna y a la cintura escapular. En concreto en los músculos Semimembranoso, Semitendinoso y Cabeza Larga del Bíceps femoral los que se encontraban más infiltrados. Tras éstos la infiltración progresaba al Vasto medial y el músculo Adductor. Se observó un respeto de los músculos Tensor de la Fascia Lata, Cabeza Corta de Bíceps femoral, Gracilis y Sartorio. Además se observó una correlación positiva entre la debilidad muscular en la exploración física de los pacientes y el grado de infiltración grasa muscular (Figura 15) (117;120). Un trabajo publicado en 2010, detectó mediante TC muscular que en la EP de inicio en la juventud, el compartimento anterior del muslo y de la pierna (músculo Recto Femoral y Tibial Anterior) estaban infiltrados por grasa. Junto a esta infiltración se observaron áreas de densidad aumentada de forma difusa, que se correspondían histopatológicamente y mediante espectroscopia con un exceso de calcio acumulado en vacuolas. En cambio este fenómeno no ha sido descrito ni en la EP de la infancia ni en la de inicio tardío del adulto. En el último caso los autores hipotetizan que el almacenamiento de calcio en las vacuolas tiene su límite y que con el paso del tiempo este fenómeno radiológico e histológico se perdería a favor de la infiltración grasa y el deposito de glucógeno en el músculo (121). Hay pocos datos en referencia al seguimiento de los pacientes con EP y la TC muscular. Existe un

estudio de seguimiento de pacientes mediante TC muscular y de hígado, previa y posterior al tratamiento con ERT. En este la TC sólo mostró utilidad para la monitorización del tratamiento en el caso del hígado(122).

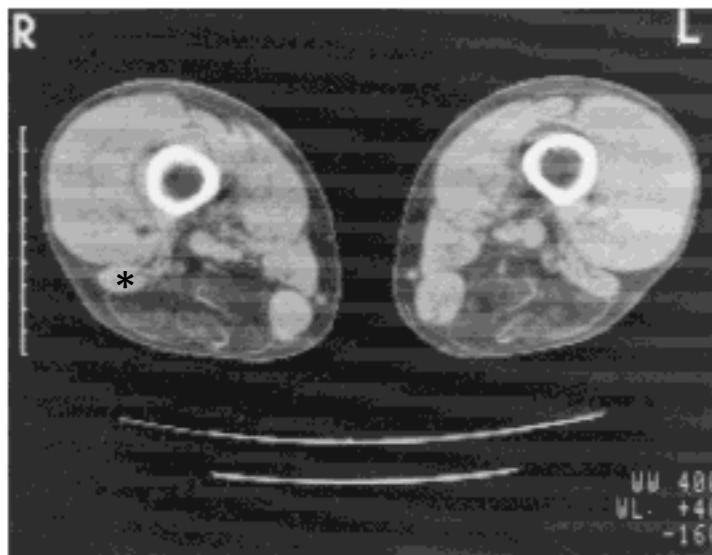


Figura 15. TC de paciente con EP, corte a nivel de ambos muslos. Se puede observar la infiltración grasa a nivel de los músculos Semimembranoso, Semitendinoso y Cabeza Larga de Bíceps femoral, con respecto de la Cabeza Corta de Bíceps femoral (*) (117).

Respecto a la imagen muscular mediante TC y las miopatías secundarias a mutación en el gen *LMNA* o en el gen *EMD*, existen pocos estudios publicados en la literatura. La serie estudiada más extensa hasta la fecha se publicó en 2010. Se describió el patrón de infiltración grasa muscular en RMN y TC muscular de extremidades inferiores en 22 pacientes de 5 familias con diferentes fenotipos de enfermedad producida por mutación en el gen de *LMNA*. Se objetivó en todos los pacientes una infiltración característica en piernas, ya descrita en otro trabajo, en el músculo Sóleo y Gastrocnemio Medial. Esta infiltración también se presentó en aquellos sujetos que no tenían afectación muscular desde el punto de vista clínico (Figura 16). También se objetivó una mayor infiltración grasa en el músculo Semimembranoso y en la Cabeza Larga del Bíceps Femoral. Además no se encontraron diferencias desde el punto de vista radiológico entre los diferentes fenotipos.

Se propugnó que aunque la TC muscular es menos precisa que la RMN en la detección de alteraciones musculares, en este estudio la TC muscular fue capaz de detectar alteraciones en el músculo esquelético incluso en pacientes sin debilidad muscular (123). Otro trabajo publicado el mismo año es el que reportó un estudio comparativo mediante TC muscular de extremidades superiores e inferiores entre la EDMD tipo 2 producida por mutaciones en el gen de la *LMNA* y la miopatía producida por mutaciones en los genes que codifican el Colágeno VI. Ambas son entidades clínicamente superponibles en pacientes que no presenten afectación cardiológica, debido a que son enfermedades que producen típicamente contracturas articulares y debilidad axial. Se pudo encontrar un patrón de infiltración grasa que diferenciaría estas dos entidades, debido a la presencia de infiltración en el músculo Recto Femoral en la colagenopatía la cual no estaba presente en la EDMD tipo 2. Además había una mayor infiltración en esta última del compartimento posterior de muslo y de la pierna. No se encontraron diferencias entre las patologías en la musculatura de extremidades superiores. Un fenómeno característico, que es la infiltración grasa en la zona central del músculo Recto Femoral en los pacientes afectados de colagenopatías, no se encontró en pacientes con EDMD tipo 2 (29). En 2009 se publicó un trabajo mediante TC muscular en 4 pacientes afectados de EDMD tipo 2. En todos los pacientes se encontró una infiltración grasa en la parte medial del Vasto Intermedio junto con infiltración del Vasto Lateral y Medial y la mayoría de la musculatura del compartimento posterior del muslo. Se observó un claro respeto del músculo Recto Femoral, siendo la edad y la severidad de la enfermedad irrelevante para este hecho (Figura 16). Estos datos sugirieron como nueva hipótesis que no todos los músculos se afectan por igual a pesar de tener la misma función y estar sometidos al mismo estrés, pudiendo ser un hecho debido a efectos proteómicos y transcriptómicos en cada músculo esquelético (124).

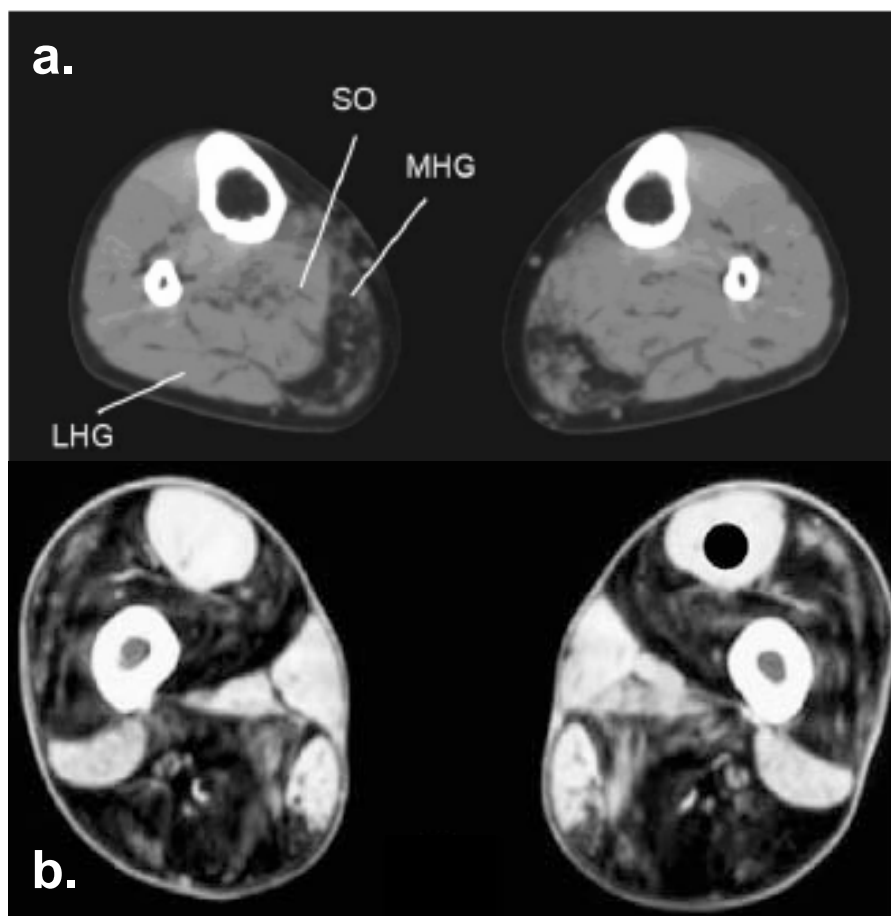
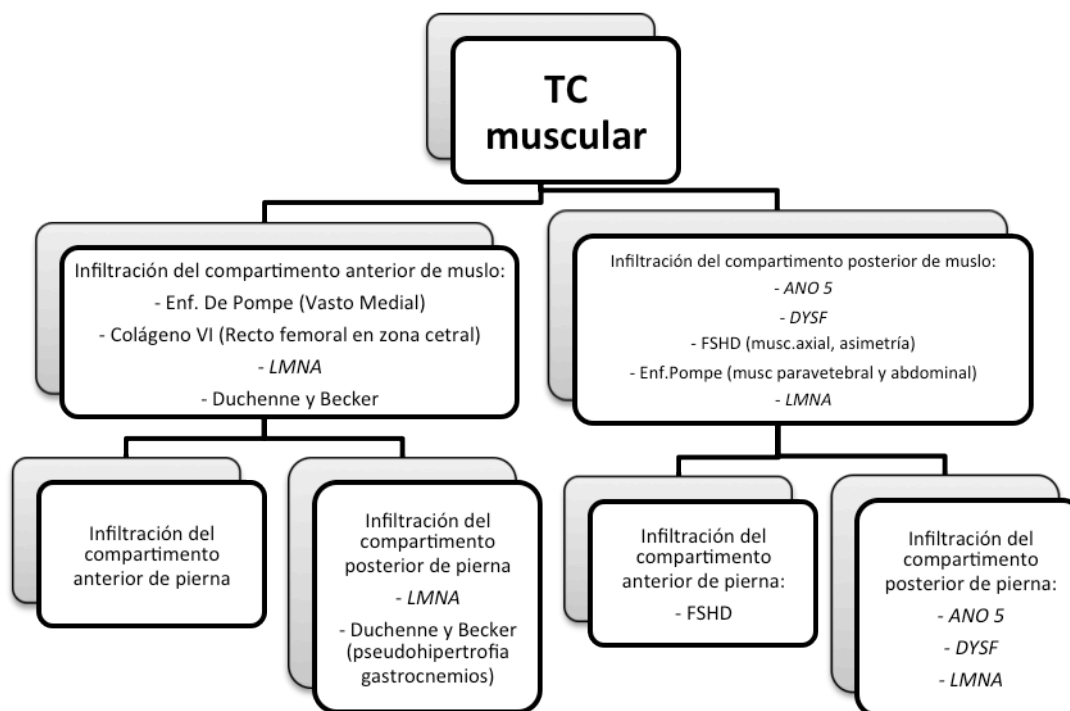


Figura 16. a. Corte de TC muscular a nivel de pierna de un paciente con miopatía secundaria a mutación en el gen de la *LMNA*, véase la infiltración grasa predominante en el musculo Soleo y Gastrocnemio Medial. b. Corte de TC muscular a nivel de muslo de un paciente con miopatía secundaria a mutación en el gen de la *EMD*, véase (Punto negro) el respeto selectivo por el musculo Recto femoral. (Imágenes modificadas 123; 124).

Así pues, podemos resumir que la TC muscular como todas las técnicas radiológicas descritas, cuenta con ventajas y desventajas. Se realizó un estudio en 2012 mediante TC muscular en diferentes LGMDs, con el objetivo de valorar si la TC muscular era una herramienta útil y reproducible para el diagnóstico de las mismas. Se concluyó que la TC muscular puede ser una herramienta útil asociada a la valoración clínica en la miopatía de Bethlem y en la Distrofia Muscular de Becker. En cambio la reproducibilidad interobservador, la especificidad y la sensibilidad del reconocimiento de un patrón de infiltración muscular específico mediante TC en diferentes LGMDs era peor de lo publicado en

otros trabajos de la literatura centrados de forma individual en cada LGMD (116). Esto hecho puede explicarse porque se han reportado varios estudios en los que se ha probado mayor sensibilidad para la evaluación de la musculatura con la RMN respecto a la TC muscular. A pesar de ello se ha probado que la TC muscular es capaz de identificar el 70% de los cambios radiológicos observados mediante la RMN muscular. Además debido a las contraindicaciones que tienen algunos pacientes para la realización de la RMN es necesario el uso de la TC muscular para la evaluación su musculatura esquelética (125;126).

Por otro lado mediante la radiología digital se ha conseguido reducir la dosis de radiación ionizante, a pesar de ello esta técnica usa radiación ionizante por lo que está en desventaja respecto a la RMN o a los ultrasonidos, principalmente en pacientes en edad pediátrica. La TC muscular es una técnica que permite una buena evaluación del músculo esquelético y su infiltración grasa en pacientes con miopatías. En cambio no es válida para evaluar los cambios inflamatorios que preceden a un músculo patológico de un paciente con distrofia muscular. En contrapartida consume menos tiempo que una RMN y se puede obtener rápidamente una TC de cuerpo entero o *Total Body*, aunque debido a la radiación precisada no es deseable usar esta técnica para este fin (96;97;127).



Resumen de patrones de infiltración muscular descrita mediante TC muscular. Entre paréntesis se describen datos claves en dichos patrones.

1.4.2 Resonancia magnética nuclear:

La RMN obtiene las imágenes derivadas de la energía que absorben los núcleos de los átomos al someterse a ondas electromagnéticas de radiofrecuencia, cuando estas ondas se disponen en un campo electromagnético. Esta energía se emite en forma de fotones de energía cuando el núcleo del átomo vuelve a su momento de relajación. Este fenómeno llamado resonancia magnética nuclear fue descrito en 1946, cuando se observó que los núcleos atómicos al someterse a un campo magnético eran capaces de absorber las ondas de radio en unas determinadas frecuencias, siendo características de cada núcleo. Tras este descubrimiento, este fenómeno se comenzó a aplicar en tejidos vivos encontrándose diferencias entre los parámetros de RMN de tejidos sanos y tumorales. Los primeros escáneres para la exploración humana datan de 1978. La frecuencia aplicada a la onda de radiofrecuencia dependerá del elemento químico que se

desea que entre en resonancia. En el caso de exploraciones humanas se elige el Hidrógeno como elemento químico, ya que es uno de los más frecuentes en la composición de nuestros tejidos. (96;97;128).

La RMN posee ventajas frente a otras técnicas de imagen como la radiología convencional, los ultrasonidos y la TC. Se debe a su mejor resolución ya que produce imágenes de elevado contraste y a su capacidad multiplanar, permitiendo así la valoración tridimensional de cualquier parte del cuerpo. A su vez es posible la administración de contrastes paramagnéticos mejorando así la calidad de la imagen. Además la RMN no utiliza radiación ionizante y tampoco se han objetivado efectos nocivos en campos paramagnéticos inferiores a 2 Tesla. En contrapartida es una técnica que consume más tiempo que otras pruebas de imagen y está contraindicada en pacientes portadores de marcapasos, clips de aneurismas intervenidos y en pacientes claustrofóbicos.

Así pues la RMN se ha propugnado como una excelente técnica para el estudio del músculo esquelético. Principalmente evalúa el agua y el tejido graso. Estas dos son las principales fuentes de señal en RMN y los principales cambios que se producen en un músculo patológico, pero pueden evaluar otros aspectos en el músculo como es la oxigenación o el tejido fibrótico. Además de la evaluación de los cambios patológicos, nos permite identificar el músculo ideal para realizar una biopsia muscular. En la actualidad, gracias a los métodos de evaluación cuantitativa de la imagen muscular se esta estudiando como herramienta útil para la monitorización de la evolución de miopatías y de la respuesta a sus tratamientos (129).

Para la evaluación muscular mediante RMN se utilizarán diferentes secuencias según sus tiempos de relajación. Además se aplicarán parámetros extrínsecos para potenciar las diferencias de composición entre los tejidos como son el tiempo de repetición (TR) que es el tiempo entre dos pulsos de excitación, el tiempo de eco (TE) que es el tiempo entre la aplicación del pulso de 90° y el máximo del eco y el ángulo de inclinación (Figura 17 y 18). (96;97;102;127;128;130;131;132;133;134;135;136).

Así pues obtendremos diferentes imágenes de un mismo músculo, según los parámetros aplicados:

- Imágenes en secuencia T1-Weighted o de refuerzo del tiempo de relajación longitudinal T1: Estas imágenes están obtenidas con un TR y TE corto. En esta secuencia las estructuras que contienen tejido adiposo son hiperintensas. Es decir la grasa es brillante, debido a que el TR en T1 de la grasa es relativamente corto, le cuesta poco liberar la energía. El músculo esquelético sano es oscuro/isointenso en T1, debido a que su TR es mayor. El TR del agua es muy largo por lo que le cuesta liberar la energía y por lo tanto el agua se visualiza iso o hipointensa. La T1 es la secuencia considerada como la más idónea para la evaluación anatómica y la valoración de la infiltración del músculo por tejido graso. La cuantificación cualitativa mediante imagen muscular de la infiltración de tejido adiposo en el musculo esquelético se describe en la tabla 1.

- Imágenes en secuencia 3 point Dixon: Es una secuencia superior a la T1 para la valoración cuantitativa del depósito de tejido adiposo en el musculo esquelético. Se obtienen tres imágenes en tres tiempos diferentes (2 imágenes en los que la grasa y el agua están en la misma fase y una en la que están en diferente fase). Con esta secuencia se puede obtener un

porcentaje de señal del agua y la grasa contenida en una determinada área de la imagen. Al ser una cuantificación objetiva es idónea para la valoración de la progresión de infiltración grasa de un músculo, siendo este un buen predictor de la progresión de enfermedad muscular (137; 138).

- Imágenes en secuencia T2 o de refuerzo del tiempo de relajación transversal T2 : Estas imágenes están obtenidas con un TR y TE largos. En esta secuencia el agua se va a ver hiperintensa y será posible distinguirla de la grasa siempre y cuando su T2 sea más del doble que el de la grasa, cosa que es poco frecuente. Por lo tanto distinguir el músculo con edema del infiltrado por grasa es difícil en esta secuencia. Aun así algunos autores la recomiendan para la valoración de la inflamación o el edema que se produce como cambio patológico en el músculo esquelético, además de para valorar necrosis del musculo esquelético.

- STIR (*short TI inversión recovery*) secuencia en supresión grasa: Se basa en la supresión de la relajación longitudinal de la grasa, que observa hipointensa. Muy útil para valoración de la inflamación o edema del músculo esquelético (hiperintenso). Esta secuencia resuelve el inconveniente que tiene la secuencia T2.

- Imágenes con contraste paramagnético: El más usado es el Gadolinio-DTPa, que potencia imágenes en T1. El músculo esquelético patológico sea cual sea la lesión que presente captará gadolinio, es decir se acumulará gadolinio en la lesión y obtendremos una imagen hiperintensa.

Grado	D. Fischer.
0	Apariencia normal del músculo
1	Discreto patrón apolillado o <i>moth eaten</i> . Pequeñas áreas hiperintensas en secuencia T1 muy dispersas.
2	Infiltración en forma de patrón <i>moth eaten</i> , con pequeñas áreas hiperintensas, que comienzan a confluir y que compromete menos del 30% del volumen del músculo.
3	Infiltración moderada. Patrón <i>moth eaten</i> , con numerosas áreas hiperintensas, que confluyen y que compromete del 30% al 60% del volumen del músculo.
4	Infiltración severa. Patrón <i>Washed out</i> , debido a la confluencia de las áreas hiperintensas. El músculo se encuentra reemplazado por tejido de aspecto hiperintenso que corresponde a tejido adiposo y conectivo y solo se pueden distinguir un halo de fascia y estructuras neurovasculares.

Tabla 1. Escala establecida para valorar la patología muscular en MRI en pacientes con distrofias musculares según el grado de infiltración grasa en el músculo esquelético. Modificación de escalas previas utilizadas por Mercuri y Kornblum (¹³⁹).

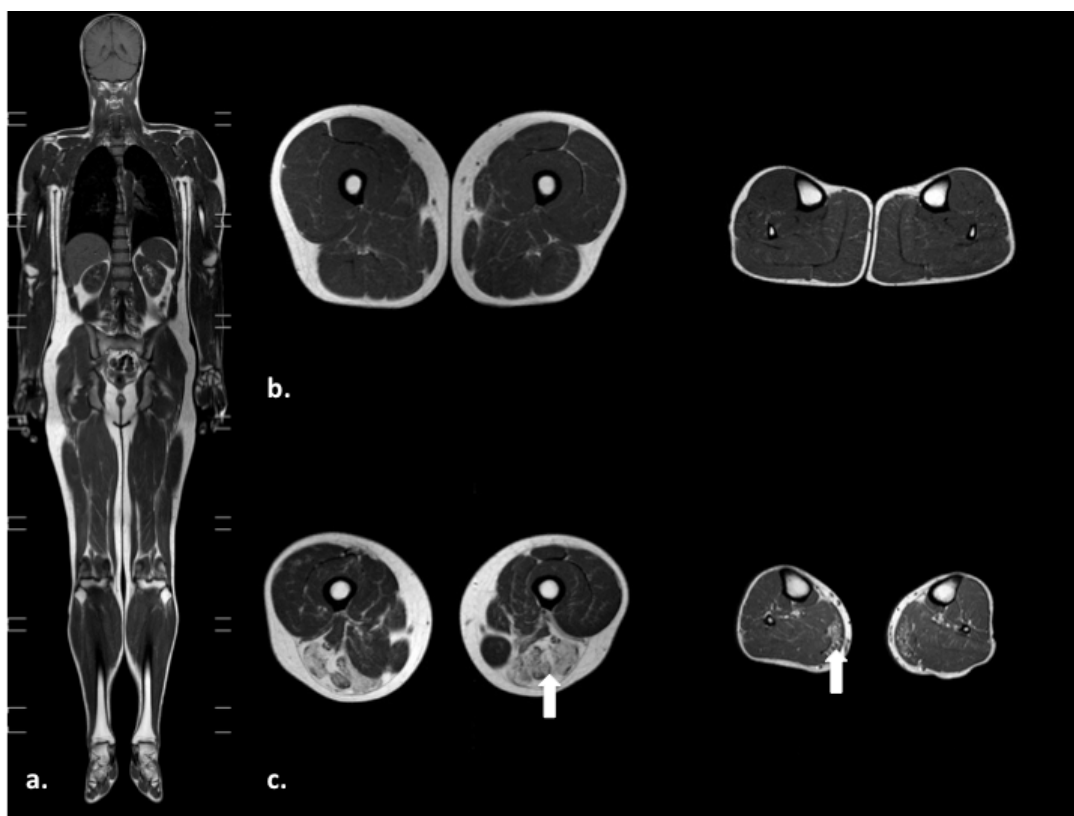


Figura 17. a. Imagen de RMN muscular *whole body*, corte coronal en secuencia T1-Weighted. b. Imagen de RMN muscular, corte axial en secuencia T1-Weighted a nivel de muslo y pierna de músculo sano. c. Imagen de RMN muscular, corte axial en secuencia T1-Weighted a nivel de muslo y pierna de un paciente con miopatía, véase la hiperintensidad de la infiltración grasa en músculo (flecha).

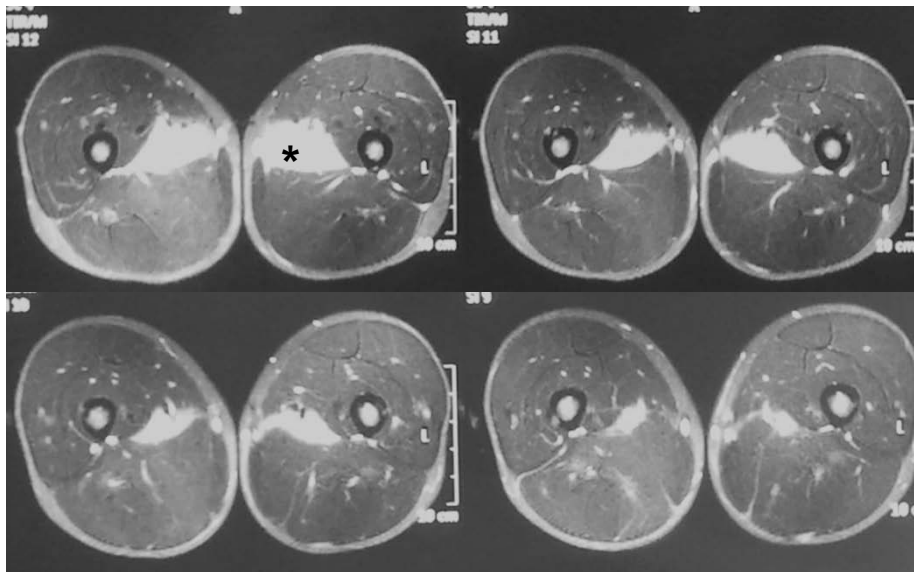


Figura 18. Imagen de RMN muscular, corte axial a nivel de muslo en secuencia T2, véase imagen hiperintensa en los músculos abductores sugestivo de edema muscular (*).

Como ya se ha mencionado antes la RMN muscular se ha convertido en una prueba complementaria útil para el estudio de las enfermedades musculares esqueléticas. En la literatura se encuentran descritos patrones de infiltración grasa muscular en determinadas miopatías, que ayudan a guiar el estudio genético a realizar. Estos patrones son definidos en RMN muscular de extremidades inferiores, superiores o en imágenes de cuerpo entero (102;129;131;136;140;141;142;143;144;145;146;147).

1.4.2.1 RMN muscular en las distrofias musculares congénitas:

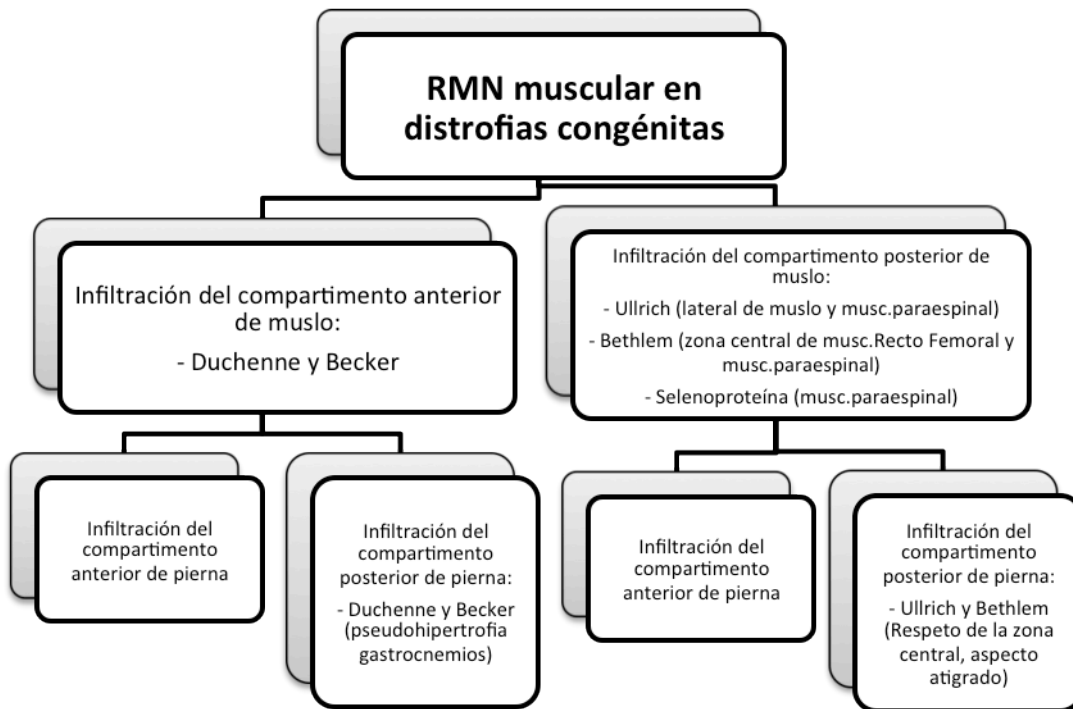
- Un patrón ya bien conocido es el de la Distrofia congénita tipo Ullrich, producida por un defecto en el colágeno VI y que cursa con debilidad axial y espina rígida. Presenta una infiltración del músculo Tríceps Braquial, Subescapular, Deltoides, de la musculatura extensora lumbar y del glúteo. Es típica la infiltración difusa del compartimento posterior y lateral del muslo con respeto de los músculos Sartorio, Gracilis y Adductor y en ocasiones del músculo recto femoral. Es característica la imagen de infiltración grasa en la

periferia de los músculos con respecto de la parte central principalmente visualizada en los músculos Gastrocnemios y Sóleo. Además estos músculos se ven infiltrados por bandas, adoptando una imagen de infiltración atigrada. Este mismo patrón lo sigue otra miopatía producida por mutación en el colágeno VI, la miopatía de Bethlem. En esta miopatía además podemos encontrar una sombra interna en el músculo recto femoral producida por una infiltración grasa central del mismo (140;142;144;148).

- La distrofia muscular congénita secundaria a mutación en el gen que codifica la Selenoproteína, clínicamente se presenta con espina rígida. Se ha descrito un patrón de infiltración predominante del músculo ECM, de la musculatura paraespinal, intercostal, abdominal y glútea y del músculo Sartorio y Semimembranoso. (17260395, 22980770, 22980768, 20225280, 25808192, 25808192)

- En la distrofia muscular de Duchenne y Becker que también pueden cursar con debilidad axial, existe una infiltración del compartimento anterior del muslo, que lo hace distinguible de otras distrofias de cinturas que cursan con hipertrofia de gemelos. En el caso de la distrofia de Duchenne, la RMN puede ser normal en etapas iniciales de la enfermedad pero posteriormente hay una infiltración progresiva en los músculos. Se inicia en los músculos Glúteo Mayor, Adductor Mayor y Gastrocnemio. Conforme avanza la enfermedad se infiltran los músculos Cuádriceps, Recto Femoral y Bíceps Femoral. En fases iniciales además es interesante ver las secuencias T2 o STIR donde se puede observar algunos músculos con edema antes de ser reemplazados por tejido adiposo o fibroso. En el caso de la distrofia de Becker se objetivó una infiltración más frecuente y grave en los músculos Glúteo Mayor y Medio, el Adductor Mayor, la Cabeza Larga del músculo Bíceps Femoral y el músculo Semimembranoso. La infiltración es de forma simétrica.

En los últimos años se han publicado varios trabajos en los que se utilizan diferentes parámetros de secuencias de RMN para evaluar la progresión de la distrofia muscular de Duchenne y su respuesta al tratamiento (136;142;143;148;149;150;151;152).



Resumen de patrones de infiltración grasa muscular descrita en distrofias musculares congénitas mediante RMN muscular . Entre paréntesis se describen datos claves en dichos patrones.

1.4.2.2 RMN muscular en las distrofias de cinturas (LGMDs):

Respecto a las LGMDs, que como su nombre indica cursan con debilidad de cinturas, existen diferentes trabajos publicados en los que se pretende definir el patrón radiológico de algunas de ellas. Hay autores que tras un estudio con TC y RMN propugnan que existe una variabilidad importante de patrones de infiltración grasa en las LGMDs. Además concluyen que se necesitan más estudios para determinar si la imagen muscular es una herramienta útil para el diagnóstico de este tipo de distrofias (116;153).

