

# **Eletroneuromiografia: Estimativa do número de unidades motoras na ELA**

*Electroneuromiography: Estimate of the number of motor units in ALS*

**Mário Emílio Teixeira Dourado Júnior**

Neurologista. End: Rua Marcílio Furtado 2042; Lagoa Nova. CEP 59063-360 – Natal-RN. Email: medourado@digicom.br

## **INTRODUÇÃO**

Passados 132 anos da descrição do quadro clínico da Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) por Charcot infelizmente a história natural desta enfermidade não se modificou. É a degeneração dos neurônios motores, cerebral e espinhal, responsável pelos principais sinais e sintomas da doença, que leva a perda progressiva da função e ao óbito, em média, cinco anos após o diagnóstico.

Nos últimos anos, entretanto, houve um grande avanço no entendimento desta enfermidade, tornando-se um exemplo de doença neurodegenerativa como modelo para testes terapêuticos.<sup>1</sup>

Vários fatores têm sido implicados na sua patogênese, tais como a deficiência de fatores tróficos, os defeitos no transporte axonal, disfunção dos receptores androgênicos, infecções virais, autoimunidade, fatores tóxicos exógenos, excitotoxicidade endógena, mutações genéticas e anormalidades nas mitocôndrias.<sup>1</sup>

A possibilidade de novos tratamentos tornou o diagnóstico correto e precoce da ELA de grande importância. Portanto, pesquisadores têm se esforçado para identificar biomarcadores, substâncias biológicas que podem ser usadas para identificar a presença ou o início de uma doença, bioquímicos, patológicos e genéticos na ELA. Entretanto, na ausência de um marcador biológico ideal, o diagnóstico continua baseado em aspectos clínicos, tendo a eletroneuromiografia como exame fundamental para a caracterização do diagnóstico, demonstrando o envolvimento do segundo neurônio motor (espinhal).<sup>2</sup>

Faz-se necessário, também, marcadores da progressão da doença. Vários marcadores de progressão são utilizados: força muscular, escalas funcionais, eletroneuromiografia,

biopsia muscular, estimulação magnética transcraniana, ressonância magnética espectroscopia, biomarcadores.<sup>3</sup>

Se o número de axônios motores inervando um músculo pudesse ser estimado de forma reproduzível, isto teria um interesse fundamental em quantificar a desnervação, monitorar a progressão e acessar a eficácia do tratamento nos processos neurógenos. Há 35 anos, a primeira técnica de estimativa do número de unidades motoras (ENUM) foi publicada por McComas e colaboradores.<sup>4</sup> Posteriormente, várias outras técnicas foram criadas. Nos últimos anos, o interesse para a utilização da ENUM na ELA tem ressurgido.

O objetivo desta publicação é fazer uma breve revisão das técnicas de ENUM e apresentar resultados de um estudo piloto com cinco pacientes portadores de ELA. Para um aprofundamento do assunto recomendamos a leitura dos resumos do primeiro simpósio internacional de Motor Unit Number Estimation, publicado na Supplements to Clinical Neurophysiology, volume 55, Elsevier, 2003.

### **Revisão das técnicas**

O princípio básico em todos os métodos é o mesmo, o número de unidades motoras é calculado dividindo a amplitude do potencial de ação composto muscular – onda M, obtido por estímulo supra-máximo de um nervo motor, pela estimativa de um tamanho médio dos potenciais de ação de unidade motora. As várias técnicas de ENUM se diferenciam pela forma de medir a amplitude de uma unidade motora.

