

Neurofyzilogie a elektrodiagnostika nervosvalového přenosu

prof. MUDr. Zdeněk Ambler, DrSc.

Neurologická klinika LF UK a FN, Plzeň

Práce sumarizuje principy normálního nervosvalového přenosu. Depolarizace terminálního neuronu vede k influxu kalcia přes napětově řízené kanály a dochází k fúzi acetylcholinových vezikul s presynaptickou membránou. Po uvolnění acetylcholinu (ACh) dochází k interakci s acetylcholinovým receptorem (AChR), otevření jeho kanálu, což vede k influxu natria. Jakmile se dostatečný počet kvant ACh naváže na receptory, otevřou se natriové kanály na svalové membráně, což následně vede k depolarizaci a svalové kontrakci. Při elektrodiagnostice poruch nervosvalového přenosu se používají dvě metodiky. Repetitivní stimulace nervu pomalými frekvencemi 2–3 Hz a detekce dekrementu a EMG jednotlivého svalového vlákna (single fiber EMG) a hodnocení jitteru nebo nervosvalového bloku.

Klíčová slova: nervosvalové spojení, nervosvalový přenos, repetitivní stimulace nervu, single fiber EMG.

Neurophysiology and electrodiagnosis of neuromuscular transmission

This review summarizes the principles of normal neuromuscular transmission. Depolarization of the nerve terminal produces an influx of calcium through voltage-gated calcium channels and acetylcholine vesicles then fuse with the presynaptic membrane. After release, acetylcholine (ACh) interacts with the acetylcholine receptor (AChR); this opens the AChR channel, resulting in an influx of sodium. When a sufficient quantity of ACh binds to the receptors, sodium channels in muscle membrane open, leading to depolarization of the muscle and contraction. Electrodiagnostic studies can demonstrate a defect of neuromuscular transmission in two ways. The first is by repetitive nerve stimulation at slow rates 2–3 Hz and detection of decrement. The second is by performing single fiber electromyography and evaluating jitter or neuromuscular block.

Key words: neuromuscular junction, neuromuscular transmission, repetitive nerve stimulation, single fiber electromyography.

Neurol. pro praxi 2010; 11(2): 81–84

Seznam zkratk

ACh – acetylcholin

AChR – acetylcholinový receptor

AP – akční potenciál

CMAP – sumační svalový (motorický) akční potenciál

EPP – ploténkový potenciál

IPI – interpotenciálový rozdíl

LEMS – Lambertův-Eatonův myastenický syndrom

MCD – průměrná hodnota následných rozdílů, mean value of consecutive differences

MEPP – miniaturní ploténkový potenciál

MJ – motorická jednotka

MuSK – svalově specifická tyrosin kináza

RS – repetitivní stimulace

SFEMG – EMG jednotlivého vlákna, single fiber EMG

Nervosvalová ploténka

Přenos informace z nervu na sval se uskutečňuje na specializované synapsi, tzv. nervosvalové ploténce (obrázek 1). Distální část každého motorického axonu se podle velikosti motorické jednotky větví na různý počet tenkých vláken (terminální větvení), které jsou nemyelinizované a kryty jen Schwannovými buňkami. Každá