En resumen los últimos trabajos publicados en algunas de las LGMDs han definido los siguientes patrones (102;131;136;139;140;141;148;153;154;155;156;157;158;159;160; 161):

- LGMD1A/Miotilinopatía: Existe una infiltración predominante en los músculos Adductor Mayor, Bíceps Femoral, Vasto Medial e Intermedio y del Semimembranoso. También hay infiltración del compartimento posterior de las piernas.
- LGMD1C/Caveolinopatía: Principalmente hay una infiltración grasa en los músculos Recto Femoral, Adductor y Gastrocnemio Medial.
- LGMD1F/Transportina 3: Existe una infiltración grasa predominante en extremidades inferiores, siendo los músculos más infiltrados el Vasto Lateral, Gastrocnemios y Sóleo.
- LGMD2A/Calpainopatía: Esta distrofia también cursa con debilidad axial. Existe una infiltración predominante de los músculos Glúteos y del compartimento posterior del muslo principalmente del músculo Semimembranoso y Adductor. Además se puede observar infiltración de los músculos Gastrocnemio Medial y Sóleo. Un dato interesante es que la infiltración grasa puede comenzar en la periferia del muslo como ocurre en las colagenopatías.
- LGMD2B/Disferlinopatía: Esta distrofia también puede presentar debilidad axial. Además este tipo de distrofia se puede presentar como fenotipo de distrofia de cinturas o como fenotipo distal (Miyoshi). No se han observado diferencias en el patrón de infiltración mediante RMN entre ambos fenotipos. Existe una infiltración de los músculos Adductor Mayor, Semimembranoso y del Vasto Lateral. También se infiltran los músculos Sóleo y Gastrocnemios siendo estos últimos los que primero se afectan. En

la cintura escapular y tronco hay una infiltración predominante de los músculos Subescapular, Latísimo Dorsal, Pectoral y Oblícuo externo. Este patrón puede aparecer de forma asimétrica. Además en etapas tempranas de la enfermedad o en pacientes paucisintomáticos se ha objetivado hiperintensidad en la secuencia STIR de los músculos Adductor Mayor y Gastrocnemio Medial, sugiriendo edema muscular como inicio de la enfermedad.

- LGMD2C-F/Sarcoglicanopatía: En estos pacientes hay una infiltración grasa del muslo predominante en el compartimento anterior junto con hipertrofia de los músculos Recto Interno y Sartorio. Respecto a las piernas se ha visto una infiltración inconstante de los músculos Tibial Anterior, Peroneos y Gastrocnemios.

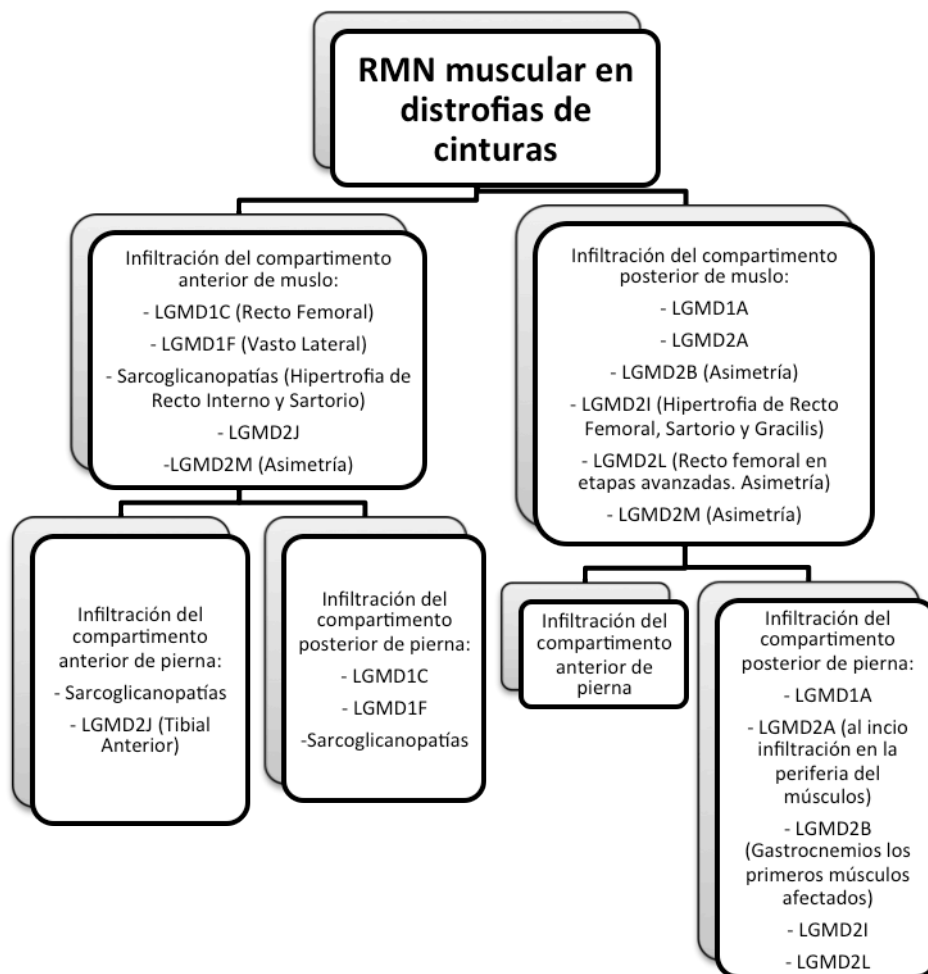
- LGMD2I/FKRP: Es una distrofia ampliamente estudiada a nivel radiológico. En la cintura pelviana y el muslo presenta una infiltración predominante de los músculos Glúteos, Adductor, Cabeza Larga del Bíceps Femoral, Semimembranoso y del Semitendinoso. El músculo Vasto Lateral se infiltra en menor grado y frecuencia iniciándose esta misma en la zona medial del músculo. Además existe una hipertrofia de los músculos Sartorio, Gracilis y del Recto Femoral. En las piernas la infiltración se inicia en los músculos Sóleo y Gastrocnemio Medial con posterior infiltración del compartimento anterior. Interesante es la diferencia reportada que existe entre género, siendo difusa la infiltración de ambos músculos Gastrocnemios en mujeres y más pronunciado en Gastrocnemio Medial en hombres. El Vasto Medial en varones se encuentra más infiltrado que el Vasto Lateral y al contrario ocurre en el género femenino. En cintura escapular y tronco existe una infiltración predominante de los músculos Pectoral, Serrato Anterior y Latísimo Dorsal.

- LGMD2J/Titinopatía: En esta distrofia la infiltración grasa comienza en el músculo Tibial Anterior, seguido de infiltración del compartimento anterior del muslo.
- LGMD2L/Anoctamina 5: Al igual que la disferlinopatía esta distrofia se puede presentar como fenotipo de distrofia de cinturas y como fenotipo distal (Miyoshi), sin existir diferencias a nivel de los patrones radiológicos. Esta distrofia se describe con infiltración predominante en el compartimento posterior del muslo, en concreto en los músculos Adductor Mayor, Semimembranoso y Semitendinoso. En etapas avanzadas se infiltra de forma parcheada el músculo Recto Femoral. En pierna hay una infiltración del compartimento posterior, principalmente de los músculos Gastrocnemio Medial y Sóleo. La infiltración muscular puede ser asimétrica. En etapas tempranas de la enfermedad se puede encontrar en la secuencia STIR hiperintensidad del músculo Adductor y del compartimento posterior del muslo antes de identificar cambios en la secuencia T1.
- LGMD2M/Fukutina: Son escasos los datos en la literatura pero se conoce que existe mayor infiltración de los músculos Bíceps Braquial, Adductor Mayor, Vasto Medial e Intermedio y Bíceps Femoral de forma claramente asimétrica.

1.4.2.3 RMN muscular en otros tipos de distrofias que cursan con debilidad de cinturas y axial:

- Distrofia oculofaríngea: caracterizada por debilidad proximal, ptosis, oftalmoparesia y disfagia. Se ha descrito que los músculos principalmente infiltrados son la lengua, el Masetero, la musculatura del cuello, de la cintura escapular, paraespinales lumbares, Glúteos, Adductor, Bíceps Femoral, Semimembranoso y

Sóleo. Posteriormente se infiltran los músculos Gastrocnemio Medial y Lateral. Cuando el músculo Vasto Intermedio se ve infiltrado comienza por la parte más profunda, alrededor del fémur (102;162).



Resumen de patrones de Infiltración muscular descrita en distrofias musculares de cinturas mediante RMN muscular . Entre paréntesis se describen datos claves en dichos patrones.

- FSHD: El patrón de infiltración grasa valorado mediante RMN muscular ya ha sido bien definido. Existe una infiltración predominante y típicamente asimétrica de los músculos Semimembranoso, Bíceps Femoral, Semitendinoso y Adductor en el área del muslo. En algunos pacientes es típico encontrar

infiltración del músculo Recto Femoral. A nivel de la pierna los músculos más infiltrados son el Tibial Anterior, Gastrocnemio Medial y Sóleo. En el área de la cintura pélvica y tronco existe una infiltración de la musculatura paraespinal y de los músculos Oblícuo Abdominal y Glúteos Mayor y Medio. En cintura escapular, además existe una infiltración predominante de los músculos Trapecio, Serrato Anterior y Terres Mayor. Todo ello hace sensible a la RMN para diferenciar esta distrofia de otras clínicamente similares. Sobretudo si se observa un respeto de los músculos Infraespinoso, Supraespinoso y Escaleno. Cabe destacar que en un estudio de seguimiento mediante RMN muscular se objetivó que los primeros cambios se encontraban en secuencias STIR. Esta secuencia presentaba una hiperintensidad de aspecto multifocal en la musculatura abdominal y el músculo Iliopsoas. Posteriormente se podía ver la infiltración grasa de los mismos músculos en la secuencia T1 (36;102;140;163).

1.4.2.4 RMN muscular en canalopatías y miopatías con miotonía (36;136;140;164;165;166):

- Distrofia miotónica tipo I: Una de las distrofias más conocida desde el punto de vista clínico y radiológico. Existe una infiltración de tejido graso en el compartimento anterior del muslo en forma de media luna, con respeto del músculo Recto Femoral. En piernas los músculos Gastrocnemios son los más frecuentemente infiltrados. En extremidades superiores es la musculatura distal la más afecta, con predominancia de los músculos Flexor Pollicis Largo, Abductor Pollicis Largo y el Extensor Común de los Dedos. En 2012 se publicó un estudio sobre la evaluación cuantitativa mediante RMN en este tipo de distrofia, concluyendo que el estudio mediante 3 diferentes técnicas cuantitativas es útil para conocer la evolución y la historia natural de la enfermedad además su respuesta a terapias emergentes.

- Distrofia miotónica tipo II: En esta distrofia existe una infiltración predominante de la musculatura erectora espinal y de los músculos Glúteos. En menor grado hay infiltración de la musculatura proximal del muslo principalmente del Cuádriceps, con respeto del músculo Recto Femoral y Gracilis. Además se encuentra un cierto respeto de la musculatura de la pierna.

- Parálisis periódica hiperkaliémica: Producida por mutaciones en el gen codificante para el canal del sodio. Esta miopatía se caracteriza por crisis de debilidad aguda recurrente. Algunos pacientes pueden desarrollar una debilidad muscular fija. Se ha descrito una serie de casos evaluados mediante RMN muscular, en la que se describe una infiltración progresiva conforme avanza la enfermedad. Se produce en el compartimento posterior de las piernas y anterior del muslo. En todos los pacientes se encontró un respeto de la musculatura de extremidades superiores.

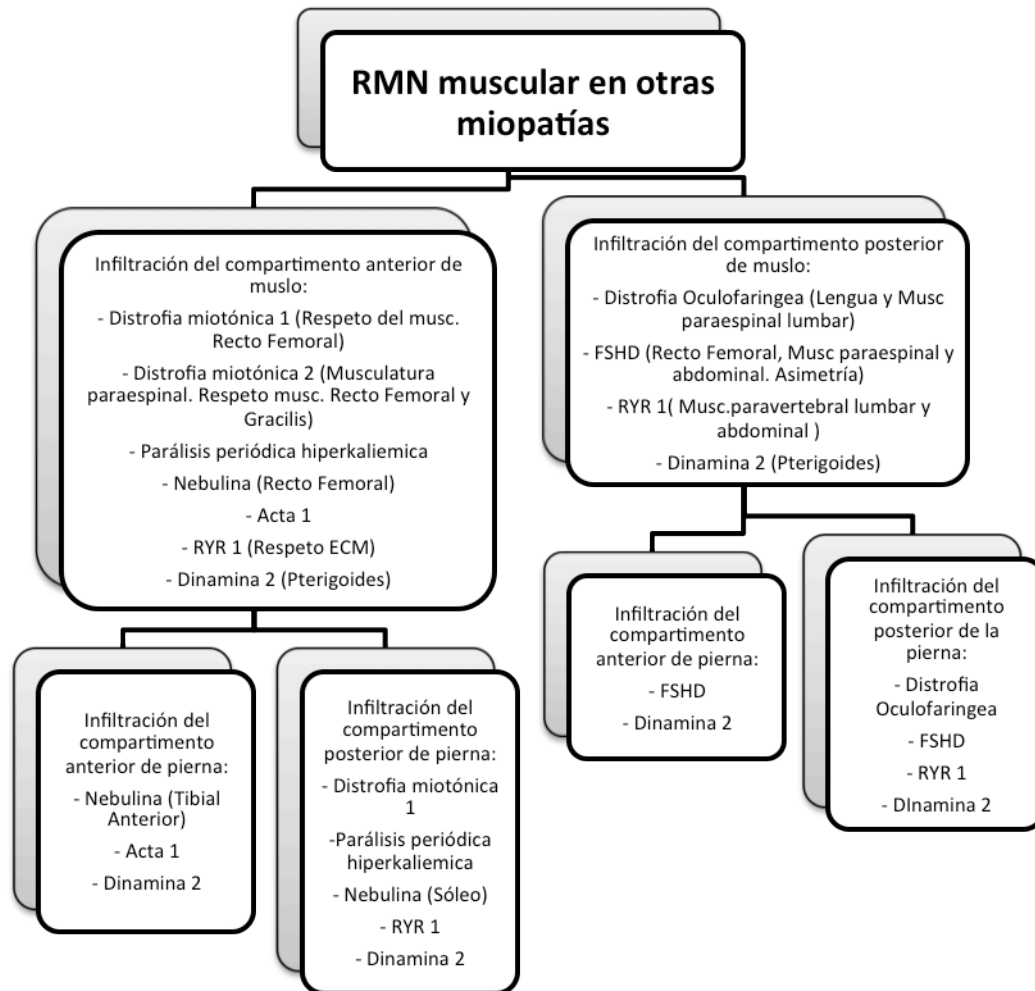
1.4.2.5 RMN muscular en la miopatías congénitas que pueden cursar con debilidad axial y proximal:

Existen varios patrones de infiltración muscular definidos mediante RMN muscular (102;140;144;148).

- Miopatía Nemaínica: En dicha miopatía hay una heterogenicidad descrita desde el punto de vista radiológico, debido a los diferentes fenotipos y genes implicados en este tipo de miopatía. En la producida por mutación en el gen que codifica la Nebulina, hay autores que describen una infiltración difusa del muslo. Otros autores sólo objetivan una infiltración grasa del músculo Recto Femoral, con afectación temprana del músculo Tibial Anterior y Sóleo. En la miopatía secundaria a mutaciones en el gen ACTA1, existe una infiltración difusa del compartimento anterior del muslo y de la pierna.

- Miopatía Central Core: En la miopatía producida por mutaciones en el gen RYR1, existe una infiltración grasa muscular difusa. La infiltración se extiende a los músculos de extremidades superiores, la musculatura facial y de cinturas, destacando la infiltración de los músculos Bíceps Braquial, Latísimo Dorsal, Serrato, Subescapular y en la cintura pelviana de los músculos Iliopsoas y Glúteos. Además existe una infiltración de la musculatura paravertebral lumbar y abdominal. Se pudo observar una infiltración en la musculatura de extremidades inferiores, principalmente de los músculos Vasto Lateral, Vasto Medial, Adductor Mayor, Semimembranoso, Tibial Posterior y Sóleo. Característicamente existe un respeto del músculo Recto Femoral, Adductor Largo y del ECM. El ECM puede servir para distinguirla de la miopatía producida por mutación en el gen que codifica de la selenoproteína.

- Miopatía Centronuclear: En la miopatía producida por mutación en el gen que codifica de la Dinamina 2 se ha visto una infiltración grasa en el musculo Pterigoides. Además se objetivó infiltración de la musculatura profunda del antebrazo. En cuanto a las extremidades inferiores había mayor infiltración a nivel del muslo que de las piernas, a excepción de los músculos Semimembranoso y Semitendinoso. En cambio otros autores describen mayor infiltración grasa en los músculos Recto Femoral, Adductor Largo, Semimembranoso, Bíceps Femoral, Tibial Anterior y Posterior, Sóleo y Gastrocnemios.



Resumen de patrones de Infiltración muscular descrita en otras miopatías mediante RMN muscular . Entre paréntesis se describe datos claves en dichos patrones.

A continuación se describen los conocimientos existentes a nivel de RMN muscular de las miopatías que se han estudiado en esta tesis (136;140):

1.4.2.6 Enfermedad de Pompe del adulto:

En 2003 Pichiecchio y colaboradores publicaron un trabajo realizado en 11 pacientes sintomáticos con EP del adulto. Fueron evaluados mediante RMN muscular de extremidades inferiores y además en 7 de ellos estudiaron el área del tronco. Se observó que

la mayor infiltración grasa la presentaban a nivel del muslo, en fases iniciales de la enfermedad se infiltraban con mayor frecuencia y severidad los músculos Adductor Mayor y Semimembranoso. Estos músculos eran seguidos de la infiltración de la Cabeza Larga del Bíceps Femoral, del Vasto Medial y del Intermedio. A nivel de la pierna era escasa la infiltración que se observó, y si existía era infiltración leve en los músculos Gastrocnemio medial y Sóleo. Se encontró un respeto de los músculos Sartorio, Gracilis y Cabeza Corta del Bíceps Femoral. Además se objetivó infiltración grasa de la musculatura paraespinal lumbar, en concreto de los músculos Erector Espinal, Multifidus y también de los músculos Glúteos, Psoas y Tensor de la Fascia Lata de forma heterogénea y no consistente. A su vez se encontró una correlación positiva entre el grado de infiltración grasa muscular y la debilidad muscular examinada desde el punto de vista clínico (145). En 2011 Carlier y colaboradores publicaron un trabajo realizado en 20 pacientes afectos de EP del adulto en diferentes estadios clínicos. Fueron evaluados mediante RMN muscular Total Body en un dispositivo de 1.5 y de 3 Tesla. En este estudio se encontró una infiltración característica de la lengua en todos los estadios de la enfermedad. También había infiltración de la musculatura extensora del cuello. Se encontró una infiltración difusa de la musculatura de la cintura escapular, principalmente de los músculos Subescapular y Serrato Anterior ya en los estadios iniciales de la enfermedad, con infiltración de los músculos Trapecio y Latísimo Dorsal en estadios finales. Interesante fue la infiltración difusa y en todos los estadios de la enfermedad de la musculatura lumbar extensora, del cinturón abdominal y del músculo Psoas. Se corroboraron datos ya descritos como la mayor infiltración de la musculatura glútea y de los músculos Adductor Mayor, Semimembranoso, Bíceps Femoral y Semitendinoso. La músculos menos infiltrados en muslo fueron el Sartorio, Gracilis y Recto Femoral. El área de la pierna se

encontraba infiltrada en estadios finales de la enfermedad principalmente los músculos Gastrocnemios y Tibial Anterior. Por otro lado no encontraron diferencias para la evaluación muscular según si se había realizado con un dispositivo de 1.5 o de 3 Tesla. Así pues este grupo concluyó que la RMN muscular fue útil para definir un patrón radiológico característico sugestivo de EP (infiltración de la lengua, la cintura escapular y pelviana y la musculatura de tronco). Además se concluyó que era útil para evaluar los primeros cambios musculares producidos en etapas tempranas de la enfermedad y para describir el patrón evolutivo de la infiltración de la musculatura en la progresión de la enfermedad. Sin embargo este estudio no incluyó pacientes asintomáticos y tampoco definió a pesar de la importancia que los autores dieron a este hecho, los diferentes músculos del tronco que se encontraban infiltrados por grasa. Desde el punto de vista del tratamiento se ha hipotetizado que la RMN muscular puede ser un marcador que indique cuando iniciar el tratamiento sustitutivo, principalmente en pacientes asintomáticos (167).

1.4.2.7 Miopatía producida por mutación en el gen *LMNA* y *EMD*:

En 2002 se publicó un estudio realizado en pacientes con EDMD tipo 2 y su evaluación mediante RMN muscular de extremidades inferiores. Dichos pacientes fueron comparados con 7 pacientes con EDMD ligado al X secundaria a mutaciones en el gen de la EMD y otros tres pacientes con fenotipo EDMD sin mutaciones en ninguno de los dos genes. En este estudio se encontró, sólo en los pacientes con EMD tipo 2, una infiltración grasa en el área del muslo en concreto en la Cabeza Larga del músculo Bíceps

Femoral, Vasto Lateral e Intermedio y en el músculo Adductor Mayor. Además el grado de la infiltración y su frecuencia era muy heterogéneo. También en los pacientes con EMD tipo 2 se encontró una infiltración grasa predominante en los músculos Gastrocnemios siendo el primer infiltrado y de forma más severa el Gastrocnemio Medial, seguido posteriormente por el Lateral. Además en algunos pacientes se encontró una infiltración leve del compartimento anterior de la pierna. Este hallazgo no se objetivó en los otros dos grupos de pacientes. En el grupo de los pacientes con EDMD ligado al X se encontró una preferencia de infiltración del músculo Sóleo, por lo que se concluyó que la RMN podría ser útil para el diagnóstico diferencial entre los pacientes que presentan un fenotipo de EDMD. Cabe destacar que este es el único trabajo que realiza la comparativa mediante imagen de las los dos tipos de EDMD según su mutación en el gen *LMNA* o *EMD*. (168). En 2008 Carboni y colaboradores en 2008 reportaron una familia con mutación en el gen de *LMNA* y afectación cardíaca sin clínica muscular asociada. Todos los pacientes tenían una infiltración grasa parcheada en RMN, siendo los pacientes de mayor edad los que tenían más infiltración. Todos los pacientes tenían infiltración de la musculatura de las piernas que comprometía principalmente al músculo Sóleo y posteriormente al músculo Gastrocnemio Medial y en menor medida al Lateral. En cintura pelviana y muslo se objetivó que los músculos Glúteos, Aductor Mayor, Largo, los Vastos, el Semimembranoso y la Cabeza Larga del Bíceps Femoral se encontraban infiltrados en diferentes grados de severidad. Además se observó que existía una reducción del tejido graso subcutáneo de forma generalizada en 5 de los 7 individuos. Así se comprobó que los pacientes asintomáticos desde el punto de vista de la patología muscular también presentaban

cambios en la radiología muscular, siendo la RMN una herramienta útil para evaluar dichos cambios (169). En 2010 el mismo grupo publicó otro trabajo, en el que se evaluó mediante RMN y TC muscular a 22 individuos con diferentes mutaciones en el gen *LMNA* y diferentes fenotipos. Incluyeron también pacientes asintomáticos desde el punto de vista muscular. Todos los pacientes presentaban el mismo patrón que estaba descrito hasta ese momento en la literatura. Había una infiltración grasa muscular en el área de las piernas, mientras que la infiltración muscular en muslos era variable entre individuos. Todo ello sugirió un continuum de afectación muscular en piernas independiente del fenotipo de los pacientes (123). De nuevo Carboni en 2012 describió las alteraciones encontradas mediante RMN muscular en 5 pacientes, pero a diferencia de los trabajos anteriores estos presentaban una EDMD producida por mutación en el gen *EMD*. A nivel del área de la pierna se observó una infiltración grasa, al igual que en los pacientes con mutación en el gen de *LMNA*, del músculo Sóleo y del Gastrocnemio Medial principalmente, independientemente de la severidad de la clínica muscular del paciente. En el área del muslo había una infiltración en el músculo Semimembranoso en todos los pacientes y en dos de ellos además había infiltración concomitante de los músculos Vastos, Adductor Mayor y Cabeza Larga del Bíceps Femoral (170). En la literatura también existen varios trabajos que no se centran exclusivamente en estas dos patologías pero que describen brevemente algunos hallazgos encontrados en RMN muscular en pacientes con mutaciones en el gen *LMNA*. En ellos se ha demostrado también la infiltración de la musculatura paravertebral y del cuello y en pacientes pediátricos incluso pueden tener una infiltración generalizada de toda la musculatura a excepción de la musculatura del antebrazo (123;140;142;144; 148).

En la actualidad en lo que se refiere a las enfermedades musculares hereditarias, podemos contar con pruebas complementarias más allá de la clínica presentada por el paciente. Estas pruebas nos ayudan a realizar un diagnóstico más preciso. Un ejemplo es la imagen muscular, principalmente la TC muscular y la RMN muscular, que como ya hemos visto en algunas miopatías, es útil para describir patrones de infiltración muscular que nos puedan orientar hacia un tipo de patología muscular concreta y nos guíe hasta el diagnóstico definitivo. También son de utilidad para la selección del músculo más rentable a biopsiar y para conocer la evolución o historia natural de determinadas enfermedades musculares además de para valorar la respuesta a determinados tratamientos (102;131;132;133;135). Sin embargo, hoy en día los estudios existentes para conocer los patrones de infiltración radiológicos que presentan determinadas miopatías son escasos y realizados sobre un número pequeño de pacientes. Posiblemente esto es debido a que son enfermedades denominadas raras, con escasa prevalencia y con una dificultad importante para reclutar pacientes para sus estudios. Por ello algunos de estos estudios son deficientes o existen ciertas discrepancias entre los trabajos publicados en la literatura. Por otro lado no de todas las miopatías se conoce el patrón de infiltración muscular o en muchos de los casos son patrones radiológicos comunes para algunas de ellas. Esto se deba posiblemente a que no se han estudiado ciertas áreas corporales como puede ser la musculatura axial o las extremidades superiores que nos podrían ayudar a definir con más exactitud un patrón de infiltración muscular que en ocasiones sólo con el área de las piernas puede ser insuficiente.

Un biomarcador se define como un indicador de la alteración de la fisiología normal. Para que se considere un buen biomarcador requiere que sea útil a nivel clínico y mínimamente invasivo debiendo poseer una buena especificidad y sensibilidad para el uso en el diagnóstico y seguimiento de una enfermedad en su evolución natural como durante el seguimiento de la respuesta a las terapias implantadas (171). Nos planteamos si la imagen muscular es un buen biomarcador de las miopatías hereditarias consideradas enfermedades raras. Que sean enfermedades raras hace complejo el proceso diagnóstico por lo que los biomarcadores en estas patologías tan especiales son claves para el diagnóstico y la investigación de las mismas (172).

2. HIPÓTESIS:

La hipótesis de la presente tesis es que la imagen muscular, tanto la RMN como la TC muscular, puede ser un biomarcador de utilidad accesible y no cruento en el diagnóstico de un determinado grupo de miopatías. Estas miopatías son la Enfermedad de Pompe del adulto y la miopatía producida por mutaciones en el gen *LMNA* o *EMD*, ambas cursan con debilidad axial y de cinturas. La imagen muscular podría definir un patrón característico de infiltración de tejido adiposo en el músculo esquelético en estas de miopatías. La existencia de un patrón característico permitiría un diagnóstico eficaz y precoz.

3. OBJETIVOS:

El objetivo de la presente tesis es la descripción del patrón de infiltración muscular mediante radiología muscular en dos tipos de miopatías: la Enfermedad de Pompe del adulto, la miopatía secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* y *EMD*.

3.1. Objetivo 1:

El objetivo del estudio titulado *“Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients”* es:

- Estudiar la infiltración muscular de tejido adiposo que se produce en el área paravertebral y abdominal del tronco mediante RMN y TC muscular, en treinta pacientes afectados de Enfermedad de Pompe del adulto en diferentes estadios clínicos de la enfermedad.
- Correlacionar la debilidad muscular detectada en la exploración física con en el grado de infiltración grasa del músculo esquelético mediante la RMN y TC muscular.

3.2. Objetivo 2:

El objetivo del estudio titulado *“Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.”* es:

- Describir las características clínicas y de imagen muscular mediante RNM y TC muscular en 42 pacientes afectados de distrofia muscular producida por mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA*.
- Buscar diferencias radiológicas entre los pacientes con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *EMD* y en los pacientes con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* que ayude a guiar el diagnóstico genético.

4. RESULTADOS O PUBLICACIONES ORIGINALES:

4.1. *“Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients”*



Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients

Aída Alejandre^{a,b}, Jordi Díaz-Manera^{a,b}, Sabrina Ravaglia^{c,d}, Enrico Colli Tibaldi^e,
Francesco D'Amore^e, Germán Morís^f, Nuria Muelas^{g,b}, Juan J. Vílchez^{g,b},
Ana García-Medina^h, Mercedes Usónⁱ, Francisco A. Martínez García^j, Isabel Illa^{a,b},
Anna Pichiecchio^{e,*}

^a Neuromuscular Disorders Unit, Department of Neurology, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

^b Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas CIBERNED, Spain

^c Department of Health Sciences and Neurosciences, University of Pavia, Italy

^d Clinical Institute "Beato Matteo", Vigevano, Italy

^e Neuroradiology Department, National Neurological Institute I.R.C.C.S. "C. Mondino Foundation", Pavia, Italy

^f Department of Neurology, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

^g Department of Neurology, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain

^h Department of Neurology, Hospital General Universitario Reina Sofía, Murcia, Spain

ⁱ Department of Neurology, Fundación Hospital Son Llatzer, Palma de Mallorca, Spain

^j Department of Neurology, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, Spain

Abstract

Late-onset Pompe disease is characterized by progressive weakness involving proximal limb and respiratory muscles. Recently, treatment with enzyme replacement therapy (ERT) has been introduced partially improving patients' prognosis, but a standard consensus on when to start ERT is still lacking. There is also a lack of biomarkers related to the clinical progression of the disease.

Here we used muscle magnetic resonance imaging (MRI) or computed tomography (CT) to study the abdominal and paravertebral muscles of 30 late-onset Pompe patients at different stages of disease.

We observed a selective pattern of muscle damage, with early involvement of the *Multifidus* muscle, followed by the *Obliquus internus abdominis* and *Longissimus* muscle. Some degree of trunk involvement on MRI occurred even in asymptomatic patients. Severity of muscle involvement in MRI correlated with patients' functional stage.

We suggest that: (a) the combination of paravertebral and abdominal muscle involvement may serve as a useful tool in the diagnostic work-up of patients with a clinical suspicion of Pompe disease; (b) trunk abnormalities appear at very early stages of disease and even in asymptomatic patients, possibly "announcing" the onset of the disease and thus the need for a closer clinical follow-up.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Pompe disease; MRI; Paravertebral muscles; Abdominal muscles

1. Introduction

Pompe disease, also known as acid maltase deficiency (AMD) or glycogen storage disease type II (GSD II), is a rare autosomal recessive disorder due to a deficiency of the lysosomal enzyme acid alpha glycosidase (GAA). This deficiency causes intralysosomal accumulation of glycogen

* Corresponding author. Address: Department of Neuroradiology, Neurological National Institute I.R.C.C.S. "C. Mondino Foundation", 2, Mondino Street, 27100 Pavia, Italy. Tel.: +39 0382380241; fax: +39 0382380313.

E-mail address: anna.pichiecchio@mondino.it (A. Pichiecchio).

in several tissues such as skeletal muscle, cardiac muscle or liver [1]. Different clinical patterns have been described, ranging from rapidly progressive infantile forms to slowly progressive adult-onset phenotypes [2]. In general, late-onset Pompe disease is characterized by weakness of the proximal limb and axial muscles associated with respiratory muscles involvement [3]. However, many different clinical presentations have been reported, ranging from predominant respiratory involvement to exclusive limb muscles weakness.

