



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Estudio Ecográfico Longitudinal de la Degeneración de la Estructura Muscular en Pacientes con Esclerosis Lateral Amiotrófica.

D. Jacinto Javier Martínez Payá

2018

**Estudio ecográfico longitudinal de la degeneración de
la estructura muscular en pacientes con esclerosis
lateral amiotrófica.**

D. Jacinto Javier Martínez Payá.

Directores:

Dr. Francesc Medina i Mirapeix.

Dra. María Elena del Baño Aledo.

A mis respetables directores, coautores y afectados por la ELA.

A la Universidad y a la Medicina.

A mis queridísimos amigos y a los que no lo fueron tanto.

A María y a Ríos, mis compañeros de baile.

A mi papá, mi mamá, herman@s, sobrin@s, yay@s y resto de la familia
Martínez-Román.

A Ana Mari, mi compañera en la vida.

Y a Xavi, mi nueva vida.

ABREVIATURAS.

ALSFRS-r. Revised amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale.

C9orf72. Gen chromosome 9 open Reading frame 72.

DFT. Demencia frontotemporal.

EI. Econtensidad.

EV. Ecovariación.

ELA. Esclerosis lateral amiotrófica.

ELAe. Esclerosis lateral amiotrófica esporádica.

ELAf. Esclerosis lateral amiotrófica familiar.

EMG. Electromiografía.

FUS/TLS o FUS. Fused protein in sarcoma/translocated in liposarcoma.

GLCM. Matrices de concurrencia del nivel de gris.

GM. Grosor muscular.

IRM. Imagen por resonancia magnética.

MRC. Medical Research Council (Escala para la evaluación de la fuerza muscular).

PET. Tomografía por emisión de positrones.

SOD1. Enzima superoxid dismutase 1

TARDBP. TAR DNA binding protein.

TDP-43. Transactive response DNA binding protein 43.

ÍNDICE.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL.	Págs. 11-28.
La esclerosis lateral amiotrófica.	Pág. 13.
Epidemiología.	Pág. 13.
Etiología.	Págs. 13-14.
Neuropatología.	Págs. 14-15.
Anatomía patológica.	Págs. 15-16.
Sintomatología y pronóstico.	Págs. 16-19.
Diagnóstico diferencial.	Págs. 20-22.
Utilidad de las técnicas de neuroimagen en la ELA.	Págs. 22-23.
Ecografía muscular cuantitativa en la ELA.	Págs. 23-24.
Referencias bibliográficas.	Págs. 24-28.
II. RESUMEN GLOBAL.	Págs. 29-34.
Objetivos.	Pág. 31.
Material y métodos.	Págs. 31-32.
Resultados.	Pág. 32.
Conclusiones.	Págs. 32-33.
III. PUBLICACIONES.	Pág. 35-42.
Estudio I: Muscular Echovariation: A new biomarker in amyotrophic lateral sclerosis.	
Estudio II: Quantitative muscle ultrasonography using textural analysis in amyotrophic lateral sclerosis.	
Estudio III: Monitoring progression of amyotrophic lateral sclerosis using ultrasound morpho-textural muscle biomarkers: A pilot study.	

I. INTRODUCCIÓN GENERAL.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL.

La esclerosis lateral amiotrófica.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) también conocida como enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Charcot (Francia) o de Lou Gehrig (Estados Unidos), es considerada como la forma más devastadora de todos los trastornos neurodegenerativos. Fue descrita por primera vez por el médico francés Jean Martin Charcot en 1874, definiéndola como una enfermedad progresiva, letal y, con frecuencia, de rápida evolución. Afecta a las neuronas motoras superiores (localizadas en la corteza cerebral) e inferiores (neuronas motoras del tronco del encéfalo y del asta anterior de la médula espinal)(1–3). Puede comenzar por un síndrome bulbar (parálisis bulbar progresiva), por un síndrome de motoneurona superior (esclerosis lateral primaria) o por un síndrome de motoneurona inferior (atrofia muscular progresiva de Aran-Duchenne)(4). Estas disfunciones motoras también pueden ir acompañadas de demencia frontotemporal (DFT)(4–7).

Epidemiología.

La incidencia europea es de 2,5 casos nuevos por cada 100.000 habitantes/año(8). En los años cincuenta, en tres regiones distintas del Pacífico Oeste (Guam, Western New Guinea y Kii de la península de Japón) se identificó una combinación de ELA y parkinsonismo-demencia con una incidencia de 9,54 por 100.000 habitantes/año y una prevalencia de 47,7 por cada 100.000 habitantes(9). En España, esta incidencia es de 1 caso nuevo por cada 100.000 habitantes/año(10). La edad media de inicio suele estar en torno a los 60 años en las formas esporádicas (ELAe) y unos 10 años antes en las familiares (ELAf) siendo causa en España de 1,5 fallecimientos por cada 100.000 habitantes/año. Sin embargo, los casos de ELA en sujetos menores de 20 años son raros(11,12). Además de la edad avanzada, el sexo masculino también constituye un factor de riesgo en la ELAe con un ratio hombre-mujer de 3:2, aunque esta proporción tiende a igualarse por encima de los 70 años(5,11,13,14).

Etiología.

Pese a que en las últimas décadas se han descrito, sin clara evidencia, diversos factores de riesgo tales como traumatismos previos, exposición a tóxicos, la realización

de trabajos forzosos, la práctica deportiva o antecedentes de intervenciones quirúrgicas, la etiología de la ELA es desconocida(15–18).

En la actualidad, la evidencia sugiere que la respuesta inflamatoria del sistema nervioso central contribuye a la patogénesis de la ELA, asociándose así la enfermedad a un proceso de neuroinflamación. Tanto los estudios post-mortem como de tomografía por emisión de positrones (PET) han demostrado una activación microglial en pacientes de ELA, encontrándose además, infiltraciones de células inmunes en el sistema nervioso central (células T) en zonas de lesión de motoneurona(19).

Neuropatología.