### **Técnica de Incremento**

Em um dia de 1967, Dr Alan McComas, trabalhando no Johns Hopkins Hospital, lhe ocorreu provar se o sistema de registro era capaz de detectar o potencial de uma unidade motora individual, usando eletrodos de superfície na região hipotênar. A intensidade do estímulo era reduzida até a resposta tornar-se “tudo ou nada”. Neste momento se obteve a estimulação de um axônio motor.<sup>5</sup> Em 1971, McComas, agora com a colaboração de Roberto Sica, Peter Fawcett e Malcolm Campbell, publica a primeira técnica de ENUM, chamada técnica de incremento.<sup>4</sup>

Obtêm-se o PACM, com estímulo supramáximo, do nervo fibular no tornozelo e registra-se no músculo extensor curto dos dedos. Para calcular o potencial de uma unidade

motora, estimula-se sublimiarmente até obter a resposta “tudo ou nada”. Esta é a principal suposição da técnica, ou seja, a resposta tudo ou nada representa o potencial de unidade motora individual. A partir daí, neste mesmo ponto, se incrementa discretamente a intensidade do estímulo até 11 sucessivas. A cada incremento assume-se que uma nova unidade motora foi adicionada. A amplitude resultante é dividida pelo número de incrementos, tendo aqui a estimativa de amplitude de uma unidade motora. Dividindo a amplitude do PACM pela a estimativa da amplitude de unidade motora individual vamos ter a ENUM. Neste estudo a média de ENUM era 199 +ou- 60. Posteriormente, este método foi adaptado para o nervo mediano e ulnar, com médias de ENUM de 250 a 420.<sup>6,7</sup>

O maior problema desta técnica, que pode levar falsos resultados, é o fenômeno denominado pelos anglo-saxões de *alternation*. *Alternation* é o resultado de várias possíveis configurações da resposta da unidade motora individual com axônios que apresentam o mesmo limiar de excitabilidade. Por exemplo, se duas unidades motoras (A e B) têm limiar de excitabilidade similar com estímulo de intensidade constante, três configurações são possíveis: recrutamento da unidade A, recrutamento da unidade B ou recrutamento simultâneo das unidades A e B. Portanto, em uma das etapas de incremento de intensidade pode haver o recrutamento de vários axônios com mesmo limiar, conseqüentemente haverá uma subestimação da média do potencial de uma unidade motora e superestimação do número de unidades motoras. Outro problema da técnica é a subjetividade inerente do método. É difícil ter certeza que a diferença da amplitude após o incremento representa o recrutamento de uma nova unidade motora individual.<sup>5</sup>

### **Estímulo em múltiplos pontos**

Para evitar *alternation* Doherty e Brown (1993) criaram o método de estimulação em múltiplos pontos.<sup>8</sup> Esta técnica consiste em estimular o nervo mediano em múltiplos pontos entre a porção distal do antebraço e o ponto motor do nervo mediano e entre o cotovelo e axila para coletar 10 ou mais potenciais de unidades motoras individuais. Em cada ponto só um potencial, “tudo ou nada”, é selecionado. Para calcular a ENUM, a amplitude do PACM é dividida pela média da amplitude dos potenciais de unidades motoras individuais. O método é aplicado para músculos distais.

Para assumir que a resposta obtida com estímulo sublimiar seja de uma unidade motora deve haver falta de decomposição deste potencial, ou seja, uma segunda resposta deve apresentar a mesma morfologia. A presença ocasional de onda F, de forma e tamanho idêntico a resposta direta, é mais uma evidência que foi estimulada uma unidade motora individual. O relativo número de potenciais de unidade motora de diferentes tamanhos e latências obtidas pelo EMP sugerem que os axônios de pequenos e grandes diâmetros eram excitados com estímulos limiares, proporcionando uma amostra imparcial de unidades motoras individuais.<sup>8</sup> A ENUM obtida pela técnica de EMP se correlaciona com estudos histológicos e é a técnica mais utilizada.<sup>9,10</sup>

Entre as vantagens do EMP estão à ausência de *alternation* e o fato de que a média do potencial de unidade motora é derivada de uma “verdadeira” unidade motora e não de uma estimativa do tamanho de unidades motoras. Outra vantagem é que a técnica pode ser realizada em qualquer máquina de eletromiografia. As desvantagens do método é a dependência da experiência do examinador e a impossibilidade de estudar músculos proximais. Por exemplo, precisa-se de habilidade do examinador para posicionar e pressionar o estimulador a fim de obter potencial de unidade motora.<sup>11</sup>