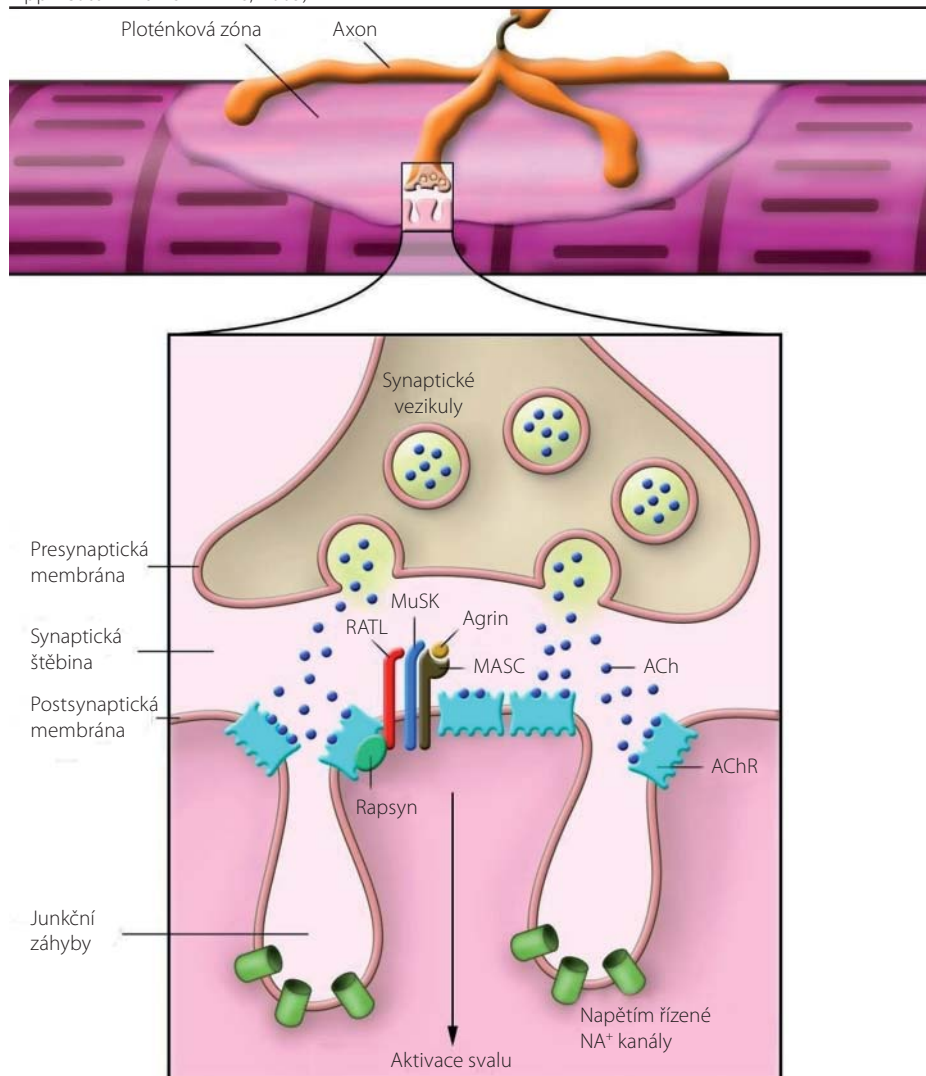
konečná větévka vytváří kontakt s jedním svalovým vláknem (mononeurální inervace). V embryonálním stádiu je inervace svalových vláken polyneurální, postupně se mění na mononeurální, ale u některých svalů (např. extraokulárních, některých laryngeálních a svalů jazyka) zůstává i v dospělosti část vláken s více synaptickými kontakty. Chemickým neurotransmiterem je acetylcholin (ACh), který je syntetizován v terminálním neuronu z acetyl-koenzymu A a cholinu a je skladován v synaptických vezikulech, které se vytvářejí invaginací axonální membrány. Vezikuly mají tendenci se shlukovat v aktivních zónách u presynaptické membrány. Pro uvolnění ACh z vezikul (exocytóza) je nezbytná přítomnost kalcia (Ca^{++}). Jakmile akční potenciál (AP) dorazí k terminálnímu presynaptickému rozšíření, aktivuje napětově řízené Ca^{++} kanály a dojde ke vstupu Ca iontů do cytosolu. Vstup Ca^{++} spouští kaskádu pochodů, vezikuly postupují k aktivním zónám a dochází k jejich fúzi s presynaptickou buněčnou membránou. Po otevření vezikul se obsah uvolňuje do synaptické šterbiny a ACh se váže na receptory na postsynaptické membráně (kalciem indukovaná exocytóza). Ca^{++} pak postupně difunduje pryč od uvolněných vezikulů během 100–200 ms (Ambler

a Stålberg, 1986; Martyn et al., 2009; Ubogu a Ruff, 2009).