Las investigaciones y descubrimientos han crecido exponencialmente en las últimas décadas lo que ha permitido un mayor conocimiento de la enfermedad. Macroscópicamente, en la mayoría de los cerebros afectados por ELA no se han observado grandes anormalidades, apreciándose: atrofia del giro precentral; en relación a la DFT, atrofia de la corteza frontal y/o temporal; y en la médula espinal atrofia de las raíces anteriores. Por otro lado, a nivel microscópico se ha observado una pérdida de axones mielinizados relacionados con las columnas anterior y lateral de la médula espinal junto a una degeneración y pérdida de las neuronas motoras del cuerno anterior de la médula espinal, de los núcleos motores craneales inferiores del tronco del encéfalo y de las células de Betz de la corteza motora(20).

Aproximadamente, el 10% de los casos son ELAf siendo generalmente el resultado de mutaciones autosómicas heredadas. A continuación, detallamos los principales hallazgos genéticos descritos cronológicamente. La primera mutación fue descubierta en 1993 en el gen que codifica la enzima *superoxid dismutase 1* (SOD1) observada en el 20% de los casos de ELAf(21). Se tuvo que esperar algo más de una década para que en el 2006, el hallazgo de la proteinopatía *transactive response DNA binding protein 43* (TDP-43) diera paso al descubrimiento de la mutación de la *TAR DNA binding protein* (TARDBP), que se observa en el 2-5% de los casos de ELAf y para el que se han descrito hasta 30 mutaciones. En el 2009, fueron identificadas las mutaciones en la proteína *fused in sarcoma/translocated in liposarcoma* (FUS/TLS o FUS) responsables del 5% de los casos de ELAf. Finalmente, en el 2011 se observaron anormalidades en el gen *chromosome 9 open reading frame 72* (C9orf72) habiendo sido identificadas en la mayoría de los casos de ELAf y DFT(20,22–24).

Gracias a una mejor comprensión de los diferentes fenotipos, los avances en genética, los adelantos en biología molecular y al acceso a nuevas tecnologías microscópicas se está empezando a apreciar la extraordinaria complejidad microscópica y molecular que existe detrás de la ELA(20).

Anatomía patológica.

En la ELA se afectan tanto las neuronas motoras superiores como las inferiores. Las superiores o corticoespinales (células de Betz) están ubicadas en la quinta capa de la corteza motora cerebral y por vía piramidal sinaptan con las neuronas motoras inferiores, representadas por las células del tronco del encéfalo y del asta anterior de la médula espinal (Figura 1)(4,11,25).

En el tronco del encéfalo la degeneración tiene lugar en los núcleos motores de los pares craneales III, V, VII, X y XII y en los axones que descienden por la vía corticoespinal y corticobulbar(4,11,25).

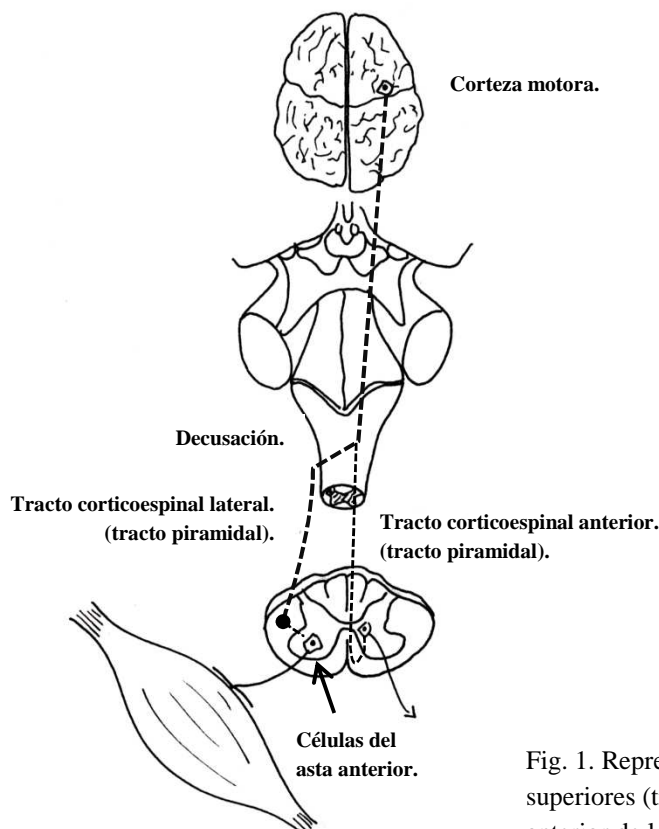


Fig. 1. Representación de las neuronas motoras superiores (tracto corticoespinal) e inferiores del asta anterior de la médula.

En las regiones de pérdida neuronal, se hacen evidentes grados variables de gliosis astrocítica. Se aprecia que hay una retracción neural con afectación precoz del

citoesqueleto, lo que lleva consigo la muerte neuronal. Esta situación es la responsable de la denervación y la correspondiente atrofia (amiotrofia) de las fibras musculares correspondientes. La pérdida de neuronas motoras corticales provoca adelgazamiento de las vías corticoespinales que descienden por la cápsula interna y tronco del encéfalo hasta los cordones laterales de la sustancia blanca de la médula espinal lo que proporciona a la médula una mayor consistencia (esclerosis lateral). Dentro del sistema motor se observa afección selectiva ya que no se ven dañadas las neuronas motoras necesarias para la movilidad ocular, así como tampoco las neuronas parasimpáticas de la médula espinal sacra que inervan al esfínter anal y vesical(4,11,12).

Sintomatología y pronóstico.

Los síntomas iniciales son muy poco específicos. Los pacientes refieren fatiga, debilidad asimétrica de las manos, calambres musculares, pérdida de coordinación y destreza, dificultad para respirar o problema con el habla y la deglución(26,27).

La distribución de los hallazgos neurológicos anormales depende de la proporción de las motoneuronas superiores o inferiores afectadas. Los signos típicos asociados a la degeneración de las motoneuronas inferiores son la atrofia muscular, hipotonía, fasciculaciones, hiporreflexia y dificultad para respirar. Sin embargo, la degeneración de las motoneuronas superiores está vinculada a espasticidad e hiperreflexia y signos de Babinski y de Hoffmann positivos. En este patrón de afectación la atrofia es más leve y se refleja más tardíamente que cuando la degeneración afecta más a las motoneuronas inferiores. La debilidad, disartria, disfagia y pérdida de destreza y coordinación se relacionan con la degeneración de ambas motoneuronas(4,25,26).

