

**Vitor Marques Caldas**

**Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em  
pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita  
estrutural e miopatia mitocondrial: análise quantitativa**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

Co Orientador: Dr. Carlos Otto Heise



**São Paulo**

**2022**

**Vitor Marques Caldas**

**Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em  
pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita  
estrutural e miopatia mitocondrial: análise quantitativa**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

Co Orientador: Dr. Carlos Otto Heise

**São Paulo**

**2022**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Caldas, Vitor Marques

Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita estrutural e miopatia mitocondrial : análise quantitativa / Vitor Marques Caldas. -- São Paulo, 2022.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Programa de Neurologia.  
Orientador: Edmar Zanoteli.

Descritores: 1.Síndromes miastênicas congênitas  
2.Oftalmoparesia externa progressiva crônica  
3.Miopatias congênitas estruturais  
4.Eletromiografia

USP/FM/DBD-212/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À **Caroline Ivone Fontana Formigari,**  
**Arthur Formigari Caldas**  
**e Júlia Formigari Caldas,**  
amores que a vida me presenteou.

E aos **pacientes**, razão do meu esforço.

## Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. **Edmar Zanoteli**, que me confiou esta tese.

Agradeço ao Prof. Dr. **Carlos Otto Heise**, por compartilhar seu vasto conhecimento e experiência ao me ensinar a arte da eletroneuromiografia e por auxiliar em cada passo dessa pesquisa desde sua concepção.

Agradeço ao Prof. Dr. **João Aris Kouyoumdjian**, que me ofereceu conselhos imensuráveis e permitiu que este trabalho tivesse seu desfecho.

Agradeço ao Dr. **Eduardo de Paula Estephan**, estimado colega, que compartilhou seus casos e experiências, sem os quais este trabalho não teria saído do papel.

Agradeço também ao Prof. Dr. **Marcondes Cavalcante França Júnior** e à Dra. **Flávia Costa Nunes Machado**, que ajudaram substancialmente a melhorar esta tese.

Agradeço a minha esposa **Caroline** e aos meus filhos, **Arthur e Júlia**, que cederam seu tempo e compreensão, para que eu pudesse me dedicar a este trabalho.

Finalmente, agradeço aos **pacientes**, que com enorme respeito e confiança, permitiram-me fazer um pouco de ciência.

“Quem poderia a coragem  
de viver em frente da imagem

do que faz, enquanto se faz,  
antes da forma, que a refaz?”

***João Cabral de Melo Neto***

## **Normatização Adotada**

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento dessa publicação:

Referências - adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos de periódicos de acordo com List of Journals indexed in Index Medicus.

## Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

<b>1</b>	<b>Introdução</b> .....	1
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	
	2.1 Objetivo geral.....	14
	2.2 Objetivo específico.....	14
<b>3</b>	<b>Pacientes e Métodos</b>	
	3.1 Seleção de pacientes.....	15
	3.2 Critérios de inclusão.....	16
	3.3 Critérios de exclusão.....	17
	3.4 Biópsia muscular.....	18
	3.5 Análise genética.....	18
	3.6 Dosagem de auto-anticorpos.....	19
	3.7 Eletroneuromiografia (ENMG) convencional.....	20
	3.8 Estimulação repetitiva (ER).....	21
	3.9 Eletromiografia de Fibra Única com Agulha Concêntrica (EMGFU-AC).....	23
	3.10 Desenho de estudo.....	24
	3.11 Avaliação estatística.....	25
<b>4</b>	<b>Resultados</b>	
	4.1 Dados clínicos e demográficos.....	27
	4.2 Estimulação repetitiva.....	37
	4.3 Eletromiografia de fibra única com agulha concêntrica (EMGFU-AC)	
	4.3.1 Análise descritiva das anormalidades da EMGFU-AC entre os grupos.....	52
	4.4 Análise combinada das técnicas de estimulação repetitiva e EMGFU-AC.....	68
<b>5</b>	<b>Discussão</b> .....	71
<b>6</b>	<b>Conclusões</b> .....	77
<b>7</b>	<b>Anexos</b> .....	78
<b>8</b>	<b>Referências</b> .....	84

Apêndice



## Lista de Abreviaturas e Siglas

$\mu$ V	Microvolt
ACh	Acetilcolina
AChR	Receptor de acetilcolina
ADM	<i>Abductor Digitorum Minimi</i>
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CMAP	Do inglês <i>compound muscle action potential</i>
CPK	Creatina fosfoquinase
DCF	Desproporção congênita de fibras musculares
DEL	<i>Deltoides</i>
EAC	Eletrodo de agulha concêntrica
EFU	Eletrodo de fibra única
EMGFU	Eletromiografia de fibra única
EMGFU-AC	Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica
ENMG	Eletroneuromiografia
ER	Estimulação repetitiva
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCFMUSP-SP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo
Hz	Hertz
IC	Intervalo de confiança
JNM	Junção neuromuscular
kHz	Quilo-Hertz
MC	<i>Miopatia congênita</i>
MCD	Do inglês <i>Mean Consecutive Difference</i>
MCE	Miopatias congênitas estruturais
MG	<i>Myasthenia gravis</i>
Mg	Miligrama
MM	Miopatia mitocondrial
mM	Milimolar
mm <sup>2</sup>	Milímetro quadrado
ms	Milissegundo
MSD	Do inglês <i>Mean Sorted Difference</i>
MuSK	Tirosina quinase músculo-específica
mV	Milivolt
NAS	<i>Nasalis</i>
OEPC	Oftamoplegia externa progressiva crônica
OO	<i>Orbicularis oculi</i>
PAFMIs	Potenciais aparentes de fibra única
PCR	Proteína C reativa
ROC	Do inglês <i>Receiver Operating Characteristic</i>
SMC	Síndromes miastênicas congênitas
TA	<i>Tibialis Anterior</i>
TRA	<i>Trapezius</i>
USP	Universidade de São Paulo
VRF	Do inglês <i>Velocity recovery function</i>
$\mu$ s	Microsegundo

## Lista de Figuras

Figura 1	Teste de estímulo repetitivo a 3Hz em paciente com SMC revelou decremento superior a 10% entre o quarto e quinto potencial.....	5
Figura 2	Distribuição dos pacientes por grupos (SMC, OEPC, MCE, controles) .....	27
Figura 3	Distribuição da análise histológica nos pacientes com MCE.....	28
Figura 4	Distribuição da análise molecular nos pacientes com SMC.....	29
Figura 5	Distribuição da análise molecular nos pacientes com MCE.....	30
Figura 6	Distribuição dos pacientes segundo o gênero por grupos.	31
Figura 7	Média da idade por grupo e respectivos intervalos de 95 % de confiança.....	31
Figura 8	Distribuição dos pacientes segundo o tipo de queda palpebral, por grupo.....	34
Figura 9	Distribuição dos pacientes segundo a gravidade da oftalmoparesia por grupo.....	34
Figura 10	Distribuição dos pacientes segundo a ocorrência de história familiar por grupo.....	37
Figura 11	Percentual de pacientes com decremento superior a 10% em pelo menos um músculo para cada grupo analisado.....	38
Figura 12	Percentual de pacientes com decremento superior a 10% em pelo menos um músculo para cada variante do grupo SMC.....	39
Figura 13	ER com decremento patológico (>10%) em cada um dos músculos testados em diferentes pacientes dos grupos SMC (A. ADM; B. TRA; C. NAS; D. TA; E. DEL; F. OO).....	39
Figura 14	A. Estudo de condução nervosa de nervo ulnar na	

	paciente 11 do grupo SMC, com variante do gene <i>COLQ</i> mostrando duplo potencial após estímulo único.....	40
Figura 15	Estimulação repetitiva anormal no músculo TRA um paciente do grupo MCE com miopatia do tipo multiminicore.....	41
Figura 16	Estimulação repetitiva normal em cada um dos músculos testados em diferentes pacientes do grupo controle (A. ADM; B. TRA; C. NAS; D. TA; E. DEL; F. OO)	42
Figura 17	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo TA por grupo.....	43
Figura 18	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 1 (basal) por grupo.....	44
Figura 19	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 2 (pós esforço) por grupo.....	44
Figura 20	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 3 (repouso por 2 minutos) por grupo.....	45
Figura 21	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo DEL por grupo.....	45
Figura 22	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo TRA por grupo.....	45
Figura 23	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo NAS por grupo.....	46
Figura 24	Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo OO por grupo.....	46
Figura 25	A. Quantidade média de músculos com decremento superior a 10% entre os grupos analisados. B. Média do decremento máximo (%) entre todos os pacientes de cada um dos grupos analisados.....	49
Figura 26	Valores do decremento médio do músculo ADM em três	