Acetylcholinový receptor

Nikotinový acetylcholinový receptor (AChR) je ligandem řízený iontový kanál, pentamerický transmembránový glykoprotein. Skládá se z komplexu dvou podjednotek alfa, jedné beta a delta a buď podjednotky gama, která se vyskytuje u fetálního typu receptoru nebo u denervovaných svalových vláken nebo epsilon u dospělého typu. Vazebná místa pro ACh jsou mezi podjednotkami alfa a delta, resp. epsilon (gama) a pro otevření iontového kanálu, musí být aktivovány obě podjednotky molekulami ACh. Vazba dvou ACh molekul na AChR otevírá sodíkový (Na^+) kanál uvnitř AChR (draslíkový se otevírá až v závislosti na Na^+) a dochází k influxu Na^+ do svalového vlákna. Množství ACh v jednom veziklu se nazývá kvantum (přibližně 5 000–10 000 ACh molekul). Jednotlivá kvanta ACh jsou spontánně uvolňovaná a každé z nich otevře asi 2 000 iontových kanálů, čímž dojde k influxu Na^+ . Tento miniaturní ploténkový potenciál (MEPP, amplituda 0,5–1 mV) vede k částečné depolarizaci postsynaptické membrány, ale nestačí k depolarizaci sousední sarkolemy. Teprve

Obrázek 1. Schéma nervosvalové ploténky. ACh, acetylcholin; MASC, receptor „myotube-associated specificity component“ (agrin nepůsobí přímo na MuSK, ale prostřednictvím dalšího receptoru, který není ještě jednoznačně definován, ale obvykle se takto označuje); MuSK, svalově specifická kináza (muscle-specific kinase); RATL, rapsyn-associated transmembrane linker (volně upraveno podle Bromberg, Lippincott Williams Wilkins, 2005)



depolarizace presynaptické membrány vlivem AP vede k uvolnění několika set kvant ACh, vzniku mohutné depolarizace postsynaptické membrány (EPP – ploténkového potenciálu, amplituda 40–60 mV), která je dostatečná k excitaci sousední sarkolemy. Za fyziologických okolností množství těchto interakcí značně převyšuje práh pro vznik AP (15–20 mV), což představuje funkční rezervu nervosvalového přenosu (safety factor). Celý proces je limitován odstraněním ACh, což se děje zčásti difuzí, ale hlavně činností enzymu acetylcholinesterázy (AChE), která ACh rychle hydrolyzuje. Po uvolnění ACh se vezikuly znovu obnovují a jsou znovu naplněny ACh. Dojde k uzavření Na^+ kanálů a vypuzením K^+ iontů je obnoven klidový potenciál na svalové membráně. AChR se neustále obměňují procesem degenerace a regenerace, biologický poločas je 6–13 dnů. Pro správnou funkci se AChR musí

zabudovat do postsynaptické membrány nervosvalové ploténky a k tomu potřebuje funkční komplex jiných bílkovin (obrázek 1), které mají významnou úlohu v organizaci a funkci nervosvalového spojení. Jde hlavně o svalově specifickou tyrosin kinázu (MuSK) a agrin. MuSK je transmembránový protein, je aktivována agrinem, který je uvolňován z motoneuronů a indukuje agregaci AChR (Nicolle, 2002; McConville a Vincent, 2002; Špalek, 2008; Shah, 2009; Shear a Martyn, 2009).

U Lambertova-Eatonova myastenického syndromu (LEMS) IgG protilátky proti napětově řízeným Ca^{++} kanálům na presynaptické membráně snižují jejich funkční počet, tím se snižuje vstup Ca^{++} a redukuje počet uvolňovaných ACh kvant z terminálního neuronu. Myastenie je postsynaptická porucha kde dochází ke snížení počtu funkčních AChR pro vazbu s ACh.