Uno de los síntomas que mejor caracteriza a la ELA es la atrofia muscular (lo que provoca una reducción del volumen muscular) y su consiguiente pérdida de fuerza, como fruto de la afectación de un 30-50% de las motoneuronas inferiores(4). Esta fuerza muscular puede cuantificarse a través de diferentes métodos, tales como, contracción voluntaria máxima isométrica, isocinética o mediante un dinamómetro portátil(4,28). Sin embargo, el sistema mayormente empleado es mediante la escala del British Medical Research Council (MRC)(29). También existen algunas versiones modificadas, como es la subdivisión del grado 4 en 4, 4- y 4+ para indicar movilidad contra resistencia ligera, moderada y fuerte, respectivamente (tabla 1). Los músculos

normalmente examinados son deltoides (elevación del brazo), bíceps braquial (flexión del codo), tríceps braquial (extensión del codo), extensores y flexores de muñeca, psoas ilíaco (flexión de cadera), cuádriceps femoral (extensión de rodilla), isquiosurales (flexión de rodilla), tibial anterior (flexión dorsal de tobillo), gastrocnemio (flexión plantar de tobillo) y extensores y flexores del primer dedo del pie. De este modo, se exploran todos los grupos musculares obteniendo una puntuación global(11).

Tabla 1. Escala modificada del British Medical Research Council (MRC).	
Grado.	Hallazgos exploratorios.
0	Ausencia de contracción muscular.
1	Ligeros signos de contracción.
2	Movilidad activa eliminando la gravedad.
3	Movilidad activa contra gravedad.
4-	Movilidad activa contra gravedad y resistencia ligera.
4	Movilidad activa contra gravedad y resistencia moderada.
4+	Movilidad activa contra gravedad y resistencia fuerte.
5	Fuerza muscular normal.

Otro de los hallazgos típicos en las fases iniciales de la ELA es la presencia de fasciculaciones. Las fasciculaciones son contracciones musculares espontáneas de un grupo de fibras musculares que comprenden una unidad motora o unidades múltiples. Pueden ocurrir en muchas condiciones, incluyendo un músculo fatigado o incluso un músculo normal (debido a fármacos). Se encuentran presentes en los sujetos afectados por ELA previa a la aparición de la atrofia o debilidad muscular significativa. Su detección en una región anatómica y su extensión a otras regiones se considera un signo de mal pronóstico en la ELA(30,31). A menudo, el paciente no es consciente de ellas y se observan con el músculo en reposo presentando una frecuencia baja e irregular, repitiéndose a intervalos entre uno y cinco segundos. A diferencia de las observadas en los pacientes con ELA, las fasciculaciones benignas se localizan en una zona concreta de un músculo, poseen una frecuencia de varias contracciones por segundo, se repiten con cierta regularidad y desaparecen al cabo de cierto tiempo (minutos a horas)(11).

Al avanzar la enfermedad se manifiesta un síndrome bulbar (más común en mujeres que en hombres). Esta afectación bulbar también puede presentarse como origen de la enfermedad lo que se correlaciona con una rápida evolución (1-2 años). Los pacientes con afectación bulbar presentan dificultad para la deglución, reflujo nasal de

líquidos, voz gangosa, sialorrea, disartria, atrofia de la lengua con fasciculaciones lo que lleva consigo dificultad para digerir el bolo alimenticio y la ingesta de líquidos que puede terminar provocando malnutrición(32,33). Finalmente, la enfermedad afecta a la musculatura respiratoria por fatiga del diafragma y de los músculos respiratorios(12,32,34,35).

La evolución de la ELA es progresiva, con una supervivencia media de 2-3 años(28,34,36). Aproximadamente sólo un 10% de los pacientes sobreviven más de 10 años. La causa más frecuente de muerte se encuentra asociada a trastornos de la deglución y respiratorios(12,14).

La forma de inicio más frecuente en la ELA es la braquial distal o forma común, cuyos síntomas más frecuentes son la debilidad para efectuar la oposición del pulgar y la amiotrofia de los interóseos provocando una atrofia en la eminencia tenar. La progresión de la ELA depende en cierta medida de su forma de origen. Por ejemplo, cuando un paciente presenta un inicio de afectación unilateral en una extremidad la progresión suele evolucionar hacia la afectación del lado contralateral. Otra tendencia es que los pacientes que muestran un origen de afectación en las extremidades superiores desarrollan síntomas bulbares más rápidamente que los que presentan un origen en las extremidades inferiores. Se ha observado que, tanto en extremidades inferiores como superiores, los músculos flexores se debilitan antes y más intensamente que los extensores, predominando la afectación distal sobre la proximal. Finalmente, también se ha apreciado que en el 50% de los casos cuyo origen es bulbar la progresión es hacia la afectación de la extremidad superior derecha(4).

Entre los diferentes instrumentos que existen para evaluar la progresión de la ELA el más empleado es la Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-r). Consta de 12 ítems agrupados en cuatro campos que gradúan la discapacidad en la realización de actividades de la vida diaria. La Unidad de ELA del Hospital Carlos III ha llevado a cabo su adaptación al español (tabla 2)(37).

Tabla 2. Traducción al español de la Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-r).