Com a finalidade de incrementar a velocidade de aquisição do potencial de unidade motora, Wang e Delwaide (M/N 1995) adaptaram a técnica de EMP combinando com a técnica incremental descrita por McComas.<sup>12,13</sup> O nervo mediano era estimulado em diferentes pontos. Entretanto, em cada ponto o estímulo é incrementado para obter o primeiro e o segundo e algumas vezes o terceiro potencial de unidade motora individual subsequente elucidado da maneira “tudo ou nada”. Com esta variação pode-se limitar o teste para 4 a 10 pontos de estímulos e registrar 10 a 20 unidades.

### **Técnica de onda F**

Ondas F obtidas por estímulo supramáximo são compostas de uma ou várias respostas superpostas de unidades motoras. Mas, com estimulação submáxima aumenta-se a chance de obter onda F de uma unidade motora.<sup>14</sup> A ENUM é obtida dividindo a amplitude do PACM com a média da amplitude do pool de ondas F representantes da resposta de uma unidade motora individual. As vantagens da técnica são: não invasiva, requer pouca habilidade do

operador e pouca colaboração do pacientes. Entre as desvantagens estão à necessidade de software específico, pode ser demorada e não avalia músculos proximais.

### **Promediação de potenciais de ação de unidades motoras com um trigger**

Esta técnica se diferencia das outras pela maneira de obter os potenciais de unidades motoras. Durante uma contração voluntária leve do indivíduo, a resposta de uma unidade motora é obtida com agulha concêntrica ou de fibra única, e o eletrodo é posicionado para que uma única unidade motora seja captada. Concomitantemente, potenciais de superfície são registrados; a descarga de uma unidade motora é usada como um gatilho, de forma que uma média de potenciais de superfície seja obtida. Ao alterar a posição da agulha será captada nova unidade motora, uma nova amostra de potenciais de superfície será gerada, e média da amplitude calculada. O cálculo do EMNE é similar às outras técnicas baseando-se na razão da amplitude (ou área) do potencial de ação muscular composto após estímulo supramáximo dividindo pela média da amplitude (ou área) do potencial de superfície uma unidade motora.<sup>15</sup> Tandan e col utilizaram a técnica com marcadores de progressão em um ensaio terapêutico com aminoácidos para ELA.<sup>16</sup>

A vantagem desta técnica é a possibilidade de estudar músculos proximais e a ausência de *alternation*. O método necessita da cooperação do indivíduo testado, de software específico e da habilidade do examinador para disparar somente uma unidade motora.<sup>17</sup>

### **Técnica estatística (Poisson)**

Daube escreveu, em 1995, a técnica estatística para calcular EMNE. Nesta técnica, mediante uma análise estatística baseada na distribuição de Poisson, se calcula a amplitude média das unidades motoras individuais integrantes do potencial composto muscular, e a partir daí, e tendo em conta a voltagem deste último, a EMNE é calculada. A estimulação das unidades motoras individuais é feita por estimulação elétrica e o registro com eletrodos de superfície. Na análise estatística de Poisson o tamanho de uma unidade motora é igual à variação de séries de respostas, constituídas de uma ou mais unidades. Breve resumo da técnica: se obtém o PACM máximo e o potencial limiar. Entre estas respostas, o sistema identifica quatro janelas; em cada uma delas se fará estímulos repetidos, de mesma intensidade, registrando potenciais submáximos de amplitudes levemente variáveis. Após a

análise de 30 potenciais o sistema para automaticamente e exibe o valor da variação do potencial que representa o valor de uma unidade motora individual. A análise se repetirá pelo menos mais quatro vezes. O método é rápido, reproduzível e não sofre interferência do examinador. Há necessidade de software específico só disponível por um fabricante.<sup>15,19</sup> Recentemente a técnica estatística foi utilizada no estudo multicêntrico com creatina para ELA, e detectou perda de 23% de unidades motoras em seis meses.<sup>20</sup>