Elektrodiagnostika

1. Repetitivní stimulace motorického nebo smíšeného nervu

Repetitivní stimulace (RS) a detekce dekrementu je základní vyšetřovací technikou při poruchách nervosvalového přenosu (Ambler a Stålberg, 1986; Piřha a Ambler, 2003; Berman a Sanders, 2007; Katirji, 2009). Standardně se používají nízké frekvence 2–3 Hz. Volba nízkých frekvencí je nejen podstatně senzitivnější, ale je opřena i o fyziologické poznatky. Druhým stimulem dochází k uvolnění relativně menšího množství ACh, protože předchozím stimulem a následným AP byla redukována pohotovostní zásoba vezikul, je vyprázdněno menší množství kvant a dojde k poklesu amplitudy EPP a **synaptické depresi**. Restituce zásoby trvá 5–10 s, dochází k náhradě chybějících kvant s následnou stabilizací nebo i zvýšením amplitudy EPP, proto k poklesu amplitudy dochází jen do 4. nebo 5. odpovědi. Naopak, za podmínky, že výchozí množství kvant je sníženo, EPP se často zvětší, pokud předcházel několik ms jiný EPP v důsledku zvýšení intraterminálního Ca^{++} po předchozí depolarizaci a dochází k **synaptické facilitaci**. Proces vstupu Ca^{++} a zevní difuze trvá jen 100–200 ms. Oba pochody probíhají paralelně, ale v jiných časových relacích. Z toho vyplývá, že **při pomalých frekvencích**, tj. stimulus každých 200 ms nebo více, což odpovídá stimulační frekvenci < 5 Hz, role Ca^{++} na uvolnění ACh není zvýšena a následný AP dosáhne terminálního neuronu v době, kdy je již Ca^{++} difundováno a **převažuje synaptická deprese**. Naopak **při rychlých frekvencích**, tj. stimulus každých 100 ms nebo méně, což odpovídá frekvenci > 10 Hz influx Ca^{++} je výrazný, pravděpodobnost uvolnění kvant ACh se zvyšuje a **převažuje synaptická facilitace**. Fenomén synaptické facilitace a deprese je využíván rovněž při funkčním testování dekrementu.

U RS je absolutním předpokladem technika bez jakýchkoli artefaktů, které často vedou k falešně pozitivním nálezům. Stimulace musí být supramaximální a je třeba dobrou fixací zabránit pohybu jak stimulačních, tak registračních elektrod. 12–24 hodin před vyšetřením je třeba vysadit inhibitory cholinesterázy. Prvotní je vždy výběr svalu, u podezření na myastenii se preferuje vyšetření proximálních svalů a je výhodné, když jde o sval klinicky oslabený. Za nejvhodnější svaly se doporučuje jako první volba m. anconeus a trapezius, při facio-bulbární lokalizaci m. nasalis nebo frontalis a stimulace n. facialis (Niks et al., 2003; Costa et al., 2004; Zinman et

al., 2006). Při negativním nálezu můžeme doplnit vyšetřením m. deltoideus, který je však pro pacienty dost nepříjemný a je třeba dobře končetinu imobilizovat, abychom zabránili pohybovým artefaktům. Další možností je vyšetření m. extensor digitorum communis, m. biceps brachii a výjimečně při výraznějším postižení svalů pánevního pletence i m. quadriceps. Za dekrement je považován konstantní a reprodukovatelný pokles amplitudy a arey sumačního svalového akčního potenciálu (CMAP). Zjištěný **dekrement nad 10 %** se považuje za signifikantní, nad 5 % za suspektní, pokud splňuje následující kritéria: musí být **konstantní, reprodukovatelný** a mít **charakteristický typ („pattern“)**. Začíná vždy již od 2. odpovědi, kde je obvykle pokles největší a pokračuje do 4.–5. odpovědi (obrázek 2). K dalšímu poklesu již nedochází, někdy může naopak dojít i k mírnému vzestupu amplitudy. Dekrement není specifický pouze pro myastenii, může být přítomen i u jiných poruch nervosvalového přenosu (myastenické syndromy, ale i např. ALS).