	tempos de análise (basal, pós esforço muscular máximo, repouso de 2min após esforço) analisados grupo a grupo.....	51
Figura 27	Paciente 10 do grupo SMC. A. Evidência de queda palpebral leve e simétrica bilateralmente. B/C. Estimulação repetitiva anormal em ambos músculos DEL, direita e esquerda. D. EMGFU-AC normal no traçado inferior direito.....	55
Figura 28	Paciente 12 do grupo SMC. A. Evidência de hiperelasticidade presente em pacientes com variantes no gene COLQ. B: presença de duplo potencial no CMAP do nervo tibial; C: decremento normal no nervo tibial; D. EMGFU-AC com amostra de par alterado (valor do <i>jitter</i> de 105µs); E: presença de duplo potencial no CMAP do nervo ulnar; F: decremento <10% observado na ER do no nervo ulnar.....	56
Figura 29	Exemplos de pares alterados em cada um dos cinco pacientes com OEPC e ENMGFU-AC anormal. O asterisco amarelo indica locais onde há bloqueio de impulso.....	58
Figura 30	EMGFU-AC alterada em paciente 13 do grupo MCE, com miopatia do tipo centronuclear com mutação no gene RYR1. A e B. exemplo de dois dos seis pares anormais com <i>jitter</i> individual com MCD> 45us; C. exemplo de par com <i>jitter</i> anormal e bloqueio de impulso, evidenciado pelo asterisco amarelo. D. PAFMIs com <i>jitter</i> anormal....	60
Figura 31	Exemplo de dois pares de PAFMIs com <i>jitter</i> normal em paciente do grupo controle.....	62
Figura 32	A. Valores médios do <i>jitter</i> médio por grupo; B. Percentual de pares com <i>jitter</i> individual anormal por grupo.....	63
Figura 33	A. Distribuição de pacientes e controles conforme o <i>jitter</i> médio utilizado o ponto de corte tradicional de 31 µs. B. Distribuição de pacientes e controles conforme o percentual de pares com valores individuais de <i>jitter</i> anormais utilizado o ponto de corte tradicional de 10%....	65
Figura 34	A curva para a característica operacional receptora (ROC) para parâmetros de <i>jitter</i> em pacientes com SMC. A. O valor médio de <i>jitter</i> (µs) é mostrado para o corte de referência multicêntrico (31 µs), e o corte alternativo de 54 µs é usado para máxima especificidade. B. O	

	percentual de valores de <i>jitter</i> anormal é mostrado para o corte de referência multicêntrico (percentual superior a 10%), e um corte alternativo superior a 30% é usado para a especificidade máxima.....	66
Figura 35	Os valores médios de <i>jitter</i> (analisado com novo corte >54 $\mu$ s) e o percentual de valores individuais anormais (analisado com novo cortes > 30% de pares com valor de <i>jitter</i> individual acima de 45 $\mu$ s) permitiu separar melhor os pacientes com SMC dos demais pacientes com <i>jitter</i> alterado, tanto do grupo OEPC quanto do grupo MCE.....	67
Figura 36	Análise comparativa da sensibilidade, especificidade e acurácia da análise do <i>jitter</i> utilizando os valores de cortes tradicionais e os valores obtidos pela curva ROC..	68

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Distribuição de variáveis demográficas e clínicas por grupo (SMC, OEPC, MCE e controles).....	32
Tabela 2	Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com SMC.....	33
Tabela 3	Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com MCE.....	35
Tabela 4	Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com MCE.....	36
Tabela 5	Percentual de decremento anormal nos músculos analisados para ER entre todos os grupos analisados.....	38
Tabela 6	Valores do decremento percentual médio dos músculos por grupo.....	43
Tabela 7	Sensibilidade, Especificidade e Acurácia da ER na análise muscular individual para diagnóstico de SMC.....	47
Tabela 8	Sensibilidade, Especificidade e Acurácia da ER na análise combinada de músculos faciais, proximais e distais em pacientes com SMC.....	47
Tabela 9	Análise intragrupos do decremento médio no músculo ADM no tempo basal (1), após esforço (2) e após repouso de 2 minutos.....	49
Tabela 10	Análise entre grupos do decremento médio no músculo ADM no tempo basal (1), após esforço (2) e após repouso de 2 minutos.....	50
Tabela 11	Percentual de casos com ER anormal para cada tempo de análise no músculo ADM em todos os grupos analisados.....	51
Tabela 12	Características neurofisiológicas dos pacientes com SMC.....	53
Tabela 13	Características neurofisiológicas dos pacientes com OEPC.....	57

Tabela 14	Características neurofisiológicas dos pacientes com MCE.....	59
Tabela 15	Características neurofisiológicas do grupo controle.....	61
Tabela 16	Valores médios de <i>Jitter</i> médio, pares anormais e pares com bloqueio de impulso por grupo.....	62
Tabela 17	Valores P para comparação de <i>jitter</i> médio anormal (> 31 $\mu$ s), <i>jitter</i> individual anormal (10% de pares com <i>jitter</i> individual acima de 45 $\mu$ s) e percentagem média de pares com bloqueio de impulso.....	64
Tabela 18	Análise combinada das técnicas de ER e EMGFU-AC entre os grupos.....	69
Tabela 19	Valores de Sensibilidade, Especificidade e Acurácia para distinguir os pacientes com SMC entre os grupos por meio da análise combinada de ER e EMGFU-AC.....	70

## RESUMO

Caldas VM. *Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita estrutural e miopatia mitocondrial: análise quantitativa* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Este estudo foi planejado para avaliar a sensibilidade, especificidade e acurácia dos parâmetros do *jitter* combinados com Estimulação Repetitiva (ER) em pacientes com Síndrome Miastênica Congênita (SMC), Oftalmoparesia Externa Progressiva Crônica (OEPC) e Miopatias Estruturais Congênitas (MCE). *Jitter* foi obtido por Eletrodo de Agulha Concêntrica (EAC), durante ativação voluntária do músculo Orbicularis Oculi em 21 pacientes com SMC, 20 pacientes com OEPC, 18 pacientes com MCE e 14 pacientes controles saudáveis. ER (3Hz) foi realizada em seis diferentes músculos (Abductor Digiti Minimi, Tibialis Anterior, Trapezius, Deltoideus, Nasalis e OO). ER demonstrou-se alterada em 90,5% dos pacientes com SMC e em apenas 1 paciente fora desse grupo (um paciente com MCE). *Jitter* foi anormal em 95,2% dos pacientes com SMC, 20% dos pacientes com OEPC e 11,1% dos pacientes com MCE. Nenhum paciente com OEPC ou MCE apresentou *jitter* médio superior a 53.6  $\mu$ s ou mais de 30% de pares com *jitter* individual anormal ( $> 45 \mu$ s). Nenhum paciente com OEPC ou MCE com *jitter* alterado apresentou anormalidades concomitantes na ER. Fica demonstrado que a ER e avaliação do *Jitter* são técnicas valiosas para estudo de anormalidades da junção neuromuscular em pacientes com SMC. Valores de *jitter* superiores a 53.6  $\mu$ s ou a presença de mais de 30% de pares com *jitter* individual anormal ( $> 45 \mu$ s) sugerem o diagnóstico de uma doença primária da junção neuromuscular na nossa amostra, favorecendo o diagnóstico de SMC.

**Descritores:** Síndromes miastênicas congênitas; Oftalmoparesia externa progressiva crônica; Miopatias congênitas estruturais; Eletromiografia.



## ABSTRACT

Caldas VM. *Electrophysiological study of neuromuscular junction in congenital myasthenic syndromes, congenital myopathies, and chronic progressive external ophthalmoplegia* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

This study was designed to analyze the sensitivity, specificity, and accuracy of jitter parameters combined with repetitive nerve stimulation (RNS) in congenital myasthenic syndrome (CMS), chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO), and congenital myopathies (CM). Jitter was obtained with a concentric needle electrode during voluntary activation of the Orbicularis Oculi muscle in CMS (n=21), CPEO (n=20), and CM (n=18) patients and in controls (n=14). RNS (3Hz) was performed in six different muscles for all patients (Abductor Digiti Minimi, Tibialis Anterior, upper Trapezius, Deltoideus, Orbicularis Oculi (OO), and Nasalis). RNS was abnormal in 90.5% of CMS patients and in only one CM patient. Jitter was abnormal in 95.2% of CMS, 20% of CPEO, and 11.1% of CM patients. No patient with CPEO or CM presented a mean jitter higher than 53.6  $\mu$ s or more than 30% abnormal individual jitter ( $> 45 \mu$ s). No patient with CPEO or CM and mild abnormal jitter values presented an abnormal decrement. Jitter and RNS assessment are valuable tools for diagnosing neuromuscular transmission abnormalities in CMS patients. A mean jitter value above 53.6  $\mu$ s or the presence of more than 30% abnormal individual jitter ( $> 45 \mu$ s) strongly suggests CMS compared with CPEO and CM.

**Descriptors:** Congenital myasthenic syndrome; Chronic progressive external ophthalmoplegia; Myopathies structural, congenital; Electromyography.