Clinical and muscle biopsy findings can be unspecific in Pompe disease, so that muscle imaging can become a helpful diagnostic tool [1]. Computed tomography (CT) studies in adult patients have shown that the disease spreads over the years from trunk to extremities [4] with selective muscle involvement found in the thighs [5].

The most recent therapeutic progress in Pompe disease has been enzymatic replacement therapy (ERT) with recombinant human GAA (rh-GAA), which has proved to be effective in both infantile and adult forms [6,7]. Although long-term follow-up data in treated patients are still lacking, ERT seems to improve muscle weakness and to stabilize the disease. The response to rh-GAA may be less robust in more advanced phases of the disease [8] and this emphasizes the need for prompt diagnosis and early treatment initiation. Because of the high costs of the treatment there have been controversial discussions about when the therapy should be started [9].

Considering that paravertebral muscles are involved at an early disease stage, we decided: (1) to study both the posterior and anterior trunk muscles in 30 late-onset Pompe patients by muscle imaging in order to evaluate their degree of involvement in a large cohort of patients at different functional stages; (2) to investigate whether there is a correlation between our clinical and imaging data.

2. Material and methods

2.1. Clinical data

A group of 30 adult-onset Pompe patients undergoing regular follow-up assessments at our centres was recruited from April 2006 to July 2011. Pompe disease diagnosis was based on <30% reduction versus controls of GAA activity in peripheral blood lymphocytes/muscle, and was confirmed by molecular analysis of the GAA gene (Table 1).

Muscle MRI was performed as part of the assessment and patients were classified into 4 groups according to the following functional stages:

- *Asymptomatic*: no muscle weakness or respiratory involvement, the only abnormal finding was hyperCKemia.
- *Mild involvement*: patients were able to walk and climb up stairs without help, muscular weakness was detected on clinical examination.

- *Moderate involvement*: patients needed aids (banister, crutch, stick) to climb up stairs, had difficulties to stand up from a chair or required non-invasive ventilation at night.

- *Severe involvement*: patients were unable to walk more than 10 m without help or required non-invasive mechanical ventilation during the day.

We collected the following data from each patient: (1) demographics (age, sex); (2) clinical features (age at onset, age at diagnosis, disease duration at the time of imaging, presence of hyperlordosis, abdominal or paravertebral muscle weakness, presence of lumbar pain, percentage of vital capacity in sitting position, and need for respiratory support); (3) therapeutic data (ERT treatment at time of MRI, time from treatment onset to MRI); (4) mutations found in the GAA gene.

2.2. Muscle MRI

Muscle MRI was performed by a 1.5T MR scanner (1.5T Philips Intera and 1.5T Philips Achieva XR Realeas) and was used to obtain T1-weighted spin-echo axial images from the mid-dorsal segment to the sacrum using the same parameters (TR = 300 ms, TE = 10 ms, thickness = 10 mm). The imaging protocol took 45 min. Five patients were investigated using muscle CT scan. They did not tolerate the MRI protocol due to severe respiratory weakness. CT axial images were performed at the same level with the same thickness. None of the patients of this series had repeated studies.

Two independent observers blind to clinical information examined all the scans and evaluated paravertebral (specifically *Multifidus*, *Longissimus*, *Iliocostal Lumborum*, *Quadratus Lumborum* and *Illiopsoas*) and abdominal (specifically *Rectus Abdominis*, *Transversus Abdominis*, *Obliquus Externus Abdominis*, *Obliquus Internus Abdominis*) muscles (Fig. 1). Muscle atrophy was evaluated by the Mercuri scale [10].

2.3. Statistics

We performed a Pearson test to correlate the functional stage (scored 1–4) in every patient with the degree of muscle involvement (scored as the average value of the Mercuri's scale of all the muscles). It was considered significant if *P* was lower than 0.05.

3. Results

All patients (17 women and 13 men) had a late-onset form of the disease. All but 5 were symptomatic. Mean age at MRI was 46 years (± 16.7 SD); mean age at disease onset was 29 years (± 12.9 SD); mean delay in diagnosis was 10 years (± 8.4 SD) and average duration of the symptoms at the time of imaging was 7 years (± 12).

Table 1
Clinical and genetic data of patients analyzed. Functional scale according to functional impairment (see Section 2).

Patient	Gender	Age (years)	Age at onset (years)	Age of diagnosis (years)	Time to diagnosing (years)	Functional scale at time of MRI	Mutation	Mechanical ventilation	CV%	Treatment
1	Female	20	^a	20	^a	Asymptomatic	IVS 13TG IVS 13 1755GA	No	100	No
2	Male	72	^a	70	^a	Asymptomatic	IVS 13TG 525 del T	No	95	No
3	Male	26	^a	3	^a	Asymptomatic	IVS 13TG not found	No	100	No
4	Male	32	^a	29	^a	Asymptomatic	IVS 13 TG 525 del T	No	100	No
5	Male	22	^a	18	^a	Asymptomatic	IVS 13 TG delTG2219-2220	No	90	No
6	Female	47	38	43	5	Mild	IVS 13 TG 525 del T	Yes	93	Yes
7	Male	43	25	42	17	Mild	IVS 13TG 875GA	Yes	82	Yes
8	Female	25	22	25	3	Mild	1655TC 1704CG	No	93	No
9	Male	29	16	16	0	Mild	IVS 13 TG 2014 CT	No	84	Yes
10	Female	38	28	36	8	Mild	IVS 13 TG 1694-1697delTCTC	No	72	Yes
11	Male	40	36	39	3	Mild	IVS 13 TG Del exon 18	No	93	Yes
12	Male	50	23	47	24	Mild	IVS 13 TG 525 del T	No	87	Yes
13	Female	56	40	55	15	Moderate	IVS 13 TG 2600_2604delTGCT	No	80	Yes
14	Female	45	36	45	9	Moderate	IVS 13 TG 2014 CT	No	71	Yes
15	Female	47	20	47	27	Moderate	IVS 13TG 236_246delCCACACAGTGC	No	69	Yes
16	Female	42	27	32	5	Moderate	IVS 13TG 1192DupC	No	82	Yes
17	Female	45	^a	45	^a	Moderate	IVS 13TG 875GA	No	70	No
18	Female	61	35	49	19	Moderate	IVS 13 TG 525 del T	Yes	49	Yes
19	Female	48	20	28	8	Moderate	IVS 13 TG 525 del T	Yes	32	Yes
20	Female	60	30	36	6	Moderate	IVS 13 TG 2530-41delEx18	Yes	55	Yes
21	Male	72	50	60	10	Moderate	IVS 13 TG IVS1076-1G>C	No	58	Yes
22	Male	58	42	45	3	Moderate	IVS 13 TG 2298_2301 delinsAAAGTA	No	73	Yes
23	Female	31	10	13	3	Moderate	IVS 13 TG 1297 GA	No	80	Yes
24	Male	73	52	72	20	Severe	IVS 71195GA 1856GA	No	44	Yes
25	Male	53	17	22	5	Severe	IVS 13 TG 1465 GA	Yes	15	Yes
26	Female	60	40	57	17	Severe	IVS 13 TG 2237GA	Yes	23	Yes
27	Female	61	30	33	3	Severe	IVS 13 TG 2237GA	Yes	51	Yes
28	Male	82	67	72	5	Severe	IVS 13 TG IVS1076-1G>C	Yes	43	Yes
29	Female	61	40	53	13	Severe	IVS 13 TG 1561GA	No	85	Yes
30	Female	72	30	60	30	Severe	IVS 13 TG 784 GA	No	92	No

^a Patients were asymptomatic or they were diagnosed due to family study; therefore age at onset and time to diagnosing were unknown.

We classified 5 patients as asymptomatic (16.6%), 7 as mildly affected (23.3%), 11 as moderately affected (36.6%), and 7 as severely affected (23.3%) (Table 1).

Eleven out of thirty (36%) patients complained of chronic lumbar pain. Thirteen (43%) patients showed trunk weakness when asked to raise the trunk from a prone position, and 14/30 (46%) patients had hyperlordosis on clinical examination. Eighteen out of thirty (60%) patients were unable to rise from the supine position, possibly indicating abdominal weakness; nine patients (30%) needed respiratory support at the time of the scan. Twenty-two (73.3%) patients were treated with ERT, with a mean time from treatment onset to MRI of 0.9 years (1.2 SD).

The group of asymptomatic patients included 4 men and 1 woman. Mean age at MRI was 30 years (21.5 SD). Only one patient complained of occasional lumbar pain. Diagnosis was reached as part of the investigation for asymptomatic hyperCKemia in 5 patients and through family screening in patient 2. MRI analysis of this group showed mild atrophy in at least one muscle (Table 2). The *Multifidus* muscle was the most frequently affected, reaching

grade 2 on the Mercuri scale in 4 out of 5 patients, followed by the *Obliquus Internus Abdominis* muscle, reaching grade 2 and 3 on Mercuri scale, respectively in 2 out of 5 patients.

Mildly affected patients (4 men and 3 women) had a mean age of 37 years (9.1 SD) and a mean disease duration of 8 years (8.6 SD). 3 patients complained of chronic lumbar pain, four had trunk weakness while 6 patients had hyperlordosis. Mean vital capacity in a sitting position was $85 \pm 7.7\%$ in this group. Two patients needed nocturnal ventilation due to episodes of nocturnal apnea. Six patients are now on ERT, only in one of them the treatment had been started 3 years after performing the scan. Radiological studies showed different degrees of involvement of all paravertebral and abdominal muscles, but the *Obliquus Internus Abdominis* and *Longissimus* muscles were completely atrophic in all but one patient. The *Multifidus* muscle was involved in all these patients except in one of them. Conversely, the *Obliquus Externus Abdominis*, *Quadratus Lumborum* and *Illiopsoas* muscles were spared in most patients in this group.

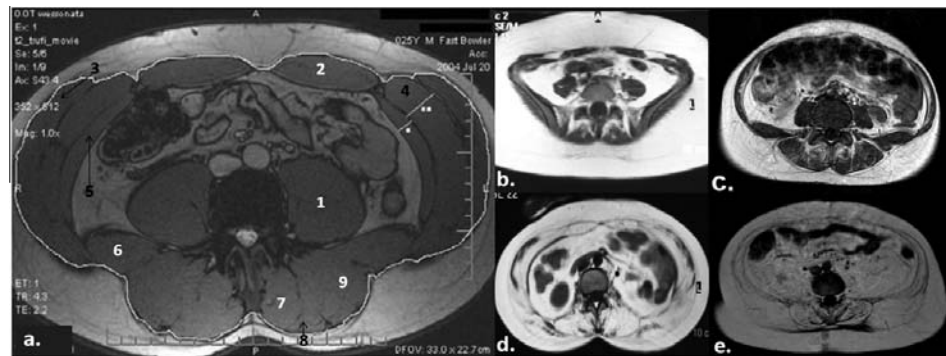


Fig. 1. MRI involvement of trunk muscles. Normal abdominal and paravertebral muscles slice (a): *Psoas* muscle (1), *Rectus Abdominis* (2), *Obliquus Externus Abdominis* (3), *Obliquus Internus Abdominis* (4), *Transversus Abdominis* (5), *Quadratus Lumborum* (6), *Multifidus* muscle (7), *Longissimus* muscle (8), *Iliocostal Lumborum* (9). Asymptomatic patient number 1 (b). Mild clinical stage patient number 10 (c). Moderate clinical stage patient number 13 (d). Severe clinical stage patient number 27 (e).

The group with moderate disease severity included 2 men and 9 women with a mean age of 50 years (11.2 SD) and a mean duration of disease of 19 years (7.3 SD). Five patients complained of lumbar pain, 5 had trunk weakness while 5 other patients had hyperlordosis. Mean vital capacity in a sitting position was 62% (16.1 SD) and 3 patients needed respiratory support. Nine patients were on ERT treatment (mean treatment duration to MR time was 1.2 years). Imaging showed involvement of all paravertebral and abdominal muscles. Specifically, at this stage the *Transversus Abdominis*, *Obliquus Internus Abdominis*, *Rectus Abdominis*, *Iliocostal*, *Iliopsoas* and *Longissimus* muscles were completely atrophic. The *Obliquus Externus Abdominis*, *Multifidus* and *Illiopsoas* muscles were less atrophic.

Finally, 3 men and 4 women were classified as severely affected. The mean age was 65 years (9.9 SD) and mean duration of disease was 28 years (13.3 SD). Three patients complained of lumbar pain, five had trunk weakness and one had hyperlordosis. The mean vital capacity in a sitting position was 42% (28.9 SD) and 4 patients needed non-invasive mechanical ventilation. Six patients were on ERT treatment (time from treatment start to MRI was 1.1 years (0.9 SD)). Imaging studies showed complete atrophy of all muscles.

We analysed if any correlation could be established between the functional stage and the degree of muscle involvement using the Pearson test. We found a positive significant correlation ($p < 0.001$) showing that with a worse functional stage there was a greater degree of muscle involvement on MRI.

4. Discussion

Pompe disease as a metabolic muscle disease has received a lot of radiologic attention in the last few years, especially in relation to the recent ERT introduction

[4,5,8,11,12]. Muscular imaging, especially muscle MRI, has proved to be reliable in assessing both the pattern and the severity of muscle damage in several different muscle disorders [13–16].

In particular, CT studies demonstrated that Pompe disease in adult patients spreads over the years from trunk to extremities with axial and thigh muscles being more severely affected than lower leg and shoulder girdle muscles [4]. Specifically, posterior lumbar paraspinal and *Psoas* muscles were demonstrated to be severely atrophic in all patients [4,11] so that it was suggested to consider Pompe disease in any case of otherwise unexplained paraspinal muscle atrophy [11]. A study in 11 patients showed selective damage in different thigh muscles over time [5], while another study performed with whole-body MRI in 20 patients also observed involvement of the subscapular and tongue muscles [17].

A recent report has suggested that routine EMG assessment of these patients should include a lumbar paravertebral examination, which is affected at early stages of the disease [12,18]. Recent reports about atypical cases of Pompe disease revealed by a “rigid spine syndrome” have raised further interest in trying to elucidate the pattern and extent of trunk involvement in these patients [19,20]. However, clinical symptoms and signs of trunk involvement are often vague and unspecific (pain, subtle postural changes) and may be easily overlooked. Moreover, these muscles are difficult to assess clinically. A rough clinical evaluation may be based on the ability to rise from the supine position or to raise the trunk from the prone position, but these are complex movements involving several muscle groups and their clinical assessment may be further hampered in the presence of concomitant respiratory dysfunction.

Taking into account the early involvement of trunk muscles, we decided to carefully study both paravertebral

Table 2
MRI analysis and quantification of trunk muscle involvement.

Patient	MRI date	Time onset-MRI yrs	Time treatment-MRI	<i>Transversus Abdominis</i>	<i>Obliquus Internal Abdominis</i>	<i>Obliquus External Abdominis</i>	<i>Rectus Abdominis</i>	<i>Multifidus</i> muscle	<i>Longissimus</i> muscle	<i>Ilio-costal lumborum</i>	<i>Quadratus lumborum</i>	<i>Psoas</i> muscle
1	2008–2009	^a	^b	1	1	1	1	2	1	1	1	1
2	2011/06/27	^a	^b	1	3	1	NA	2	2	1	1	1
3	2010/02/18	^a	^b	1	1	1	1	2	2	1	1	1
4	2010/03/16	^a	^b	1	2	1	1	1	1	1	1	1
5	2008/12/10	^a	^b	1	1	1	1	2	1	1	1	1
6	2011/07/06	9	3	NA	NA	NA	NA	4	4	4	4	1
7	2010/09/14	17	0	4	4	3	4	3	4	4	2	3
8	2009/02/06	1	^b	1	1	1	2	1	1	1	1	1
9	2007/08/27	13	0	4	4	4	NA	3	4	2	1	1
10	2008/12/17	10	0	1	3	1	NA	2	2	1	1	1
11	2009/05/07	4	0	1	4	1	1	4	4	3	1	1
12	2006/10/25	27	0	3	4	4	3	4	4	4	4	4
13	2007/06/01	16	0	3	4	4	4	3	4	4	4	2
14	2008/12/31	9	0	NA	NA	NA	NA	3	4	3	4	2
15	2010/06/17	27	0	4	4	3	4	3	4	4	4	3
16	2010/02/18	11	3	NA	NA	NA	NA	4	4	3	3	3
17	2011/06/01	^a	^b	4	3	2	4	4	4	4	1	4
18	2007/01/08	26	1	2	4	2	NA	4	4	4	4	3
19	2009/05/19	28	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
20	2006/08/08	30	0	3	NA	NA	3	3	3	3	3	1
21	2006/08/21	22	0	3	2	1	3	3	3	3	2	3
	TC											
22	2010/01/13	16	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
23	2008/09/16	21	1	NA	NA	NA	NA	2	2	2	1	1
	TC											
24	2011/06/20	52	1	4	4	4	4	4	4	4	4	3
25	2006/04/12	36	1	NA	NA	NA	NA	4	4	3	3	4
	TC											
26	2006/04/21	20	1	NA	NA	NA	NA	3	4	2	4	4
	TC											
27	2007/04/05	31	1	4	NA	NA	4	4	4	4	4	4
28	2006/08/21	15	0	1	NA	NA	1	3	3	3	2	2
	TC											
29	2009/06/23	21	3	NA	4	3	NA	4	4	4	4	4
30	2008/05/29	42	^b	4	4	4	4	3	4	4	4	4

^a Age at onset is unknown because patients were asymptomatic or diagnosed due to family study.

^b These patients were not under treatment with ERT. NA: not accessible. CT: computerized tomography.

and abdominal muscles in 30 late-onset Pompe patients, evaluating nine muscles of the lumbar paravertebral area and the anterior abdominal muscles. We found that all our patients, including asymptomatic ones, had some degree of trunk muscle atrophy, suggesting that MRI is able to find muscle changes in trunk muscles before patients notice any symptom (Fig. 2). Although a clear pattern of involvement could not be found, a distribution of the damage in different muscles over time was observed. Specifically, the *Multifidus* and the *Obliquus Internus Abdominis* muscles were commonly the first muscles affected, followed by the *Longissimus*, the *Transversus Abdominis* and the *Rectus Abdominis* muscles and eventually the *Iliocostal Lumborum*, *Quadratus Lumborum*, *Illiopsoas* and *Obliquus Externus Abdominis* muscles.

Our results suggest that the presence of both paravertebral and abdominal muscle atrophy on muscle MRI of patients with prominent weakness of the pelvic girdle

muscles or asymptomatic hyperCKemia could be suggestive of late-onset Pompe disease and potentially shorten the well known problem of the diagnostic delay.

Paravertebral atrophy is not uncommon and may be seen in other metabolic myopathies (i.e. glycogenosis V), in muscular dystrophies (e.g. facio-scapulo-humeral muscular dystrophy -FSHD-, laminopathies), in mitochondrial myopathies (e.g. NADH-CoQ reductase deficiency), in congenital myopathies, as for example in SEP1 or dynamin-2 related myopathies or in a substantial percentage of patients with low back pain as well [11,21–25]. However, their association with abdominal muscle atrophy, as we observed in our cohort of patients, is not commonly seen in other diseases, as far as we know. The association of abdominal and paravertebral weakness is a clinical characteristic feature of FSHD, where it is frequent to find hyperlordosis, lumbar pain and prominent asymmetric abdomen [26]. However, the presence of facial weakness, clear

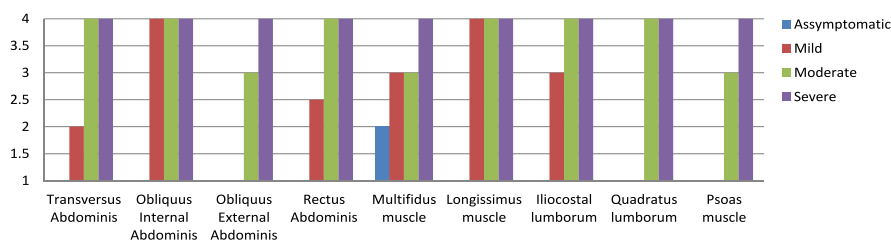


Fig. 2. Schematic representation of median MRI or CT muscle score according to Mercuri scale of each functional group of patients.

asymmetric muscle involvement and distal anterior weakness distinguishes Pompe from FSHD phenotypes.

It is relevant to note that from the imaging point of view trunk atrophy should be associated with other radiologic features suggestive of late-onset Pompe disease, such as the selective location of thigh muscles' deterioration of great adductor muscle and posterior compartment muscles and the characteristic sparing of lower leg muscles [5], in order to strengthen the diagnostic suspect.

Clinically, we observed that only one third of our Pompe patients complained of lumbar pain that could be permanent or fluctuating, especially related to walking or standing up for hours, and did not seem to correlate with disease severity nor with the severity of trunk involvement on imaging. Rather, we found a good correlation between motor functional stage and trunk muscle atrophy, with the exception of the early stages of disease, when the sensitivity of muscle imaging seems to overtake the limits of the clinical evaluation. We did not find significant differences in the pattern of muscle involvement between ERT treated and untreated patients. However we did not conduct follow-up studies to determine changes in the progression of the disease. A prospective study is needed to investigate how ERT affects MRI changes in Pompe disease.

This may be important from a therapeutic perspective. In fact, due to its high cost, there is controversy about when ERT should be initiated [9]. Whether trunk involvement may serve as an indicator of the proper time to start ERT is not the aim of this study, as follow-up and efficacy data are needed. However, detection of trunk abnormalities may help to reduce the time between first subtle clinical symptoms accompanying the onset of the disease and the diagnosis. They may warn the clinician about disease onset and thus the need for a stricter clinical follow-up.

In conclusion, our study demonstrated that MRI study of trunk muscles in late-onset Pompe patients can be useful in the diagnostic work-up and a potential good tool to gauge the rate of disease progression and monitor response to therapy. Further studies will demonstrate whether MRI could also be used as a helpful biomarker in order to decide when ERT treatment has to be started.

5. Conflict of interest

None.

Acknowledgements

We thank Mary Bardon for her English support and the patients, without whom this study would not have been possible, for their patience.

References

- [1] Bembi B, Cerini E, Danesino C, et al. Diagnosis of glycogenosis type II. *Neurology* 2008;71:S4–S11.
- [2] Van der Ploeg AT, Reuser A. Pompe's disease. *Lancet* 2008;372:1342–53.
- [3] Hagemans ML, Winkel LP, Van Doorn PA, et al. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain* 2005;128:671–7.
- [4] de Jager AE, van der Vliet TM, van der Ree TC, Oosterink BJ, Loonen MC. Muscle computed tomography in adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle Nerve* 1998;21:398–400.
- [5] Pichiecchio A, Uggetti C, Ravaglia S, et al. Muscle MRI in adult-onset acid maltase deficiency. *Neuromuscul Disord* 2004;14:51–5.
- [6] van Capelle CI, Winkel LP, Hagemans ML, et al. Eight years experience with enzyme replacement therapy in two children and one adult with Pompe disease. *Neuromuscul Disord* 2008;18:447–52.
- [7] Klinge L, Straub V, Neudorf U, Voit T. Enzyme replacement therapy in classical infantile pompe disease: results of a ten-month follow-up study. *Neuropediatrics* 2005;36:6–11.
- [8] Ravaglia S, Pichiecchio A, Ponzio M, et al. Changes in skeletal muscle qualities during enzyme replacement therapy in late-onset type II glycogenosis: temporal and spatial pattern of mass vs. strength response. *J Inher Metab Dis* 2010;33:737–45.
- [9] Cupler EJ, Berger KI, Leshner RT, et al. Consensus treatment recommendations for late-onset pompe disease. *Muscle Nerve* 2012;45:319–33.
- [10] Mercuri E, Pichiecchio A, Counsell S, et al. A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies. *Eur J Paediatr Neurol* 2002;6:305–7.
- [11] Cinnamon J, Slonim AE, Black KS, Gorey MT, Scuderi DM, Hyman RA. Evaluation of the lumbar spine in patients with glycogen storage disease: CT demonstration of patterns of paraspinal muscle atrophy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1991;12:1099–103.
- [12] Hobson-Webb LD, Dearnley S, Kishnani PS. The clinical and electrodiagnostic characteristics of Pompe disease with post-enzyme replacement therapy findings. *Clin Neurophysiol* 2011;122:2312–7.
- [13] Paradas C, Llauger J, Diaz-Manera J, et al. Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies. *Neurology* 2010;75:316–23.
- [14] Fischer D, Walter MC, Kesper K, et al. Diagnostic value of muscle MRI in differentiating LGMD2I from other LGMDs. *J Neuro* 2005;252:538–47.
- [15] Wattjes MP, Kley RA, Fischer D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur Radiol* 2010;20:2447–60.

- [16] Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. *J Magn Reson Imaging* 2007;25:433–40.
- [17] Carlier RY, Laforet P, Wary C, et al. Whole-body muscle MRI in 20 patients suffering from late onset Pompe disease: involvement patterns. *Neuromuscul Disord* 2011;21:791–9.
- [18] Muller-Felber W, Horvath R, Gempel K, et al. Late onset Pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. *Neuromuscul Disord* 2007;17:698–706.
- [19] Laforet P, Doppler V, Caillaud C, et al. Rigid spine syndrome revealing late-onset Pompe disease. *Neuromuscul Disord* 2010;20:128–30.
- [20] Kostera-Pruszczyk A, Opuchlik A, Lugowska A, et al. Juvenile onset acid maltase deficiency presenting as a rigid spine syndrome. *Neuromuscul Disord* 2006;16:282–5.
- [21] Flickenstein J, Crues III J, Haller R. Inherited defects of muscle energy metabolism: radiologic evaluation. In: Flickenstein JLCII, Reimers CD, editors. *Muscle imaging in health and disease*. New York: Springer-Verlag; 1996. p. 253–67.
- [22] Mercuri E, Counsell S, Allsop J, et al. Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal dominant Emery–Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics* 2002;33:10–4.
- [23] Jordan B, Eger K, Koesling S, Zierz S. Camptocormia phenotype of FSHD: a clinical and MRI study on six patients. *J Neurol* 2011;258:866–73.
- [24] Mercuri E, Clements E, Offiah A, et al. Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. *Ann Neurol* 2010;67:201–8.
- [25] Quijano-Roy S, Carlier RY, Fischer D. Muscle imaging in congenital myopathies. *Semin Pediatr Neurol* 2011;18:221–9.
- [26] Orrell RW. Facioscapulohumeral dystrophy and scapuloperoneal syndromes. *Handb Clin Neurol* 2011;101:167–80.

4.2. “Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.”



Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the *EMD* and *LMNA* genes

Jordi Díaz-Manera ^{a,b,*}, Aida Alejaldre ^{a,b,1}, Laura González ^{c,d,e}, Montse Olivé ^{c,d,f}, David Gómez-Andrés ^g, Nuria Muelas ^{b,h}, Juan José Vilchez ^{b,h}, Jaume Llauger ⁱ, Pilar Carbonell ^j, Celedonio Márquez-Infante ^j, Roberto Fernández-Torrón ^{f,k,l}, Juan José Poza ^{f,j}, Adolfo López de Munáin ^{f,k,l}, Lidia González-Quereda ^{b,k,l}, Sonia Mirabet ^m, Jordi Clarimon ^{a,f}, Pía Gallano ^{b,n}, Ricard Rojas-García ^{a,b}, Eduard Gallardo ^{a,b}, Isabel Illa ^{a,b}

^a Neuromuscular Disorders Unit, Neurology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

^b Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Spain

^c Institute of Neuropathology, Department of Pathology, IDIBELL-Hospital de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

^d Neuromuscular Unit, Department of Neurology, IDIBELL-Hospital de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

^e Department of Neurology, Hospital de Viladecans, Barcelona, Spain

^f Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Spain

^g Pediatric Department, Hospital Universitario Infanta Sofía, TRADESMA IdiPaz-UAM, Madrid, Spain

^h Department of Neurology, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain

ⁱ Radiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

^j Neuromuscular Disorders Unit, Department of Neurology and Neurophysiology, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain

^k Department of Neurology, Hospital Universitario Donostia, Donostia-San Sebastián, Spain

^l Neurosciences Area, Biodonostia Institute, Donostia-San Sebastián, Spain

^m Cardiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

ⁿ Genetic Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

Received 17 July 2015; received in revised form 23 September 2015; accepted 6 October 2015

Abstract

Identifying the mutated gene that produces a particular muscle dystrophy is difficult because different genotypes may share a phenotype and vice versa. Muscle MRI is a useful tool to recognize patterns of muscle involvement in patients with muscle dystrophies and to guide the diagnosis process. The radiologic pattern of muscle involvement in patients with mutations in the *EMD* and *LMNA* genes has not been completely established. Our objective is to describe the pattern of muscle fatty infiltration in patients with mutations in the *EMD* and in the *LMNA* genes and to search for differences between the two genotypes that could be helpful to guide the genetic tests. We conducted a national multicenter study in 42 patients, 10 with mutations in the *EMD* gene and 32 with mutations in the *LMNA* gene. MRI or CT was used to study the muscles from trunk to legs. Patients had a similar pattern of fatty infiltration regardless of whether they had the mutation in the *EMD* or *LMNA* gene. The main muscles involved were the paravertebral, *glutei*, *quadriceps*, *biceps*, *semitendinosus*, *semimembranosus*, *adductor major*, *soleus*, and *gastrocnemius*. Involvement of *peroneus* muscle, which was more frequently affected in patients with mutations in the *EMD* gene, was useful to differentiate between the two genotypes. Muscle MRI/CT identifies a similar pattern of muscle fatty infiltration in patients with mutations in the *EMD* or the *LMNA* genes. The involvement of *peroneus* muscles could be useful to conduct genetic analysis in patients with an EDMD phenotype.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Emery–Dreifuss; *LMNA*; *EMD*; Muscle MRI; Muscle CT; Muscle dystrophy

* Corresponding author. Neuromuscular Disorders Unit, Neurology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, C/Sant Antoni Ma Claret 167, PC: 08025 Barcelona, Spain. Tel.: +34 935565986; fax: +34 935565602.

E-mail address: jdiazm@santpau.cat (J. Díaz-Manera).

¹ These authors contributed equally to this work.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2015.10.001>

0960-8966/© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Mutations in the *EMD* and *LMNA* genes cause different types of muscle disease. These two genes codify for three proteins – emerin, lamins A and C – located in the inner nuclear membrane. Mutations in the *EMD* gene have an X-linked recessive inheritance and are responsible for three disorders: Emery–Dreifuss Muscle Dystrophy (EDMD) type 1, isolated cardiomyopathy, and sinus node dysfunction [1]. Mutations in the *LMNA* gene can be inherited as a dominant or recessive trait and cause a wide spectrum of diseases involving skeletal muscle, heart, bone, peripheral nerves, or fat [2]. Muscle disorders caused by mutations in the *LMNA* gene can manifest as many phenotypes such as limb girdle muscle dystrophy 1B (LGMD-1B), quadriceps myopathy with dilated cardiomyopathy, congenital muscle dystrophy, autosomal dominant EDMD type 2, or autosomal recessive EDMD type 3 [3–5].

EDMD is characterized by muscle weakness involving humeral and peroneal muscles, prominent contractures of elbows, ankles and spine, and cardiac conduction defects and/or cardiomyopathy [1,6]. There are no major clinical differences in these patients regardless of whether the gene that causes the disease is the *EMD* or the *LMNA* [7]. However, it is not known if these patients have a different clinical progression or if they have differences in the muscle pattern involvement when studied with muscle MRI depending on which gene is mutated [5].

In the last years, several authors have used MRI or CT to determine the patterns of muscle fatty infiltration in muscle dystrophies [8–11]. Recognition of particular patterns of muscle involvement is helpful to conduct differential diagnosis of these diseases and may be also used to study the natural history of the diseases and even evaluate the results of potential therapeutic interventions. It has been previously described that the *vastii*, the posterior muscles of the thighs and the posterior muscles of the legs could be involved in patients with mutations in the *LMNA* and *EMD* genes [8,12]. However, the pattern of muscle fatty infiltration varies widely depending on the publication reviewed and it is unknown at present whether muscle MRI or CT scan could differentiate between EDMD caused by mutations in the *EMD* or in the *LMNA* gene [13–16].