### **Estudo piloto de ENUM em indivíduos com ELA**

Nós realizamos, num período de seis meses, pelo menos três estudos de ENUM em quatro indivíduos com ELA. A técnica escolhida foi a versão adaptada de estímulo em múltiplos pontos.<sup>12,13</sup>

Resumo da técnica: utilizei eletrodos descartáveis auto-adesivos; o eletrodo ativo foi colocado na porção média da eminência ténar e o eletrodo de referência sobre a falange proximal do dedo do polegar; o eletrodo de terra posto no dorso da mão. Todos os estudos foram realizados no equipamento NihonKoden. Estimulei o nervo mediano em diferentes pontos entre o punho e cotovelo. O estímulo, um potencial de onda quadrada, teve a duração de 0,05ms. Entretanto Em cada ponto o estímulo foi incrementado, de 0,1 a 0,5mV, para obter o primeiro, e o segundo e, algumas vezes, o terceiro potencial de unidade motora individual subsequente, obtido de maneira “tudo ou nada”. Com esta variação pode-se limitar o teste para 4 a 10 pontos de estímulos e registrar 10 a 20 unidades. O potencial de unidade motora individual era registrado com ganho de 50-100uV/divisão. Para evitar *alternation*, o axônio motor deve ser recrutado com diferente limiar, de maneira ordenada e reproduzível sem fracionamento da resposta motora por estímulos sucessivos. Para o cálculo do número de unidades motoras dividiu-se a amplitude (ou área) do potencial de ação muscular máximo com a média da amplitude (ou área) dos diferentes potenciais de unidades motoras.

Exceto pelo primeiro potencial de unidade motora individual evocado num determinado ponto, a precisa morfologia dos demais não é visualizada, pois representa a superposição de dois ou mais potenciais de unidades motoras. Teoricamente é possível registrar o mesmo potencial de unidade motora individual duas vezes, já que sua morfologia pode não ser reconhecida. Entretanto, a morfologia deste potencial pode ser reconstituída por

subtração da resposta do componente muscular pela sua precedente obtida no mesmo local e a baixa intensidade.

Nos gráficos 1 e 2 estão apresentados os valores de ENUM, calculados por amplitude e área, respectivamente. Observa-se um decréscimo do número de unidades motoras com o tempo nos cinco pacientes.

Nos gráficos 3 e 4 estão plotados os resultados das amplitudes e áreas dos potenciais de unidades motoras individuais. A reinervação colateral, mais acentuada no início da doença, explica o aumento da amplitude e da área dos potenciais de unidades motoras individuais.