1. Lenguaje.	4	Procesos del habla normales.
	3	Trastornos del habla detectables.
	2	Habla inteligible con repeticiones.
	1	Habla complementada con comunicación no verbal.
	0	Pérdida del habla útil.
2. Salivación.	4	Normal.
	3	Aunque leve, definitivo exceso de saliva en la boca, puede haber sialorrea nocturna mínima.
	2	Exceso de saliva moderado, puede haber sialorrea mínima.
	1	Exceso marcado de saliva con algo de sialorrea.
	0	Sialorrea marcada, requiere pañuelo constantemente.
3. Deglución.	4	Hábitos alimenticios normales.
	3	Problemas alimenticios tempranos, ahogamientos ocasionales.
	2	Requiere cambios en la consistencia de la dieta.
	1	Necesita alimentación a través de tubos suplementarios.
	0	NPO (Nil Per Os) Alimentación exclusivamente enteral o parenteral.
4. Escritura.	4	Normal.
	3	Un poco lenta y torpe, todas las palabras son legibles.
	2	No todas las palabras son legibles.
	1	Capaz de sostener una pluma, pero no de escribir.
	0	Incapaz de sostener una pluma.
5a. Cortado de comida y uso de utensilios (pacientes sin gastrostomía).	4	Normal.
	3	Algo lento y torpe, no necesita ayuda.
	2	Puede cortar la mayoría de las comidas, lento y torpe, requiere algo de ayuda.
	1	La comida requiere ser cortada por alguien más, aún puede alimentarse lentamente
	0	Necesita ser alimentado.
5b. Cortado de comida y uso de utensilios (pacientes con gastrostomía).	4	Normal.
	3	Torpe, puede manejar todos los utensilios.
	2	Requiere algo de ayuda con cierres y broches.
	1	Aporta poca ayuda para el cuidador.
	0	Incapaz de realizar ningún aspecto de la tarea.
6. Vestido e higiene.	4	Normal.
	3	Capaz de autocuidado con eficiencia disminuida.
	2	Requiere ayuda intermitente o métodos sustitutos.
	1	Requiere ayuda de cuidador para autocuidado.
	0	Dependencia total.
7. Voltearse en la cama y ajustar las cobijas.	4	Normal.
	3	Algo lento y torpe, no necesita ayuda.
	2	Puede voltearse solo o ajustar las sábanas con dificultad.
	1	Puede comenzar a voltearse sin terminar, no puede ajustar sábanas.
	0	Dependencia total.
8. Caminar.	4	Normal.
	3	Dificultad temprana para la deambulación.
	2	Puede caminar con ayuda.
	1	Sólo movimiento funcional no ambulatorio.
	0	No hay movimiento voluntario de piernas.
9. Subir escaleras.	4	Normal.
	3	Lento.
	2	Moderadamente inestable o fatiga.
	1	Requiere ayuda.
	0	No puede.
10. Disnea.	4	Ninguna.
	3	Ocurre cuando camina.
	2	Ocurre con uno o más: comer, bañarse y vestirse.
	1	Ocurre en descanso ya sea sentado o acostado.
	0	Dificultad significativa, se considera soporte mecánico.
11. Ortopnea.	4	Ninguna.
	3	Un poco de dificultad al dormir, disnea diurna, no siempre requiere de dos almohadas.
	2	Requiere de almohadas extra para dormir (>2).
	1	Sólo puede dormir sentado.
	0	Incapaz de dormir.
12. Insuficiencia respiratoria.	4	Ninguna.
	3	Uso intermitente de BiPAP.
	2	Uso continuo de BiPAP por la noches.
	1	Uso continuo de BiPAP día y noche.
	0	Ventilación mecánica invasiva por medio de intubación/traqueotomía.

Diagnóstico diferencial.

El diagnóstico de la ELA se basa en la historia clínica y en los hallazgos de la exploración física. Dados los síntomas de presentación tan heterogéneos y la escasez de signos y síntomas específicos, el diagnóstico de la ELA es tardío y complejo con una proporción de falsos-negativos de aproximadamente el 40% y un 8% de falsos-positivos. Estas dificultades llevan consigo que el proceso diagnóstico represente un tercio de la esperanza de vida de los pacientes, siendo uno de los principales objetivos de los investigadores(38).

En 1994, la World Federation of Neurology propuso unos criterios clínicos para el diagnóstico de la ELA conocidos con el nombre de Criterios de El Escorial(39), revisados en 1998. Estos criterios han demostrado una gran sensibilidad y precisión en el diagnóstico de la ELA en correlación a estudios neuropatológicos(11,40). Sin embargo, en las primeras fases de la enfermedad de la motoneurona no es posible más que catalogar la enfermedad como posible, según dichos criterios. Esto obliga a poner en marcha argucias diagnósticas y exploraciones complementarias que, junto a los datos clínicos y neurofisiológicos, permitan descartar, confirmar o, lo más probable, seguir manteniendo la presunción de ELA antes de emitir un diagnóstico de certeza y, por ello, un pronóstico tan sombrío(4).

Para llevar a cabo el diagnóstico de la ELA se precisa(16,39):

A. La presencia de:

- Examen clínico, electrofisiológico o neuropatológico (a través de biopsia muscular) que evidencie la degeneración de las motoneuronas inferiores.
- Examen clínico que demuestre signos de la degeneración de las motoneuronas superiores.
- Historia o examen clínico que refleje la propagación progresiva de los signos y síntomas dentro de una región o de otras regiones.

B. La ausencia de:

- Evidencia electrofisiológica o patológica de otra enfermedad o proceso que explique los signos de degeneración de las motoneuronas superiores e inferiores.

- Evidencia a través de técnicas de neuroimagen de otro proceso o enfermedad que pueda explicar los signos clínicos y electrofisiológicos vinculados a la ELA.

La certeza diagnóstica se reafirma cuanto mayor sea el número de regiones anatómicas con signos de lesión de motoneurona superior o motoneurona inferior. Se consideran cuatro regiones: bulbar, extremidades superiores, tronco y extremidades inferiores. Según esta distribución de signos se definen los diagnósticos de ELA definitiva, probable, posible o sospecha de ELA(4,16,38,39):

- ELA definitiva. Con evidencia clínica de signos de degeneración de las motoneuronas superiores e inferiores en tres regiones.
- ELA probable. Con evidencia clínica de signos de degeneración de las motoneuronas superiores e inferiores en al menos dos regiones, con predominio de afectación sobre las superiores.
- ELA posible. Con evidencia clínica de signos de degeneración de las motoneuronas superiores e inferiores en una región; o los signos de motoneuronas superiores están sólo presentes en una región y los signos de motoneuronas inferiores están definidos por criterios de electromiografía (EMG) en, al menos, dos extremidades; con la apropiada aplicación de protocolos de neuroimagen y laboratorio para excluir otras causas.
- Sospecha de ELA. Signos puros de degeneración de motoneuronas inferiores en 2 o 3 regiones (p.ej., atrofia muscular progresiva y otros síndromes motores).