Our objectives were to describe the clinical and radiological characteristics of a large cohort of patients with muscle disease produced by mutations in the *EMD* and *LMNA* genes and to search for differences between the two genotypes that could guide genetic analyses in patients with EDMD phenotype.

2. Material and methods

2.1. Patients

We conducted a national, multicenter descriptive study in five neuromuscular centers in Spain. All patients with mutations in the *EMD* or *LMNA* genes were considered for inclusion in the study. We also included five asymptomatic relatives of patients with mutations in the *LMNA* gene who had undergone genetic counseling. The Ethic Committee of Hospital de la Santa Creu i Sant Pau in Barcelona reviewed and

approved the protocol. All participants signed an inform consent to take part in the study.

We recorded demographic data (age and gender) and clinical data (age at onset of symptoms, age at diagnosis, type of inheritance, presence of contractures, and muscle pain or muscle weakness involving axial, proximal and distal muscles of the limbs). We also analyzed heart rate disturbances, including the need for pacemaker implantation or cardioverter-defibrillators. [Table S1](#) provides a summary of the patients included.

Patients with mutations in the *EMD* and *LMNA* genes were divided into 4 groups according to their clinical phenotype:

- Emery–Dreifuss (EDMD): patients with a phenotype characterized by humero-peroneal weakness and contractures.
- Limb girdle muscle weakness (LGMD): patients with girdle weakness at the onset of the disease, with or without prominent contractures.
- Isolated cardiomyopathy: patients with isolated cardiac dysfunction related to mutations in the *EMD* or *LMNA* gene, without evidence of muscle weakness or contractures at clinical examination.
- Asymptomatic carriers: patients without muscle weakness, joint contractures or heart disease studied for genetic counseling.

2.2. Muscle imaging

Muscle MRI was performed in 19 patients and CT scans were performed in 23 patients with contraindications for MRI. Muscle MRI was performed in a 1.5T Philips Intera or a 1.5T Philips Achieva XR depending on the centers. We obtained T1-weighted spin-echo axial images from the mid-dorsal segment to the feet. The parameters used for MRI were TR = 300 ms, TE = 10 ms, thickness = 10 mm. CT exams were performed with a 16-section equipment (Brilliance CT 16-Slice; Philips) in all the centers and included axial images and coronal reconstructions. The parameters used for CT were 140 kV and 120–350 mA. Section thickness was 1.25 mm, with a section interval of 0.6 mm. The axial images were 5 mm thick, with an increment of 5 mm in every slide.

Two independent observers, blind to clinical data, quantified fatty muscle infiltration in muscle MRI and CT using the modified version of the Mercuri score described by Dr. Fischer [17]. This score has been previously used to quantify muscle fatty infiltration in both muscle CT and muscle MRI:

- Normal muscle appearance: 0 points
- Mild infiltration: traces of increased signal intensity on the T1-weighted MR sequences: 1 point
- Moderate infiltration: increased T1-weighted signal intensity with beginning confluence in less than 50% of the muscle: 2 points
- Severe infiltration: increased T1-weighted signal intensity with beginning confluence in more than 50% of the muscle: 3 points
- End-stage appearance: entire muscle replaced by increased density of connective tissue and fat: 4 points

We analyzed the following muscles:

- Abdominal and paravertebral area (studied in 25 patients): *rectus abdominis*, *abdominal transversus*, *internal obliquus*, *external obliquus*, *multifidus iliocostalis lumborum*, *longissimus thoracis* and *quadratus lumborum*.
- Pelvic area (studied in all patients): *psaos*, *gluteus maximus*, *medius* and *minimus* muscles.
- Thigh area (studied in all patients): *rectus femoris*, *vastus intermedius*, *vastus lateralis*, *vastus medialis*, *sartorius*, *gracilis*, *adductor major*, *semimembranosus*, *semitendinosus* and long and short heads of *biceps femoris* muscles.
- Leg area (studied in all patients): *tibialis anterior*, *tibialis posterior*, *extensor digitorum*, *flexor digitorum*, *peroneal group*, *soleus*, *medial* and *lateral gastrocnemius* muscles.

2.3. Statistical analysis

We used the squared Chi test to compare the clinical data of patients with EDMD phenotype and patients with LGMD phenotype. To compare the degree of muscle fatty infiltration of different muscles between patients with mutations in the *EMD* gene and patients with mutations in the *LMNA* gene we used the non parametric Mann–Whitney U test. P values lower than 0.05 were considered statistically significant. Hierarchical analysis and graphical representation of the values obtained after quantification of muscle fatty infiltration as a heatmap were performed using R software version 3.1.3 (The R Foundation for Statistical Computing; <http://www.r-project.org>). The Gower's distance was used in clustering of patients or muscles. The software established the order of the patients and muscles in the heatmaps automatically and generated dendrograms that linked patients or muscles with similar involvement.

3. Results

3.1. Clinical and genetic features

The study included 42 adult patients (17 females and 25 males). Ten patients had a mutation in the *EMD* gene (all males)

and 32 patients (17 females, 15 males) had a mutation in the *LMNA* gene. Genetic and phenotypic data of all patients are summarized in Table S1.

All patients with mutations in the *EMD* gene had the EDMD phenotype (mean age at radiological study 45.3; range 22–64). Patients with mutations in the *LMNA* gene had different phenotypes: EDMD phenotype (n = 9, mean age at radiological study 42.8; range 19–71 y.o.), LGMD phenotype (n = 12, mean age at radiological study 49.7, range 17–69 y.o.), isolated cardiomyopathy (n = 6, mean age at radiological study: 44.5; range 31–72 y.o.), and asymptomatic carriers (n = 5, mean age at radiological study: 28.2; range 19–38 y.o.).

We detected muscle weakness in 31 of the 42 subjects participating in the study. We found two main phenotypes: EDMD phenotype (19 patients) and LGMD phenotype (12 patients). In the first analysis, we did not find any significant difference in clinical data of patients with EDMD phenotype and mutations in the *EMD* gene compared to patients with EDMD phenotype and mutations in the *LMNA* gene (Table 1).

Then, we compared the clinical findings between EDMD and LGMD phenotypes. As a summary, both phenotypes had in common the presence of elbow and ankle contractures (that were more severe in EDMD phenotype), the complain of back pain, the absence of respiratory weakness, and a relative good functional status because only a low proportion of patients lost ambulation during follow-up. In contrast the clinical differences that we observed were mainly related to distribution of weakness (humero-peroneal in EDMD phenotype versus limb girdle proximal distribution in LGMD phenotype), the presence of rigid spine (that was more common in EDMD phenotype) and the need of pacemaker (that was also more common in EDMD phenotype). These results are similar to recent clinical series published [7].

3.2. Radiological findings

A muscle MRI was performed in 19 out of 42 patients and a CT scan was performed in the remaining 23. There were no significant differences in the age of patients when the MRI or

Table 1
Clinical features of patients with mutations in *EMD* and *LMNA* genes.

	<i>EMD</i> /EDMD	<i>LMNA</i> /EDMD	Statistical significance	<i>LMNA</i> /LGMD-1B
Gender male	10 (100%)	4/9 (44.4%)	0.002	5/12 (41.6%)
Age at diagnosis	30	39.5	N.S.	48
Age at MRI	38.2	40.6	N.S.	38
Proximal UL weakness	10/10 (100%)	7/9 (77.7%)	N.S.	5/12 (41.6%)
Distal UL weakness	2/10 (20%)	3/9 (33.3%)	N.S.	2/12 (20%)
Proximal LL weakness	1/10 (10%)	2/9 (22.2%)	N.S.	11/12 (91.6%)
Distal weakness LL	9/10 (90%)	4/9 (44.4%)	0.05	3/12 (25%)
Axial weakness	7/10 (70%)	5/9 (55.5%)	N.S.	7/12 (58.3%)
Contractures	10/10 (100%)	9/9 (100%)	N.S.	9/12 (75%)
Wheelchair	1/10 (10%)	2/9 (22.2%)	N.S.	2/12 (20%)
Muscle pain	3/10 (30%)	2/9 (22.2%)	N.S.	8/12 (66.6%)
Pacemaker	9/10 (90%)	7/9 (77.8%)	N.S.	4/12 (30%)
ICD	2/10 (20%)	4/9 (44.4%)	N.S.	4/12 (30%)
Ventilation	1/10 (10%)	0/9 (0%)	N.S.	1/12 (8.3%)

Clinical features of patients with skeletal muscle disease and mutations in the *EMD* or *LMNA* gene. Statistical significance differences were not observed between patients with mutations in the *EMD* gene and patients with mutations in the *LMNA* gene.

CT scan was performed: 38.2 years old (range 22–64 years old) for patients with mutations in *EMD* gene and 40.6 years old (range 14–51 years old) for patients with mutations in the *LMNA* gene. Graphical representations of the muscle scorings using hierarchical analysis are shown in Fig. S1 (heatmaps classified by phenotypes) and Fig. S4 (global series heatmap).

3.2.1. Comparison of the radiological findings observed in patients with EDMD phenotype produced by mutations in the *EMD* or in the *LMNA* gene

In the first analysis, we compared the radiological findings observed in patients with EDMD phenotype produced by mutations in the *EMD* gene or by mutations in the *LMNA* gene.

We found fatty infiltration of the muscles in all the MRI/CT studies. The changes were mainly symmetric, although we found mild asymmetries in some cases. We divided the analysis in four different areas:

1. Trunk area: The paravertebral muscles were involved in all EDMD patients. The most severely involved muscles were *multifidus*, *iliocostalis* and *longissimus* scoring 3 or 4 in all patients (Fig. 1A and E). Abdominal muscles were rarely infiltrated (Fig. S1). We did not find significant differences in the degree of fatty muscle infiltration of the trunk muscles between both genotypes.
2. Pelvic area: *Glutei* muscles were mildly infiltrated in 80% of patients (Fig. S1). *Glutei minor* and *glutei medius* were more commonly involved than *glutei maximus* (Fig. 1B and F). In fact, we did not observe any patient with involvement of *glutei maximus* that had no fatty infiltration of *glutei minimus* or *medius*. The *psoas* muscle was rarely infiltrated, and when it was affected it was always to a lesser degree than *glutei* muscles. We did not find significant differences in the degree of fatty
3. Thigh area: Radiological examination of the thigh area showed that the *semimembranosus* and the long head of the *biceps femoris* muscles were the most frequently involved muscles (Fig. S1). *Vastus lateralis*, *medialis* and *intermedius*, the *adductor major*, and the *semitendinosus* were involved in 70–90% of the patients (Fig. 1C and G and Fig. S1). In the case of *vastus lateralis*, fatty infiltration involved first the medial part of the muscle while the lateral part was infiltrated in advanced stages only (Fig. 1G and Fig. S2). We found some degree of variability among patients in the pattern of muscle fatty infiltration of the thighs, but as a general rule the degree of muscle fatty infiltration was more severe in the posterior muscles than in the anterior muscles of the thighs (Fig. S3). We only found one patient (patient 17) in which fatty infiltration was more severe in *vasti* muscles than in posterior muscles of the thighs (Fig. S3C and F). *Rectus femoris*, *gracilis* and *sartorius* were rarely involved and were hypertrophic in many patients (Fig. S2C). We did not observe statistically significant differences in the degree of muscle fatty infiltration between EDMD patients with mutations in the *EMD* gene and EDMD patients with mutations in the *LMNA* gene.
4. Leg area: Analysis of leg area showed that the *soleus*, *gastrocnemius medialis* and *lateralis* were the most frequently fatty infiltrated muscles (Fig. 1D and H and Fig. S1). We observed significant differences in the degree of fatty muscle infiltration of the *peroneus* muscles ($p = 0.025$, Mann–Whitney U test) depending on the causative gene. *Peroneus* muscle was involved in 88% of patients with mutations in the *EMD* gene compared to

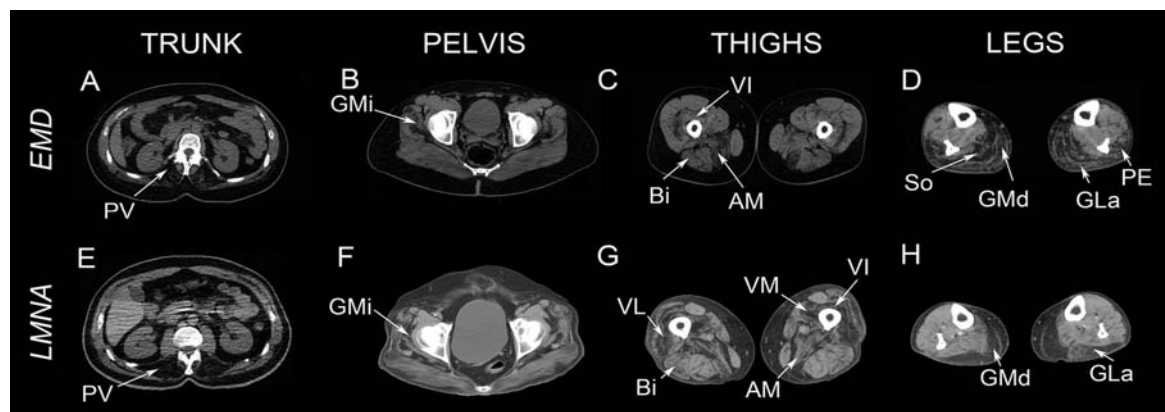


Fig. 1. Muscle imaging of EDMD patients caused by mutations in the *EMD* and *LMNA* genes. Muscle CT scans of patients with EDMD phenotype and mutation in the *EMD* gene (A–D) or mutation in the *LMNA* gene (E–H). We observed a common pattern characterized by involvement of paravertebral muscles (PV in A and E) in the trunk and *gluteus minimus* (GMi in B and F) in the pelvis. In the thighs we show involvement of long head of *biceps femoris* (Bi), *vastus intermedius* (VI), *vastus lateralis* (VL), *vastus medialis* (VM) and *adductor major* (AM) in C and G. In the legs both *gastrocnemius* (GLa and GMd) and *soleus* (Sol) were involved in most of the patients (D and H). *Peroneus* muscles (PE) were more commonly involved in EDMD patients with mutation in the *EMD* gene than in EDMD patients with mutations in the *LMNA* gene.

only 40% of patients with mutation in the *LMNA* gene. The degree of fatty infiltration of the *peroneus* muscle was more severe in EMD mutated patients. The anterior compartment of the leg was involved rarely and less severely than the posterior compartment of the legs.

3.2.2. Radiological findings in patients with mutations in the *LMNA* gene

In the second analysis we studied and compared the pattern of muscle fatty infiltration in each phenotype of the patients with mutation in *LMNA* gene. We did not find any difference between LGMD and EDMD phenotypes: the same muscles were involved regardless whether the phenotype was LGMD or EDMD (Fig. 2 and Fig. S1). In fact when we analyzed all the patients using the hierarchical analysis, the software was not able to cluster patients depending on the phenotype or on the mutated gene confirming that the pattern of muscle involvement is shared by these two phenotypes and genes (Fig. S4).

Of interest, all patients with isolated cardiomyopathy had fatty infiltration of several muscles regardless of the lack of muscle weakness after clinical examination. The muscles that showed some degree of fatty infiltration were the same in isolated cardiomyopathy patients than in EDMD or LGMD-1B patients (Fig. S1). However, the degree of muscle fatty infiltration was milder in isolated cardiomyopathy patients. *Multifidus* and *gastrocnemius medialis* muscles were the most commonly involved muscles in this group of patient (Fig. 3 and Fig. S1).

We also found muscle fatty infiltration in pre-symptomatic patients, as has been previously reported by other authors [18]. Paravertebral muscles were involved in all asymptomatic carriers (Scores 1–3) (Fig. 3 and Fig. S1). We also observed mild muscle fatty infiltration in *glutei*, *soleus* and

gastrocnemius medialis muscles in two asymptomatic carrier patients.

In addition, the study of several members of a two-generation family with a LGMD phenotype allowed us to suggest the progression of muscle fatty infiltration (Fig. S5). Patient III.3, who was pre-symptomatic, had mild fatty infiltration of paravertebral muscles and *semimembranosus* muscles (Fig. S5E and O). Besides these muscles, patients III.1 and III.2 (mild weakness) also had fatty infiltration of *gastrocnemius medialis* and *lateralis* and the long head of *biceps femoris* muscles. Patients II.1 and II.2, who had more severe weakness, also had fatty infiltration of *glutei* and *vasti* muscles.

4. Discussion

This study shows that patients with mutation in *EMD* and *LMNA* genes share a characteristic pattern of muscle involvement in MRI or CT. In patients with EDMD phenotype we only found radiological differences in the degree of fatty infiltration in *peroneus* muscles that can be helpful to guide the genetic analysis in doubtful cases. We did also not find radiological differences between patients with EDMD and LGMD phenotypes, although the distribution of muscle weakness was clearly different in the clinical examination.

MRI or CT has been used to determine the pattern of muscle involvement in many muscle dystrophies over the last years [9,19]. Reports on patients with mutations in the *EMD* gene, however, are scant and limited to few patients [12,18]. Moreover, they lack the systematic analysis muscle by muscle that this study provides. Such studies have reported preferential involvement of the *soleus* muscle in association with slight involvement of thigh muscles. Our study shows that muscle fatty infiltration was more widespread than previously reported and includes many other muscles. We have also demonstrated that the pattern of involvement of patients with mutation in the

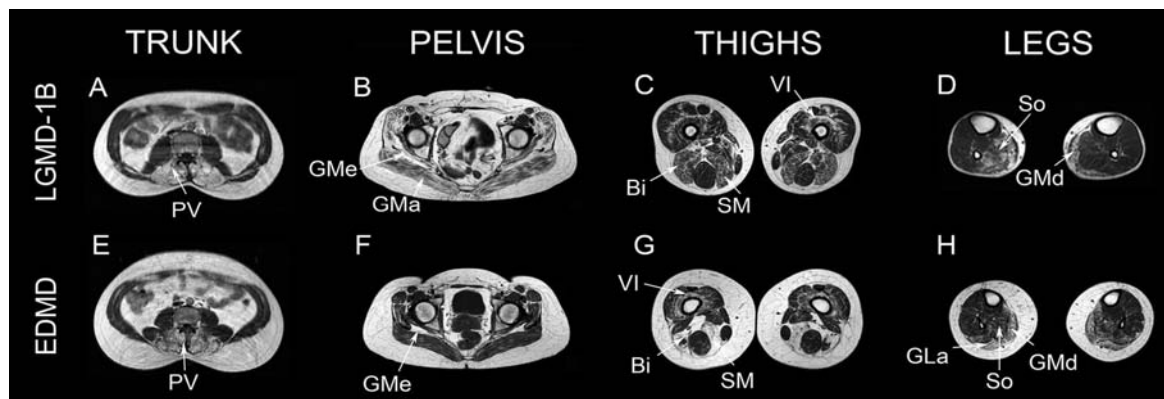


Fig. 2. Muscle MRI of patients with mutations in the *LMNA* gene and EDMD phenotype or LGMD-1B phenotype. Muscle MRIs of patients with mutation in *LMNA* gene were very similar. We found a similar pattern of muscle involvement in patients with LGMD-1B phenotype (A–D) and patients with an EDMD phenotype (E–H). The muscles involved in these examples were: paravertebral muscles (PV in A and E), *gluteus maximus* (GMa) and *gluteus medius* (GMe) in B and F, *biceps femoris*, *vastus intermedius*, *semimembranosus* (SM) muscles in the thighs (Bi, VI and SM in C and G), and *soleus*, *gastrocnemius medialis* and *gastrocnemius lateralis* in the legs (So, GLa and GMd in D and H).

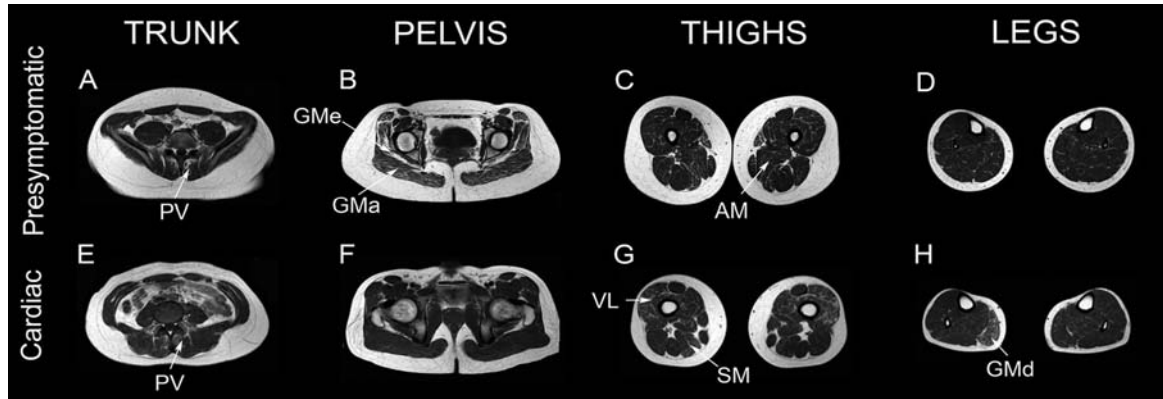


Fig. 3. Muscle MRI of patients with mutations in the *LMNA* gene and isolated cardiomyopathy phenotype and of presymptomatic patients. Presymptomatic patients (A–D) and patients with isolated cardiomyopathy phenotype (E–H) and presymptomatic patients had signs of muscle fatty infiltration in their MRIs. We observed mild fatty infiltration in paravertebral muscles (PV), *glutei* muscles including *gluteus medius* (GMe) and *maximus* (GMa), *adductor magnus* (AM), *semimembranosus* (SM) and *gastrocnemius medialis* muscles.

EMD gene is very similar to that found in patients with mutations in the *LMNA* gene [20]. This interesting finding of two genotypes that share a very similar pattern of MRI involvement has been described before. For instance, patients with muscle dystrophies produced by mutations in the *DYSF* gene and in the *ANO5* gene share a highly similar muscle MRI pattern of involvement [21]. A similar pattern of muscle involvement has also been found in myofibrillar myopathies caused by mutations in *MYOT* or in *ZASP* gene [22]. We could speculate that mutations in the *LMNA* and *EMD* share common pathogenic features that produce muscle fatty infiltration of the same muscles. Mutations in other genes codifying for nuclear proteins such as *nesprin-1* and *2*, *FHL-1* or *TMEM43* produce the EDMD phenotype [23–25]. There is only one report describing the muscle MRI findings in patients with reducing body disease associated to mutations in *FHL-1* gene. In this case, there was a predominant involvement of paravertebral, *quadriceps* and anterior and posterior muscles of the legs [26]. However, as only 3 patients were described, there is not enough evidence at present to identify this pattern as characteristic of mutations in *FHL-1* gene. As far as we know no data on muscle MRI features have been reported in *nesprin-1* and *2* and *TMEM-43* patients. It will be interesting to know whether their pattern of muscle involvement is similar to the one described by us. This could confirm that dysfunction of the muscle fiber nuclear structure is related to a common pattern of muscle fatty infiltration.

Our study confirms previous findings and adds new data that expand the radiological features of patients with mutations in the *EMD* and *LMNA* genes [11,12,16,20,27]. The pattern observed is homogenous among all the patients. For example, all patients had involvement of paraspinal muscles. In the pelvis, *glutei minimus* and *medius* are always more involved than *glutei maximus* and *psaos*. The pattern in the thighs is more variable. It has been reported that *LMNA* patients may have a

predominant involvement of anterior or posterior muscles of the thighs. Although this is true, our analysis allows to establish some general rules of involvement: (1) fatty infiltration of *semimembranosus* or long head of the *biceps femoris* is found in all patients and also in those with predominant anterior involvement, (2) *rectus femoris*, *sartorius* and *gracilis* are always less involved than posterior muscles of the thighs and of *vasti* muscles, and sometimes can be hypertrophic, and (3) *vastus intermedius* is always equally or more involved than *vastus lateralis* and *medialis*. In contrast to what happens in the thighs, the pattern in the legs is very homogeneous: all patients have involvement of the *gastrocnemius medialis*, which is always more or equally affected than *soleus* and *gastrocnemius lateralis*. *Tibialis anterior* is always less infiltrated than posterior muscles of the legs.

We have shown here that it is not possible to identify the mutated gene that produces EDMD phenotype based only on clinical findings. Although emerlin immunostaining in muscle fibers, oral exfoliative cells or leukocytes allows to distinguish among patients with *LMNA* or *EMD* mutated genes, these diagnostic procedures are not available in all centers. We have demonstrated that muscle MRI/CT scans are very similar in both genotypes. After the analysis of possible differences between the two genotypes of EDMD we only found differences in the degree of muscle fatty infiltration of the *peroneus* muscle, which was significantly more involved in patients with mutations in the *EMD* gene. The infiltration of *peroneus* muscle, when present, could be useful to guide genetic analyses in patients with EDMD phenotype, especially when the family history is not helpful and emerlin immunostaining in muscle or other tissues is not available. Moreover, muscle MRI has been previously reported to be useful to distinguish other disorders with clinical overlap with *EMD* and *LMNA* myopathies such as Bethlem myopathy and myopathies with spinal stiffness [16].

We have also found mild muscle fatty infiltration in all pre-symptomatic carriers. These changes preceded the onset of muscle weakness detected by clinical examination and reinforced the idea that a muscle MRI could be more sensitive than a physical examination in detecting subtle muscle changes [28]. The group of Dr. Carboni suggested that there is a *continuum* in the involvement of skeletal muscles between phenotypes in LMNA mutated patients [15]. Our results confirm this hypothesis. We have observed that the paravertebral muscles, *semimembranosus*, *gastrocnemius medialis* and *soleus* muscles can be involved before the onset of symptoms. As the disease progresses, other muscles – such as *glutei*, *quadriceps*, *biceps*, adductors, and *gastrocnemius lateralis* – become involved, as illustrated by one of the families that we are reporting here.

The pattern of muscle involvement in patients with mutations in the *LMNA* gene was similar regardless of the phenotype. In a previous study, we found no differences in muscle MRI in dysferlin deficient patients with an LGMD phenotype and distal posterior myopathy (Miyoshi disease) phenotype [29]. The fact that the pattern of muscle MRI in a given genotype is the same regardless of the phenotype can be explained by the presence of other factors such as modifier genes, which influence which phenotype the patient will develop. It has been suggested that variations in the expression of the proteins osteopontin, annexin A6 or latent TGF β binding protein 4 influence the progression of the muscle dystrophies [30].

In this study we have used a hierarchical analysis of the values obtained from the quantification on muscle atrophy observed in MRI/CT scans. This is a new approach to the analysis of the data obtained in muscle radiological studies that include a high number of patients. In our opinion, this approach simplifies the study and allows an easy identification of possible differences and similarities between patients. Moreover, this visual analysis generates a muscle MRI fingerprint of the disease, in which we can recognize which muscles are commonly involved and which are commonly spared. Once the fingerprint has been established for a single disease, we can compare the scans of new undiagnosed patients with the pattern and quickly confirm or discard the diagnosis.

In conclusion, patients with EDMD have consistent clinical features regardless of whether they have a mutation in the *EMD* or in the *LMNA* gene. Our imaging studies showed that patients with mutations in the *EMD* gene share a highly similar pattern of muscle fatty infiltration with patients with mutations in the *LMNA* gene regardless of their phenotype and genotype. Furthermore, we found a previously unreported difference between the two genotypes that may help to identify them; fatty muscle infiltration of *peroneus* muscles was more frequently found in patients with mutations in the *EMD* gene but not in patients with mutations in the *LMNA* gene. This finding can help guide molecular diagnosis in patients with the EDMD phenotype.

Acknowledgments

We would like to thank Carolyn Newey and Mary Bardon for editorial support and Ignasi Gich for statistical support. This

work has been supported by the Instituto de Salud Carlos III grant number PI 12/02291 to E. Gallardo. A. Alejandre has received a PhD grant from Association Française contre les Myopathies (AFM). R. Fernández-Torrón has received a Río Hortega Grant (CM12/00271) from the Spanish Ministry of Science.

Appendix: Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at doi:10.1016/j.nmd.2015.10.001.

References

- [1] Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1999;21:285–8.
- [2] Worman HJ, Bonne G. “Laminopathies”: a wide spectrum of human diseases. *Exp Cell Res* 2007;313:2121–33.
- [3] Carboni N, Porcu M, Mura M, et al. Evolution of the phenotype in a family with an LMNA gene mutation presenting with isolated cardiac involvement. *Muscle Nerve* 2013;41:85–91.
- [4] Bonne G, Mercuri E, Muchir A, et al. Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol* 2000;48:170–80.
- [5] Maggi L, D’Amico A, Pini A, et al. LMNA-associated myopathies: the Italian experience in a large cohort of patients. *Neurology* 2014;83:1634–44.
- [6] Bione S, Maestrini E, Rivella S, et al. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1994;8:323–7.
- [7] Bonne G, Quijano-Roy S. Emery-Dreifuss muscular dystrophy, laminopathies, and other nuclear envelopathies. *Handb Clin Neurol* 2010;113:1367–76.
- [8] Carlier PG, Mercuri E, Straub V. Applications of MRI in muscle diseases. *Neuromuscul Disord* 2010;22(Suppl. 2):S41.
- [9] Udd B. Distal myopathies—new genetic entities expand diagnostic challenge. *Neuromuscul Disord* 2012;22:5–12.
- [10] Mercuri E, Jungbluth H, Muntoni F. Muscle imaging in clinical practice: diagnostic value of muscle magnetic resonance imaging in inherited neuromuscular disorders. *Curr Opin Neurol* 2005;18:526–37.
- [11] Quijano-Roy S, Avila-Smirnov D, Carlier RY. Whole body muscle MRI protocol: pattern recognition in early onset NM disorders. *Neuromuscul Disord* 2012;22(Suppl. 2):S68–84.
- [12] Mercuri E, Counsell S, Allsop J, et al. Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics* 2002;33:10–14.
- [13] Carboni N, Mateddu A, Marrosu G, Cocco E, Marrosu MG. Genetic and clinical characteristics of skeletal and cardiac muscle in patients with lamin A/C gene mutations. *Muscle Nerve* 2013;48:161–70.
- [14] Carboni N, Mura M, Marrosu G, et al. Muscle MRI findings in patients with an apparently exclusive cardiac phenotype due to a novel LMNA gene mutation. *Neuromuscul Disord* 2008;18:291–8.
- [15] Carboni N, Mura M, Marrosu G, et al. Muscle imaging analogies in a cohort of patients with different clinical phenotypes caused by LMNA gene mutations. *Muscle Nerve* 2009;41:458–63.
- [16] Mercuri E, Clements E, Offiah A, et al. Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. *Ann Neurol* 2010;67:201–8.
- [17] Fischer D, Kley RA, Strach K, et al. Distinct muscle imaging patterns in myofibrillar myopathies. *Neurology* 2008;71:758–65.
- [18] Carboni N, Mura M, Mercuri E, et al. Cardiac and muscle imaging findings in a family with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2012;22:152–8.
- [19] Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. *J Magn Reson Imaging* 2007;25:433–40.