Při průkazu klidového dekrementu je vhodné doplnit funkční zkoušky. Opakujeme RS po krátkodobé maximální izometrické kontrakci vyšetřovaného svalu (10–20 s podle kondice svalu), která navodí **postaktivací facilitaci**, dekrement se krátkodobě zmenší a za 1–3 minuty se opět vrací k původní hodnotě, nebo může být i větší – **postaktivací exhausce**. Tento test je vhodný i pro případné odhalení LEMS.

U LEMS je již iniciální amplituda CMAP typicky velmi nízká, často méně nežli 10 % normy. Při RS nízkými frekvencemi je patrný obdobný dekrement jako u myastenie. Charakteristický je však efekt facilitace, po krátkodobé 10 s maximální volní izometrické kontrakci svalu dojde ke zvýšení amplitudy CMAP o více jak 100 % (Ambler a Stålberg, 1986; Trontelj et al., 2002). Při tomto nálezu a podezření na LEMS doplníme RS rychlými frekvencemi 20–50 Hz a při pozitivním nálezu detekujeme typický inkrement (obrázek 3). Tato stimulace je velmi nepříjemná až bolestivá, proto ji používáme jen na distálních svalech (abductor digiti minimi, abductor policis brevis event. anconeus) po dobu 3–5 s.

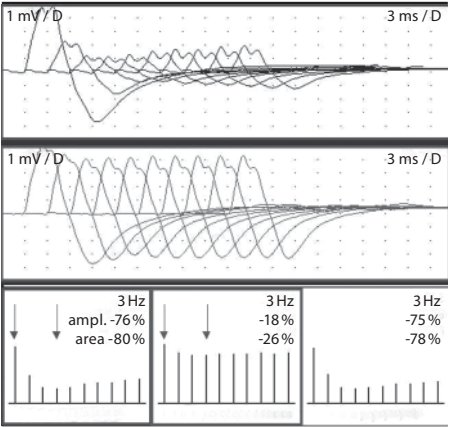
Facilitace – inkrement – nad 100 % může být u LEMS přítomna na některých, ale ne všech svalech. Vzestup 50–100 % se považuje jen za suspektní. Pokud je inkrement nad 100 % přítomen na většině svalů, nebo je na některém svalu nad 400 %, pacient má téměř jistě LEMS (Stickler a Sanders, 2009).

Při negativním klidovém dekrementu a klinickém podezření na myastenii můžeme doplnit **aktivační test prodlouženou maximální izometrickou kontrakcí** – 1 min. a následnou RS v 1–2 min. intervalech. Lze tak navodit postaktivací exhausci a dekrement, maximum obvykle kolem 2–4 min. po ukončení kontrakce. Jeho hlavní výhodou je jednoduchost a možnost použití na všech testovaných svalech.

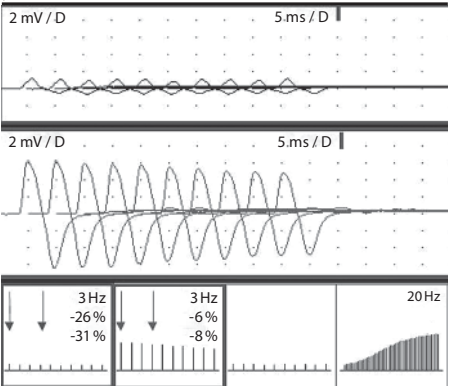
2. Vyšetření nervosvalového jitteru metodou EMG jednotlivého vlákna („single fiber EMG“ – SFEMG)