El diagnóstico de la ELA es tardío, con un tiempo medio de 12 meses desde el inicio de los síntomas(4,41). Uno de los motivos principales de este retraso, y de numerosos falsos positivos, es que los síntomas iniciales suelen afectar a una única extremidad y que la progresión es sobre la misma región. Otras causas que provocan este retraso en el diagnóstico son(4):

- Pacientes remitidos a otros especialistas diferentes al neurólogo.
- No evidencia electromiográfica de signos de afectación de motoneurona inferior en extremidades por inicio de síntomas de motoneurona superior.

- Errores de precisión electromiográfica ante la presencia de formas focales, limitadas a una extremidad.
- La presencia radiológica de procesos degenerativos en columna vertebral o manifestaciones respiratorias que inducen a error en el diagnóstico diferencial.

En la tabla 3 se presentan las diferentes patologías que constituyen falsos diagnósticos negativos(4,38).

Tabla 3. Falsos diagnósticos negativos.	
A. Enfermedades neurológicas.	B. Enfermedades no neurológicas.
Radiculopatía/mielopatía cervical.	Síndrome de apnea del sueño.
Radiculopatía lumbar.	Broncopatía crónica.
Atrapamiento del tronco nervioso.	Hipotiroidismo.
Multiinfartos lacunares.	Síndrome depresivo.
Esclerosis múltiple.	Gonartrosis.
Hidrocefalia normotensiva.	
Atrofia olivopontocerebelosa.	
Enfermedad de Lyme.	
Miastenia.	
Polineuropatía.	

Utilidad de las técnicas de neuroimagen en la ELA.

Los estudios con técnicas de neuroimagen, cada vez más numerosos, nos han permitido una mejor caracterización de los diferentes fenotipos y genotipos de la ELA(42,43). En este sentido, los estudios de morfometría basada en vóxel a través de imagen por resonancia magnética (IRM) han permitido hallar una conexión entre la ELA y la DFT a través de la observación de la atrofia de la sustancia gris del lóbulo frontal del cerebro(44,45). Por otro lado, la confirmación de la existencia de mecanismos inflamatorios ha sido gracias a los estudios llevados a cabo a través de PET(46). Además, se han observado cambios metabólicos en pacientes asintomáticos con la mutación del gen SOD1 a través de espectroscopia por IRM, lo que ha significado un importante avance en el hallazgo de signos preclínicos(47).

La perspectiva de futuro de los estudios de neuroimagen se centra en la realización de proyectos multicéntricos guiados bajo una rigurosa caracterización muestral que permitan extraer conclusiones lo suficientemente relevantes(48). La incorporación de equipos de IRM 7T, de resolución sin precedentes, con posibilidades

de un gran detalle espectroscópico, los estudios postmortem con IRM, la IRM cuantitativa muscular, la aparición de nuevos escáneres combinados PET/IRM y el acceso a la electroencefalografía representan el futuro en la comprensión fisiopatológica de la ELA(48).

Ecografía muscular cuantitativa en la ELA.

Desde hace más de una década la ecografía ha emergido como herramienta en la evaluación de las enfermedades neuromusculares(49–51), encontrándonos entre sus limitaciones la dependencia respecto al explorador(52) frente a sus múltiples ventajas como es la inocuidad, accesibilidad, bajo coste y dinamismo(53). Las variables ecográficas habitualmente estudiadas en las enfermedades neuromusculares son el grosor muscular (GM) que evalúa la atrofia, y la ecointensidad muscular (EI), que analiza el grado de sustitución de tejido muscular por tejido no contráctil(49).

Sin embargo, son pocos los estudios que han empleado la ecografía neuromuscular como herramienta de evaluación en la ELA(28,38,54,55), reconociendo su capacidad pronóstico y de monitorización junto a otra variable clínica como es la fuerza(38,56). Gracias a estos estudios también se ha observado que la ecografía es más sensible que la EMG en la evaluación de las fasciculaciones musculares que se muestran en los primeros estadios de la ELA fruto de la denervación y que, junto con la EMG, se ha observado que mejoran la sensibilidad diagnóstica de la enfermedad(57).

En la ELA, el análisis del GM ha demostrado ser una buena variable de monitorización degenerativa(28) pero no de pronóstico teniendo en cuenta que el entrenamiento y la reinervación pueden temporalmente alterar la progresión degenerativa de esta variable(56). Por el contrario, el análisis de la EI, no sólo ha permitido monitorizar la enfermedad, sino que, además, ha sido capaz de detectar cambios en fases iniciales de la afectación(28) siendo un buen predictor de supervivencia como resultado de la irreversible formación de tejido fibroso e infiltración de tejido adiposo a consecuencia de la denervación(56).

Tras revisión de la escasa literatura se aprecia que la variable ecográfica que presenta un mayor potencial en la evaluación de los músculos afectados por ELA es la EI (52,56,58). Sin embargo, estos estudios aplican esta variable a partir del valor medio obtenido de una región de interés que incluye la mayor parte del músculo posible(54).

Al profundizar en esta metodología se ha observado que al ser el músculo un tejido ecográficamente muy anisotrópico la selección de una región de interés de grandes dimensiones incluiría tanto zonas musculares de máxima reflexión como zonas musculares artefactadas obteniendo un valor medio no del todo fiable(58). A esto debemos añadir que el análisis de este valor medio de la EI no aportaría información sobre la granularidad y textura del músculo, variable que resultaría de mayor interés y que podría explicar en mayor medida el comportamiento del músculo durante el desarrollo natural de la enfermedad o de monitorización frente a la realización de ensayos clínicos(59).

De este modo, tal y como afirman las principales investigaciones relacionadas con este proyecto, creemos que sería interesante seguir investigando acerca de nuevos marcadores ecográficos que puedan mejorar la capacidad de monitorización y por qué no diagnóstica de la ELA (28,52,58).

Referencias bibliográficas.