## 1. Introdução

A Junção Neuromuscular (JNM) é a estrutura da unidade motora que envolve o botão sináptico do axônio terminal com suas vesículas de acetilcolina, a placa motora e os receptores de acetilcolina na membrana pós-sináptica (1). A liberação da acetilcolina para fenda sináptica permite a ligação com receptores nicotínicos de acetilcolina na membrana pós-sináptica, cuja consequência final é a produção de um potencial de ação de placa terminal. Esse fenômeno, por sua vez, abre um grande número de canais de sódio sensíveis à voltagem no terminal pós-juncional. Como resultado, potenciais de ação são gerados e propagados ao longo da fibra muscular causando contração muscular (2). A relação entre a amplitude do potencial de placa terminal e o limiar para desencadear esse potencial de ação é denominado fator de segurança da junção neuromuscular e quando esse fator de segurança está reduzido (por defeitos em qualquer região da JNM), o potencial de ação tem menor probabilidade de ser deflagrado e há fraqueza muscular clínica (3).

As síndromes miastênicas são doenças que comprometem o fator de segurança da JNM, causando fraqueza muscular, que em geral se manifesta com flutuação de sintomas (3). Essas síndromes podem ser classificadas em pré-sinápticas (defeito da liberação da acetilcolina pelo axônio terminal), sinápticas (defeito na metabolização e receptação de acetilcolina na fenda sináptica) ou pós-sinápticas (defeito na interação da acetilcolina com a membrana pós-sináptica na superfície do músculo) (4, 5).

De modo geral, clinicamente manifestam-se como fraqueza muscular flutuante, podendo acometer apenas a musculatura ocular (formas oculares) com sintomas de quebra palpebral, diplopia e oftalmoparesia, ou podem apresentar sintomas de fraqueza muscular mais difusos (formas generalizadas), tais quais fraqueza nos membros, disartria, disfonia ou mesmo insuficiência respiratória em casos mais graves (6).

A *Miastenia Gravis* (MG), apesar de ser considerada uma doença rara, é o exemplo mais comum de doença da JNM, sendo classificada com uma síndrome miastênica pós-sináptica (7). Trata-se de doença de origem autoimune causada pela produção auto-anticorpos contra os receptores e estruturas da JNM, sendo o mais frequente o anticorpo anti-receptor de acetilcolina (8). Seu diagnóstico pode ser confirmado com alta especificidade por meio da dosagem desses auto-anticorpos específicos no sangue (9), mas tais exames possuem uma sensibilidade média de apenas 55% para as formas oculares e 80% nas formas generalizadas (10). Além disso, estima-se até 20% de todos os pacientes com MG e 50% dos pacientes com a forma ocular pura sejam soronegativos, com necessidade de métodos complementares de diagnóstico (11).

Vale ressaltar que muitas outras doenças também afetam a JNM, tanto em sua porção pré-sináptica, como o botulismo e a síndrome paraneoplásica de Lambert-Eaton (12), com em todas as suas demais porções, como as síndromes miastênicas congênitas (SMC), aumentando ainda mais a complexidade do diagnóstico diferencial das doenças da JNM.

Geralmente, em um cenário de pacientes com MG soronegativos, especialmente se refratários ao tratamento convencional, deve-se pensar na

possibilidade de uma SMC. A presença de história familiar e de início de sintomas precoce (antes dos dois anos de idade) são outros critérios de alarme para este diagnóstico, que deve ser considerado no contexto adequado (13).

As SMC representam formas genéticas e ainda mais raras de doença da JNM (4), com estimativas de prevalência na casa de 9 caso por milhão de habitantes (14), mas com uma variação de fenótipos maior que a própria MG e com início de sintomas que varia desde neonatos a adultos. Os pacientes tem uma variada gama de manifestações clínicas, que vão desde fadiga leve a fraqueza incapacitante, geralmente com flutuação de sintomas, que podem afetar a musculatura extraocular, facial, bulbar, axial, respiratória ou apendicular, e muitas vezes não podem ser distinguidos clinicamente de pacientes com MG, salvo por meio de exames complementares (4, 15-18).

Sua maior diferença em relação a MG, além da ausência de anticorpos circulantes, é a refratariedade ao tratamento medicamentoso imunossupressor, mas seu comportamento neurofisiológico é muitas vezes idêntico (14). Não é incomum, portanto, que um paciente com SMC permaneça anos com diagnóstico errôneo de MG. Sua confirmação diagnóstica deve ser feita por meio de testes genéticos que identifiquem sua mutação patológica como painéis genéticos ou sequenciamento completo do exoma humano (19).

Assim, uma forma simples de classificar as SMC é pela mutação e o defeito que ela causa na JNM. Por este motivo, as SMC se dividem formas pré-sinápticas, sinápticas, pós-sinápticas e por defeitos em proteínas de glicosilação. Os genes causadores mais comuns são *CHRNE* (pós sináptica), *RAPSN* (pós sináptica), *DOK-7* (pós sináptica), *CHAT* (pré-sináptica), *COLQ* (sináptica) e

*GFPT1* (defeito de glicosilação), ainda que pelo menos 32 genes tenham sido descritos (4, 14, 19).

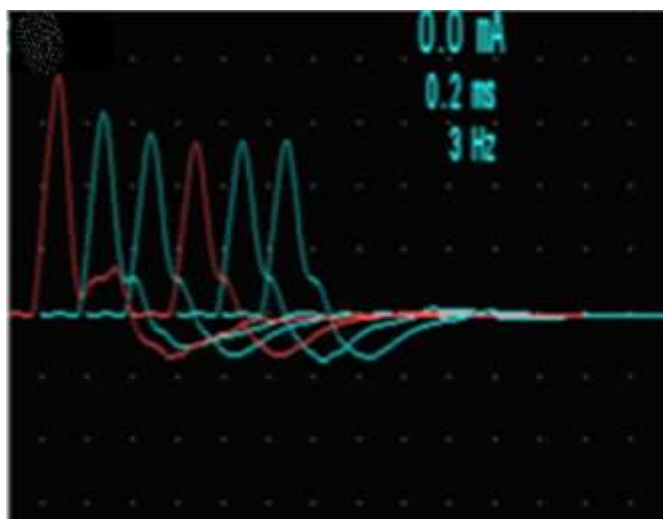
Vale ressaltar que maioria dos pacientes com SMC responde seletivamente a algum tratamento medicamentoso, como inibidores da acetilcolina-esterase, 3,4-diaminopiridina, salbutamol, albuterol, efedrina, fluoxetina ou atracúrio, por isso seu diagnóstico etiológico específico é muito importante (4).

Devido a essa ampla variabilidade clínica e genética, o diagnóstico de SMC é um desafio (15, 17, 20, 21). Não bastasse a dificuldade de distinguir entre SMC e MG, pode ser desafiador diferenciar as SMC de outras doenças neuromusculares não relacionadas a transtornos da JNM, como miopatias congênitas estruturais (MCE) e miopatias mitocondriais (MM), especialmente oftalmoplegia externa progressiva crônica (OEPC), pois os fenótipos podem se sobrepor (5, 22, 23).

Tanto na MG quanto nas SMC, uma técnica complementar para o seu diagnóstico é demonstrar neurofisiologicamente o defeito no fator de segurança da JNM por meio da observação de decremento nos potenciais de ação musculares obtidos por meio de estímulos neurais repetitivos a 2-3Hz (24). Em geral, não se espera que em casos de OEPC ou MCE, esse teste se apresente anormal, demonstrando boa especificidade para identificar doenças da JNM (25). A maior questão é que este tradicional teste neurofisiológico, apesar de mais específico, não tem uma sensibilidade muito elevada na literatura, podendo ser normal em muitos casos de SMC ou MG (26).

Na técnica de Estimulação Repetitiva (ER), considera-se anormal uma resposta decremental superior a 10% na amplitude base-pico do potencial de

ação muscular composto entre o primeiro e o quarto potencial obtido (25). A Figura 1 demonstra um exemplo de resposta decremental anormal no quarto potencial.



SMC=Síndromes miastênicas congênitas

**Figura 1** – Teste de estímulo repetitivo a 3Hz em paciente com SMC revelou decremento superior a 10% entre o quarto e quinto potencial

Para um adequado preparo técnico, o paciente deve estar em repouso, com o membro testado aquecido e imobilizado e medicações sintomáticas como os anticolinesterásicos (piridostigmina) devem ser suspensos 24-36h antes da avaliação para evitar falsos-negativos, e uma ampla amostra de músculos deve ser incluída, especialmente os músculos proximais da cintura escapular, como o *Deltoideus* e *Trapezius* (27).

Como mencionado acima, a ER é um teste, que apesar de ser relativamente específico, possui uma sensibilidade baixa para diagnóstico de MG, variando de 10% a 42% pacientes com sintomas oculares puros (28, 29) até 85% para pacientes com sintomas generalizadas(29). Em pacientes com SMC,

a sensibilidade da ER pode variar de 65% a 88% nas principais séries descritas (30-32). Assim, pela literatura, não é possível se limitar à técnica de ER para o diagnóstico de uma doença da JNM.

Entretanto, mesmo quando essa técnica é negativa, ainda há a possibilidade de realizar o diagnóstico neurofisiológico de distúrbio da JNM por meio de um outro método complementar, conhecido como eletromiografia de fibra única (EMGFU) (28, 33, 34).