- [20] Carboni N, Mura M, Marrosu G, et al. Muscle imaging analogies in a cohort of patients with different clinical phenotypes caused by LMNA gene mutations. *Muscle Nerve* 2010;41:458–63.
- [21] Ten Dam L, van der Kooij AJ, Rovekamp F, Linssen WH, de Visser M. Comparing clinical data and muscle imaging of DYSF and ANO5 related muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2014;24:1097–102.
- [22] Olive M, Odgerel Z, Martinez A, et al. Clinical and myopathological evaluation of early- and late-onset subtypes of myofibrillar myopathy. *Neuromuscul Disord* 2011;21:533–42.
- [23] Zhang Q, Bethmann C, Worth NF, et al. Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum Mol Genet* 2007;16:2816–33.
- [24] Gueneau L, Bertrand AT, Jais JP, et al. Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 2009;85:338–53.
- [25] Liang WC, Mitsuhashi H, Keduka E, et al. TMEM43 mutations in Emery-Dreifuss muscular dystrophy-related myopathy. *Ann Neurol* 2011;69:1005–13.
- [26] Astrea G, Schessl J, Clement E, et al. Muscle MRI in FHL1-linked reducing body myopathy. *Neuromuscul Disord* 2009;19:689–91.
- [27] Deconinck N, Dion E, Ben Yaou R, et al. Differentiating Emery-Dreifuss muscular dystrophy and collagen VI-related myopathies using a specific CT scanner pattern. *Neuromuscul Disord* 2010;20:517–23.
- [28] Alejaldre A, Diaz-Manera J, Ravaglia S, et al. Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: study of thirty patients. *Neuromuscul Disord* 2012;22(Suppl. 2):S148–54.
- [29] Paradas C, Llauger J, Diaz-Manera J, et al. Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies. *Neurology* 2010;75:316–23.
- [30] Lamar KM, McNally EM. Genetic modifiers for neuromuscular diseases. *J Neuromuscul Dis* 2014;1:3–13.

“Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.” Supplemental material published on line.

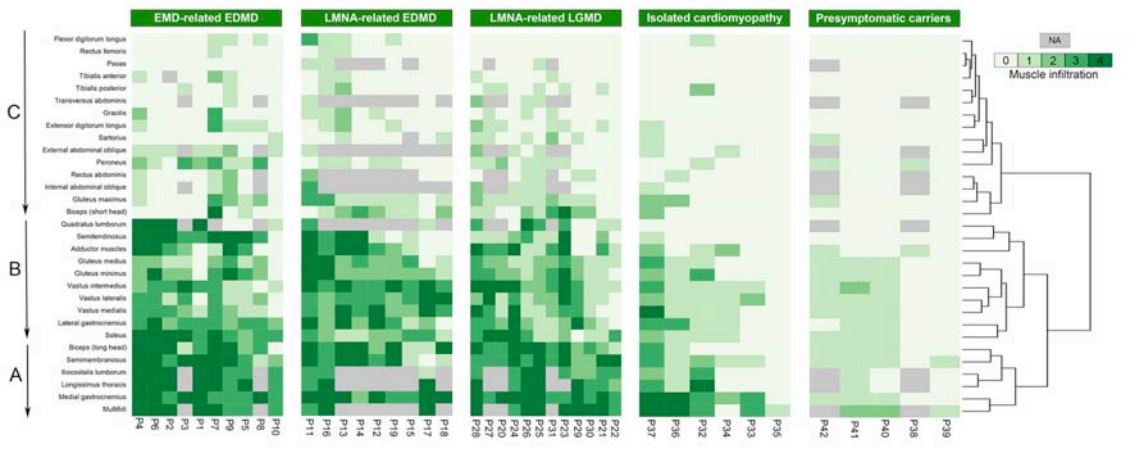


Fig. S1. Representation of score of muscle infiltration in each muscle of every patient by heatmaps. 5 heatmaps are shown from left to right: *EMD*-related EDMD, *LMNA*-related EDMD, *LMNA*-LGMD, isolated cardiomyopathy and presymptomatic carriers. In each group, patients (columns) are ordered according to hierarchical clustering with decreasing grading in infiltration severity from left to right. Muscles (rows) are ordered according to dendrogram (right side of the figure). The score of a muscle in a patient is indicated by the color of the square in the interaction between the patient and that muscle. The darker the square is, the more intense the fatty infiltration of that muscle is. Notice the presence of three groups of muscles. *Multifidus*, *medial gastrocnemius*, *longissimus*, *iliocostalis*, *semimembranosus* and the long head of *biceps* are the more infiltrated muscles (A). There is a second group of intermediate involvement (B) and a third group whose infiltration is intermittent and that are usually spared in milder forms (C). NA means not analyzable. In general we observed that *EMD* patients have mild involvement of thigh muscles but the soleus is severely affected. In contrast, *LMNA* patients have moderate to severely affected thigh muscles (in particular *vasti* and *adductor magnus* muscles) and severely affected gastrocnemii while *soleus* is less involved.

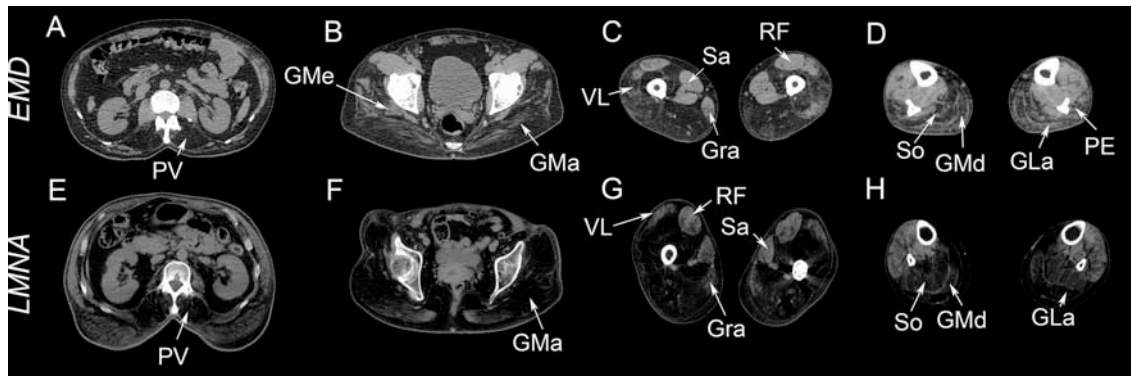


Fig. S2. Muscle imaging of EDMD patients with severe weakness caused by mutations in the *EMD* and *LMNA* genes. Muscle CT scans of patients with EDMD phenotype and mutation in the *EMD* gene (A–D) or mutation in the *LMNA* gene (E–H). We observed a common pattern characterized by involvement of paravertebral muscles (PV in A and E) in the trunk and *glutei* muscles (the image infiltration of *gluteus medius* (GMe) and *gluteus maximus* (GMa) is shown in B and F) in the pelvis. In the thighs the most common involved muscles were the posterior muscles of the thighs and the vasti, while *rectus femoris*, *sartorius* and *gracilis* (RF, Sa, Gra) were not involved. The most lateral part of *vastus lateralis* (VL) was not involved until very late stages of the disease. In the legs both *gastrocnemius* (GLa and GMd) and *soleus* (So) were involved (D and H). *Peroneus* muscles (PE) were more commonly involved in EDMD patients with mutation in the *EMD* gene than in EDMD patients with mutations in the *LMNA* gene.

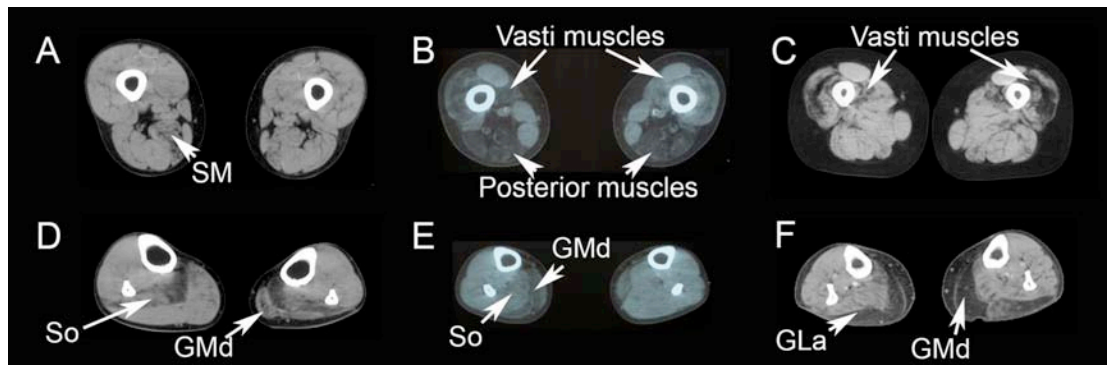


Fig. S3. Muscle CT of patients with mutations in the *EMD* and *LMNA* genes showed some degree of variability. We observe some variability in the general finding in some patients. A and D: mild involvement of *semimembranosus*, *soleus* and *gastrocnemius medialis* in one patient. B and E: Predominant posterior involvement of the thighs, with asymmetric involvement of the *vasti* muscles and *gastrocnemius* muscles. C and F: Predominant involvement of *vasti* muscles associated to involvement of both *gastrocnemius* (GMd and GLa).

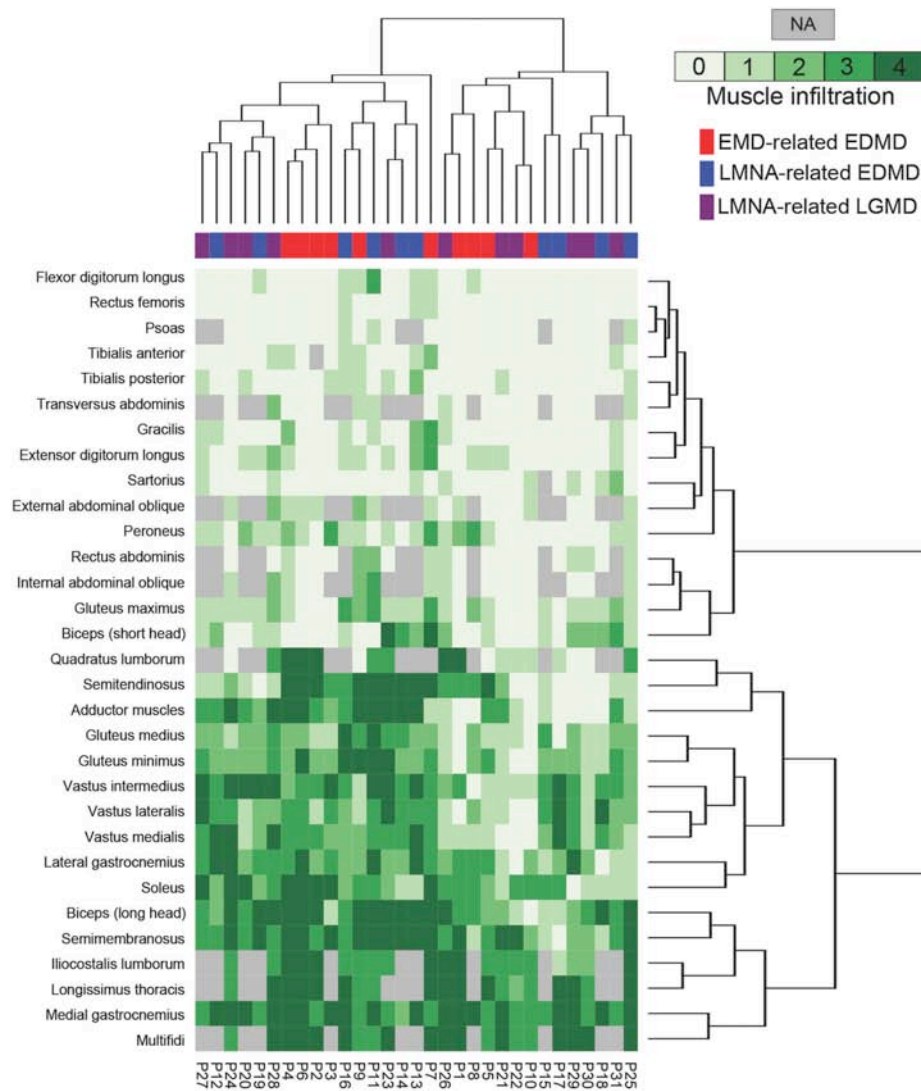


Fig. S4. Hierarchical analysis of all patients with mutation in the EMD and LMNA. Statistical software was not able to separate cluster of patients depending on the phenotype or genotype, demonstrating that the pattern is not distinguishable in this group of patients.

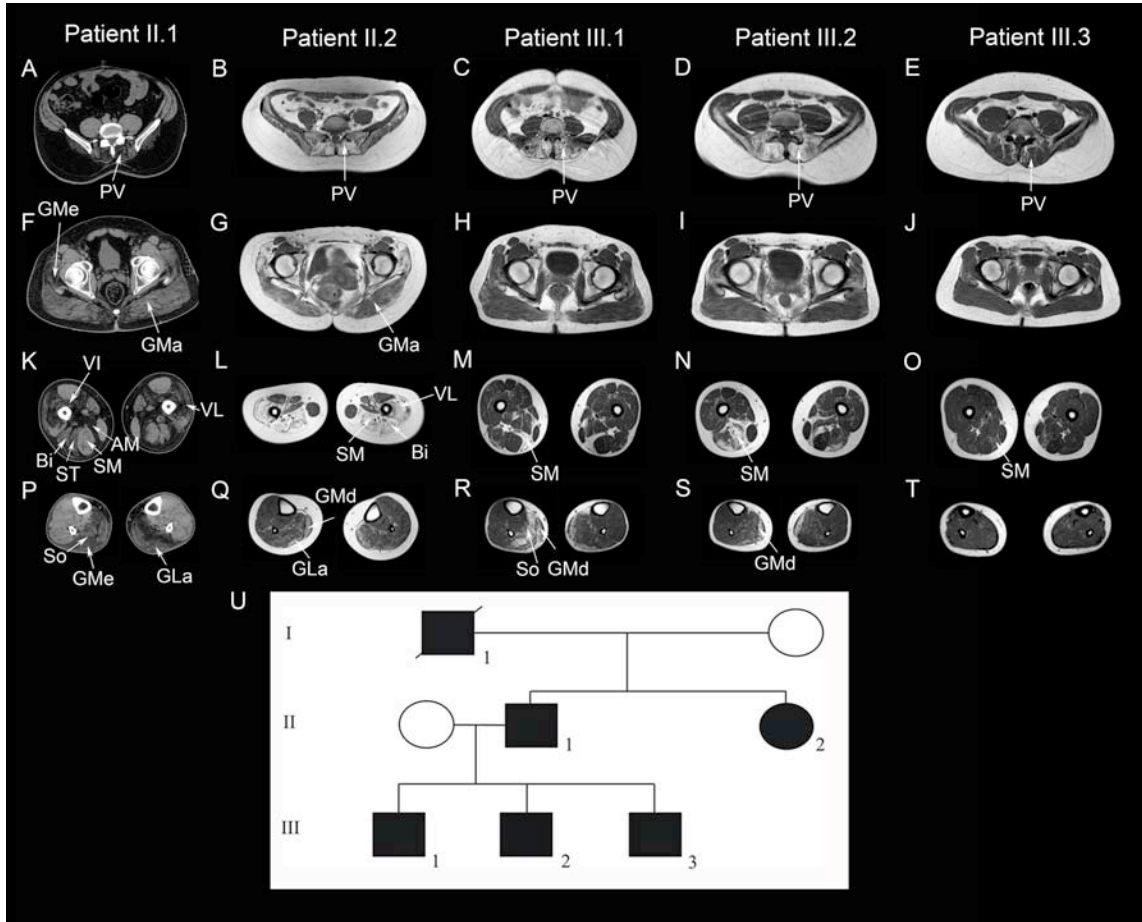


Fig. S5. Muscle CT and MRI of a family of 5 members with LGMD-1B produced by mutations in the *LMNA* gene. We observed a progressive muscle involvement in 5 members of a family with a mutation in the *LMNA* gene and a LGMD phenotype. Muscle MRI showed fatty infiltration of paravertebral (PV) and *semimembranosus* (SM) muscles (E and O) in a presymptomatic patient (patient III.3). Muscle MRI showed fatty infiltration of paravertebral (PV in C–D), long head of *biceps* and *semimembranosus* (SM) (M–N) and *soleus* (So) and *gastrocnemius* (GMe) muscles (R–S) of patients with mild weakness (patients III.1 and III.2). Muscle CT (patient II.1) and muscle MRI (patient II.2) showed fatty infiltration of paravertebral muscles (PV in A–B), glutei muscles (GM in F–G), *vastus intermedius*, *vastus lateralis*, long head of *biceps*, *semimembranosus*, *semitendinosus* and *adductor major* (VI, VL, Bi, ST, SM and AM in K–L) and *soleus* and *gastrocnemius medialis* and *lateralis* (So, GLa and GMd) in the legs. These two patients had a severe muscle weakness.

Patient	Phenotype	Gene	Sex	Mutation	Age of onset	Age of MRI/CT	Loss of ambulation (age)	Cardiac complications (PM/ID, Age)
1	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.83-7C>A	10	39	No	Yes (PM, 31)
2	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.83-7C>A	15	64	Yes (61)	Yes (PM, 36)
3	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.449+2T>C	12	47	No	Yes (PM, 33)
4	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.83-7C>A	7	29	No	Yes (PM, 16)
5	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.83-7C>A	5	22	No	Yes (PM+ID, 19)
6	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.238_239delAG	8	44	No	Yes (PM, 42)
7	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.255C>A	4	50	No	Yes (PM, 41)
8	EDMD	<i>EMD</i>	Male	NA*	5	34	No	Yes (34)**
9	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.118_148del	12	47	No	Yes (PM+ID, 45)
10	EDMD	<i>EMD</i>	Male	c.650_654dup TGGGC	17	28	No	Yes (PM, 27)
11	EDMD	<i>LMNA</i>	Female	c.1357C>T	1	29	Yes (37)	Yes (PM+ID, 29)
12	EDMD	<i>LMNA</i>	Female	c.193G>T	45	71	No	Yes (PM, 45)
13	EDMD	<i>LMNA</i>	Male	c.658C>T	4	57	Yes (57)	Yes (PM+ID, 58)
14	EDMD	<i>LMNA</i>	Male	c.401T>G	7	34	No	Yes (PM, 28)
15	EDMD	<i>LMNA</i>	Female	c.992G>C	20	44	No	Yes (PM, 46)
16	EDMD	<i>LMNA</i>	Male	c.1357C>T	3	37	No	Yes (PM+ID, 28)
17	EDMD	<i>LMNA</i>	Male	c.695C>G	3	19	No	No
18	EDMD	<i>LMNA</i>	Female	c.778A>G	36	41	No	Yes (PM+ID, 41)
19	EDMD	<i>LMNA</i>	Female	c.778A>G	41	52	No	No
20	LGMD	<i>LMNA</i>	Female	c.1357C>T	2	15	No	No
21	LGMD	<i>LMNA</i>	Male	c.513+45T>G	10	26	No	No
22	LGMD	<i>LMNA</i>	Male	c.513+45T>G	30	31	No	No
23	LGMD	<i>LMNA</i>	Female	c.513+45T>G	12	43	No	No
24	LGMD	<i>LMNA</i>	Male	c.513+45T>G	4	55	Yes (53)	Yes (ID, 52)
25	LGMD	<i>LMNA</i>	Female	c.1069G>A	10	57	Yes (68)	Yes (PM, 48)
26	LGMD	<i>LMNA</i>	Female	c.1069G>A	10	56	No	Yes (PM+ID, 51)
27	LGMD	<i>LMNA</i>	Female	c.1069G>A	3	49	No	Yes (PM, 46)
28	LGMD	<i>LMNA</i>	Male	c.1270delA	42	56	No	Yes (ID, 39)

29	LGMD	LMNA	Male	c.240delC	40	55	No	Yes (PM, 44)
30	LGMD	LMNA	Female	c.240delC	36	50	No	Yes (ID, 47)
31	LGMD	LMNA	Female	c.240delC	45	54	No	No
32	Cardio.	LMNA	Male	c.1070A>C	33	37	No	Yes (PM, 33)
33	Cardio.	LMNA	Female	c.1270delA	51	53	No	Yes (ID, 51)
34	Cardio.	LMNA	Male	c.1270delA	61	73	NO	Yes (ID, 62)
35	Cardio.	LMNA	Male	c.65C>A	39	39	No	Yes (39)**
36	Cardio.	LMNA	Female	c.1069G>A	33	34	No	Yes (33)**
37	Cardio.	LMNA	Female	c.1069G>A	28	31	No	Yes (28)**
38	Presymp.	LMNA	Male	c.513+45T>G		19	No	No
39	Presymp.	LMNA	Female	c.1069G>A		32	No	No
40	Presymp.	LMNA	Female	c.240delC		25	No	No
41	Presymp.	LMNA	Male	c.1270delA		24	No	No
42	Presymp.	LMNA	Male	c.1270delA		36	No	No

Table S1. Clinic and genetic features of the participants on the study. EDMD: Emery-Dreifuss muscle dystrophy, phenotype LGMD: limb girdle muscle dystrophy phenotype, Cardio: Isolated cardiopathy phenotype, Presymp: presymptomatic phenotype, PM: pacemaker, ID: implantable defibrillator. *NA: Mutation not known, but absence of emerin in lymphocytes Western-Blot. **Patients with cardiac symptoms that have refused PM.

5. SÍNTESIS DE LOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

5.1. Resultados “*Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients*”:

Debido a que la EP del adulto se caracteriza clínicamente por debilidad axial y proximal de las extremidades y, dado que la exploración física y las pruebas complementarias, como por ejemplo, la biopsia muscular pueden ser inespecíficas en el estudio de esta enfermedad, creímos que la radiología muscular mediante RMN y TC en el área del tronco podría ser útil para su diagnóstico. De confirmar nuestra hipótesis, evitaríamos el retraso diagnóstico que existe en la actualidad, favoreciendo el inicio del tratamiento con ERT.

Los pacientes afectados de EP del adulto tienen síntomas y signos clínicos de debilidad abdominal y/o paravertebral:

En este estudio multicéntrico se definieron las características clínicas de 30 pacientes con EP del adulto, recogándose tanto datos demográficos, clínicos como terapéuticos. Entre ellos se recogieron datos concernientes a la valoración clínica del tronco como fue la presencia de hiperlordosis, dolor lumbar y si existían signos de debilidad abdominal y paravertebral lumbar a la exploración física. Por otro lado se definieron 4 grupos de pacientes desde el punto de vista de la situación clínica de la enfermedad:

- Los sujetos asintomáticos: en los que no había clínica de debilidad muscular y el único dato alterado era una hiperCKemia en sangre.
- Los pacientes con un fenotipo de debilidad muscular leve: que eran capaces de deambular o subir escaleras sin ayuda pero que presentaban algún dato de debilidad muscular en la exploración física.
- Los pacientes con un fenotipo de debilidad muscular moderado: estos pacientes precisaban de ayuda para caminar, subir

escaleras, levantarse de una silla o requerían de ventilación no invasiva nocturna.

- Los pacientes con un fenotipo de debilidad muscular grave, eran pacientes que no podían deambular más de 10 metros sin ayuda o requerían de ventilación no invasiva durante el día.

En general un 36% de pacientes referían dolor lumbar crónico, presentándose solo en uno de los pacientes clasificados como asintomáticos, en 3 de los 7 pacientes con fenotipo leve, en 5 de los 11 pacientes con fenotipo moderado y en 3 de los 7 pacientes con fenotipo grave. En la exploración física un 43% de pacientes presentaron debilidad del área paravertebral lumbar y un 60% del área abdominal. Cuatro de 7 pacientes con fenotipo leve presentaban debilidad del tronco en la exploración física, presentándose este hecho en 5 de 11 pacientes con fenotipo moderado y en 5 de 7 pacientes con fenotipo grave. Un 46 % de pacientes presentaban una hiperlordosis lumbar en la exploración física, encontrándola en 6 de los 7 pacientes con fenotipo leve, en 5 de los 11 pacientes con fenotipo moderado y en uno de los 7 pacientes con fenotipo grave. Cuando en la consulta se sospeche un diagnóstico de EP, al explorar al paciente debemos tener en cuenta el área del tronco puesto que no se incluye de forma rutinaria y nuestros datos indican que alrededor de un 40% de los pacientes sintomáticos presentaban dolor lumbar o clínica de debilidad de tronco.

Los pacientes asintomáticos presentaron alteraciones radiológicas en el músculo esquelético:

Se realizaron 25 RMN musculares y 5 TC musculares centradas en el área abdominal y lumbar. Las TC fueron realizadas debido a la intolerancia respiratoria de 5 pacientes a la RMN. Un total de 11 músculos fueron evaluados mediante la escala de infiltración grasa muscular de Mercuri en secuencias T1 en el caso de las RMN. Estas imágenes fueron valoradas por dos observadores independientes y

ciegos a los datos clínicos. Cinco de estos 30 pacientes eran asintomáticos, en todos ellos existía infiltración grasa en al menos un músculo de este área. El músculo Multifidus fue el más frecuente y gravemente infiltrado puntuando un 2 en la Escala de Mercuri en 4 de los 5 pacientes, seguido del músculo Abdominal Oblicuo Interno.

Existe un patrón de infiltración grasa muscular en el área del tronco que además sigue un patrón evolutivo:

Se pudo definir un patrón de infiltración grasa muscular de esta área, que evolucionaba según el estadio clínico de los pacientes. Así pues, en todos los pacientes con fenotipo leve se encontró una infiltración grasa predominante de los músculos Abdominal Oblicuo Interno y Longísimus. Estos se encontraban completamente reemplazados por grasa. Además el músculo Multifidus se encontraba infiltrado en 6 de los 7 pacientes. Los músculos Abdominal Oblicuo Externo, Cuadrado Lumbar e Iliopsoas se encontraban respetados en la mayoría de estos pacientes. En los pacientes con fenotipo moderado se observó que todos los músculos estaban infiltrados por grasa, principalmente los músculos Abdominal Transverso, Oblicuo Interno, Recto Abdominal, Iliocostal y Longísimus que se encontraban completamente reemplazados por grasa. El músculo Abdominal Oblicuo Externo, Iliopsoas y Multifidus fueron los menos afectados. En los pacientes con fenotipo grave encontramos infiltración grasa completa en todos los músculos estudiados.

Existe una correlación entre el grado de infiltración grasa muscular y el estadio clínico:

Se analizó mediante el test de Pearson la correlación existente entre el grado de severidad clínica (1-4) y el valor medio de infiltración grasa mediante la escala Mercuri en todos los músculos explorados. Se encontró una correlación positiva y significativa entre estos dos datos, es decir cuanto mayor era la afectación clínica mayor era el grado de infiltración grasa muscular en la radiología.

5.2. Discusión “*Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: Study of thirty patients*”:

En la actualidad existen diferentes estudios de imagen muscular en enfermedades neuromusculares, en los que la imagen se ha aprobado como herramienta útil en el estudio de algunas de estas enfermedades. En concreto en la EP del adulto se han realizado estudios mediante TC y RMN muscular donde se ha definido un patrón de infiltración muscular de inicio en tronco con posterior infiltración del muslo con predominancia de la misma en su compartimento posterior. Además se ha encontrado infiltración del músculo Subescapular y de la lengua en etapas tempranas de la enfermedad. Se sabe que es posible encontrar signos miopáticos en el estudio de la musculatura paravertebral lumbar mediante EMG desde etapas tempranas de la enfermedad, incluyendo descargas miotónicas y/o de alta frecuencia características de esta enfermedad. Por otro lado, recientemente, se ha descrito un nuevo fenotipo clínico en la EP del adulto caracterizado por la existencia de una espina rígida por implicación predominante de la musculatura axial. Debido a todo ello y a la dificultad que supone evaluar desde el punto de vista clínico esta área, en la que sólo se puede evaluar la función conjunta de todos los músculos y no de forma aislada la función de un músculo determinado, decidimos estudiar la musculatura del tronco en pacientes con EP del adulto mediante TC o RM muscular. Hasta el presente artículo no se había reclutado una cohorte de pacientes tan larga ni se había centrado la imagen en un área corporal, que se afecta de forma muy característica y casi invariable en la EP. Encontramos que ya en pacientes asintomáticos había infiltración grasa a nivel lumbar y abdominal. Este dato sugiere que la imagen muscular, en concreto la RMN muscular es más sensible que la exploración física para detectar patología muscular. Por lo tanto al detectar cambios patológicos en el músculo de forma precoz podría ser una herramienta

útil para la decisión del inicio del tratamiento con ERT. Puesto que nuestro trabajo no se ha centrado en el estudio de dicha conclusión, creemos que serían necesarios estudios específicos para este fin.

La infiltración grasa de los músculos descritos en la radiología junto con hiperCKemia y la presencia de debilidad axial y pélvica en la exploración física nos debería hacer sospechar en una EP. A pesar de no encontrar un patrón de infiltración totalmente definido en este área, si que pudimos observar como la musculatura abdominal y paravertebral lumbar seguía una infiltración evolutiva según el estadio clínico de la enfermedad. Por este motivo pensamos que la imagen muscular es útil para el seguimiento de la EP. También nuestros datos nos sugieren que la imagen muscular es útil para el diagnóstico diferencial de la misma con otras enfermedades que cursan con debilidad axial, como son otras miopatías metabólicas, mitocondriales, congénitas y otras distrofias como la FSHD. En el caso de esta última, existe también debilidad facial y del compartimento anterior de la pierna en la exploración física e infiltración abdominal en la radiología muscular siendo esta típicamente asimétrica.

Por lo tanto pudimos concluir que la radiología muscular centrada en al área del tronco en los pacientes con enfermedad de Pompe del adulto, puede ser de utilidad para el diagnóstico y el seguimiento de la enfermedad. Además de que puede ser una buena herramienta para la evaluación del inicio y de la respuesta al tratamiento específico aunque en este sentido necesitamos más estudios para confirmar esta hipótesis.

5.3. Resultados. “Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes”:

Las mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA* producen diversas patologías. Las miopatías producidas por mutaciones en el gen de *LMNA* pueden presentarse con diferentes fenotipos, uno de ellos es el fenotipo EDMD,

que también puede ser secundario a una mutación en el gen *EMD*. El fenotipo EDMD puede ser heredado de forma autosómica dominante o recesiva si es secundario a un mutaciones en el gen *LMNA* o de herencia ligada al cromosoma X si es secundario a mutaciones en el gen *EMD*. Esta distrofia se caracteriza por debilidad humero-peroneal asociada a contracturas articulares en tobillos, codos y columna. Estos pacientes además presentan cardiopatía asociada. Hasta la fecha no hay reportadas diferencias clínicas ni en evolutivas de la EDMD en función del gen mutado causante de la enfermedad. Existen varios trabajos que describen el patrón de infiltración grasa muscular mediante radiología de estos pacientes pero los resultados varían de forma importante entre estudios. Hasta la fecha tampoco hay datos para poder diferenciar desde el punto de vista radiológico si la EDMD está producida por mutación en el gen *LMNA* o *EMD*. Por todo ello decidimos realizar un estudio multicéntrico descriptivo de las características clínicas y radiológicas de miopatías producidas por mutaciones en los genes *LMNA* y *EMD* y buscar además diferencias entre los dos genotipos en los pacientes afectados de EDMD.

Los pacientes con EDMD no presentaron diferencias clínicas según su genotipo:

Se estudiaron un total de 42 sujetos con mutaciones en el gen *LMNA* o *EMD*. De ellos, 32 pacientes presentaban mutaciones en el gen *LMNA*, y se clasificaron en 4 fenotipos (presintomáticos, con cardiomiopatía aislada, con fenotipo distrofia de cinturas LGMD y con fenotipo EDMD). Todos los pacientes con mutación en el gen *EMD* tenían fenotipo EDMD. Se recogieron datos demográficos y datos clínicos de todos los pacientes. No encontramos diferencias significativas respecto a las características clínicas de los pacientes con EDMD según su genotipo.

A su vez decidimos comparar los datos clínicos entre los pacientes con fenotipo EDMD y los que presentaban fenotipo LGMD. Encontramos diferencias clínicas significativas en cuanto a la distribución de la debilidad muscular, siendo más frecuente como era de esperar, la distribución humeroperoneal en el fenotipo EDMD. Además la presencia de espina rígida y la implantación de marcapasos también fue más frecuente en el fenotipo EDMD.