1. Granados A, Torres G, Pardo R. Amyotrophic lateral sclerosis: a critical review of riluzone treatment. *Acta Neurol Colomb.* 2007; 23(2):33–40.
2. Shoesmith CL, Strong MJ. Amyotrophic lateral sclerosis. *Can Fam Physician.* 2006; 52(12):1563–1569.
3. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Lond Engl.* 2011; 377(9769):942–955.
4. Mora J. Esclerosis lateral amiotrófica. Una enfermedad tratable. Barcelona: Prous Science S.A; 1999.
5. Pasinelli P, Brown RH. Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: insights from genetics. *Nat Rev Neurosci.* 2006; 7(9):710–723.
6. Giordana MT, Ferrero P, Grifoni S, Pellerino A, Naldi A, Montuschi A. Dementia and cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis: a review. *Neurol Sci Off J.* 2011; 32(1):9–16.
7. Achi EY, Rudnicki SA. ALS and frontotemporal dysfunction: A review. *Neurol Res Int.* 2012; 2012:806306.
8. Uenal H, Rosenbohm A, Kufeldt J, Weydt P, Goder K, Ludolph A, et al. Incidence and geographical variation of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in Southern Germany – completeness of the ALS registry swabia. *PLoS ONE.* 2014; 9(4).
9. Doi Y, Atsuta N, Sobue G, Morita M, Nakano I. Prevalence and incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Japan. *J Epidemiol.* 2014; 24(6):494–499.

10. Marin B, Boumédiène F, Logroscino G, Couratier P, Babron M-C, Leutenegger AL, et al. Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2017; 46(1):57–74.
11. Ministerio de Sanidad y Política Social. Guía para la atención de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) en España. 2009.
12. Borasio GD, Miller RG. Clinical characteristics and management of ALS. *Semin Neurol*. 2001; 21(2):155–166.
13. Brown RH. Amyotrophic lateral sclerosis: Insights from genetics. *Arch Neurol*. 1997; 54(10):1246–1250.
14. de Belleruche J, Orrell R, King A. Familial amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease (FALS): a review of current developments. *J Med Genet*. 1995; 32(11):841–847.
15. Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med*. 2001; 344(22):1688–1700.
16. González N, Escobar E, Escamilla C. Esclerosis lateral amiotrófica. Monografía. *Rev Mex Med Física Rehabil*. 2003; 15(2):44–54.
17. Souza A, Díaz R. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Three letters that change the people's life. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009; 67(3A):750–782.
18. Chen A, Montes J, Mitsumoto H. The role of exercise in amyotrophic lateral sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2008; 19(3):545–557.
19. Hu Y, Cao C, Qin X-Y, Yu Y, Yuan J, Zhao Y, et al. Increased peripheral blood inflammatory cytokine levels in amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis study. *Sci Rep*. 2017; 7(1):9094.
20. Saberi S, Stauffer JE, Schulte DJ, Ravits J. Neuropathology of amyotrophic lateral sclerosis and its variants. *Neurol Clin*. 2015; 33(4):855–876.
21. Saccon RA, Bunton-Stasyshyn RKA, Fisher EMC, Fratta P. Is SOD1 loss of function involved in amyotrophic lateral sclerosis? *Brain*. 2013;136(8):2342–2358.
22. Sama RRK, Fallini C, Gatto R, McKeon JE, Song Y, Rotunno MS, et al. ALS-linked FUS exerts a gain of toxic function involving aberrant p38 MAPK activation. *Sci Rep*. 2017; 7(1):115.
23. Kabashi E, Bercier V, Lissouba A, Liao M, Brustein E, Rouleau GA, et al. FUS and TARDBP but Not SOD1 Interact in Genetic Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS Genet*. 2011; 7(8).
24. van Blitterswijk M, DeJesus-Hernandez M, Rademakers R. How do C9ORF72 repeat expansions cause ALS and FTD: can we learn from other non-coding repeat expansion disorders? *Curr Opin Neurol*. 2012; 25(6):689–700.

25. Mitsumoto H. Amyotrophic lateral sclerosis. New York: Demos Medical Publishing; 2009.
26. Waclawik AJ. Neurodegenerative Disorders: Amyotrophic Lateral Sclerosis and Inclusion Body Myositis. *Hospital Physician*. 2004; 8(3).
27. Zarei S, Carr K, Reiley L, Diaz K, Guerra O, Altamirano PF, et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int*. 2015; 6:171.
28. Arts IMP, Overeem S, Pillen S, Schelhaas HJ, Zwarts MJ. Muscle changes in amyotrophic lateral sclerosis: a longitudinal ultrasonography study. *Clin Neurophysiol Off J*. 2011; 122(3):623–628.
29. Florence JM, Pandya S, King WM, Robison JD, Baty J, Miller JP, et al. Intrarater reliability of manual muscle test (Medical Research Council scale) grades in Duchenne’s muscular dystrophy. *Phys Ther*. 1992; 72(2):115-122.
30. Jahanmiri-Nezhad F, Barkhaus PE, Rymer WZ, Zhou P. Innervation zones of fasciculating motor units: observations by a linear electrode array. *Front Hum Neurosci*. 2015; 9:239.
31. de Carvalho M, Swash M. Lower motor neuron dysfunction in ALS. *Clin Neurophysiol Off J*. 2016; 127(7):2670–2681.
32. Hardiman O. Symptomatic treatment of respiratory and nutritional failure in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 2000; 247(4):245–251.
33. Mitsumoto H. Diagnosis and progression of ALS. 1997; 48(Suppl.S4):2–8.
34. Lechtzin N, Wiener CM, Clawson L, Chaudhry V, Diette GB. Hospitalization in amyotrophic lateral sclerosis: causes, costs, and outcomes. *Neurology*. 2001; 56(6):753–757.
35. Li TM, Alberman E, Swash M. Clinical features and associations of 560 cases of motor neuron disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990; 53(12):1043–1055.
36. Cluskey S, Ramsden DB. Mechanisms of neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Pathol*. 2001; 54(6):386–392.
37. Salas T, Rodríguez-Santos F, Esteban J, Cordero P, Mora JS, Cano A. Adaptación española de la escala revisada de valoración funcional de la esclerosis lateral amiotrófica (ALSFRS-r). Available from: <http://www.fundela.es/documentacion/publicaciones/general/adaptacion-espanola-de-la-escala-revisada-de-valoracion-funcional-de-la-esclerosis-lateral-amiotrofi/>
38. Arts IMP, Overeem S, Pillen S, Kleine BU, Boekestein WA, Zwarts MJ, et al. Muscle ultrasonography: a diagnostic tool for amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol Off J*. 2012; 123(8):1662–1667.
39. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL, World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases. El Escorial revisited: revised criteria for