Há vários trabalhos confirmando alta sensibilidade (>97%) da EMGFU para o diagnóstico de MG (26), ainda que às custas de uma especificidade geralmente menor, que varia de 73 a 92% (35). Esses valores de especificidade podem, no entanto, chegar até 100% a depender do ponto de corte utilizado, mostrando que a técnica tem grande capacidade diagnóstica na MG (36).

Em pacientes com SMC, a sensibilidade da EMGFU também é alta na literatura, podendo variar de 85% a 93%, dependendo do perfil genotípico (26, 32, 37). Trata-se, portanto, do exame neurofisiológico de maior sensibilidade para detectar alterações da JNM (26, 38). Um exame normal, em paciente com fraqueza muscular no músculo analisado, fala contra a suspeita clínica de síndrome miastênica (39).

Sabe-se também que a EMGFU, originalmente, era método que dependia do uso de agulhas específicas e necessidade de reesterilização, conhecido com eletrodo de fibra única (EFU) (33). Frente a necessidade de uso de métodos alternativos, nos últimos anos, múltiplos trabalhos colaborativos nacionais e internacionais validaram a técnica com uso de uma agulha mais acessível e

descartável, conhecida como eletrodo de agulha concêntrica (EAC), cuja área de captação (0,019 a 0,03mm<sup>2</sup>) é maior que o EFU tradicional (34, 40).

Como a área registrada pelo EAC é 38 vezes maior, os picos registrados geralmente vêm de múltiplas fibras musculares, produzindo potenciais somados (41). A estes potenciais obtidos com o EAC chamamos de potenciais aparentes de fibra única (PAFMIs) (42).

Desde sua inclusão na prática clínica, novos valores de referência foram estabelecidos para EAC (42, 43). Inúmeros trabalhos mostraram que a sensibilidade e especificidade do *jitter* obtidos utilizando EAC para doenças da JNM são semelhantes às obtidas utilizando EFU (35, 36, 42-45).

A padronização dos aspectos técnicos para uso do EAC permitiu a definição de valores de referência para variados músculos (42). Isso permitiu maior reprodutibilidade dos dados, fundamental para método considerado operador-dependente. A essa variante técnica vamos chamar de eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica (EMGFU-AC).

Existem duas formas de realizar a EMGFU-AC, seja por estimulação muscular elétrica (técnica de estimulação axonal) ou por contração muscular voluntária (técnica voluntária) (46). Vários estudos já compararam as duas técnicas em músculos normais (39, 43, 46), que tem prós e contras entre si, mas que de modo geral são equivalentes.

Para o estudo em questão, decidimos padronizar a técnica voluntária para todos os pacientes, por ser aquela de maior experiência em nosso serviço. Vale ressaltar que dado que a SMC é uma doença rara, encontramos poucos estudos



com grandes coortes investigando parâmetros do *jitter* nessa condição, nenhum utilizando EAC (18, 20, 32). E os poucos trabalhos que encontramos usaram técnicas de estimulação axonal e não voluntária (18, 20, 30, 32, 37, 47, 48).

Na técnica de contração muscular voluntária da EMGFU-AC, após a inserção do eletrodo no músculo estudado, há necessidade de cooperação do paciente, que precisa manter uma contração voluntária leve e sustentada por alguns segundos a minutos. Alguns músculos podem ser utilizados para essa finalidade, sendo mais estudados os músculos *Orbicularis Oculi*, *Frontalis*, *Masseter*, *Extensor Digitorum* (49). Dentre esses músculos, damos preferência ao *Orbicularis Oculi* na nossa prática diária no ambulatório de eletroneuromiografia (ENMG) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFMUSP-SP).

Uma vez dentro do músculo, são realizados pequenos reposicionamentos na agulha (3-4 inserções) para a melhor identificação dos PAFMIs, que devem ser selecionados por meio de critérios bem definidos de qualidade (50). Pelo menos dois pares de PAFMIs devem ser selecionados por amostra.

PAFMIs com amplitude  $>50\mu\text{V}$ , com picos bem definidos, tempo de ascensão (*rise time*)  $<300\mu\text{s}$  e morfologias constantes em sucessivos traçados podem ser analisados como normais ou alterados, sendo incluídos na amostra (34). PAFMIs encavalados, com intervalo interpicos curtos ou muito longos, amplitudes  $<50\mu\text{V}$  ou morfologias irregulares devem ser excluídos da análise (42).

Uma vez marcados os PAFMIs, é possível calcular a variação dos intervalos inter-potenciais de ação de duas ou mais fibras musculares da mesma

unidade motora, que é quantificada de forma digital por meio da medida conhecida por MCD (*mean consecutive difference*), aferida em  $\mu\text{s}$ . Quando o MCD está aumentado, isso equivale dizer que o paciente tem um *jitter* aumentado, ou seja, que há uma variabilidade anormal no tempo de despolarização de duas fibras de uma mesma unidade motora, e isso individualmente é um achado de alta sensibilidade para o comprometimento da JNM (51).

O MCD tem seu valor máximo normal padronizado para cada músculo e valores de referência para os músculos frontal e orbicular dos olhos foram validados e publicados recentemente em grande estudo colaborativo internacional (42). O MCD é anormal no músculo *Orbicularis Oculi* quando apresenta *jitter*  $> 45 \mu\text{s}$  para um par individual. A presença de mais de 10% dos pares com *jitter*  $> 45 \mu\text{s}$  indica um exame alterado. Um *jitter* médio  $> 31 \mu\text{s}$  também é outro indicador de EMGFU-AC anormal no músculo *Orbicularis Oculi* (42).

Para ajuste das médias dos pares amostrados, aqueles pares com MCD  $> 150 \mu\text{s}$  devem ser fixados em  $150 \mu\text{s}$  para evitar o efeito da função de recuperação de velocidade (*velocity recovery function* – (VRF)), produzido por bloqueio de impulso, geralmente quando o *jitter* é muito elevado (46).

Quando três ou mais PAFMIs são obtidos, todos os valores de MCD entre eles podem ser aceitos caso seus valores individuais estejam normais para o músculo escolhido. Se o *jitter* for anormal em mais de um dos pares de PAFMIs obtidos, seleciona-se apenas aquele com o menor valor absoluto do *jitter* (em

MCD), para evitar uma contribuição amostral anormal e excessiva daquela placa neuromuscular alterada (34).

Com essa técnica, por protocolo, é necessário testar e comparar no mínimo 20 pares de PAFMIs, com pelo menos 50 traçados por par, obtidos em 3-4 inserções na pele, para análise de diferentes placas neuromusculares com objetivo de afastar de forma segura um distúrbio de junção neuromuscular (34). Entretanto, para minimizar o tempo e desconforto do exame, e diminuir a quantidade de pares necessários, alguns trabalhos demonstraram, por meio de ensaios clínicos com testes de futilidade, que o estudo pode ser interrompido no 12º par (e não no 20º), caso todos os pares de PAFMIs avaliados sejam individualmente normais. Nesse cenário, caso haja apenas um valor de *jitter* alterado, o teste poderia ser interrompido no 17º par, reduzindo o tempo total de exame em 15-40% (52).

Mesmo seguindo todos os critérios de qualidade para obtenção dos pares de PAFMIs, o exame de EMGFU, diferentemente do teste de ER, é um exame muito sensível, mas apresenta baixa especificidade para o diagnóstico de doenças da JNM, como MG ou SMC, podendo estar alterado em várias outras condições, nos quais não há sinal clínico de defeito primário da JNM (48, 53, 54).

Essa baixa especificidade deve-se ao fato de que mesmo o processo de reinervação crônica, por imaturidade da junção neuromuscular, pode alterar o *jitter* como em casos de doença do neurônio motor (55), polineuropatias desmielinizantes (56) e neuropatia motora multifocal (57). Outras condições que podem alterar o *jitter* são as miopatias crônicas (58), sendo particularmente notáveis os exemplos das MCE (48, 59-61) e da OEPC (53, 54, 62, 63).

OEPC compreende um grupo de doenças sistêmicas por defeito da função mitocondrial, que costumam evoluir com leve fraqueza muscular generalizada, queda palpebral e oftalmoparesia progressiva na idade adulta, com herança autossômica ou mitocondrial, geralmente com manifestação de uma oftalmoparesia externa progressiva e crônica. A presença de alterações histológicas no metabolismo mitocondrial, como achado de fibras rasgadas vermelhas, fibras Cox-negativo e/ou fibras SDH-positivo na lâmina de músculo determina o diagnóstico (53). Alguns estudos inclusive já haviam apontado que a EMGFU não seria capaz de diferenciar a MG de OEPC, uma vez que o *jitter* poderia estar aumentado em ambas as condições de forma indistinguível (54).