Describimos el patrón radiológico de infiltración grasa muscular en los pacientes con fenotipo EDMD:

Realizamos 19 RMN y 23 TC musculares, la TC muscular fue realizada en los pacientes en los que había contraindicación para someterse a la RMN. Dos observadores independientes y ciegos a los datos clínicos evaluaron las imágenes musculares mediante la escala de infiltración grasa muscular definida por el Dr. Fischer. Las áreas evaluadas fueron la abdominal y paravertebral lumbar en 25 pacientes de los que disponíamos de imágenes de esta zona y el área pélvica, muslo y de pierna en todos los pacientes de la cohorte.

En primer lugar estudiamos y comparamos a los pacientes que presentaban un fenotipo EDMD. Todos los pacientes presentaron infiltración grasa en la imagen muscular y la mayoría de los pacientes presentaban una simetría de la infiltración.

En el área del tronco se observó una infiltración de la musculatura paravertebral en todos los pacientes, siendo los músculos Multifídus, Iliocostal y Longísimus los que más infiltrados se encontraban. Los músculos del área abdominal se encontraron relativamente respetados. En el área pélvica encontramos una leve infiltración de la musculatura glútea en un 80% de los pacientes, siendo más frecuente la infiltración de los músculos Glúteo Menor y Medio que la del Glúteo Mayor. Muy

poco frecuente fue encontrar el músculo Psoas infiltrado por grasa y cuando se encontraba infiltrado era en menor grado comparado con la musculatura glútea. A nivel de muslo, los músculos más frecuentemente infiltrados fueron el Semimembranoso y la Cabeza Larga del Bíceps Femoral. En un 70-90% de pacientes encontramos también infiltración grasa de los músculos Vasto Lateral, Vasto Medial, Vasto Intermedio, Adductor Mayor y Semitendinoso. A este nivel encontramos alguna variabilidad del patrón de infiltración muscular entre pacientes pero por regla general objetivamos una infiltración grasa más grave en el compartimento posterior del muslo con respecto al anterior. Pudimos además observar que la infiltración grasa del músculo Vasto Lateral se iniciaba en su parte medial y sólo en estadios avanzados de la enfermedad progresaba a la parte lateral del músculo. La infiltración grasa en los músculos Recto Femoral, Gracilis y Sartorio fue rara, incluso pudimos encontrar una hipertrofia de los mismos en algunos pacientes. En el área de la pierna observamos que los músculos Sóleo, Gastrocnemio Medial y Lateral eran los músculos más frecuentemente infiltrados. El compartimento anterior presentaba una infiltración grasa de menor gravedad y menos frecuente que el compartimento posterior de la pierna.

Realizamos un análisis de agrupamiento jerárquico de los datos obtenidos tras la lectura de las imágenes musculares. Y también una representación gráfica de estos datos mediante Heatmaps generando dendogramas entre pacientes y músculos que tenían una infiltración similar. Esta representación da lugar a una información visual y fácil de interpretar del patrón de infiltración que presentaban estos pacientes.

En pacientes con fenotipo EDMD el músculo Peroneo presentó diferencias de infiltración entre genotipos:

Observamos una diferencia estadísticamente significativa en el grado de infiltración de grasa en el músculo Peroneo. En concreto se encontraba infiltrado en un 88% de los pacientes con fenotipo EDMD y mutación en el gen *EMD*, mientras que la infiltración en este músculo se presentaba sólo en un 40% de los pacientes con fenotipo EDMD y mutación en el gen *LMNA*. Además el grado de infiltración grasa era más grave en el caso de los pacientes con mutación en el gen *EMD*.

No encontramos diferencias en el patrón de infiltración muscular entre fenotipos:

En un segundo análisis describimos y comparamos el patrón radiológico de infiltración grasa muscular en todos los pacientes con mutación en el gen *LMNA*. No encontramos diferencias entre el fenotipo EDMD y el fenotipo LGMD. De hecho cuando realizamos el análisis jerárquico, no fue posible agrupar a los pacientes dependiendo de su fenotipo o su genotipo, confirmando que el patrón de infiltración radiológico es común para todos los fenotipos y genotipos.

En los pacientes con cardiopatía aislada encontramos infiltración grasa del músculo esquelético:

Todos los pacientes con cardiopatía aislada presentaron infiltración grasa del músculo esquelético, a pesar de no presentar clínica de debilidad muscular. Estos pacientes tenían el mismo patrón de infiltración que los pacientes con fenotipo EDMD o LGMD pero el grado de infiltración grasa fue menor. Los músculos Multifidus y Gastrocnemio Medial fueron los músculos más frecuentemente infiltrados.

En los sujetos presintomáticos encontramos infiltración grasa muscular:

En todos los sujetos presintomáticos observamos infiltración de la musculatura paravertebral. Además en dos de ellos se encontraban infiltrados los músculos Glúteo, Sóleo y Gastrocnemio Medial.

Existe una progresión en el patrón de infiltración grasa en la radiología muscular:

Estudiamos a 5 pacientes de 2 generaciones de una familia con fenotipo LGMD secundaria a mutación en el gen *LMNA*. Pudimos observar la progresión de la infiltración de grasa en el músculo según el estadio evolutivo de la enfermedad. En el sujeto presintomático había una leve infiltración de la musculatura paravertebral y del músculo Semimembranoso. En dos pacientes que presentaban debilidad muscular leve encontramos además de la infiltración de la musculatura paravertebral y del músculo Semimembranoso, una infiltración grasa del músculo Gastrocnemio Medial, Lateral y de la Cabeza Larga del Bíceps Femoral. Finalmente en los 2 pacientes con debilidad muscular grave encontramos además de los músculos anteriormente descritos una infiltración de la musculatura glútea y de los Vastos.

5.4. Discusión. “Muscle imaging in muscle dystrophies produced by mutations in the EMD and LMNA genes.”

En nuestro estudio definimos un patrón de infiltración grasa mediante radiología muscular en pacientes con miopatía secundarias a mutaciones en el gen *EDMD* y *LMNA*, en la serie más larga de pacientes recogida hasta la fecha. Encontramos que este patrón era común para todos los pacientes a pesar de presentar un genotipo o fenotipo diferente. Sólo observamos diferencias significativas en el grado y la frecuencia de la infiltración grasa del músculo Peroneo. Era más grave y frecuente en la EDMD producida por mutación en el gen *EMD*, pudiendo ser de utilidad este músculo para guiar el diagnóstico

genético en los casos en los que la clínica y las pruebas complementarias nos planteen dudas.

En la literatura ya se había reportado que los músculos Sóleo y Cuádriceps estaban infiltrados en la radiología muscular. Los estudios hasta la fecha eran escasos y con un número reducido de pacientes. Con este estudio aportamos nuevos datos, expandiendo y definiendo con más precisión el patrón de infiltración grasa muscular mediante radiología. Aportamos datos nuevos como la infiltración de la musculatura paraespinal, del músculo Glúteo Medio y Menor además de encontrar una mayor infiltración del músculo Semimembranoso y de la Cabeza Larga del Bíceps Femoral. En piernas describimos la infiltración del músculo Gastrocnemio Medial seguido de los músculos Gastrocnemio Lateral y Sóleo. Los músculos Recto Femoral, Gracilis y Sartorio, se encontraron levemente infiltrados o respetados, incluso hipertróficos en muchos de los pacientes. De nuevo hemos podido probar que la musculatura paravertebral se infiltra desde etapas tempranas incluso presintomáticas de enfermedades que cursan con componente de debilidad axial, como es el caso de estas miopatías. Por lo que la imagen muscular no sólo se ha de centrar en el área de las piernas, sino en otras áreas que presentan una dificultad para la exploración física como es el caso de la musculatura axial.

El hecho de que dos genotipos diferentes compartan un patrón de infiltración en la imagen muscular como ocurre en nuestros pacientes, ya se ha reportado en otras distrofias como en las producidas por mutaciones en el gen *ANO5* y el gen *DYSF* o en las miopatías producidas por mutaciones en el gen *MYOT* y el gen *ZASP*. Con ello podemos plantear que las mutaciones en el gen *LMNA* y en el *EMD* comparten vías patogénicas en común. Los dos genes codifican proteínas nucleares. Cabe destacar que existen otros genes de la membrana nuclear que sus mutaciones son causa de enfermedad

muscular. En el caso del FHL-1, en el trabajo que describe su patrón de infiltración mediante RMN se describió una infiltración predominante en la musculatura paravertebral, en el músculo Cuádriceps y en el compartimento anterior y posterior de la pierna. Este patrón difiere del nuestro en algunos músculos sin embargo el estudio fue realizado sobre tres pacientes, así que un estudio con más pacientes sería necesario para definir mejor este patrón. Otros genes que codifican proteínas nucleares son el *Nesprin 1 y 2* y el *TMEM-43*, sobre ellos no hay trabajos en los que se describa la imagen muscular. Creemos que sería interesante conocer sus patrones de infiltración y saber si es comparable al descrito por nosotros, puesto que este hecho podría confirmar que la alteración de la estructura nuclear de la fibra muscular se relaciona con un determinado patrón de infiltración grasa del músculo esquelético. Por otro lado el hecho de que un mismo genotipo, comparta el mismo patrón de infiltración muscular a pesar de tener fenotipos diferentes, como hemos encontrado en los pacientes con mutación en el gen *LMNA*, se podría explicar por la presencia de otros factores como los modificadores genéticos. Estos podrían influir en el fenotipo a desarrollar.

En nuestro estudio encontramos infiltración grasa en las imágenes de pacientes asintomáticos para debilidad muscular, por lo que podemos concluir que la imagen muscular puede ser más sensible para detectar patología muscular que la exploración física.

Además observamos que existía un patrón característico de evolución de la infiltración muscular conforme se avanzaba en el estadio evolutivo de la enfermedad en los pacientes con mutación en el gen *LMNA*. La musculatura paravertebral y los músculos Semimembranoso, Gastrocnemio Medial y Sóleo pueden estar infiltrados incluso antes del inicio de los síntomas de la enfermedad. Conforme la enfermedad progresa se van infiltrando otros músculos como el Glúteo, el

Cuádriceps, el Bíceps Femoral, el Adductor y el Gastrocnemio Lateral. Por lo tanto la imagen muscular puede ser de utilidad para el seguimiento y el estudio de la historia natural de esta patología.

En nuestro trabajo aportamos otra novedad que es el análisis jerárquico de los datos y su representación mediante los Heatmaps. Esto permite identificar con facilidad las diferencias o similitudes entre los pacientes, generando un análisis visual sencillo de los resultados y por tanto del patrón de infiltración de estas enfermedades. Los heatmaps establecen una imagen rápida de la enfermedad siendo posible compararla con el patrón radiológico de otros pacientes sin diagnóstico, permitiendo así una rápida confirmación del diagnóstico o descarte del mismo.

Así pues podemos concluir que: 1) los pacientes con EDMD presentan características clínicas muy similares a pesar de su genotipo. 2) los pacientes con mutación en el gen *EMD* tiene un patrón de infiltración muscular radiológico muy similar al de los pacientes con cualquier fenotipo producido por mutación en el gen *LMNA*. 3) el músculo Peroneo se infiltraba con mayor frecuencia y gravedad en los pacientes con mutación en el gen *EMD*, pudiendo este hecho guiar el diagnóstico genético en los pacientes con EDMD. 4) la imagen muscular es una herramienta útil para el diagnóstico de estas miopatías ayudando incluso a decidir que estudio genético debe realizarse en cada caso.

6. DISCUSIÓN GENERAL:

La presente tesis se basa en dos trabajos sobre dos tipos de miopatías caracterizados por presentar debilidad de la musculatura axial y proximal de la cintura pélvica. Los dos estudios han sido realizados en un gran número de pacientes, hecho destacable teniendo en cuenta que son enfermedades raras con escasa prevalencia.

Hemos descrito las características clínicas de pacientes con EP del adulto y con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* y *EMD*. Nuestros datos fueron similares a los reportados ya en la literatura. Sin embargo en ambos casos pudimos observar la implicación de la musculatura axial bien en forma de debilidad muscular o bien en forma de rigidez. En la mayoría de los casos, la implicación de la musculatura axial se asociaba a una debilidad de la musculatura de la cintura pélvica y/o escapular. La debilidad axial incluso podía ser el primer síntoma que presentaban algunos de nuestros pacientes. Este tipo de debilidad supone un reto a nivel clínico puesto que es difícil de detectar en la anamnesis y en la exploración física. Determinar si existe implicación de la musculatura axial en la exploración física de un paciente puede ayudar en el diagnóstico diferencial. En una revisión sobre miopatías axiales publicada con fecha posterior a nuestros artículos los autores proponían la exploración de la debilidad axial mediante observación de posturas adquiridas por el paciente, movimientos que suponen la contracción de la musculatura erectora espinal y extensora de cadera y el estudio mediante dinamómetro (22). Es importante incluir en la historia clínica y en la exploración física el estudio de esta área corporal dado que en la actualidad ha aumentado la prevalencia de miopatías con componente de debilidad axial. Las técnicas radiológicas, especialmente la popularización de la RMN de cuerpo entero, han permitido identificar la afectación de esta musculatura en pacientes con diversas distrofias musculares, asociada o no a debilidad de cinturas. Las miopatías presentadas en la presente tesis ya se encuentran descritas dentro del diagnóstico diferencial de las miopatías con componente axial. En el diagnóstico diferencial de pacientes con afectación axial aislada incluiríamos a parte de la EP y la EDMD, las miopatías secundarias a mutaciones en el gen de la Selenoproteína, el síndrome *Bent spine*, la miopatía post radioterapia y de forma más rara la FSHD y la enfermedad de McArdle. La afectación de la musculatura axial asociada a debilidad en

otros grupos musculares puede observarse en un gran grupo de miopatías incluyendo la Distrofia muscular de Duchenne, la FSHD, la esclerodermia, la miopatía secundaria a mutación en el gen *FHL1*, las Colagenopatías, la Disferlinopatía y la Calpainopatía, además de las miopatías miofibrilares y la DM1. El diagnóstico diferencial incluye también las miopatías secundarias a mutación en el gen *MYH7*, sobre el que hemos reportado un nuevo fenotipo con debilidad axial y del que adjuntamos el trabajo en un anexo de la tesis.

El diagnóstico preciso tanto de la EP como de las miopatías secundarias a mutaciones en el gen *LMNA* y *EMD* es de crucial importancia, puesto que no sólo padecen de discapacidad motora si no que también son enfermedades que comprometen a la musculatura respiratoria y al corazón pudiendo ser la causa principal de fallecimiento. Por lo tanto son miopatías que acortan la esperanza de vida de estos pacientes. Un diagnóstico temprano y preciso supone una monitorización de los signos y síntomas respiratorios y cardíacos pudiendo implantar tratamientos específicos del compromiso respiratorio y cardiológico. Tratamientos tales como la implantación de un marcapasos o desfibrilador en el caso de los pacientes con EDMD o ventilación mecánica o inicio de la ERT en el caso de la EP del adulto. Además se están ensayando otras futuras terapias para el fallo de estos órganos como son el uso de vectores virales. Esta tesis ha demostrado de forma fehaciente que las técnicas radiológicas son de gran utilidad en el diagnóstico de ambas enfermedades. (45;52;64;77;173;174).

Con nuestros trabajos demostramos que la imagen muscular es un biomarcador útil para el diagnóstico de dos miopatías, la EP del adulto y las miopatías secundarias a mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA*. Al igual que se ha demostrado en otros tipos de miopatías, el patrón de infiltración muscular grasa en la imagen muscular es de gran ayuda para el diagnóstico de estas enfermedades de alta complejidad diagnóstica. En el caso de la EP del adulto además del patrón descrito ya en la literatura,

nosotros expandimos este patrón objetivando infiltración grasa de área del tronco desde etapas asintomáticas, siendo el músculo Multifidus y el Oblicuo Interno los primeros músculos afectados y encontrando una infiltración progresiva de toda la musculatura de esta área hasta la infiltración completa en los estadios más avanzados de la enfermedad. En el caso de la miopatía secundaria a mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA* además de encontrar datos concordantes con los estudios publicados hasta la fecha, nosotros objetivamos un patrón más extendido de infiltración grasa muscular, como es la infiltración de la musculatura paraespinal y del muslo. Además nuestro trabajo compara la afectación radiológica de pacientes con EDMD secundaria a mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA*. Esta comparación ha permitido identificar un patrón común en ambos casos, excepto por la infiltración grasa del músculo Peroneo, siendo más frecuente y grave en los pacientes con mutaciones en el gen *EMD*. De nuevo corroboramos que la imagen muscular es una herramienta útil para el diagnóstico genético de esta enfermedad, pudiendo guiar el estudio genético a realizar cuando la historia clínica o la inmunohistoquímica no sean de ayuda. Hemos comparado también la radiología de estos pacientes con la de pacientes con otros fenotipos secundarios a mutaciones en el gen *LMNA*, hallando de nuevo un patrón similar. El hecho de que exista un patrón de infiltración grasa similar independientemente del genotipo del paciente permite hipotetizar que la disfunción de las proteínas de la membrana nuclear afectan a un grupo de músculos de forma predominante. Además el estudio radiológico de diferentes fenotipos secundarios a mutación en el gen *LMNA* no encontró diferencias en el patrón de infiltración muscular a pesar de diferir en el patrón de debilidad clínica, al igual que ocurre en otras miopatías como es el caso por ejemplo de la distrofia muscular secundaria a la mutación en el gen *DYSF* (131). Ello nos sugiere la posible existencia de factores que modulan la expresión génica, pudiendo una misma mutación provocar varios tipos clínicos de enfermedad. Nuestro estudio abre nuevas hipótesis siendo necesarios más estudios centrados en biología molecular.

En nuestros trabajos estudiamos a pacientes asintomáticos desde el punto de vista muscular, encontrando infiltración grasa de la musculatura axial en la radiología en ambas patologías. Este hecho sugiere que la imagen muscular en concreto la RMN y la TC, es más sensible que la exploración física para detectar patología a nivel del músculo esquelético. En trabajos posteriores se ha corroborado este hecho y se propugna también valorar el músculo esquelético no sólo con la secuencia T1 de RMN si no también con las secuencias T2, STIR o Water T2 ya que pueden mostrar la existencia de agua libre en el músculo sin que se haya producido degeneración grasa (163;175). Como ejemplo cabe destacar el estudio de la Dra. Pichiecchio que describió una hiperseñal de la secuencia STIR en una paciente de 16 años con EP asintomático en ambos músculos Adductores Mayores. Puesto que esta alteración ya se había descrito en etapas iniciales de EP del adulto, este paciente fue estudiado bajo la sospecha de EP, confirmándose el diagnóstico mediante secuenciación génica (175).

Otra de las novedades que aportan nuestros trabajos es el uso de nuevas herramientas informáticas para el análisis de la radiología muscular. La representación de los resultados obtenidos mediante Heatmaps permite una fácil identificación de los músculos más o menos infiltrados en los pacientes, lo que lleva a generar una “huella dactilar” de cada una de estas enfermedades facilitando el diagnóstico diferencial entre diferentes miopatías.

Finalmente nuestros trabajos sugieren que la imagen muscular es útil para el control evolutivo de los pacientes con EP del adulto o con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* o *EDM*. En ambos trabajos describimos un patrón de infiltración grasa muscular progresivo relacionado con el estadio clínico de la enfermedad. Además en la EP del adulto encontramos una correlación positiva entre el estadio evolutivo y el grado de infiltración grasa muscular siendo mayor conforme avanza la

enfermedad. El hecho de que la imagen muscular pueda ser de utilidad para el seguimiento de estas patologías está abriendo camino hacia nuevas investigaciones y nuevos trabajos publicados con posterioridad. Un ejemplo es un trabajo en la EP que prueba la utilidad de la RMN torácica centrada en el volumen pulmonar y el músculo diafragma para el seguimiento de la alteración respiratoria (176). Se han desarrollado secuencias cuantitativas que permiten conocer la cantidad exacta de grasa o agua en una área del músculo. Estas secuencias están siendo estudiadas en diversas enfermedades musculares, incluyendo la EP, para conocer si son superiores a las pruebas funcionales musculares en el análisis de la progresión clínica de la enfermedad (177). En nuestra opinión el seguimiento de los pacientes mediante RMN es una herramienta de futuro que va a ser muy útil en el seguimiento de los pacientes tanto en estudios de historia natural como en ensayos clínicos en los que se pretenda monitorizar la respuesta a diversos fármacos. Posteriormente a la publicación de los artículos que componen esta tesis, se publicaron dos estudios en pacientes con EP del adulto, donde valoran la evolución y respuesta al tratamiento con ERT mediante RMN muscular calculando el % de grasa y volumen muscular mediante secuencias T1, 3-point Dixon y water T2. Estos estudios sugieren que la respuesta al tratamiento es mayor cuanto mejor este el músculo al inicio del mismo. Por lo que a falta de un consenso claro, la imagen muscular podría ser de utilidad para valorar cuando se debe iniciar el tratamiento con ERT en la EP (175;177).

Por lo tanto mediante la presente tesis se puede concluir que la imagen muscular es un biomarcador eficaz, seguro y accesible para el diagnóstico de la Enfermedad de Pompe del adulto y de la miopatía producida por mutaciones en el gen *EMD* y *LMNA*, cuya característica en común es presentar una debilidad axial. La imagen muscular puede ser útil para guiar el estudio genético en pacientes que comparten un mismo fenotipo. Además la imagen muscular es más sensible que la exploración física para

detectar patología muscular y más en concreto en el área paravertebral y abdominal. Por ello la imagen muscular es de utilidad en los pacientes asintomáticos que presenten alteración en alguna otra prueba complementaria que haga sospechar que sufre de una miopatía. También es útil para el estudio de familiares de pacientes con estas miopatías y para el seguimiento de estas miopatías, aunque son necesarios más estudios para probar esta última conclusión.

7. CONCLUSIONES:

- **La imagen muscular centrada en el área del tronco en la Enfermedad de Pompe del adulto es una herramienta útil para el diagnóstico de la enfermedad.**
- **La imagen muscular en la Enfermedad de Pompe del adulto es más sensible que la exploración física para detectar patología del músculo esquelético, puesto que hemos probado que detecta infiltración grasa de la musculatura paravertebral en sujetos asintomáticos.**
- **La imagen muscular en la Enfermedad de Pompe del adulto es una herramienta útil para detectar cambios patológicos incipientes en el músculo esquelético, pudiendo considerarse como uno de los marcadores que indiquen el inicio del tratamiento con ERT.**
- **La imagen muscular centrada en el área del tronco en pacientes con Enfermedad de Pompe del adulto puede ser de utilidad para el seguimiento de los pacientes y para el estudio de la historia natural de la enfermedad, puesto que sigue un patrón evolutivo de infiltración grasa en la imagen muscular conforme evoluciona el estadio clínico de la enfermedad.**
- **La imagen muscular en las miopatías secundarias a mutaciones en el gen *EMD* o *LMNA* ayuda a orientar el diagnóstico de las mismas puesto que presentan un patrón radiológico de infiltración grasa muscular característico.**

- La imagen muscular en los pacientes con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *EMD* o *LMNA* es de utilidad para guiar el diagnóstico genético, en concreto los cambios que se producen en el músculo peroneo, encontrándose infiltrado de forma más grave y más frecuente en la miopatía secundaria a mutaciones del gen *EMD*.

- La imagen muscular en las miopatías secundarias a mutaciones en el gen *EMD* o *LMNA* es más sensible que la exploración física para detectar patología del músculo esquelético, puesto que hemos probado que detecta infiltración grasa en la imagen muscular de sujetos asintomáticos, principalmente en el área paravertebral.

- La imagen muscular en los pacientes con miopatía secundaria a mutaciones en el gen *LMNA* puede ser de utilidad para el seguimiento de los pacientes y para el estudio de la historia natural de la enfermedad, puesto que sigue un patrón radiológico evolutivo de infiltración grasa conforme evoluciona el estadio clínico de la enfermedad.

- La representación gráfica de los datos de la imagen muscular mediante Heatmap es útil para una aproximación diagnóstica inicial y rápida de una miopatía sin diagnóstico, al comparar su imagen muscular con el patrón ya conocido en miopatías secundarias a mutaciones en el gen *LMNA* o *EMD*.

- La imagen muscular en concreto, la Resonancia magnética y la tomografía computerizada, es un biomarcador eficaz, seguro y accesible para el estudio y seguimiento de las miopatías.

8. ANEXO:

8.1. Introducción:

La proteína *Myosin heavy chain (MyHC)* actúa como el motor en diversos movimientos celulares como la citoquinesis, la fagocitosis o la contracción muscular debido a que es responsable de la hidrólisis de la ATP. Existen muchas isoformas de esta proteína en el músculo esquelético y se encuentran codificadas por diferentes genes. En concreto el gen *Myosin heavy chain 7 (MYH7)* codifica la proteína *slow β Myosin heavy chain* que se encuentra en las fibras musculares esqueléticas tipo I y en el miocardio. Esta proteína tiene dos dominios funcionales, la mayoría de las mutaciones en este gen afectan al dominio globular, provocando cardiomiopatía hipertrófica o dilatada sin signos ni síntomas de miopatía asociada. La mayoría de las enfermedades del músculo esquelético producidas por un defecto en esta proteína se produce por mutaciones localizadas en la región Rod, aunque en ocasiones se pueden dar la patología muscular y la cardíaca juntas (Figura 1) (39;178;179;180).

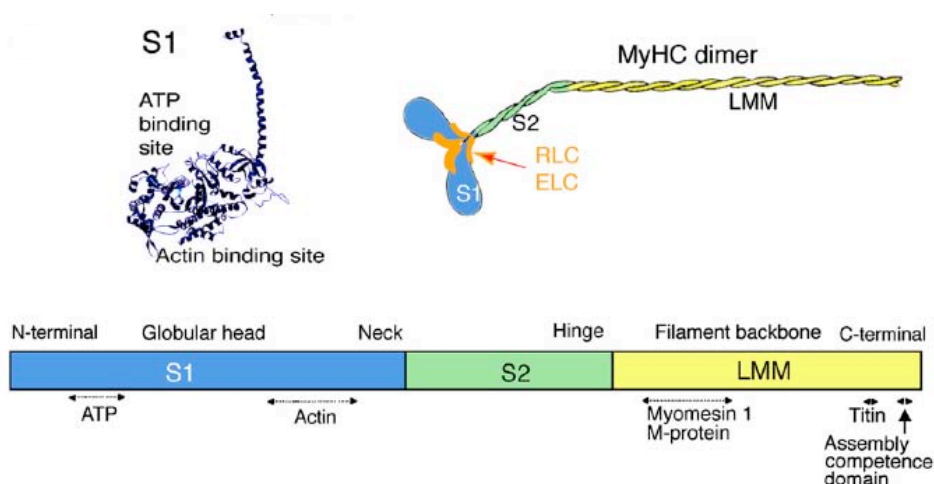


Figura 19: Ilustración de la molécula de MyHC. El S1 es el subfragmento que contiene la región globular. La molécula completa está compuesta por los fragmentos S1, S2 y la meromerosina ligera (LMM) donde se encuentra la región Rod. En la imagen podemos ver los sitios de unión con la ATP, la Actina, la Myosina 1, la M-Proteína y la Titina (Ilustración modificada) (181).

La clínica que pueden presentar los pacientes con mutaciones en el gen MYH7, es heterogénea. Como ya se ha mencionado pueden tener

solo patología cardiaca, exclusivamente muscular o ambas.

8.1.1 Miocardiopatía familiar hipertrófica (CMH1) o dilatada (CMD 1S):

Son cardiopatías genéticamente determinadas, heredadas de forma autosómica dominante. Se producida por mutaciones del gen MYH7 que codifica la región globular de la proteína MyHC. Pero también se han descrito mutaciones del gen que codifican el segmento rod de la proteína (182;183;184;185;186)

La miocardiopatía hipertrófica cursa con variabilidad del segmento QT y labilidad de la repolarización ventricular lo cual provoca un riesgo elevado de muerte súbita por arritmias ventriculares.

La miocardiopatía dilatada puede cursar con fallo cardiaco crónico, agudo o incluso provocar muerte súbita sin síntomas previos a este (185;186).

8.1.2 Enfermedad de Laing o Miopatía distal de Laing de inicio temprano:

Se trata de una miopatía distal de herencia autosómica dominante, producida en la mayoría de los casos por mutaciones que afectan a la región Rod de la MyHC. También se conocen mutaciones que afectan a la región globular que producen dicha enfermedad. El inicio de los síntomas se da en la 1-2ª década de la vida. Aunque en ocasiones puede ocurrir mucho más tarde y debutar alrededor de los 50 años. Los síntomas de inicio son la debilidad muscular en la dorsiflexión del tobillo y en la extensión del primer dedo del pie principalmente secundaria a la debilidad del músculo Extensor Hallucis Longus, ello causa un signo muy característico a la exploración que es el denominado *Hanging big toe* o Dedo gordo caído. La debilidad se caracteriza por ser lentamente progresiva y rara vez confina al paciente en la evolución a una silla de ruedas. Posteriormente se puede observar debilidad en la extensión de

muñeca y los dedos de la mano, también debilidad de los músculos flexores de cuello y atrofia del músculo ECM. De forma muy tardía puede haber debilidad proximal principalmente en extremidades inferiores, debilidad facial y de tronco. Esta última se produce de forma más excepcional. No hay una asociación clara con patología cardíaca concomitante, pero se han descrito casos de miopatía distal por mutaciones en el gen MYH7 asociada a miocardiopatía. Estos pacientes poseen unos niveles de CK en sangre normales o levemente elevados y un estudio mediante EMG con patrón miopático. La anatomía patológica presenta signos miopáticos variables e inespecíficos. En un trabajo publicado por la Dra. Muelas y colaboradores se redefinió el fenotipo de la enfermedad de Laing en pacientes del área del levante de la península Ibérica causada por una mutación ancestral del sur de Italia. Estos pacientes presentaban una edad de inicio variable, había pacientes en edades tardías paucisintomáticos en los que sólo se encontraba debilidad de la extensión del primer dedo del pie a la exploración y otros que solo referían caídas ocasionales. Otros pacientes que referían sólo de mialgias. Todos los pacientes sintomáticos presentaban debilidad del compartimento anterior de las piernas, seguido de debilidad de los músculos flexores del cuello y de la extensión de los dedos de la mano. De forma frecuente aunque leve existía debilidad facial y proximal de extremidades. En casos avanzados se objetivó debilidad de la cintura escapular presentando escapula alada en la exploración física. Se encontraron varios signos en la exploración en algunos de estos pacientes como paladar ojival, retracciones articulares, hipertrofia de gemelos con atrofia del compartimento anterior de la pierna, pies cavos o escoliosis. Además había patología cardíaca en 5 de los 27 pacientes en forma de miocardiopatía dilatada,

alteración de la relajación de ventrículo izquierdo, un paciente con el síndrome de Wolf-Parkinson-White y uno con alteración en la repolarización en el electrocardiograma. En el estudio de EMG mediante aguja algunos pacientes presentaron signos combinados miopáticos-neurogénicos. Además en la anatomía patológica se encontró de forma frecuente la coexistencia de atrofia de las fibras tipo 1, presencia de cores o minicores y de anomalías mitocondriales en la biopsia muscular (Figura 20) (179;181;187;188;189;190;191).



Figura 20. Paciente con miopatía de Laing. Véase la atrofia distal de extremidades inferiores con el signo de *Hanging big toe* y la debilidad distal de la musculatura extensora de extremidades superiores. Muelas et al. *MYH7 gene tail mutation causing myopathic profiles beyond Laing distal myopathy*. *Neurology* 2010 (modificada).