SFEMG registruje elektrickou aktivitu, která je generována jedním svalovým vláknem, takže mohou být studovány interakce mezi jednotlivými svalovými vlákny téže motorické jednotky (MJ). SFEMG se provádí buď při volní aktivaci svalů nebo axonální mikrostimulaci. Hodnocenými parametry jsou individuální **jitter** jednotlivých párů (u volní kontrakce) nebo plotének (při stimulační metodě). Při volní aktivaci jehlová elektroda s malou registrační ploškou (25 µm v průměru) je zavedena do lehce kontrahovaného svalu a registruje se AP ze dvou nebo více jednotlivých svalových vláken téže MJ. Hodnotí se interpotenciálový interval (IPI – rozdíl v latencích) mezi dvojicí AP jednotlivých svalových vláken patřících k téže MJ a aktivovaných synchronně (obrázek 4). IPI kolísá v závislosti na době vedení v oblasti terminálních nervových vláken, svalových vláken a integrity nervosvalového přenosu (nervosvalové ploténky). Jitter je ukazatelem variability nervosvalového přenosu a měřítkem tzv. bezpečnostního faktoru nervosvalové ploténky. Udává se jako průměrná hodnota následných rozdílů („mean of consecutive differences“ – MCD) IPI. Kromě toho při zvýšené hodnotě jitteru může dojít k poruše přenosu některých vzruchů, nedojde k podráždění sva-

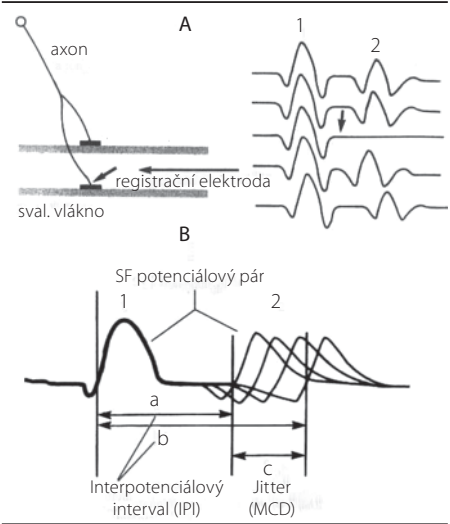
Obrázek 2. Typický myastenický dekrement při RS 3 Hz. Nahoře výrazný klidový dekrement, uprostřed postaktivací facilitace se zmenšením dekrementu, dole schématické zobrazení klidového dekrementu, postaktivací facilitace a deprese



Obrázek 3. Inkrement u LEMS. Nahoře typicky nízká amplituda CMAP a dekrement při RS 3 Hz, uprostřed postaktivací facilitace, zvýšení amplitudy CMAP o > 400 % a zmenšení dekrementu, dole schématické zobrazení a vpravo inkrement při RS 20 Hz.



Obrázek 4. Schéma SFEMG. A – registrace jednotlivých potenciálů, 1 – spouštěcí potenciál (trigger), šipka – blok druhého potenciálu; B – hodnocení interpotenciálových intervalů a jitteru



Tabulka 1. Normativní data jitteru při SFEMG (Trontelj et al., 2002; Katirji, 2009)

Sval	volní SFEMG		stimulační SFEMG	
	maxim. jitter	průměrný jitter	maxim. jitter	průměrný jitter
EDC	52–60	36–38	36–40	25
Frontalis	45	33	33	23
Orbicularis oculi	32 (40–43)	30 (40)	30	20
Deltoideus	45	33	32	25

lového vlákna, negeneruje se AP, což se označuje termínem blokování. Za abnormní se považuje zvýšení individuálního jitteru nebo přítomnost blokování u > 10 % párů nebo plotének nebo zvýšení průměrného jitteru (tabulka 1).

Při vyšetření axonální stimulací je IPI měřen mezi stimulačním artefaktem a AP jednoho svalového vlákna. Hodnoty jitteru získaného stimulační technikou odrážejí variabilitu přenosu jednotlivou nervosvalovou ploténkou a jsou asi o 30 % nižší. Výhodou stimulační techniky je podstatně menší náročnost na spolupráci pacienta, možnost použít různé stimulační frekvence, selektivní vyšetření funkce jednotlivé nervosvalové ploténky (ne páru) a vyšetření širší populace motorických jednotek o různém prahu.