Gráfico 1: ENUM (amplitude) em cinco indivíduos com ELA seguidos durante 6 meses

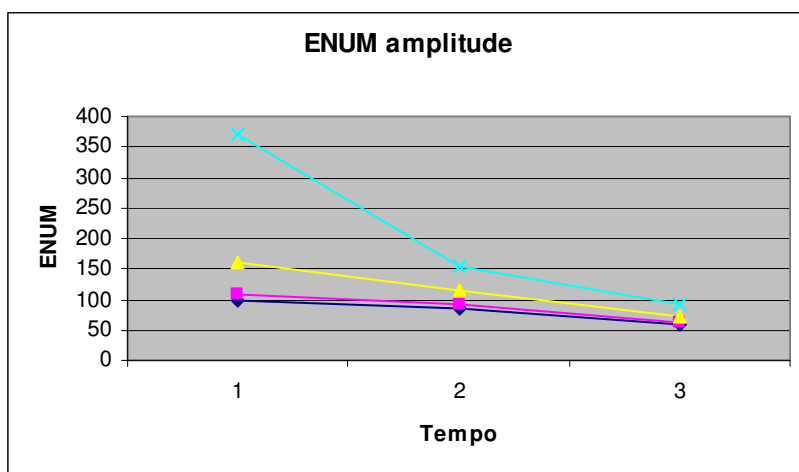


Gráfico 2: ENUM (área) em cinco indivíduos com ELA seguidos durante 6 meses

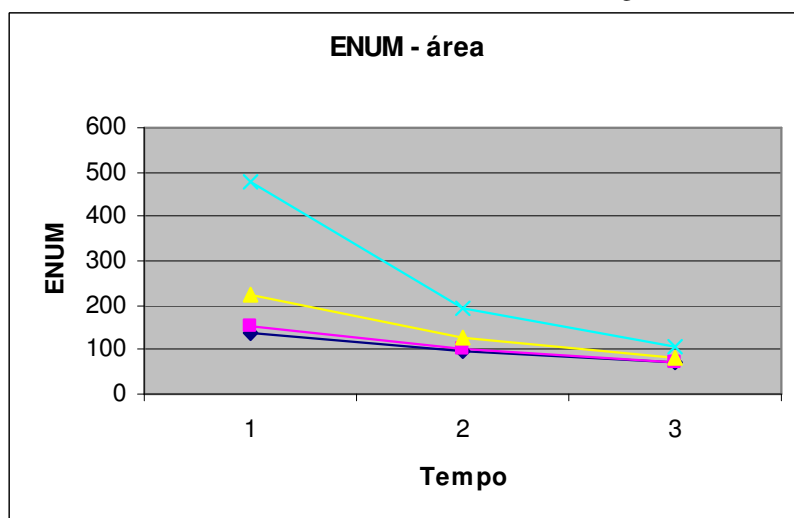


Gráfico 3: amplitude média dos potenciais de unidades motoras individuais

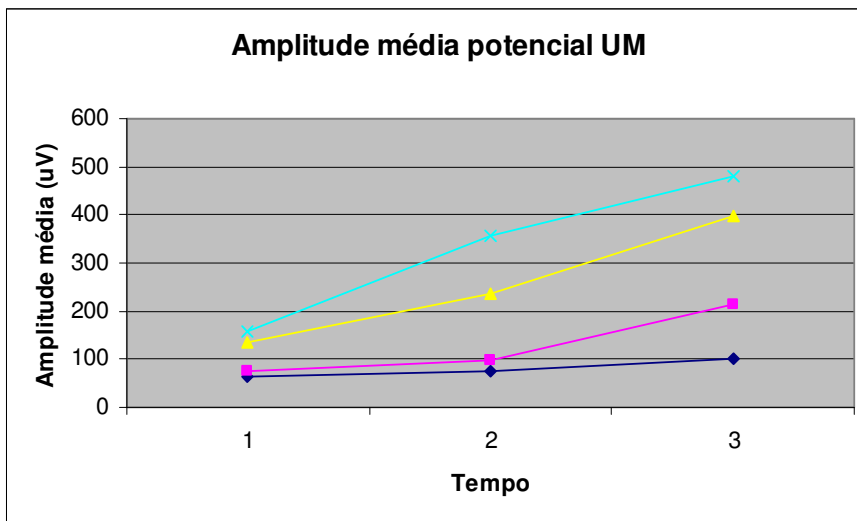
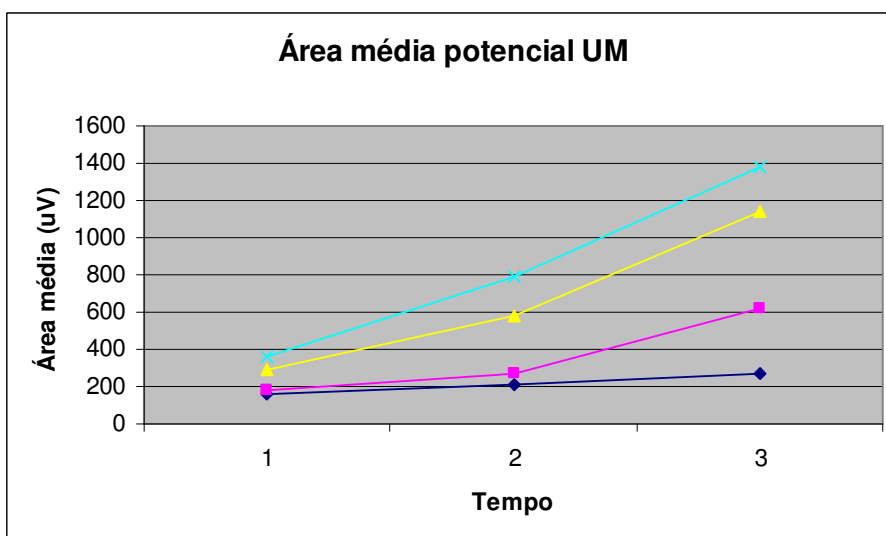