8.1.3 Miopatía por depósito de Miosina o *Myosin storage myopathy*:

También llamada miopatía con cuerpos hialinos. Se produce por mutaciones en el gen *MYH7* la mayoría debido a mutaciones heterocigotas. Ello provoca cúmulos identificables por inmunohistoquímica de MyHC1 en las fibras musculares. La clínica de estos pacientes y su edad de inicio es variable, incluso la variabilidad puede ser intrafamiliar. Puede debutar como miopatía congénita hasta iniciarse los síntomas en etapas tardías de la vida. En la infancia principalmente son niños con hipotonía muscular que presentan retraso en el inicio de la deambulación, con debilidad de la musculatura de ambas cinturas dando lugar a una marcha dandinante y a escapulas aladas. También presentan debilidad proximal tanto de extremidades superiores como inferiores. A nivel

distal principalmente hay debilidad de la dorsiflexión del pie e hipertrofia del compartimento posterior de piernas. Estos pacientes pueden tener escoliosis e insuficiencia respiratoria asociada. Esta enfermedad puede no ser progresiva o que sea de muy lenta evolución pero también puede llegar a confinar al paciente a una silla de ruedas. Existen otros rasgos clínicos que se han asociado a la miopatía por cuerpos hialinos pero no se ha logrado identificar la mutación que la produce, como es el fenotipo escapulo-peroneal con respeto facial. Además se han descrito varios casos como el de 3 hermanos homocigotos a una mutación del gen *MYH 7* y el de una mujer y su hija, que presentaban asociación con miocardiopatía hipertrófica e insuficiencia respiratoria. Respecto a las pruebas complementarias la CK suele estar levemente elevada en sangre y en el estudio EMG podemos encontrar un patrón miopático asociado a fibrilaciones. La anatomía patológica de la biopsia muscular muestra cúmulos subsarcolemales en las fibras tipo 1 llamados cuerpos hialinos, son de aspecto verdoso en la tinción de Tricrómico de Gomori y con inmunoreactividad positiva en la inmunohistoquímica de MyHC (Figura 21) (39;181;192;193).

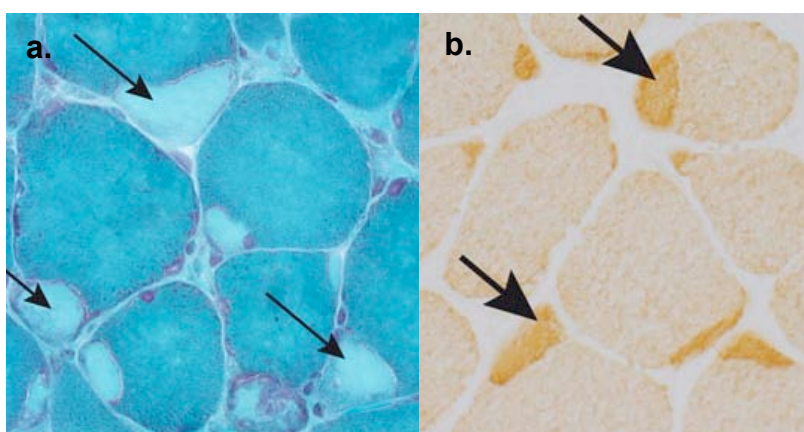


Figura 21: Cortes de biopsia muscular de un paciente con miopatía por depósito de miosina. a. Véase un corte teñido con tricromico de Gomori, señalado con la flecha los depósitos subsarcolemales llamados cuerpos hialinos. b. Corte con tinción inmunohistoquímica positiva para la reacción de MyHC, señalado con flechas. Foto modificada (39).

8.1.4 Otras miopatías:

- Miopatía asociada a cardiomiopatía familiar hipertrófica: Producida por mutaciones del gen *MYH7*, la mayoría localizadas en la región globular de la proteína. Existen pacientes con miocardiopatía hipertrófica asociada a una miopatía central core evidenciada en la anatomía patológica con implicación de la musculatura proximal (39;181)

- Miopatía distal hipertrófica asociada a miocardiopatía hipertrófica: Se ha descrito en una familia, 3 miembros con mutación del gen *MYH7* que afecta a la región globular de la proteína. Provoca patología del musculo esquelético asociada a cardiopatía. El caso índice presentaba dolor en las 4 extremidades y caídas debido a debilidad de la dorsiflexión del tobillo y de la extensión del primer dedo del pie. Había debilidad en la musculatura intrínseca de la mano con atrofia del músculo Primer Interóseo Dorsal. Como signo llamativo había una hipertrofia del músculo Tibial Anterior. La CK en suero estaba levemente aumentada y el EMG mostraba un patrón miopático. En la biopsia muscular del caso índice se encontraron fibras rojo-rotas, internalización de los núcleos y fibras hipertróficas (180).

- Miopatía distal y cardiomiopatía dilatada: En 2011 se describió a una paciente de 25 años con historia de retraso motor desde la infancia y miocardiopatía dilatada que requirió trasplante cardiaco a los 15 años. En la exploración a los 25 años presentaba hombros caídos, hiperlordosis lumbar, contracturas en ambos Aquiles y debilidad de ambos músculos Tibiales Anteriores. El estudio mediante EMG reveló un patrón miopático. La biopsia muscular mostró una atrofia de fibras tipo I con predominancia de las mismas sobre las de tipo II, que mostraban inmunoreactividad positiva a MyHC1. El estudio genético reveló una mutacion novel en heterocigosis en el gen *MYH7* (194).

- Miopatía multiminicore asociada a cardiopatía de forma variable: En 2012 se describieron 4 miembros de dos familias que presentaban una miopatía con anatomía patológica compatible con minicores y debilidad muscular de inicio en la infancia. En la primera familia, 3 miembros presentaban una debilidad leve no progresiva de la musculatura proximal con mayor implicación en extremidades superiores que inferiores y leve debilidad facial. Además a los 36 años el caso índice presentó una insuficiencia respiratoria secundaria a una fibrilación auricular en contexto de miocardiopatía dilatada. En la segunda familia que se presentó en este trabajo había un paciente joven que presentó sus primeros síntomas en la infancia con leve retraso motor debido a pie caído bilateral y acortamiento del tendón de Aquiles. Posteriormente desarrolló debilidad de los músculos Flexores de los dedos de las manos junto con debilidad de la extensión de los dedos de las manos y de las muñecas en la progresión de la enfermedad. En este caso no había implicación cardíaca. En 2013 otro grupo describió un caso con fenotipo similar a este (195;196).

-Miopatía con fenotipo axial: En 2013 se presentó un caso de inicio en la infancia en forma de deambulación con las puntas de los pies y retracción aquilea, asociada a escoliosis importante y contracturas en rodillas y ambas caderas. En la exploración también se objetivó severa debilidad de la musculatura flexora del cuello y moderada debilidad de la extensión de la cadera y de la dorsiflexión del pie asociada a leve debilidad de abducción de hombros, flexión de caderas y flexo-extensión de la rodilla. La biopsia muscular fue compatible con una miopatía congénita por desproporción de fibras (196).

-Miopatía distal sin cardiopatía asociada: El grupo de Tasca en 2011 describió varios miembros de dos familias Italianas, con una

mutación en el gen de *MYH7* que se había relacionado fenotípicamente con la miopatía de Laing. Pero estos pacientes presentaban un inicio más tardío de la enfermedad. En la primera familia los individuos presentaban una miopatía severa que afectaba tanto a musculatura distal al inicio de la enfermedad, como a la proximal y la axial conforme progresaba la enfermedad. En etapas tardías los pacientes habían perdido su capacidad para la deambulación de forma autónoma. La biopsia muscular de uno de los miembros era sugestiva de miopatía miofibrilar. La otra familia presentaba un fenotipo compatible con la miopatía de Laing pero de inicio entre la tercera y la quinta década de la vida (197).

Un trabajo publicado en 2014, describió a una serie de pacientes con diferentes mutaciones en el gen *MYH7*. Fueron examinados 88 pacientes de 21 familias. Entre ellos había pacientes con pie caído que provocaba alteración de la marcha asociado en algunos pacientes a otra sintomatología como miocardiopatía, hipotonía y escoliosis en la infancia (198).

La miopatía producida por mutaciones en el gen *MYH7*, provoca miopatías con fenotipos muy heterogéneos y variables. Además es una miopatía muy poco prevalente, por lo que se cuenta con escasos conocimientos sobre ella. Ante la posibilidad de poder estar asociada con una cardiopatía, es importante sospecharla puesto que padecerla puede ser causa de acortamiento de la esperanza de vida de los pacientes. Ampliar el conocimiento de los diferentes fenotipos clínicos y también el estudio desde el punto de vista radiológico puede ayudar a sospechar dicha enfermedad cuando se presente en la consulta médica.

8.1.5 Radiología en la miopatía producida por mutaciones en el gen *MYH7*:

Respecto a la miopatía producida por mutaciones en el gen *MYH7*, no existen estudios realizados mediante TC muscular.

Hay escasa información respecto a estas miopatías y su patrón de imagen en RMN. Puesto que puede adoptar diferentes fenotipos, y la prevalencia tan baja de esta enfermedad los trabajos publicados son descripciones de los fenotipos encontrados donde se mencionan datos sobre sus RMN musculares realizadas a dichos pacientes. Una excepción es el trabajo publicado por el grupo de Muelas. En 2001 se describió una familia con miopatía distal y de herencia autosómica dominante, en aquel momento se desconocía el gen mutado, pero se conocía que era compatible con el locus afecto en el cromosoma 14 de la miopatía de Laing. La RMN muscular de uno de los niños de dicha familia mostró una infiltración selectiva del músculo Tibial Anterior y del Extensor Largo de los dedos de los pies, con muy leves cambios a nivel del músculo Bíceps Femoral. El trabajo más importante es el reportado por Muelas y colaboradores, donde redefinen el fenotipo de un clúster de pacientes con una mutación determinada, que posteriormente se vio que era una mutación fundadora en una región del Levante llamada Safor (189). Se realizó imagen muscular en 26 pacientes (RMN y TC muscular). Todos los pacientes presentaban una infiltración del compartimento anterior de las piernas y en pacientes con un estadio más avanzado de la enfermedad presentaban infiltración grasa en los Vastos y los músculos Adductor Largo, Glúteos y de la musculatura axial. Los músculos Gastrocnemios se encontraban preservados en las etapas más avanzadas de la enfermedad incluso se encontró hipertrofia de los mismos en 11 pacientes (179). En 2012 se

publicaron dos familias con miopatía multiminicore producida por mutación en el gen *MYH7* donde la RMN muscular demostró un patrón de infiltración predominante distal. Se encontró mayor infiltración del músculo Sóleo y Gastrocnemio Lateral comparado con el Gastrocnemio Medial y mayor infiltración de los músculos Peroneos que el Tibial Anterior y el Extensor de los dedos (195). También en 2012 el grupo de Tasca presentó a dos familias con miopatía de Laing originarias de Italia donde redefinieron las características clínicas y de sus pruebas complementarias. En la RMN muscular encontraron el patrón ya definido anteriormente pero añadieron datos sobre una infiltración grasa severa en los músculos paraespinales, músculo Recto Abdominal y Psoas. Y a nivel de cuello y cintura escapular los músculos principalmente infiltrados eran el ECM, Serrato Anterior, Romboides y Pectoral Menor (197). En 2013 se reportaron dos casos no relacionados familiarmente que tenían una misma mutación novel donde una de las pacientes presentaba una miopatía distal, contracturas articulares y biopsia muscular con minicores. Su RMN muscular reveló una infiltración predominante en los músculos Cuádriceps y Sóleo, con respeto del músculo Bíceps Femoral y Gastrocnemio Medial. En cambio la otra paciente presentaba una miopatía axial con una desproporción de fibras en su biopsia muscular. La RMN reveló una infiltración selectiva de los músculos espinales cervicales y torácicos (196).

8.2 Hipótesis:

Debido a la heterogenicidad de las miopatías producidas por mutaciones en el gen MYH7, la descripción clínica y radiológica de un nuevo fenotipo podría ser de ayuda para el diagnóstico de esta enfermedad.

8.3. Objetivo:

El objetivo del estudio titulado *“Cranial, axial and proximal myopathy and hypertrophic cardiomyopathy caused by a mutation in the globular head region of the MYH7 gene”* es la descripción de la clínica y del patrón de infiltración grasa del músculo esquelético mediante RNM en una variante fenotípica de la miopatía producida por mutación en el gen MYH7.

8.4. Resultados: “Cranial, axial and proximal myopathy and hypertrophic cardiomyopathy caused by a mutation in the globular head region of the MYH7 gene”

LETTER TO THE EDITOR

Cranial, axial and proximal myopathy and hypertrophic cardiomyopathy caused by a mutation in the globular head region of the *MYH7* gene

J. Díaz-Manera^{a,b}, A. Alejaldre^{a,b}, J. Llauger^c, S. Mirabet^d, R. Rojas-García^{a,b}, A. Ramos-Fransi^{a,b}, E. Gallardo^{a,b} and I. Illa^{a,b}

^aNeurology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu I Sant Pau de Barcelona, Barcelona; ^bCentro de Investigación Básica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Barcelona; ^cRadiology Department Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu I Sant Pau de Barcelona, Barcelona; and ^dCardiology Department Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital de la Santa Creu I Sant Pau de Barcelona, Barcelona, Spain

Correspondence: I. Illa, Neurology Department, Hospital de la Santa Creu I Sant Pau de Barcelona, C/Sant Antoni M^o Claret 167, 08025 Barcelona, Spain (tel.: +34 9355 65977; fax: +34 9355 65602; e-mail: I Illa@santpau.cat).

Keywords: axial weakness, cardiomyopathy, Laing disease, muscle dystrophy, *MYH7* gene

Received: 30 November 2013
Accepted: 10 February 2014

Mutations in the *MYH7* gene cause a heterogeneous group of disorders, including familial hypertrophic and dilated cardiomyopathies and the early onset distal anterior myopathy known as Laing myopathy [1]. The *MYH7* gene encodes the slow-β myosin heavy chain (MyHC). This protein has two functional domains, a globular amino-terminal head domain and a coiled-coil rod carboxy-terminal domain [1]. Mutations producing cardiomyopathy are commonly located in the globular head encoding region of the gene, whilst mutations that cause skeletal myopathy are generally located in the coiled-coil domain [2,3]. However, a few patients present both cardiomyopathy and Laing myopathy [4,5]. In these cases, changes have been found both in the globular domain (p.R783P) and in the coiled-coil domain (p.V906M) of the protein produced by mutations.

The patient in this report presented hypertrophic cardiomyopathy together

with skeletal myopathy involving cranial, axial and lower limb muscles and carried a mutation in the globular head region of the MyHC protein.

A 58-year-old woman who was followed at the cardiology department for a hypertrophic cardiomyopathy was referred to our unit in 2008 for a 3-year history of weakness involving proximal muscles of the lower limbs. Clinical examination revealed symmetrical bilateral ptosis without oculomotor palsy (Fig. 1a). We observed a high arched palate, but the rest of the cranial examination was normal (Fig. 1b). There was weakness of neck flexors but no atrophy of the sternocleidomastoid muscles (Fig. 1c). Weakness involved the psoas and tibialis anterior (TA) (both MRC 4/5) muscles. The patient was unable to walk on heels but the characteristic hanging big toe sign, commonly observed in Laing myopathy, was absent. Electromyography was normal, ruling out a neuromuscular junction disorder. Creatine kinase was also normal. A whole-body muscle magnetic resonance image (MRI) showed fatty infiltration of paravertebral muscles, especially involving the lumbar and thoracic areas (Fig. 1d–g). A muscle biopsy of the quadriceps showed fiber size variability associated with the

presence of type I atrophy. Immunohistochemistry showed a large number of fibers expressing both fast and slow myosin (Fig. 1h–k). Gene sequencing identified the already described missense mutation p.R249Q in the *MYH7* gene, which produces a replacement of arginine by glutamine in the head region of the protein.

After 3 years of follow-up in our department the patient's heart function deteriorated and she required a heart transplantation. Muscle weakness, however, has remained unchanged to date.

The index case's 28-year-old daughter also harbored the p.R249Q mutation in the *MYH7* gene. She was diagnosed with a hypertrophic cardiomyopathy when she was 25 but neuromuscular examination is completely normal until now.

In our opinion, the information derived from this family is relevant for many reasons. To date, there are only three case reports of patients presenting cardiomyopathy together with skeletal myopathy and mutations producing changes in the globular head region of the MyHC protein. All three, however, had a phenotype corresponding to Laing disease, characterized by distal weakness of the lower and upper limbs and involving the extensor hallucis longus (EHL)

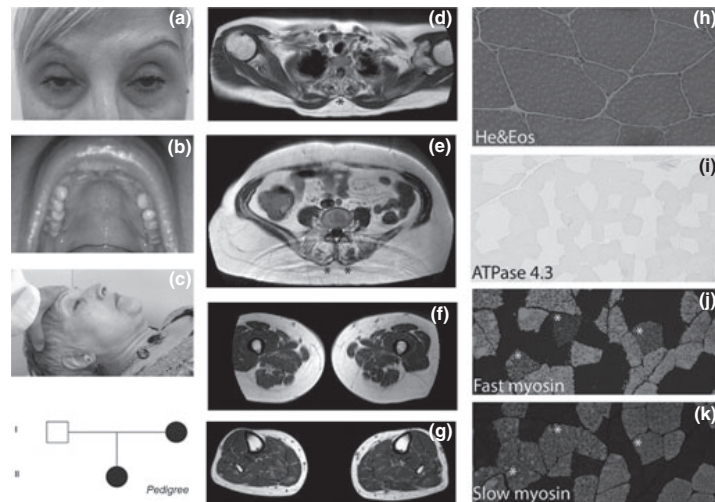


Figure 1 Clinical features, MRI and muscle biopsy of family 1. Clinical examination revealed bilateral symmetric ptosis (a), high arched palate (b) and cervical weakness (c). Muscle MRI showed atrophy of dorsal and lumbar paravertebral muscles (d, e) without involvement of thigh or leg muscles (f, g). Muscle biopsy showed some small fibers (h), predominant type I fibers (i) and many muscle fibers expressing both fast (j) and slow myosin (k).

muscle. The EHL muscle is the most affected muscle and the resulting weakness produces what is commonly known as the hanging big toe sign [4–6]. The phenotype of our patient, who presented predominant involvement of cranial, axial and proximal muscles of the lower limbs, not only differed from Laing disease but has not been described previously in patients with mutations in the *MYH7* gene. Although the muscle MRI in our patient showed atrophy of axial muscles, she did not have any clinical symptoms of axial weakness other than neck flexor weakness. In contrast, the Park's group recently reported a family in which three patients with the mutation p.A1439P in the *MYH7* gene had camptocormia and proximal and distal weakness of upper and lower limbs [7]. Their muscle MRI showed atrophy of axial muscles, as in our patient, and atrophy of quadriceps and the distal anterior compartment of the legs. This radiological pattern of involvement is also different from the common pattern described in patients with mutations in the *MYH7* gene, where EHL, TA and quadriceps are the main muscles involved [3,8].

Our family has a mutation that replaces an arginine by a glutamine in the globular head region of the MyHC protein (p.R249Q). This change is situated in a position near the ATP binding site but also in a putative point of interaction between actin and myosin. It has

been hypothesized that mutations in this region can interfere in both processes and hypothetically produce cardiomyopathy and skeletal myopathy [9,10]. For this reason we conclude that mutations in the *MYH7* gene should be considered when exploring a patient presenting both cardiomyopathy (dilated or hypertrophic) and muscle weakness involving not only distal muscles of the lower limbs but also axial or proximal muscles of the limbs. In such cases, all the exons of the *MYH7* gene should be sequenced because mutations can be found both in the globular head and in the coiled rod domain.

Acknowledgement

This work was supported by a grant from the Spanish Ministry of Health to E.G, FIS 12/2291.

Disclosure of conflicts of interest

The authors declare no financial or other conflicts of interest.

References

1. Tajsharghi H, Oldfors A. Myosinopathies: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol* 2013; **125**: 3–18.
2. Buvoli M, Hamady M, Leinwand LA, et al. Bioinformatics assessment of beta-myosin mutations reveals myosin's high sensitivity to mutations. *Trends Cardiovasc Med* 2008; **18**: 141–149.
3. Muelas N, Hackman P, Luque H, et al. MYH7 gene tail mutation causing myopathic profiles beyond Laing distal myopathy. *Neurology* 2010; **75**: 732–741.
4. Overeem S, Schelhaas HJ, Bijlham PJ, et al. Symptomatic distal myopathy with cardiomyopathy due to a MYH7 mutation. *Neuromuscul Disord* 2007; **17**: 490–493.
5. Homayoun H, Khavandgar S, Hoover JM, et al. Novel mutation in MYH7 gene associated with distal myopathy and cardiomyopathy. *Neuromuscul Disord* 2011; **21**: 219–222.
6. Darin N, Tajsharghi H, Ostman-Smith I, et al. New skeletal myopathy and cardiomyopathy associated with a missense mutation in MYH7. *Neurology* 2007; **68**: 2041–2042.
7. Park JM, Kim YJ, Yoo JH, et al. A novel MYH7 mutation with prominent paraspinal and proximal muscle involvement. *Neuromuscul Disorders* 2013; **23**: 580–586.
8. Voit T, Kutz P, Leube B, et al. Autosomal dominant distal myopathy: further evidence of a chromosome 14 locus. *Neuromuscul Disord* 2001; **11**: 11–19.
9. Rayment I, Holden HM, Sellers JR, et al. Structural interpretation of the mutations in the beta-cardiac myosin that have been implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**: 3864–3868.
10. Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992; **326**: 1108–1114.

8.5. Síntesis de resultados:

Las mutaciones en el gen *MYH7*, codificador de la proteína MyHC, producen miopatía en el musculo esquelético dando lugar a fenotipos muy diferentes entre ellos, el más conocido es la enfermedad de Laing. Además mutaciones que afecten a la región globular de la proteína codificada por este gen pueden dar lugar a una miocardiopatía. Sin embargo es muy raro encontrar pacientes que presenten ambas patologías a la vez, la cardiaca y la del músculo esquelético. Por este motivo decidimos reportar un fenotipo clínico y su imagen muscular hasta la fecha no descrito.

Describimos un fenotipo nuevo producido por una mutación en el gen *MYH7*:

Describimos las características clínicas de una paciente de 58 años valorada y seguida en nuestra consulta. Definimos un fenotipo con debilidad craneal, axial y proximal de extremidades inferiores. En la exploración física encontramos ptosis palpebral bilateral y paladar ojival traduciendo una debilidad facial. Además la paciente presentaba debilidad de la musculatura flexora del cuello y una leve debilidad de los músculos Psoas y Tibial Anterior. Esta debilidad muscular se mantuvo estable durante el seguimiento. Es interesante remarcar la ausencia en nuestra paciente de un signo típico en la miopatía de Laing que es el primer dedo del pie caído. La paciente a su vez presentaba una miocardiopatía hipertrófica por la que requirió trasplante cardiaco tres años después del inicio de los síntomas esqueléticos. En el estudio mediante biopsia muscular se observó una variabilidad del tamaño de las fibras junto con atrofia de las fibras tipo I. La inmunohistoquímica reveló una expresión de un gran número de fibras con expresión concomitante de miosina rápida y lenta. La hija de la paciente de 28 años de edad, quien tiene la misma mutación, presentó una miocardiopatía hipertrófica con una exploración física desde el punto de vista muscular normal.

Objetivamos infiltración grasa de la musculatura paravertebral en la RMN muscular:

Para el estudio de esta paciente realizamos una RMN muscular de todo el cuerpo, que resultó ser normal a excepción de una infiltración grasa en la musculatura paravertebral predominando en el área dorsal y lumbar, dónde paradójicamente no encontramos signos de debilidad muscular al examen clínico.

Se identificó una mutación que afectaba a la región globular de la proteína MyHC:

La secuenciación génica identificó una mutación missense en el gen *MYH7* ya descrita como patogénica. La mutación p.R249Q que presentaba la paciente, es una mutación que afecta a la región globular de la proteína MyHC, produciendo un reemplazo de Arginina por Glutamina en la cabeza de la proteína.

8.6. Discusión:

En el presente artículo presentamos a una paciente con miocardiopatía hipertrófica junto con miopatía esquelética producida por una mutación que afecta a la región globular de la MyHC. Hasta la fecha solo tres pacientes con ambas patologías (la cardíaca y la esquelética) y con mutación que afecta a la región globular de la proteína habían sido reportados en la literatura. Sin embargo cabe destacar que dichos pacientes presentaban un fenotipo distal tipo miopatía de Laing. Nuestra paciente además de no padecer este fenotipo distal, presentaba un fenotipo no descrito hasta la fecha, que abarca el área craneal, axial y proximal de extremidades inferiores.

La RMN muscular de la paciente fue diferente a las descritas en miopatías producidas por mutaciones en dicho gen. Sólo presentaba infiltración de la musculatura axial paravertebral de predominio lumbar y torácico a pesar de no presentar síntomas clínicos a ese nivel. Difería de otras RMN musculares descritas en miopatías por mutación del gen

MYH7 con fenotipo de camptocornia y debilidad en extremidades inferiores. Estos pacientes presentan infiltración tanto de la musculatura axial como del músculo Cuádriceps y del compartimento anterior de la pierna. Por otro lado en nuestra paciente la RMN muscular evidenció infiltración grasa en la musculatura paravertebral lumbar y torácica, en la que no existía debilidad en la exploración física, por lo que la RMN muscular detectó cambios patológicos en el músculo antes de que se pudieran valorar mediante el examen clínico. Además la imagen muscular corrobora el componente axial del fenotipo de esta paciente. Por lo que la RMN muscular puede ser de ayuda en el diagnóstico de esta miopatía incluso en etapas precoces de la enfermedad.

Por otro lado nuestra familia presenta una mutación que afecta a la región globular de la proteína, provocando un cambio de Arginina por Glutamina en la cabeza de la misma. Este cambio se produce cerca de la zona de unión con el ATP y de interacción de la Actina y la Miosina. Ya había sido descrita la hipótesis de que mutaciones en esta zona pueden provocar ambas patologías, miocardiopatía y miopatía esquelética. La mutación de nuestra paciente corrobora este hecho.

Por todo ello cuando estemos ante un paciente con miocardiopatía y debilidad muscular, no solo a nivel distal sino también a nivel proximal y axial debemos de sospechar que el paciente puede tener una mutación en el gen *MYH7*. La imagen muscular puede ayudar también a tomar la decisión de secuenciar dicho gen. Todos los exones deberían ser analizados, debido a que la mutación causal puede encontrarse en zonas codificantes tanto en la región globular como en la región de cola de la proteína.

9. BIBLIOGRAFÍA:

1. Topaloglu, H. Epidemiology of muscular dystrophies in the Mediterranean area. 138–141 (2013).
2. Kaplan, J. C. & Hamroun, D. The 2015 version of the gene table of monogenic neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscul. Disord.* **24**, 1123–1153 (2014).
3. Mahmood, O. A. & Jiang, X. I. N. M. E. I. Limb-girdle muscular dystrophies : Where next after six decades from the first proposal (Review). 1515–1532 (2014). doi:10.3892/mmr.2014.2048
4. Cohn, R. D. & Campbell, K. P. Molecular basis of muscular dystrophies. *Muscle Nerve* **23**, 1456–1471 (2000).
5. Dalkilic, I. & Kunkel, L. M. Muscular dystrophies: Genes to pathogenesis. *Current Opinion in Genetics and Development* **13**, 231–238 (2003).
6. Mercuri, E. & Muntoni, F. The ever-expanding spectrum of congenital muscular dystrophies. *Ann. Neurol.* **72**, 9–17 (2012).
7. Dubowitz, V., Sewry, C. A. & Oldfors, A. *Muscle Biopsy: A Practical Approach.* (2013).
8. North, K. N. *et al.* Approach to the diagnosis of congenital myopathies. *Neuromuscul. Disord.* **24**, 97–116 (2014).
9. Trip, J. *et al.* Redefining the clinical phenotypes of non-dystrophic myotonic syndromes. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **80**, 647–652 (2009).
10. Fournier, E. *et al.* Electromyography guides toward subgroups of mutations in muscle channelopathies. *Ann. Neurol.* **56**, 650–661 (2004).
11. Dupré, N. *et al.* Clinical, electrophysiologic, and genetic study of non-dystrophic myotonia in French-Canadians. *Neuromuscul. Disord.* **19**, 330–334 (2009).
12. Cirillo, G., Todisco, V. & Tedeschi, G. The differential diagnosis of myotonic syndromes: A case report-guided and neurophysiologic approach. *J. Neurol. Sci.* **360**, 98–99 (2016).
13. Quinn, C. & Salajegheh, M. K. Myotonic Disorders and Channelopathies. *Semin. Neurol.* **35**, 360–368 (2015).
14. van Adel, B. a & Tarnopolsky, M. a. Metabolic myopathies: update 2009. *J. Clin. Neuromuscul. Dis.* **10**, 97–121 (2009).
15. Oldfors, A. & DiMauro, S. New insights in the field of muscle glycogenoses. *Curr. Opin. Neurol.* **26**, 544–553 (2013).
16. DiMauro, S. & Lamperti, C. Muscle glycogenoses. *Muscle and Nerve* **24**, 984–999 (2001).

17. Vladutiu, G. D. Laboratory diagnosis of metabolic myopathies. *Muscle and Nerve* **25**, 649–663 (2002).
18. Pitceathly, R. D. S. & McFarland, R. Mitochondrial myopathies in adults and children: management and therapy development. *Curr. Opin. Neurol.* **27**, 576–582 (2014).
19. Milone, M. & Wong, L. J. Diagnosis of mitochondrial myopathies. *Molecular Genetics and Metabolism* **110**, 35–41 (2013).
20. DiMauro, S. Pathogenesis and treatment of mitochondrial myopathies: Recent advances. *Acta Myologica* **29**, 333–338 (2010).
21. Tarnopolsky, M. A. & Raha, S. Mitochondrial myopathies: Diagnosis, exercise intolerance, and treatment options. in *Medicine and Science in Sports and Exercise* **37**, 2086–2093 (2005).
22. Witting, N., Andersen, L. K. & Vissing, J. Axial myopathy: An overlooked feature of muscle diseases. *Brain* **139**, 13–22 (2016).
23. Peng, Y. *et al.* Bent spine syndrome as an initial manifestation of late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a case report and literature review. *BMC Neurol.* **15**, 114 (2015).
24. Preisler, N. *et al.* Late-onset Pompe disease is prevalent in unclassified limb-girdle muscular dystrophies. *Mol. Genet. Metab.* **110**, 287–289 (2013).
25. Laforêt, P. *et al.* Rigid spine syndrome revealing late-onset Pompe disease. *Neuromuscul. Disord.* **20**, 128–130 (2010).
26. Bonne, G. *et al.* Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann. Neurol.* **48**, 170–180 (2000).
27. Bonne, G., Leturcq, F. & Yaou, R. Ben. *GeneReviews.* (2015).
28. Hankiewicz, K. *et al.* Whole-body muscle magnetic resonance imaging in SEPN1-related myopathy shows a homogeneous and recognizable pattern. *Muscle and Nerve* **52**, 728–735 (2015).
29. Deconinck, N. *et al.* Differentiating Emery-Dreifuss muscular dystrophy and collagen VI-related myopathies using a specific CT scanner pattern. *Neuromuscul. Disord.* **20**, 517–523 (2010).
30. Liu, Q., Zheng, Y.-F., Zhu, Y.-P., Ling, S.-Q. & Li, W.-R. Clinical, pathological and genetic characteristics of a pedigree with myotonic dystrophy type 1. *Exp. Ther. Med.* **10**, 1931–1936 (2015).
31. Tanaka, K. Myotonic dystrophy. *Med. Hypotheses* **17**, 415–425 (1985).
32. Thornton, C. A. Myotonic dystrophy. *Neurologic Clinics* **32**, 705–719 (2014).
33. Statland, J. & Tawil, R. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurol Clin* **32**, 721–8, ix (2014).