As MCE compreendem um grupo heterogêneo clínico, histopatológico e genético de doenças musculares hereditárias raras que são definidas por anormalidades arquiteturais nas fibras musculares, sem aspecto distrófico na biópsia muscular, sendo assim distinguidas das distrofias musculares congênitas (64). São subdivididas pela alteração patológica estrutural predominante na biópsia muscular, resultando em cinco subgrupos: miopatias central core; miopatias nemalínicas; miopatias centronucleares; miopatia com desproporção congênita de fibras (DCF) e miopatia de armazenamento de miosina. Além das características clínicas, biópsia muscular, imagem muscular e análises genéticas são essenciais no diagnóstico de miopatias congênitas (23). Em geral, os sintomas se manifestam desde a infância com fraqueza muscular, podendo ou não causar queda palpebral e oftalmoparesia, sendo um claro diagnóstico diferencial importante das SMC.

Usando técnicas de sequenciamento de última geração, um grande número de novos genes está sendo identificado como causa de MCE, bem como novas mutações em genes conhecidos, ampliando o espectro fenótipo-genótipo das miopatias congênitas.

Por exemplo, no grupo das MCE, as miopatias congênitas do núcleo (core) são caracterizadas por apresentar hipotonia ou fraqueza muscular difusa, com predomínio proximal, desde o nascimento ou nos primeiros anos de vidas e podem ser diagnosticadas por biópsia muscular mostrando atividade enzimática oxidativa focalmente reduzida e suas subclassificações incluem a miopatia central core e a miopatia multiminicore.

Embora a miopatia relacionada a mutação no gene da Rianodina (RYR1) seja a miopatia do core mais comum, um número crescente de outros genes causadores foi relatado, incluindo *SELENON*, *MYH2*, *MYH7*, *TTN*, *CCDC78*, *UNC45B*, *ACTN2*, *MEGF10*, *CFL2*, *KBTBD13* e *TRIP4*. Além disso, os genes originalmente relatados como causadores da miopatia nemalínica, ou seja, *ACTA1*, *NEB* e *TNNT1*, também foram recentemente associados a miopatias do core (65). Esse intercâmbio clínico e genético torna ainda mais complexo o entendimento das MCE.

Demonstrou-se, por exemplo, que anormalidades no *jitter* observadas em pacientes com MCE e mutações do gene RYR1 poderiam ser um preditor de resposta satisfatória ao tratamento com piridostigmina (66). Sugere-se também a possibilidade de síndromes de superposição entre pacientes com MCE e SMC, com mutações (*BIN1*, *DES*, *DNM2*, *GMPPB*, *MTM1* e *PLEC*) que podem causar

fenótipos intermediários (48) e responsáveis a tratamento medicamentoso sintomático, o que em geral não é usual em pacientes com MCE.

Assim, fica evidente que as técnicas neurofisiológicas de ER e EMGFU-AC são ferramentas úteis para demonstrar defeitos primários de transmissão neuromuscular (4, 15, 17), ainda que apresentem particularidades em termos de especificidade e sensibilidade.

Estudos como este expandem ainda mais a função da neurofisiologia na prática das doenças neuromusculares, inferindo que a pesquisa ativa de sinais de disfunção neurofisiológica da JNM pode ajudar a direcionar o diagnóstico e até perfil terapêutico de alguns pacientes. Além disso, não foi relatada na literatura comparação completa entre pacientes com SMC, OEPC e MCE utilizando análise de *jitter* com EAC sob ativação voluntária.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

Analisar e mensurar anormalidades da ER e EMGFU-AC para avaliação de distúrbios funcionais da JNM em grupos de pacientes com diagnóstico de SMC, OEPC e MCE e indivíduos sem anormalidades neuromusculares clinicamente definidas, com a finalidade de avaliar a acurácia dos métodos diagnósticos neurofisiológicos.

### 2.2. Objetivo Específico

Por meio da análise de curvas ROC, analisar diferentes valores de corte para média do *jitter* e para percentual de pares com *jitter* anormal na EMGFU-AC, com objetivo de alcançar maior especificidade para o diagnóstico de SMC na amostra analisada.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Seleção dos pacientes

Foram selecionados 59 pacientes com diagnóstico de SMC (n=21), OEPC (n=20) ou MCE (n=18), em acompanhamento no ambulatório de doenças neuromusculares da Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Também foram incluídos no estudo como controles quatorze (n=14) voluntários sem queixas de fraqueza muscular ou qualquer outro sinal que pudesse sugerir doença neurológica ou neuromuscular em atividade.

O diagnóstico de SMC foi definido pela análise genética em pacientes com suspeita clínica. Da nossa série, a distribuição do perfil genético se deu da seguinte maneira: mutação no gene *CHRNE* (n=13), mutação no gene *RAPSN* (n=3), mutação no gene *COLQ* (n=2), mutação no gene *DOK-7* (n=2) e mutação no gene *COL13A1* (n=1).

Todos os pacientes com OEPC apresentaram confirmação de MM por meio da biópsia muscular com achados compatíveis com doença mitocondrial, como presença de fibras rasgadas vermelhas e aumento da frequência de fibras COX negativas acima do esperado para a idade.

Os pacientes com MCE apresentaram fraqueza de início infantil e foram classificados de acordo com padrões histológicos observados na biópsia muscular: centronuclear (6 pacientes), multiminicore (5 pacientes), nemalínica (3



pacientes), central core (2 pacientes) e DCF (2 pacientes). Nove pacientes do grupo MCE tiveram alterações genéticas documentadas: mutação no gene da Rianodina (RYR1) em cinco pacientes; mutação o gene da *NEB* (Nebulina) em dois pacientes; e mutação o gene da *TTN* (Titina) em dois pacientes. Catorze indivíduos saudáveis foram selecionados como controles, pareados por idade.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas (HC-FMUSP) (CAPPesq - 85 CAAE nº 77169517.5.0000.0068). Todos os pacientes forneceram consentimentos informados por escrito (Anexo A) e foram submetidos a detalhada avaliação clínica e neurofisiológica (Anexo B).

### 3.2. Critérios de inclusão

- ✓ Pacientes com quadro clínico sugestivo (queda palpebral, oftalmoparesia, alterações osteoesqueléticas, sintomatologia que flutua durante o dia, e fadigabilidade) e diagnóstico molecular confirmando SMC;
- ✓ Pacientes com fenótipo típico de OEPC (queda palpebral, oftalmoparesia ou oftamoplegia, com ou em fraqueza muscular apendicular) e diagnóstico histológico com achados compatíveis com MM;
- ✓ Pacientes com fenótipo de miopatia congênita, com alterações estruturais específicas na biopsia muscular (bastões nemalínicos, centralização nuclear, *core*, DCF);
- ✓ Voluntários saudáveis (controles), sem parestesco com os pacientes estudados, pareados por idade com os casos acima com ENMG normal e ausência de sinais e sintomas clínicos de doença neuromuscular, sem uso

prévio de toxina botulínica, sem uso corrente de drogas que interferem na JNM, sem história familiar de qualquer tipo de fraqueza atribuível a doença neuromuscular.

### 3.3 Critérios de exclusão

- ✓ Pacientes portadores de outras doenças neuromusculares, incluindo aqueles com distrofia muscular definida, MG autoimune com confirmação sorológica, polineuropatia ou doença do neurônio motor de qualquer etiologia (fator confundidor para interpretação da eletromiografia de fibra única). Por este motivo, todos pacientes foram submetidos a estudo de condução motora e sensitiva e ENMG convencional antes dos testes de ER e EMGFU-AC;
- ✓ Pacientes em uso qualquer medicação que pudesse afetar a JNM tais como relaxantes musculares, betabloqueadores, toxina botulínica, exposição a agrotóxicos;
- ✓ Pacientes com sinais de denervação muscular (fibrilações ou ondas positivas) na eletromiografia de face (fator confundidor para interpretação da eletromiografia de fibra única);
- ✓ Reação positiva para anticorpos anti-receptores de acetilcolina (anti-AChR) ou anti- anti-tirokinase músculo específica (anti-MuSK);
- ✓ Vale reforçar que pacientes em uso de antagonistas da acetilcolinesterase (piridostigmina, por exemplo) tiveram seu uso interrompido no mínimo 24h antes da data da realização dos testes neurofisiológicos.

### **3.4 Biópsia muscular**

Todos os pacientes dos grupos OEPC e MCE tiveram seu diagnóstico baseado na análise histológica muscular. As lâminas estocadas foram revisadas por uma banca especializada supervisionada pelo Dr. Edmar Zanoteli, Chefe do Ambulatório de Miopatias do Departamento de Neurologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (USP-SP).

Todos os pacientes com MM apresentavam o fenótipo clínico de OEPC e tiveram confirmação por biópsia muscular indicada pela presença de fibras rasgadas vermelhas (tricroômio de Gomori modificado), fibras rasgadas azuis (succinato desidrogenase) e ausência de atividade do citocromo c oxidase (fibras COX-negativas) em percentual acima do que esperado para a idade (67).

Os pacientes com MCE apresentaram fraqueza de início infantil (antes dos dois anos de idade) e foram classificados de acordo com os padrões histológicos/histoquímicos da biópsia muscular, conforme parâmetros bem definidos na literatura (64, 68-70).

### **3.5 Análise genética**

Todos os pacientes do grupo SMC e alguns pacientes do grupo MCE tiveram seus diagnósticos confirmados geneticamente.