Gráfico 4: área média dos potenciais de unidades motoras individuais



## CONCLUSÃO

O método adaptado de estimulação em múltiplos pontos é confiável, não invasivo, não é desconfortável para o paciente, rápido e facilmente realizável em qualquer equipamento de eletromiografia. Nossos resultados preliminares demonstram a perda de unidades motoras com o tempo (gráficos 1 e 2) e a rejeição (gráficos 3 e 4) nos indivíduos portadores de ELA, similares aos publicados.<sup>13</sup>

A ENUM é única forma em vida de determinar o número de unidades motoras. Por esta razão sua utilização é de grande interesse na avaliação da história natural das doenças



neurogênicas, em especial a ELA. Outra importante aplicação clínica é determinar a perda de neurônios motores com a evolução da doença e correlacionar este resultado com a progressão clínica. Como a velocidade de progressão da ELA varia grandemente entre os pacientes, a ENUM pode estratificar pacientes segundo a velocidade de progressão clínica, sendo um forte indicador de sobrevida.<sup>21,22</sup>

Estudos seriados de ENUM na ELA mostram que a redução do número de unidades motoras é exponencial, e mais acentuado no início da doença. Aproximadamente, 70% das unidades motoras são perdidas no primeiro ano de doença.<sup>23,24</sup> Em modelos animais de ELA estudos com ENUM mostram que a perda de unidades motoras acontece antes do início dos sinais clínicos aparecerem.<sup>15</sup> Recentemente, várias publicações e apresentações em simpósios internacionais demonstram que a ENUM é mais sensível para detectar o declínio mensal de unidades motoras comparando com outros biomarcadores,<sup>25-29</sup> o que justifica, também, sua utilização para monitorar o efeito de novos medicamentos.<sup>20,30</sup>

Ainda, não há um consenso sobre qual a melhor técnica de ENUM. Os diversos métodos mostram resultados similares. Fatores práticos tais como o conforto, a duração do exame e dificuldade técnica são importantes em determinar o método a ser utilizado. Algumas técnicas necessitam de software específicos. Entretanto outras técnicas, de incremento e a de estímulos em múltiplos pontos, são realizadas em qualquer máquina de eletromiografia.

Espera-se, nos próximos anos, que a utilização das técnicas de ENUM saia dos laboratórios de pesquisas para a prática clínica diária.

### **Referências Bibliográficas**

- 1.Shaw PJ. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neuro Neurosurg Psychiatr* 2005;76:1046-1057.
- 2.Brooks BR. El Escorial World Federation of Neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1996;124:96-107.
- 3.Cudkowicz M, Qureshi M, Shefner J. Measures and markers in amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroRx* 1 2004;273-283.
- 4.McComas AJ, Fawcett PRW, Campbell MJ, Sica REP. Electrophysiological estimation of the number of motor units within a human muscle. *J Neuro Neurosurg Psychiatr* 1971;34:121-131.
- 5.Sica R, McComas A. Review of MUNE over 30 years. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:3-13.