34. Gilbert, J. R. *et al.* Evidence for heterogeneity in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Am. J. Hum. Genet.* **53**, 401–408 (1993).
35. Rijken, N. H. M. *et al.* Skeletal muscle imaging in facioscapulohumeral muscular dystrophy, pattern and asymmetry of individual muscle involvement. *Neuromuscul. Disord.* **24**, 1087–1096 (2014).
36. Leung, D. G., Carrino, J. A., Wagner, K. R. & Jacobs, M. A. Whole-body magnetic resonance imaging evaluation of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* **52**, 512–520 (2015).
37. Benedetti, S. *et al.* Phenotypic clustering of lamin A/C mutations in neuromuscular patients. *Neurology* **69**, 1285–1292 (2007).
38. Wokke, J. H. *et al.* Clinical features of late-onset Pompe disease: a prospective cohort study. *Muscle Nerve* **38**, 1236–1245 (2008).
39. Tajsharghi, H. & Oldfors, A. Myosinopathies: Pathology and mechanisms. *Acta Neuropathologica* **125**, 3–18 (2013).
40. Norwood, F., De Visser, M., Eymard, B., Lochmüller, H. & Bushby, K. EFNS guideline on diagnosis and management of limb girdle muscular dystrophies. *Eur. J. Neurol.* **14**, 1305–1312 (2007).
41. Bushby, K., Norwood, F. & Straub, V. The limb-girdle muscular dystrophies- Diagnostic strategies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **1772**, 238–242 (2007).
42. Bushby, K. M. Diagnosis and management of the limb girdle muscular dystrophies. *Pr. Neurol* **9**, 314–323 (2009).
43. Müller-Felber, W. *et al.* Late onset Pompe disease: Clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. *Neuromuscul. Disord.* **17**, 698–706 (2007).
44. Vissing, J., Lukacs, Z. & Straub, V. Diagnosis of Pompe disease: muscle biopsy vs blood-based assays. *JAMA Neurol.* **70**, 923–7 (2013).
45. J., F., C., S. & C., M. Sudden cardiac death in neuromuscular disorders. *Int. J. Cardiol.* **203**, 508–515 (2016).
46. Vasli, N. *et al.* Next generation sequencing for molecular diagnosis of neuromuscular diseases. *ACTA Neuropathol.* **124**, 273–283 (2012).
47. Nigro, V. & Savarese, M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myol* **33**, 1–12 (2014).
48. Kishnani, P. S. *et al.* A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. *J. Pediatr.* **148**, (2006).
49. Filosto, M. *et al.* Late-onset Glycogen Storage Disease type 2. *Curr. Mol. Med.* (2014).

50. Dasouki, M. *et al.* Pompe disease: Literature review and case series. *Neurologic Clinics* **32**, 751–776 (2014).
51. van der Ploeg, A. T. & Reuser, A. J. Pompe's disease. *The Lancet* **372**, 1342–1353 (2008).
52. Montagnese, F. *et al.* Clinical and molecular aspects of 30 patients with late-onset Pompe disease (LOPD): unusual features and response to treatment. *J. Neurol.* **262**, 968–978 (2015).
53. Thurberg, B. L. *et al.* Characterization of pre- and post-treatment pathology after enzyme replacement therapy for Pompe disease. *Lab Invest* **86**, 1208–1220 (2006).
54. Kroos, M. *et al.* Update of the Pompe disease mutation database with 107 sequence variants and a format for severity rating. *Hum. Mutat.* **29**, (2008).
55. Raben, N., Plotz, P. & Byrne, B. J. Acid alpha-glucosidase deficiency (glycogenosis type II, Pompe disease). *Curr. Mol. Med.* **2**, 145–166 (2002).
56. van den Hout, H. M. P. *et al.* The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics* **112**, 332–340 (2003).
57. Schüller, A., Wenninger, S., Strigl-Pill, N. & Schoser, B. Toward deconstructing the phenotype of late-onset Pompe disease. *Am. J. Med. Genet. Part C Semin. Med. Genet.* **160 C**, 80–88 (2012).
58. van der Beek, N. A. M. E. *et al.* Rate of progression and predictive factors for pulmonary outcome in children and adults with Pompe disease. *Mol. Genet. Metab.* **104**, 129–136 (2011).
59. Kroos, M., Hoogeveen-westerveld, M., Ploeg, a N. S. V. a N. D. E. R. & Reuser, A. J. J. The Genotype – Phenotype Correlation in Pompe Disease. *Am. J. Med. Genet.* **68**, 59–68 (2012).
60. Kishnani, P. S. *et al.* Methods of diagnosis of patients with Pompe disease: Data from the Pompe Registry. *Mol. Genet. Metab.* **113**, 84–91 (2014).
61. Al-Lozi, M. T. *et al.* Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) Pompe disease. *Muscle and Nerve* **40**, 149–160 (2009).
62. Goldstein, J. L. *et al.* Screening for Pompe disease using a rapid dried blood spot method: experience of a clinical diagnostic laboratory. *Muscle Nerve* **40**, 32–6 (2009).
63. Wagner, M. *et al.* Presymptomatic late-onset Pompe disease identified by the dried blood spot test. *Neuromuscul. Disord.* **23**, 89–92 (2013).
64. Musumeci, O. *et al.* LOPED study: looking for an early diagnosis in a late-onset Pompe disease high-risk population. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*

- 87**, 5–11 (2016).
65. Werneck, L. C., Lorenzoni, P. J., Kay, C. S. K. & Scola, R. H. Muscle biopsy in Pompe disease. *Arq. Neuropsiquiatr.* **71**, 284–9 (2013).
 66. Young, S. P. *et al.* Assessing disease severity in Pompe disease: The roles of a urinary glucose tetrasaccharide biomarker and imaging techniques. *Am. J. Med. Genet. Part C Semin. Med. Genet.* **160 C**, 50–58 (2012).
 67. Isaacs, H., Savage, N., Badenhorst, M. & Whistler, T. Acid maltase deficiency: a case study and review of the pathophysiological changes and proposed therapeutic measures. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* **49**, 1011–8 (1986).
 68. van der Ploeg, A. T. *et al.* A randomized study of alglucosidase alfa in late-onset Pompe's disease. *N. Engl. J. Med.* **362**, 1396–1406 (2010).
 69. Strothotte, S. *et al.* Enzyme replacement therapy with alglucosidase alfa in 44 patients with late-onset glycogen storage disease type 2: 12-month results of an observational clinical trial. *J. Neurol.* **257**, 91–97 (2010).
 70. Deroma, L. *et al.* Enzyme replacement therapy in juvenile glycogenosis type II: A longitudinal study. *Eur. J. Pediatr.* **173**, 805–813 (2014).
 71. Kishnani, P. S. *et al.* Recombinant human acid [alpha]-glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology* **68**, 99–109 (2007).
 72. Nicolino, M. *et al.* Clinical outcomes after long-term treatment with alglucosidase alfa in infants and children with advanced Pompe disease. *Genet. Med.* **11**, 210–219 (2009).
 73. Byrne, B. J. *et al.* Pompe disease gene therapy. *Hum. Mol. Genet.* **20**, (2011).
 74. Byrne, P. *et al.* Phase I/II trial of diaphragm delivery of recombinant adeno-associated virus acid alpha-glucosidase (rAAV1-CMV-GAA) gene vector in patients with Pompe disease. *Hum Gene Ther Clin Dev.* **25**, 134–63 (2014).
 75. Carboni, N., Mateddu, A., Marrosu, G., Cocco, E. & Marrosu, M. G. Genetic and clinical characteristics of skeletal and cardiac muscle in patients with lamin A/C gene mutations. *Muscle Nerve* **48**, 161–70 (2013).
 76. Bione, S. *et al.* Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat. Genet.* **8**, 323–7 (1994).
 77. Pillers, D. A. M. & Von Bergen, N. H. Emery–dreifuss muscular dystrophy: A test case for precision medicine. *Application of Clinical Genetics* **9**, 27–32 (2016).
 78. Bonne, G. *et al.* Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal

- dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat. Genet.* **21**, 285–288 (1999).
79. Rudenskaya, G., Ginter, E., Petrin, A. & Djomina, N. Emery-Dreifuss syndrome: genetic and clinical varieties. *Am J Med Genet.* **50**, 228–33 (1994).
 80. Fujimoto, S. *et al.* Early onset of X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy in a boy with emerin gene deletion. *Neuropediatrics* **30**, 161–163 (1999).
 81. Meune, C. *et al.* Primary prevention of sudden death in patients with lamin A/C gene mutations. *N Engl J Med.* **354**, 209–10 (2006).
 82. Taylor, M. R. . *et al.* Natural history of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C gene mutations. *J. Am. Coll. Cardiol.* **41**, 771–780 (2003).
 83. Bonne, G. & Quijano-Roy, S. Emery-Dreifuss muscular dystrophy, laminopathies, and other nuclear envelopathies. *Handb. Clin. Neurol.* **113**, 1367–1376 (2013).
 84. Raffaele Di Barletta, M. *et al.* Different mutations in the LMNA gene cause autosomal dominant and autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am. J. Hum. Genet.* **66**, 1407–12 (2000).
 85. Paradas, C. *et al.* X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy and vacuoles: An immunohistochemical characterization. *Muscle and Nerve* **32**, 61–65 (2005).
 86. Worman, H. J. & Bonne, G. ‘Laminopathies’: A wide spectrum of human diseases. *Experimental Cell Research* **313**, 2121–2133 (2007).
 87. Ura, S. *et al.* Limb-girdle muscular dystrophy due to emerin gene mutations. *Arch. Neurol.* **64**, 1038–41 (2007).
 88. Cartegni, L. *et al.* Heart-specific localization of emerin: new insights into Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet.* **6**, 2257–2264 (1997).
 89. Muchir, A. Identification of mutations in the gene encoding lamins A/C in autosomal dominant limb girdle muscular dystrophy with atrioventricular conduction disturbances (LGMD1B). *Hum. Mol. Genet.* **9**, 1453–1459 (2000).
 90. Quijano-Roy, S. *et al.* De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann. Neurol.* **64**, 177–186 (2008).
 91. Šinkovec, M., Petrovič, D., Volk, M. & Peterlin, B. Familial progressive sinoatrial and atrioventricular conduction disease of adult onset with sudden death, dilated cardiomyopathy, and brachydactyly. A new type of heart-hand syndrome? *Clin. Genet.* **68**, 155–160 (2005).
 92. Carboni, N. *et al.* Evolution of the phenotype in a family with an LMNA gene

- mutation presenting with isolated cardiac involvement. *Muscle and Nerve* **41**, 85–91 (2010).
93. Fatkin, D. *et al.* Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1715–24 (1999).
 94. FRANTZELL, A. & INGELMARK, B. Occurrence and distribution of fat in human muscles at various age levels; a morphologic and roentgenologic investigation. *Acta Soc Med Ups.* . **56**, 59–87 (1951).
 95. DICHIRO, G. & NELSON, K. Soft tissue radiography of extremities in neuromuscular disease with histological correlations. *Acta Radiol Diagn (Stockh)*. 65–88 (1965).
 96. PNT, W. *Scientific basis of medical imaging.* (1982).
 97. Krestel, E. *Imaging systems for medical diagnostic.* (1990).
 98. Heckmatt, J., Dubowitz, V. & Leeman, S. Detection of pathological change in dystrophic muscle with b-scan ultrasound imaging. *Lancet* **315**, 1389–1390 (1980).
 99. Zuberi, S. M. *et al.* Muscle ultrasound in the assessment of suspected neuromuscular disease in childhood. *Neuromuscul. Disord.* **9**, 203–207 (1999).
 100. Pillen, S., Arts, I. M. P. & Zwarts, M. J. Muscle ultrasound in neuromuscular disorders. *Muscle and Nerve* **37**, 679–693 (2008).
 101. Heckmatt, J. Z. & Dubowitz, V. *Ultrasound imaging and directed needle biopsy in the diagnosis of selective involvement in muscle disease.* *Journal of child neurology* **2**, 205–213 (1987).
 102. Wattjes, M. P., Kley, R. A. & Fischer, D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur. Radiol.* **20**, 2447–2460 (2010).
 103. Pillen, S. & Van Alfen, N. Muscle ultrasound from diagnostic tool to outcome measure-Quantification is the challenge. *Muscle and Nerve* **52**, 319–320 (2015).
 104. Verbeek, R. J. *et al.* Muscle Ultrasound in Patients with Glycogen Storage Disease Types I and III. *Ultrasound Med. Biol.* (2015). doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2015.08.013
 105. Zaidman, C. M., Malkus, E. C. & Connolly, A. M. Muscle ultrasound quantifies disease progression over time in infants and young boys with duchenne muscular dystrophy. *Muscle and Nerve* **52**, 334–338 (2015).
 106. Carpenter, E. L., Lau, H. a, Kolodny, E. H. & Adler, R. S. PROOF VERSION

- Skeletal Muscle in Healthy Subjects versus Those with GNE -Related Myopathy: Evaluation with Shear-Wave US—A Pilot Study. *Radiology* **277**, 142212 (2015).
107. Pillen. Skeletal muscle ultrasound. *Neurol. Res.* **1**, 145–155 (2011).
 108. Bulcke, J. A., Termote, J. L., Palmers, Y. & Crolla, D. Computed tomography of the human skeletal muscular system. *Neuroradiology* **17**, 127–136 (1979).
 109. Bulcke, J. *et al.* Computed tomography of muscle. *Muscle Nerve* **4**, 67–72 (1981).
 110. Grindrod, S., Tofts, P. & Edwards, R. Investigation of human skeletal muscle structure and composition by X-ray computerised tomography. *Eur J Clin Invest.* **13**, 465–8 (1983).
 111. Gellerich, I., Müller, D. & Koch, R. Computer tomography studies in myotonic dystrophies. *Psychiatr Neurol Med Psychol* **38**, 378–83 (1986).
 112. Horikawa, H., Takahashi, K., Nishio, H., Mano, Y. & Takayanagi, T. X-ray computed tomographic scans of lower limb and trunk muscles in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Rinsho Shinkeigaku.* **32**, 1061–6 (1992).
 113. O’Doherty, D., Schellinger, D. & Raptopoulos, V. Computed tomographic patterns of pseudohypertrophic muscular dystrophy: preliminary results. *J Comput Assist Tomogr.* **1**, 482–6 (1997).
 114. de Visser, M. & Verbeeten, B. J. Computed tomographic findings in manifesting carriers of Duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet* **27**, 269–75 (1985).
 115. Kawai, M., Kunimoto, M., Motoyoshi, Y., Kuwata, T. & Nakano, I. Computed tomography in Duchenne type muscular dystrophy—morphological stages based on the computed tomographical findings. *Rinsho Shinkeigaku.* **25**, 578–90 (1985).
 116. Dam, L. Ten, Van Der Kooi, A. J., Van Wattering, M., De Haan, R. J. & De Visser, M. Reliability and accuracy of skeletal muscle imaging in limb-girdle muscular dystrophies. *Neurology* **79**, 1716–1723 (2012).
 117. De Jager, A. E. J., Van Der Vliet, T. M., Van Der Ree, T. C., Oosterink, B. J. & Loonen, M. C. B. Muscle computed tomography in adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle and Nerve* **21**, 398–400 (1998).
 118. Nakayama, T., Kuru, S. & Kawai, M. Analysis using histograms of muscle CT images in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Case Reports* **2013**, bcr2013009301–bcr2013009301 (2013).
 119. ten Dam, L., van der Kooi, A. J., Rövekamp, F., Linssen, W. H. J. P. & de Visser, M. Comparing clinical data and muscle imaging of DYSF and ANO5 related muscular dystrophies. *Neuromuscul. Disord.* **24**, 1097–1102 (2014).

120. Cinnamon, J. *et al.* Evaluation of the lumbar spine in patients with glycogen storage disease: CT demonstration of patterns of paraspinal muscle atrophy. *Am. J. Neuroradiol.* **12**, 1099–1103 (1991).
121. Ishigaki, K. *et al.* High-density areas on muscle CT in childhood-onset Pompe disease are caused by excess calcium accumulation. *Acta Neuropathol.* **120**, 537–543 (2010).
122. Yonee, C. *et al.* Quantitative computed tomography for enzyme replacement therapy in Pompe disease. *Brain Dev.* **34**, 834–839 (2012).
123. Carboni, N. *et al.* Muscle imaging analogies in a cohort of patients with different clinical phenotypes caused by LMNA gene mutations. *Muscle and Nerve* **41**, 458–463 (2010).
124. Merlini, L. Selectivity of muscle sparing in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* **19**, 500–501 (2009).
125. Özsarlak, Ö. *et al.* Hereditary neuromuscular diseases. *European Journal of Radiology* **40**, 184–197 (2001).
126. Schedel, H. *et al.* Imaging techniques in myotonic dystrophy. A comparative study of ultrasound, computed tomography and magnetic resonance imaging of skeletal muscles. *Eur. J. Radiol.* **15**, 230–8 (1992).
127. Hollingsworth, K. G., de Sousa, P. L., Straub, V. & Carlier, P. G. Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: Consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1-2 October 2009, Paris, France. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S54–S67 (2012).
128. Ttula, K. E. R. *Magnetic Resonance Imaging of the. October* **18**, (2001).
129. Carlier, P. G., Mercuri, E. & Straub, V. Applications of MRI in muscle diseases. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S41 (2012).
130. Murphy, W. & Totty, W. Musculoskeletal magnetic resonance imaging. *Magn Reson Annu.* 1–35 (1986).
131. Paradas, C. & Ma, C. Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies -- Paradas *et al.* **75** (4): 316 -- *Neurology.* (2010).
132. Degardin, A. *et al.* Morphologic imaging in muscular dystrophies and inflammatory myopathies. *Skeletal Radiol.* **39**, 1219–1227 (2010).
133. Fan, Z. *et al.* Characteristics of magnetic resonance imaging biomarkers in a natural history study of golden retriever muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* **24**, 178–91 (2014).
134. Senesac, C. R. *et al.* Longitudinal Evaluation of Muscle Composition Using Magnetic Resonance in 4 Boys With Duchenne Muscular Dystrophy: Case Series. *Phys Ther* **95**, 978–988 (2015).

135. Makridis, K. G., Lequesne, M., Bard, H. & Djian, P. Clinical and MRI results in 67 patients operated for gluteus medius and minimus tendon tears with a median follow-up of 4.6 years. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* **100**, 849–853 (2014).
136. Arribas-Sánchez, C Sendarrubias-Alonso, M Vázquez-López, M Lancharro-Zapata, Á Barredo-Valderrama, E Miranda-Herrero, M. & De Castro-De Castro, P. The value of muscular magnetic resonance imaging in the differential diagnosis of muscular dystrophies. *Rev Neurol.* **59**, 238–40 (2014).
137. Wokke, B. H. *et al.* Comparison of dixon and T1-weighted MR methods to assess the degree of fat infiltration in duchenne muscular dystrophy patients. *J. Magn. Reson. Imaging* **38**, 619–624 (2013).
138. Baudin, P. Y. *et al.* Qualitative and quantitative evaluation of skeletal muscle fatty degenerative changes using whole-body Dixon nuclear magnetic resonance imaging for an important reduction of the acquisition time. *Neuromuscul. Disord.* **25**, 758–763 (2015).
139. Fischer, D. *et al.* Distinct muscle imaging patterns in myofibrillar myopathies. *Neurology* **71**, 758–765 (2008).
140. Straub, V., Carlier, P. G. & Mercuri, E. TREAT-NMD workshop: Pattern recognition in genetic muscle diseases using muscle MRI. 25-26 February 2011, Rome, Italy. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S42–S53 (2012).
141. Willis, T. A. *et al.* Quantitative magnetic resonance imaging in limb-girdle muscular dystrophy 2l: a multinational cross-sectional study. *PLoS One* **9**, e90377 (2014).
142. Mercuri, E. *et al.* Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. *Ann. Neurol.* **67**, 201–208 (2010).
143. Tasca, G. *et al.* Muscle MRI in Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S100–S106 (2012).
144. Quijano-Roy, S. *et al.* Whole body muscle MRI protocol: Pattern recognition in early onset NM disorders. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S68–S84 (2012).
145. Pichiecchio, A. *et al.* Muscle MRI in adult-onset acid maltase deficiency. *Neuromuscul. Disord.* **14**, 51–55 (2004).
146. Carlier, R. Y. *et al.* Whole-body muscle MRI in 20 patients suffering from late onset Pompe disease: Involvement patterns. *Neuromuscul. Disord.* **21**, 791–799 (2011).
147. Tasca, G. *et al.* Upper girdle imaging in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *PLoS One* **9**, (2014).
148. Mercuri, E. *et al.* Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: Past, present, and future. *J. Magn. Reson. Imaging* **25**, 433–440 (2007).

149. Li, W. *et al.* Progression and variation of fatty infiltration of the thigh muscles in Duchenne muscular dystrophy, a muscle magnetic resonance imaging study. *Neuromuscul Disord.* **25**, 375–80 (2015).
150. Willcocks, R. J. *et al.* Multicenter prospective longitudinal study of magnetic resonance biomarkers in a large duchenne muscular dystrophy cohort. *Ann. Neurol.* n/a–n/a (2016). doi:10.1002/ana.24599
151. Hogrel, J. Y. *et al.* Longitudinal functional and NMR assessment of upper limbs in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* **86**, 1022–1030 (2016).
152. Bonati, U. *et al.* Quantitative muscle MRI: A powerful surrogate outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* **25**, 679–685 (2015).
153. Sarkozy, A. *et al.* Muscle MRI findings in limb girdle muscular dystrophy type 2L. *Neuromuscul. Disord.* **22**, 122–129 (2012).
154. Peterle, E. *et al.* Clinical phenotype, muscle MRI and muscle pathology of LGMD1F. *J. Neurol.* **260**, 2033–2041 (2013).
155. Mercuri, E. *et al.* Muscle MRI findings in patients with limb girdle muscular dystrophy with calpain 3 deficiency (LGMD2A) and early contractures. *Neuromuscul. Disord.* **15**, 164–171 (2005).
156. Kesper, K. *et al.* Pattern of skeletal muscle involvement in primary dysferlinopathies: A whole-body 3.0-T magnetic resonance imaging study. *Acta Neurol. Scand.* **120**, 111–118 (2009).
157. Fischer, D. *et al.* Diagnostic value of muscle MRI in differentiating LGMD2I from other LGMDs. *J. Neurol.* **252**, 538–547 (2005).
158. Poppe, M. *et al.* The phenotype of limb-girdle muscular dystrophy type 2I. *Neurology* **60**, 1246–1251 (2003).
159. Hicks, D. *et al.* A founder mutation in Anoctamin 5 is a major cause of limb-girdle muscular dystrophy. *Brain* **134**, 171–182 (2011).
160. Mahjneh, I. *et al.* Selective pattern of muscle involvement seen in distal muscular dystrophy associated with anoctamin 5 mutations: A follow-up muscle MRI study. *Neuromuscul. Disord.* **22**, S130–S136 (2012).
161. Jarry, J. *et al.* A novel autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy with quadriceps atrophy maps to 11p13-p12. *Brain* **130**, 368–380 (2007).
162. Fischmann, A. *et al.* Muscular involvement assessed by MRI correlates to motor function measurement values in oculopharyngeal muscular dystrophy. *J. Neurol.* **258**, 1333–1340 (2011).
163. Gerevini, S. *et al.* Muscle MRI findings in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Eur. Radiol.* 693–705 (2015). doi:10.1007/s00330-015-3890-1

164. Sugie, K. *et al.* Characteristic MRI findings of upper limb muscle involvement in myotonic dystrophy type 1. *PLoS One* **10**, 1–9 (2015).
165. Hiba, B. *et al.* Quantitative assessment of skeletal muscle degeneration in patients with myotonic dystrophy type 1 using MRI. *J. Magn. Reson. Imaging* **35**, 678–685 (2012).
166. Lee, Y. H. *et al.* Whole-body muscle MRI in patients with hyperkalemic periodic paralysis carrying the SCN4A mutation T704M: Evidence for chronic progressive myopathy with selective muscle involvement. *J. Clin. Neurol.* **11**, 331–338 (2015).
167. Laloui, K. *et al.* Making diagnosis of pompe disease at a presymptomatic stage: To treat or not to treat? Clinical/scientific notes. *Neurology* **77**, 594–595 (2011).
168. Mercuri, E. *et al.* Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics* **33**, 10–14 (2002).
169. Carboni, N. *et al.* Muscle MRI findings in patients with an apparently exclusive cardiac phenotype due to a novel LMNA gene mutation. *Neuromuscul. Disord.* **18**, 291–298 (2008).
170. Carboni, N. *et al.* Cardiac and muscle imaging findings in a family with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* **22**, 152–158 (2012).
171. Fung, E. T., Wright, G. L. & Dalmaso, E. A. Proteomic strategies for biomarker identification: progress and challenges. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2**, 643–650 (2000).
172. Ferlini, A., Scotton, C. & Novelli, G. Biomarkers in rare diseases. *Public Health Genomics* **16**, 313–321 (2013).
173. Smith, B. K. *et al.* Phase I/II trial of adeno-associated virus-mediated alpha-glucosidase gene therapy to the diaphragm for chronic respiratory failure in Pompe disease: initial safety and ventilatory outcomes. *Hum. Gene Ther.* **24**, 630–40 (2013).
174. Russo, V., Rago, A. & Nigro, G. Sudden cardiac death in neuromuscular disorders: Time to establish shared protocols for cardiac pacing. *Int. J. Cardiol.* **207**, 284–285 (2016).
175. Carlier, P. G. *et al.* Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients. *J. Inherit. Metab. Dis.* **38**, 565–572 (2015).
176. Gaeta, M. *et al.* Clinical and pathophysiological clues of respiratory dysfunction in late-onset Pompe disease: New insights from a comparative study by MRI and respiratory function assessment. *Neuromuscul. Disord.* **25**, 852–858 (2015).

177. Gruhn, K. M. *et al.* Muscle imaging data in late-onset Pompe disease reveal a correlation between the pre-existing degree of lipomatous muscle alterations and the efficacy of long-term enzyme replacement therapy. *Mol. Genet. Metab. Reports* **3**, 58–64 (2015).
178. Anan, R. *et al.* Prognostic implications of novel beta cardiac myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.* **93**, 280–5 (1994).
179. Muelas, N. *et al.* MYH7 gene tail mutation causing myopathic profiles beyond Laing distal myopathy. *Neurology* **75**, 732–741 (2010).
180. Overeem, S. *et al.* Symptomatic distal myopathy with cardiomyopathy due to a MYH7 mutation. *Neuromuscul. Disord.* **17**, 490–493 (2007).
181. Oldfors, A. Hereditary myosin myopathies. *Neuromuscul. Disord.* **17**, 355–367 (2007).
182. Rayment, I., Holden, H. M., Sellers, J. R., Fananapazir, L. & Epstein, N. D. Structural interpretation of the mutations in the β -cardiac myosin that have been implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci* **92**, 3864–3868 (1995).
183. Hougs, L. *et al.* One third of Danish hypertrophic cardiomyopathy patients with MYH7 mutations have mutations [corrected] in MYH7 rod region. *Eur. J. Hum. Genet.* **13**, 161–5 (2005).
184. Das K, J., Ingles, J., Bagnall, R. D. & Semsarian, C. Determining pathogenicity of genetic variants in hypertrophic cardiomyopathy: importance of periodic reassessment. *Genet. Med.* **16**, 286–293 (2014).
185. Kamisago, M. *et al.* Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med.* **343**, 1688–1696 (2000).
186. Daehmlow, S. *et al.* Novel mutations in sarcomeric protein genes in dilated cardiomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **298**, 116–120 (2002).
187. Laing, N. G. *et al.* Autosomal dominant distal myopathy: linkage to chromosome 14. *Am. J. Hum. Genet.* **56**, 422–7 (1995).
188. Hedera, P., Petty, E. M., Bui, M. R., Blaivas, M. & Fink, J. K. The second kindred with autosomal dominant distal myopathy linked to chromosome 14q: genetic and clinical analysis. *Arch. Neurol.* **60**, 1321–5 (2003).
189. Muelas, N. *et al.* Spanish MYH7 founder mutation of Italian ancestry causing a large cluster of Laing myopathy patients. *Clin. Genet.* **81**, 491–494 (2012).
190. Udd, B. Distal myopathies - New genetic entities expand diagnostic challenge. *Neuromuscul. Disord.* **22**, 5–12 (2012).
191. Voit, T. *et al.* Autosomal dominant distal myopathy: Further evidence of a chromosome 14 locus. *Neuromuscul. Disord.* **11**, 11–19 (2001).

192. Uro-Coste, E. *et al.* Striking phenotypic variability in two familial cases of myosin storage myopathy with a MYH7 Leu1793pro mutation. *Neuromuscul. Disord.* **19**, 163–166 (2009).
193. Tajsharghi, H., Oldfors, A., Macleod, D. & Swash, M. Homozygous mutation in MYH7 in myosin storage myopathy and cardiomyopathy. *Neurology* **68**, 962 (2007).
194. Homayoun, H. *et al.* Novel mutation in MYH7 gene associated with distal myopathy and cardiomyopathy. *Neuromuscul. Disord.* **21**, 219–222 (2011).
195. Cullup, T. *et al.* Mutations in MYH7 cause Multi-minicore Disease (MmD) with variable cardiac involvement. *Neuromuscul. Disord.* **22**, 1096–1104 (2012).
196. Clarke, N. F. *et al.* A novel mutation expands the genetic and clinical spectrum of MYH7-related myopathies. *Neuromuscul. Disord.* **23**, 432–436 (2013).
197. Tasca, G. *et al.* New phenotype and pathology features in MYH7-related distal myopathy. *Neuromuscul. Disord.* **22**, 640–647 (2012).
198. Lamont, P. J. *et al.* Novel Mutations Widen the Phenotypic Spectrum of Slow Skeletal/??-Cardiac Myosin (MYH7) Distal Myopathy. *Hum. Mutat.* **35**, 868–879 (2014).

AGRADECIMIENTOS:

A Isabel Illa, por haberme dado la oportunidad de explorar y aprender de este campo tan interesante de la ciencia como es la patología neuromuscular. Gracias por haberme transmitido los conocimientos que a lo largo de los años atesora una persona con tanta experiencia y rigor científico. Y principalmente gracias por haber dirigido esta tesis.

A Jordi Díaz, mi mentor. Gran medico, neurólogo, miólogo y gran persona. Sin tu apoyo y dedicación esta tesis no habría sido posible. Muchas gracias AMIGO.

A Eduard Gallardo, por haberme instruido en la ciencia básica y haberme transmitido su pasión por este tejido llamado músculo. Gracias por todos los momentos profesionales y personales vividos.

À l'association AFM Téléthon pour son soutien dans le travail de tesis.

A todos mis compañeros de la Unidad de patología neuromuscular: Ricard, Luis, Sonia, Eugenia, Sebastián, Alba, Elena, Noemí, Fina, Miquel, Xavi, Karolina, Bárbara, Conchita Patricia, Esther, Cinta y Ana.

A los profesionales que desde el hospital de Sant Pau y otros hospitales han colaborado con la elaboración de este trabajo de tesis.

A mis compañeros y amigos hospitalarios, María, Joan C., Rebeca, Joan M., Alex, Anka, Isabel, Jesús P, Irati, Lavinia, Ana, Inka, Diana, Franco, Fran y Jesús A.

A todos los apasionados de la neurología que me han enseñado y aportado tantos conocimientos y experiencias, en mi periodo de Residencia hasta la actualidad. Mención especial al personal del Hospital Sant Joan de Deu de Sant Boi y al de la Clínica Sant Jordi.

A C.Carnicer por empujarme al abismo de la medicina.

A mis amigos de siempre, soy una persona muy afortunada por teneros a mi lado.

A mis padres por transmitirme la pasión por el trabajo y la dedicación al compromiso. Gracias por haberme esculpido. Os adoro.

A mis hermanos Jorge y Carlos, grandes compañeros del viaje de la vida. A mi hermanas elegidas Sofía y Ana.

Al resto de mi familia y familia López-Borao, gracias por estar ahí.

A mi marido Jaime, mi gran compañero, socio y confidente. TQ ∞∞

A mis hijos Candela y Lorién, las tesis más importantes de mi vida. Gracias por vuestra paciencia y vuestras dosis de amor y sonrisas diarias.