O diagnóstico de SMC foi definido pela análise genética em pacientes com suspeita clínica. Inicialmente, nosso protocolo consistiu na pesquisa das mutações mais comuns nos três genes mais relacionados a SMC no Brasil

(c.130dupG em *CHRNE*, p.N88K em *RAPSN* e c.1124\_1127dupTGCC em *DOK-7*), o que pode levar a um diagnóstico molecular de SMC em mais de 60% dos casos (16, 71).

Assim, os pacientes sob suspeita de SMC foram submetidos a PCR Sanger para a pesquisa da variante mais comum *CHRNE* (c.130dupG). Em caso de resultados negativos, foram submetidos ao estudo de PCR Sanger para a pesquisa das variantes *RAPSN* (N88K) e *DOK-7* (c.1124\_1127dupTGCC).

Por fim, os casos negativos para os três testes supracitados foram submetidos ao estudo do exoma por meio da técnica de sequenciamento de nova geração.

Da nossa série, a distribuição do perfil genético se deu da seguinte maneira: mutação no gene *CHRNE* (n=13), mutação no gene *RAPSN* (n=3), mutação no gene *COLQ* (n=2), mutação no gene *DOK-7* (n=2) e mutação no gene *COL13A1* (n=1).

Por fim, nove pacientes do grupo MCE tiveram confirmação genética por meio de estudo do exoma, cuja distribuição ficou da seguinte forma: mutação no gene da *RYR1* em cinco pacientes; mutação o gene da *NEB* em dois pacientes; e mutação o gene da *TTN* em dois pacientes.

### **3.6. Dosagem de auto-anticorpos**

Nos casos de pacientes com OEPC confirmada por biópsia com EMGFU-AC anormal, foi realizada dosagem do anticorpo anti-receptor de acetilcolina (AChR) e o anticorpo contra o receptor tirosina quinase músculo-específica (anti-

MuSK). A finalidade dessa dosagem foi descartar a possibilidade de dupla patologia e garantir que o *jitter* estivesse alterado pela doença de base e não por uma comorbidade associada, como MG autoimune. Cinco pacientes tiveram indicação desta testagem, financiada em parceria com o Laboratório Fleury Medicina e Saúde em São Paulo - SP.

### **3.7. Eletroneuromiografia (ENMG) convencional**

Pacientes novos no ambulatório e que se encaixavam nos critérios de inclusão do presente estudo foram submetidos ao estudo neurofisiológico convencional (neurocondução e eletromiografia dos quatro membros e face) após assinar o termo de consentimento informado (Anexo A).

Em caso de recusa na participação do estudo, o exame foi realizado de forma independente, sem prejudicar o seguimento clínico do mesmo, com a exclusão do paciente do trabalho.

O exame de ENMG foi realizado pelo autor principal do estudo (Dr Vitor Marques Caldas), sob a supervisão do Dr. Carlos Otto Heise (Chefe do Setor de Eletroneuromiografia do Departamento de Neurologia do HCFMUSP-SP e coorientador do trabalho). O mesmo eletromiógrafo KeypointNet (Medtronic, Skovlunde, Denmark) foi utilizado em todos os pacientes e controles estudados.

Todos os pacientes inicialmente foram submetidos ao estudo de neurocondução convencional, sendo realizado estudo de condução nervosa motora dos nervos faciais, medianos, ulnares, tibiais e fibulares; estudo de condução nervosa sensitiva dos nervos medianos, ulnares, radiais, fibulares e tibiais; estudo das ondas F nos nervos ulnares e tibiais e do reflexo H nos nervos

tibiais. Essa avaliação meticulosa permitiu excluir para investigação da presença ou não de polineuropatia. Pacientes com polineuropatia foram imediatamente excluídos do estudo.

Após estes testes iniciais, todos os pacientes foram submetidos a eletromiografia em músculos faciais e proximais e distais dos quatro membros. Pacientes com sinais de denervação (fibrilações e ondas positivas) nos músculos faciais que pudessem prejudicar a interpretação da análise do *jitter* foram excluídos da sequência do estudo.

Paciente que já tinham ENMG convencional previamente realizada, tiveram seus exames revisados, e foram reconvocados apenas para os testes neurofisiológicos subsequentes, após assinar o termo de consentimento informado (Anexo A).

Assim, indivíduos com suspeita neurofisiológica de síndrome de Lambert-Eaton, doença do neurônio motor, radiculopatia cervical e lombossacral, polirradiculoneuropatia, neuropatias compressivas ou polineuropatia foram excluídos do estudo, o que nos permitiu selecionar pacientes sem outras comorbidades neuromusculares como fatores de confusão diagnóstica.

### **3.8 Estimulação Repetitiva (ER)**

Todos os estudos neurofisiológicos foram realizados no mesmo aparelho, KeypointNet (Medtronic, Skovlunde, Denmark).

A estimulação repetitiva (ER) na frequência de 3Hz de estimulação foi realizada nos nervos facial (músculos *Nasalis* e *Orbicularis Oculi*), acessório

(músculo *Trapezius*), axilar (músculo *Deltoideus*), ulnar (músculo *Abductor Digitorum Minimi*) e peroneiro profundo (músculo *Tibialis Anterior*).

Os parâmetros técnicos estabelecidos em nosso serviço para esta técnica são: banda de filtros entre 2Hz e 10.000Hz; varredura de tela de 2ms; sensibilidade de 5mV; duração do estímulo de 0,2-0,5ms, intensidade do estímulo: estimulação neural supramáxima (10 a 20% acima do nível de intensidade necessário para uma resposta máxima); número mínimo de estímulos: seis.

Considerou-se para fins de análise a comparação das respostas decrementais do quarto potencial obtido em relação ao potencial basal, sendo apontados como alterados os músculos com decremento superior a 10% da amplitude basal.

De modo geral, os músculos foram testados com o paciente em repouso, sob imobilização para evitar artefatos de contaminação das respostas aferidas. Antes dos testes, todos os pacientes tiveram as temperaturas cutâneas aferidas, sendo realizado aquecimento do membro testado até temperatura  $>32^{\circ}\text{C}$ .

Especificamente para o músculo *Abductor Digitorum Minimi* realizou-se também um protocolo de estimulação em repouso e após a esforço muscular por um minuto. Foram obtidas as respostas basal e após esforço muscular de um min, e após dois minutos em repouso, com o objetivo de investigar o efeito da facilitação do decremento após contração muscular.

### 3.9 Eletromiografia de Fibra Única com Agulha Concêntrica (EMGFU-AC)

A análise do *jitter* foi realizada em todos os pacientes com uso de EAC de 30G descartável (diâmetro de 0,30mm, área de captação 0,031mm<sup>2</sup>, TE/B50600-006, Maastricht, Netherlands) e a obtenção dos pares foi realizado por contração muscular voluntária do músculo *Orbicularis Oculi* do lado mais sintomático, em caso de queda palpebral ou oftalmoparesia.

Decidiu-se por realizar o estudo em apenas um músculo a fim maximizar a tolerância dos pacientes e escolhemos justamente o músculo *Orbicularis Oculi* devido a à sua alta sensibilidade na análise do *jitter* em outras séries de casos (72, 73)

O estudo foi realizado com o paciente confortavelmente deitado em uma maca. Foi realizada a inserção da agulha no músculo *Orbicularis Oculi* a uma distância aproximada de 1cm a 2cm do epicanto lateral do olho, em um raio de até 2cm. O registro dos PAFMIs foi feito pela técnica de ativação voluntária. Movimentos sutis para reposicionamento da agulha foram realizados nas tentativas de identificação dos PAFMIs.

A EMGFU-AC foi realizada pelo autor com supervisão e ajuda de seu coorientador, Dr. Carlos Otto Heise. Todos os registros obtidos foram posteriormente revisados e editados, quando necessário, pelo próprio Dr. Carlos Otto Heise, permitindo a adequada seleção dos pares de PAFMIs.

O filtro foi definido em 1 kHz/10Hz para suprimir a atividade de fibras musculares distantes (33). Os picos tiveram a mesma morfologia em descargas consecutivas e não tinham entalhe. Ligeira variação de amplitude entre os picos foi tolerada.



Para evitar o efeito da função de recuperação de velocidade (VRF), não foi aceito um intervalo inter-potencial acima de 4ms. A variação temporal da amplitude máxima foi utilizada para medir o *jitter* em MCD em pelo menos 50 pares de PAFMIs (idealmente 100 pares) em cada registro. O pico de amplitude mais alto foi definido como potencial do gatilho (*Trigger potential*).

Quando a razão entre o MCD e o MSD (*mean sorted difference*) foi superior a 1,25, usamos o valor da MSD em vez da MCD para evitar o efeito VRF devido a taxa de disparo muscular irregular.

O pico de gatilho (*triggering spike*) foi selecionado para sinais com três ou mais picos para dar o menor *jitter* somado para o complexo (50). Os valores de *jitter* superiores a 150  $\mu$ s foram fixados em 150  $\mu$ s para minimizar o efeito do VRF induzido pelo bloqueio de impulso (46).