- the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Mot Neuron Disord Off Publ World Fed Neurol Res Group Mot Neuron Dis.* 2000; 1(5):293–299.
40. Brooks BR. Diagnostic dilemmas in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1999; 165 Suppl 1:S1-9.
41. Knibb JA, Keren N, Kulka A, Leigh PN, Martin S, Shaw CE, et al. A clinical tool for predicting survival in ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016; 87(12):1361–1367.
42. Bede P, Elamin M, Byrne S, McLaughlin RL, Kenna K, Vajda A, et al. Patterns of cerebral and cerebellar white matter degeneration in ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015; 86(4):468–470.
43. Bede P, Bokde A, Elamin M, Byrne S, McLaughlin RL, Jordan N, et al. Grey matter correlates of clinical variables in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a neuroimaging study of ALS motor phenotype heterogeneity and cortical focality. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84(7):766–773.
44. Chang JL, Lomen-Hoerth C, Murphy J, Henry RG, Kramer JH, Miller BL, et al. A voxel-based morphometry study of patterns of brain atrophy in ALS and ALS/FTLD. *Neurology.* 2005; 65(1):75–80.
45. Turner MR, Benatar M. Ensuring continued progress in biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 2015; 51(1):14–18.
46. Corcia P, Tauber C, Vercoullie J, Arlicot N, Prunier C, Praline J, et al. Molecular imaging of microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis. *PloS One.* 2012; 7(12):e52941.
47. Carew JD, Nair G, Andersen PM, Wu J, Gronka S, Hu X, et al. Presymptomatic spinal cord neurometabolic findings in SOD1-positive people at risk for familial ALS. *Neurology.* 2011; 77(14):1370–1375.
48. Bede P, Hardiman O. Lessons of ALS imaging: Pitfalls and future directions - A critical review. *NeuroImage Clin.* 2014; 4:436–443.
49. Pillen S, Arts IMP, Zwarts MJ. Muscle ultrasound in neuromuscular disorders. *Muscle Nerve.* 2008; 37(6):679–693.
50. Pillen S, Verrips A, van Alfen N, Arts IMP, Sie LTL, Zwarts MJ. Quantitative skeletal muscle ultrasound: diagnostic value in childhood neuromuscular disease. *Neuromuscul Disord NMD.* 2007; 17(7):509–516.
51. Pillen S, Arts IMP, Zwarts MJ. Muscle ultrasound in neuromuscular disorders. *Muscle Nerve.* 2008; 37(6):679–693.
52. Mayans D, Cartwright MS, Walker FO. Neuromuscular ultrasonography: quantifying muscle and nerve measurements. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2012; 23(1):133–148.
53. Walker FO, Cartwright MS. *Ecografía neuromuscular.* Madrid: Elsevier; 2012.

54. Arts IMP, van Rooij FG, Overeem S, Pillen S, Janssen HMHA, Schelhaas HJ, et al. Quantitative muscle ultrasonography in amyotrophic lateral sclerosis. *Ultrasound Med Biol*. 2008; 34(3):354–361.
55. Misawa S, Noto Y, Shibuya K, Iose S, Sekiguchi Y, Nasu S, et al. Ultrasonographic detection of fasciculations markedly increases diagnostic sensitivity of ALS. *Neurology*. 2011; 77(16):1532–1537.
56. Arts IMP, Overeem S, Pillen S, Schelhaas HJ, Zwarts MJ. Muscle ultrasonography to predict survival in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011; 82(5):552–554.
57. Misawa S. Utility of muscle ultrasonography for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Nerve*. 2014; 66(3):229–236.
58. Cartwright MS, Walker FO, Griffin LP, Caress JB. Peripheral nerve and muscle ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*. 2011; 44(3):346–351.
59. Gdynia H-J, Müller H-P, Ludolph AC, Köninger H, Huber R. Quantitative muscle ultrasound in neuromuscular disorders using the parameters “intensity”, “entropy”, and “fractal dimension.” *Eur J Neurol*. 2009; 16(10):1151–1158.

II. RESUMEN GLOBAL.

II. RESUMEN GLOBAL.

Objetivos.

1. Evaluar la capacidad de nuevos marcadores ecográficos musculares basados en el análisis textural como herramienta de discriminación entre sujetos sanos y afectados por ELA.
2. Analizar la capacidad de monitorización en la ELA de nuevos marcadores ecográficos musculares fundamentados en el análisis textural.

Material y métodos.

Tras aprobación por el Comité de Ética de la UCAM y el consentimiento de todos los participantes se llevó a cabo un estudio longitudinal prospectivo de 20 semanas de duración. Este estudio fue registrado en la plataforma ClinicalTrials.gov (Identificador NCT02507713).

Los participantes del estudio se distribuyeron en dos grupos: una muestra de 26 pacientes afectados por ELA y otra muestra control de 26 sujetos sanos voluntarios. Los pacientes, diagnosticados según los criterios del Escorial por un neurólogo experimentado, fueron reclutados a través de la Asociación Valenciana de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ADELA) entre septiembre de 2013 y abril 2014. Para la muestra control se consideraron como factor de exclusión la existencia de patología neuromuscular y poseer antecedentes familiares de ELA.

Además de las variables demográficas (sexo, edad, altura, peso, índice de masa corporal) también se registraron variables clínicas como el tiempo de evolución desde el diagnóstico, la fuerza muscular (a través de la escala MRC), la escala ALSFRS-r y la presencia de fasciculaciones musculares.