U myastenie je SFEMG paraklinickým testem s nejvyšší senzitivitou, při kombinaci vyšetření mimických a paretických svalů dosahuje téměř 100 % a není ovlivněna medikací inhibitory cholinesterázy. SFEMG se zpravidla volí jako primární diagnostický test u nemocných s okulární myastenií, u ostatních nemocných se provádí jako sekundární vyšetření, když je klinické podezření

na myastenii, ale repetitivní stimulace je negativní nebo nehodnotitelná.

Literatura

1. Ambler Z. Neuromuskulární přenos a jeho poruchy. Přehledný referát. *Ces Slov neurol N* 1986; 49(82): 1–3.
2. Ambler Z, Stålberg E. EMG diagnostika myasthenie gravis. *Ces Slov neurol N*. 1986; 49(82): 60–65.
3. Ambler Z, Stålberg E. Myasthenický syndrom a jeho EMG diagnostika. *Ces Slov neurol N* 1986; 49(82): 66–69.
4. Berman SA, Sanders DB. Assessment of neuromuscular transmission. Dostupný na <http://emedicine.medscape.com/article/1140870-overview>. Updated 2007.
5. Costa J, Evangelista T, Conceição I, de Carvalho M. Repetitive nerve stimulation in myasthenia gravis – relative sensitivity of different muscles. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 2776–2782.
6. Katirji B. Electrodiagnosis of neuromuscular junction disorders In: Kaminski HJ (Ed). *Myasthenia gravis and related disorders*, 2nd ed, Humana Press: New York, 2009: 119–141.
7. Martyn JAJ, Fagerlund MJ, Eriksson LI. Basic principles of neuromuscular transmission. *Anaesthesia* 2009; 64(Suppl. 1): 1–9.
8. McConville J, Vincent A. Diseases of the neuromuscular junction. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2: 296–301.
9. Nicolle MW. Myasthenia gravis. *The Neurologist* 2002; 8: 2–21.
10. Niks EH, Badrising UA, Verschuuren JJ, van Dijk JG. Decremental response of the nasalis and hypothenar muscles in myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2003; 28: 236–238.

11. Piřha J, Ambler Z. Myasthenia gravis. In: *Neurologie* 2003, Praha: Triton, 188–202.

12. Shah AK. Myasthenia Gravis. Dostupný na <http://emedicine.medscape.com/article/1171206-overview>. Updated 2009.

13. Shear TD, Martyn JAJ. Physiology and biology of neuromuscular transmission in health and disease. *J Crit Care* 2009; 24: 5–10.

14. Stickler DE, Sanders DB. Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome. Dostupný na <http://emedicine.medscape.com/article/1170810-overview>. Updated: 2009.

15. Špalek P. Myasténia gravis. *Ces Slov neurol N* 2008; 71(104): 7–24.

16. Trontelj JV, Sanders DB, Stålberg EV. Electrophysiological methods for assessing neuromuscular transmission. In: Brown WF, Bolton CF, Aminoff MJ (Eds.). *Neuromuscular function and disease*. Philadelphia: W. B. Saunders, 2002: 414–432.

17. Ubogu EE, Ruff RL. Neuromuscular junction physiology and pathophysiology. In Kaminski HJ (Ed). *Myasthenia gravis and related disorders*, 2nd ed, Humana Press: New York, 2009: 1–12.

18. Zinman LH, O'Connor PW, Dadson KE, Leung RCM, Ngo M, Brill V. Sensitivity of repetitive facial-nerve stimulation in patients with myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2006; 33: 694–696.

prof. MUDr. Zdeněk Ambler, DrSc.

Neurologická klinika LF UK a FN
Alej svobody 80, 304 60 Plzeň
ambler@fnplzen.cz