6. Brown WF. A method for estimating the number of motor units in thenar muscles and the changes in motor unit count with ageing. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1972;35:845-852.
7. Sica RE, McComas AJ, Upton AR, Longmire D. Motor unit estimations in small muscles of the hand. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1974;37:55-67.
8. Doherty TJ, Brown WF. The estimated numbers and relative sizes of thenar motor units as selected by multiple point stimulation in young and older adults. *Muscle Nerve* 1993;16:355-366.
9. Santo Neto H, Meciano Filho J, Passini R, Marques MJ. Number and size of motor units in thenar muscles. *Clin Anat* 2004;17:308-311.
10. Winhammar JMC, Rowe DB, Henderson RD, Kiernan MC. Assessment of disease progression in motor neuron disease. *Lancet Neurol* 2005;4:229-238.
11. Doherty TJ, Stashuk DW, Brown WF. Multiple point stimulation and F-response MUNE techniques. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:31-40.
12. Wang FC, Delwaide PJ. Number and relative size of thenar motor units estimated by an adapted multiple point stimulation method. *Muscle Nerve* 1995;18:969-979.
13. Wang FC, Bouquiaux O, De Pascua V, Maertens de Noordhout A, Delwaide PJ. Adapted multiple point stimulation MUNE technique. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:41-45.
14. Stashuk DW, Doherty TJ, Kaasam A, Brown WF. Motor unit number estimates based on the automated analysis of F- responses. *Muscle Nerve* 1994;17:881-890.
15. Shefner JM. Motor unit number estimation in human neurological diseases and animal models. *Clin Neurophysiol* 2001;112:955-964.
16. Tandan R, Bromberg M, Foshew D, Fries T, Badger G, Carpenter J, et al. A controlled trial of amino acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: I. clinical, functional, and maximum isometric torque data. *Neurology* 1996;47:1220-1226.
17. Bromberg MB. Spike triggered averaging MUNE technique. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:99-107.
18. Daube JR. Estimating the number of motor units in a muscle. *J Clin Neurophysiol* 1995;12:585-594.
19. Daube JR. MUNE by statistical analysis. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:51-71.
20. Shefner JM, Cudkowicz ME, Schoenfeld D, Conrad T, Taft J, Chilton M, et al. A clinical trial of creatine in ALS. *Neurology* 2004;63:1656-1661.
21. Olney R, Yuen E, Engstrom J. The rate of change in motor unit number estimates predicts survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1999;52(suppl 2): A3.
22. Wang FC, Gerard P, Bouquiaux O, Maertens de Noordhout A. Prognostic value of AMPS method in ALS patients. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2005; 6(Suppl 1):127-137.

23. Arasaki K. Validity of electromyograms and tension as a means of motor unit number estimation. *Muscle Nerve* 1997;20:552-560.
24. Turnbull J, Martin J, Butler J, Galea V, McComas A. MUNE in ALS: natural history and implications. *Suppl clin neurophysiol* 2003;55:167-176.
25. Bromberg MB. Motor unit estimation: reproducibility of the spike-triggered averaging technique in normal and ALS subjects. *Muscle Nerve* 1993;16:466-471.
26. Felice KJ. A longitudinal study comparing thenar motor unit number estimates to other quantitative tests in patients with ALS. *Muscle Nerve* 1997;20:179-186.
27. Armon C, Brandstader ME. Motor unit number estimate-based rates of progression of ALS predict patient survival. *Muscle Nerve* 1999;11:1571-1575.
28. Gooch C, Tang M-X, Garcia J, Del Bene M, Batista V, Gad N, et al. MUNE measures in ALS, FALS, PMA AND PLS in a natural history biomarker study. *ALS motor neuron disord* 2004; 5(Suppl 2), 110–119.
29. Carvalho M, Scotto M, Lopes A, Swash M. Quantitating progression in ALS. *Neurology* 2005;64:1783-1785.
30. BDNF Study Group. A controlled trial of recombinant methionyl human BDNF in ALS. *Neurology* 1999;52:1427-1433.