Respecto a las exploraciones ecográficas se realizaron exploraciones transversales bilaterales de los grupos musculares bíceps braquial / braquial, flexores de muñeca, cuádriceps femoral y tibial anterior. El equipo empleado para el estudio fue el LOGIQe BT12 (General Electric Healthcare, Beijing, China) dispuesto de la sonda lineal (12L-RS) con una frecuencia de trabajo de 5-13 MHz.

Una vez obtenidas y clasificadas las imágenes, estas fueron analizadas a través del software Image J (v.1.48 [2015], National Institutes of Health Bethesda, MD, USA) a partir del que se obtuvieron los parámetros ecográficos GM, EI, ecovariación (EV) y los derivados de las matrices de concurrencia del nivel de gris (GLCM).

Resultados.

Los pacientes seleccionados mostraron un tiempo de evolución desde el diagnóstico de 16,3 (9,89; [13,5-19,1]) meses. Los pacientes iniciaron el estudio con una puntuación en la escala ALSFRS-r de 26,2 (11,67; [22,9-29,4]) puntos y en la escala MRC de 58,5 (24,75; [51,7-65,4]) puntos sobre 100.

Las variables GM, EI y EV demostraron una gran capacidad discriminatoria, observándose en los músculos de la muestra de pacientes con ELA un menor GM, una mayor EI y una menor EV (menor granularidad, es decir, más homogéneos). Por otro lado, las variables obtenidas a partir de la GLCM presentaron diferentes comportamientos en función de los grupos musculares estudiados, pero en combinación con la EV discriminaron de forma más precisa que las variables ecográficas habituales de GM y EI.

Tras un periodo de seguimiento de 20 semanas, frente a resultados esperados como es la pérdida de fuerza muscular, el descenso de puntuación en la escala ALSFRS-r, la disminución del GM y el incremento de la EI se observó, tanto en la EV como en los parámetros derivados de las GLCM una tendencia al aumento de la heterogeneidad.

Conclusiones.

Junto con los parámetros ecográficos habitualmente estudiados los nuevos marcadores de EV y derivados de las GLCM han demostrado una gran capacidad discriminatoria entre sujetos sanos y enfermos de ELA.

La ecografía muscular cuantitativa podría ser más sensible que las variables clínicas para monitorizar a los pacientes con ELA. La progresión de los músculos afectados por ELA llevaría consigo además de una pérdida de GM, un aumento de la EI y un incremento de la heterogeneidad. Los cambios en la textura del músculo varían en

función del grupo muscular y la fase de afectación por lo que podrían estar correlacionándose con los diferentes estados de denervación muscular.

III. PUBLICACIONES.

Artículo 1.

Muscular Echovariation: A new biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2017; 43(6):1153-1162. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2017.02.002.

The purpose of the work described here was to assess the characteristics of echovariation in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) compared with other muscle ultrasonography parameters. Twenty-six ALS patients (8 women, mean age 58.9 y, standard deviation 12.02 y) and 26 healthy controls (17 women, mean age 59.6 y, standard deviation 6.41 y) were included in this observational study. They underwent bilateral and transverse ultrasound of the biceps/brachialis, forearm flexor group, quadriceps femoris and tibialis anterior. Muscular thickness, echo-intensity and echovariation were analyzed. Muscles affected by ALS had increased echo-intensity, decreased thickness and decreased echovariation. Echovariation in all muscles except the quadriceps femoris strongly correlated with muscle strength (explained variance between 21.8% in the biceps/brachialis and 37.5% in the tibialis anterior) and the ALS Functional Rating Scale Revised score (explained variance between 26% in the biceps/brachialis and 36.7% in the forearm flexor group). Echovariation is an easy-to-obtain quantitative muscle ultrasonography parameter that could distinguish ALS patients from healthy controls more accurately than previous described biomarkers.

Artículo 2.

Quantitative muscle ultrasonography using textural analysis in amyotrophic lateral sclerosis. *Ultrason Imaging*. 2017; 39(6):357-368. doi: 10.1177/0161734617711370.

The purpose of this study was to analyze differences in gray-level co-occurrence matrix (GLCM) parameters, as assessed by muscle ultrasound (MUS), between amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients and healthy controls, and to compare the diagnostic accuracy of these GLCM parameters with first-order MUS parameters (echointensity [EI], echovariation [EV], and muscle thickness [MTh]) in different muscle groups. Twenty-six patients with ALS and 26 healthy subjects underwent bilateral and transverse ultrasound of the biceps/brachialis, forearm flexor, quadriceps femoris, and tibialis anterior muscle groups. MTh was measured with electronic calipers, and EI, EV, and GLCM were obtained using Image J (v.1.48) software. Sensitivity, specificity, likelihood ratios, and area under the curve (AUC) were performed by logistic regression models and receiver operating characteristic curves. GLCM parameters showed reduced granularity in the muscles of ALS patients compared with the controls. Regarding the discrimination capacity, the best single diagnostic parameter in forearm flexors and quadriceps was GLCM and in biceps brachialis and tibialis anterior was EV. The respective combination of these two parameters with MTh resulted in the best AUC (over 90% in all muscle groups and close to the maximum combination model). The use of new textural parameters (EV and GLCM) combined with usual quantitative MUS variables is a promising biomarker in ALS.

Artículo 3.

Monitoring progression of amyotrophic lateral sclerosis using ultrasound morpho-textural muscle biomarkers: A pilot study. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2018; 44(1):102-109. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2017.09.013.

The need is increasing for progression biomarkers that allow the loss of motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) to be monitored in clinical trials. In this prospective longitudinal study, muscle thickness, echointensity, echovariation and gray level co-occurrence matrix textural features are examined as possible progression ultrasound biomarkers in ALS patients during a 5-mo follow-up period. We subjected 13 patients to 3 measurements for 20 wk. They showed a significant loss of muscle, an evident tendency to loss of thickness and increased echointensity and echovariation. In regard to textural parameters, muscle heterogeneity tended to increase as a result of the neoformation of non-contractile tissue through denervation. Considering some limitations of the study, the quantitative muscle ultrasound biomarkers evaluated showed a promising ability to monitor patients affected by ALS.