Os resultados da EMGFU-AC foram considerados anormais quando o *jitter* médio foi superior a 31  $\mu$ s ou quando mais de 10% dos pares individuais tiveram *jitter* individual superior a 45  $\mu$ s (42).

### 3.10 Desenho de estudo

Estudo clínico retrospectivo (revisão de dados de exames já realizados previamente) e prospectivo (revisão e coleta de dados de exames a serem realizados pelos pesquisadores envolvidos).

### 3.11 Avaliação estatística

Para análise dos dados demográficos, as associações entre as variáveis qualitativas foram verificadas através do teste exato de qui-quadrado de Pearson. Nos casos em que as associações se mostraram significativas, uma análise de resíduo padronizada foi empregada. Valores de resíduos padronizados maiores ou menores do que dois foram considerados estatisticamente significativos. Os valores médios da idade entre grupos foram comparadas com uso de ANOVA e empregando-se correção de Bonferroni nas comparações múltiplas.

Comparações entre grupos para os valores do decremento percentual em diversos músculos foram realizadas empregando-se o teste ANOVA para aquelas variáveis que apresentavam em cada grupo distribuição gaussiana. Para aquelas que não apresentavam distribuição gaussiana em cada grupo empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Comparações múltiplas duas a duas foram realizadas empregando-se a correção de Bonferroni ou teste de Dwass, Steel, Critchlow-Fligner.

Modelos de efeitos mistos com matriz de variância e covariância não estruturada foram utilizados para se comparar os valores das medidas de ER do músculo *Abductor Digiti Minimi* entre pacientes dos grupos SMC, OEPC e MCE e indivíduos controles, ao longo do tempo de acompanhamento. Comparações múltiplas foram ajustadas com correção de Bonferroni.

Foram utilizadas as seguintes estatísticas descritivas para calcular o *jitter* médio, a porcentagem individual de *jitter* anormal e a porcentagem de bloqueio de impulso: desvio médio e padrão para distribuição normal ou gaussiana e

mediana ou percentual para distribuição não normal. Para estudo de normalidade foi utilizado o teste Anderson-Darling.

O teste t de Student foi utilizado para comparar variáveis paramétricas com significância de 0,05. As variáveis não paramétricas foram comparadas utilizando-se o teste de Mann-Whitney (U-test) para verificar a igualdade das medianas.

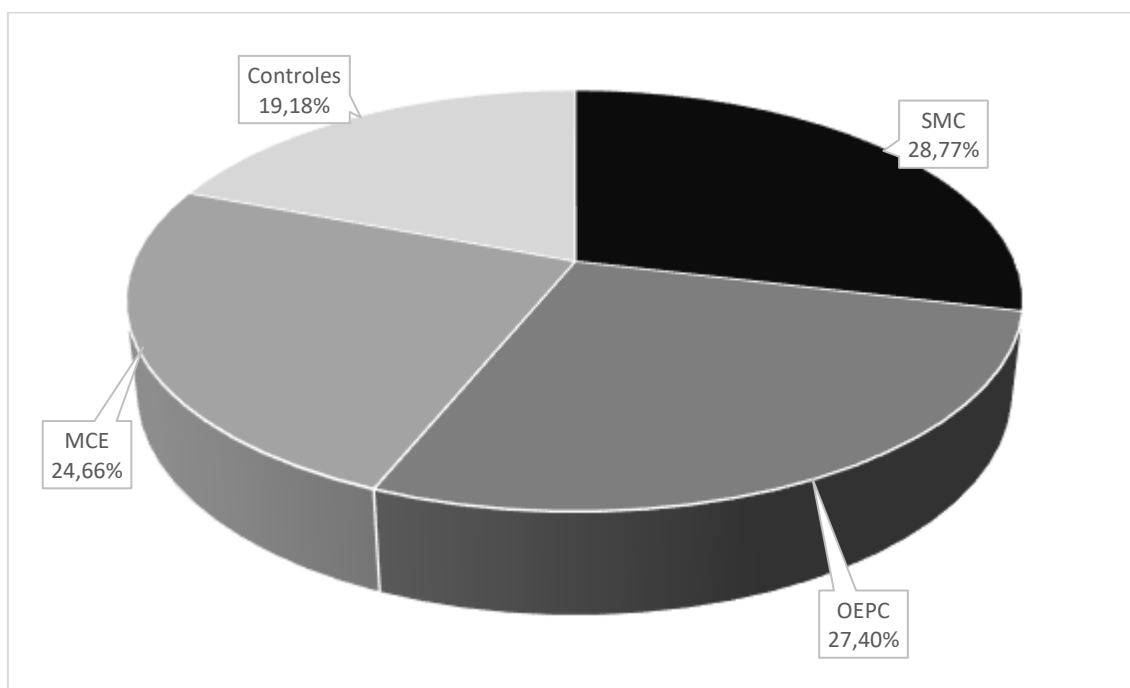
A sensibilidade e a especificidade foram calculadas para vários valores de corte para pares anormais e o *jitter* médio a fim de gerar a curva para as características operacionais do receptor (ROC).

Considerou-se significativo valor de  $p < 0,05$ . Empregou-se o programa SAS 9.4.

## 4 Resultados

### 4.1. Dados Clínicos e Demográficos

Ao todo, 73 pacientes ou voluntários saudáveis foram incluídos no estudo, sendo 21 pacientes (29% da amostra total) com diagnóstico genético confirmado de SMC, 20 pacientes com fenótipo de OEPC e diagnóstico histológico confirmado de MM (27%), 18 pacientes com fenótipo e diagnóstico histológico confirmado de MCE (25 %) e 14 voluntários saudáveis (19%), usados no grupo controle (Figura 2).

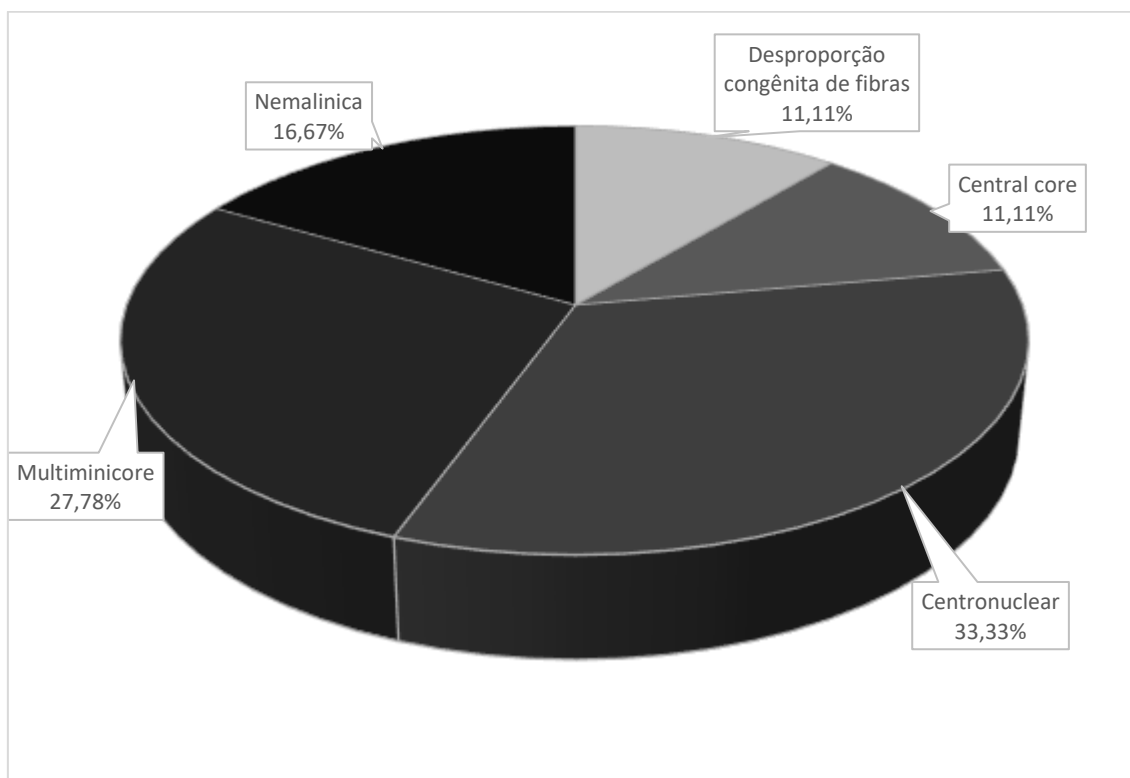


SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 2** – Distribuição dos pacientes por grupos (SMC, OEPC, MCE, controles)

Todos os pacientes nos grupos OEPC apresentaram achados histológicos compatíveis com MM, como presença de fibras rasgadas vermelhas (Gomori-Trichrome modificado), fibras rasgadas azuis (succinato desidrogenase) e ausência de atividade da citocromo C oxidase (fibras COX-negativas) em percentual maior do que esperado para a idade.

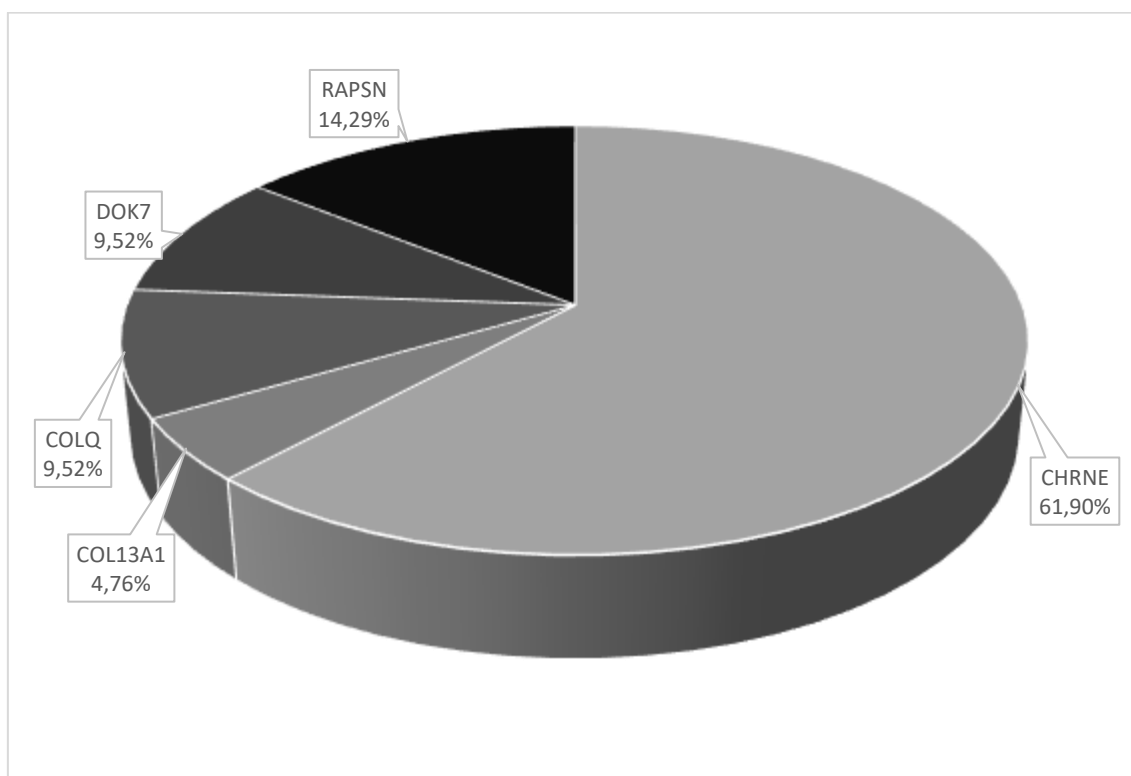
De forma similar, todos os pacientes do grupo MCE tiveram seus diagnósticos confirmados por meio da biópsia muscular, sendo classificados de acordo com seus padrões histológicos: miopatia centronuclear (6 casos; 33,3%); miopatia multiminicore (5 casos; 27,8%); miopatia nemalíca (3 casos; 16,7%); miopatia central core (2 casos; 11,1%); DCF (2 casos; 11,1%), conforme apresentado na Figura 3.



MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 3** – Distribuição da análise histológica nos pacientes com MCE

Com relação à análise molecular, todos os pacientes com SMC apresentaram confirmação molecular da doença. A mutação no gene *CHRNE* foi aquela com maior frequência na nossa amostra (61,9%), seguido da mutação nos genes *RAPSN* (14,3%), *DOK-7* (9,5%), *COLQ* (9,5%) e *COL13A1* (4,8%), conforme apresentado na Figura 4.

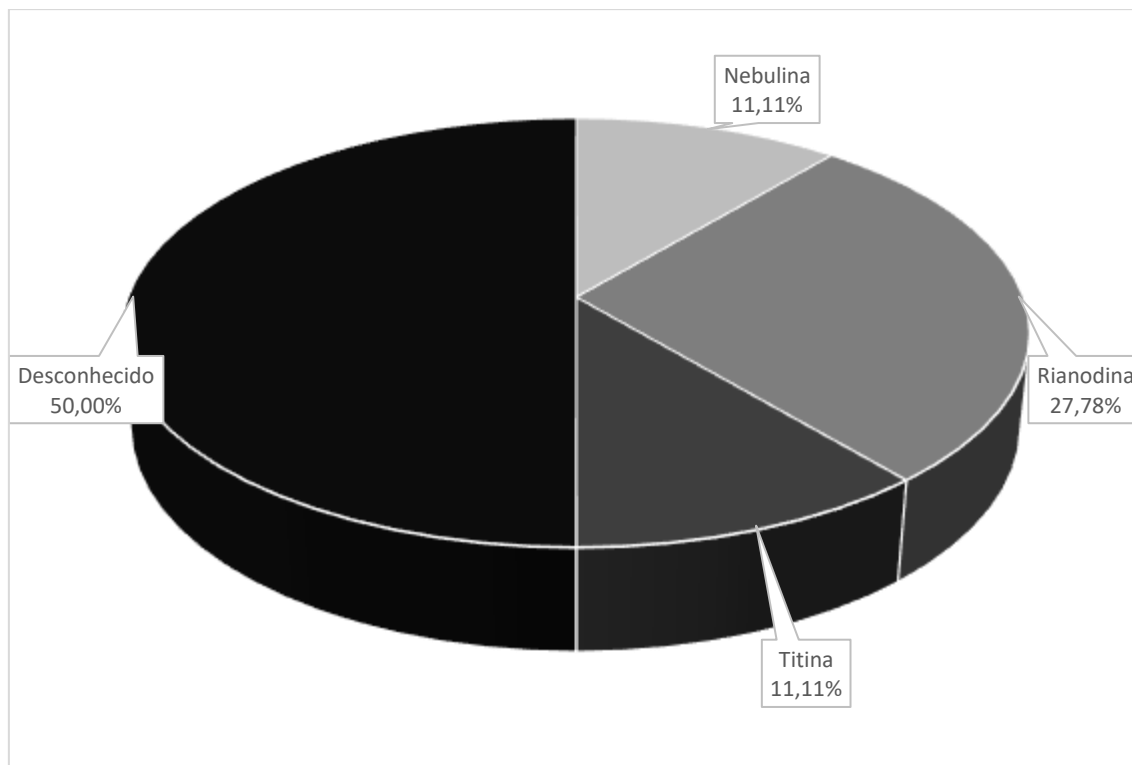


SMC=Síndromes miastênicas congênitas

**Figura 4** – Distribuição da análise molecular nos pacientes com SMC

Apenas 50% dos pacientes do grupo MCE apresentaram confirmação molecular genética do seu diagnóstico. A mutação no gene da *RYR1* foi aquela com maior frequência na nossa amostra (27,8%), seguido da mutação nos genes

da NEM (11,1%) e da TIT (11,1%) na Figura 5. Os pacientes do grupo OEPC e controle não foram submetidos a análise molecular.

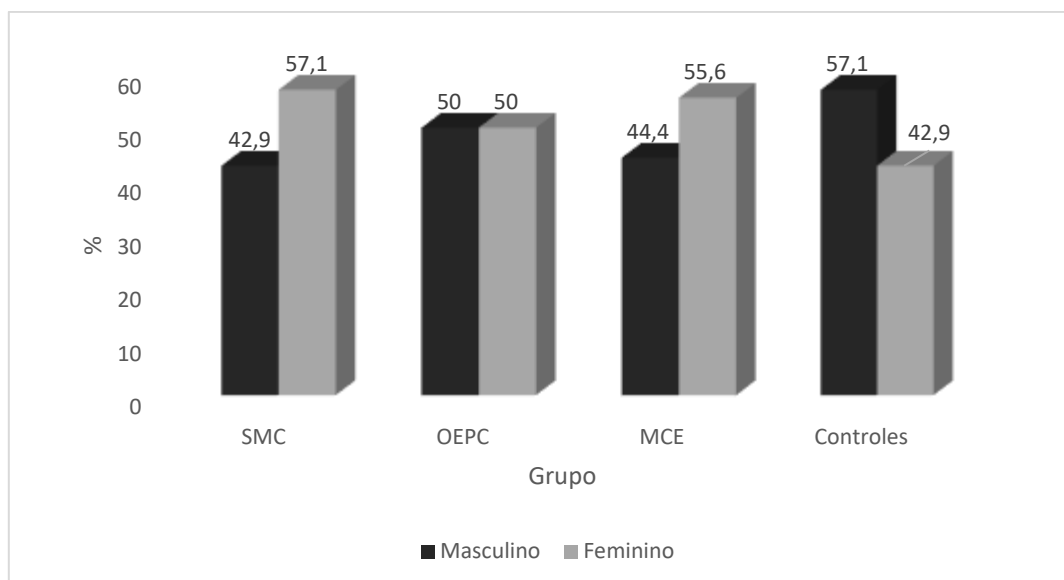


MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 5** – Distribuição da análise molecular nos pacientes com MCE

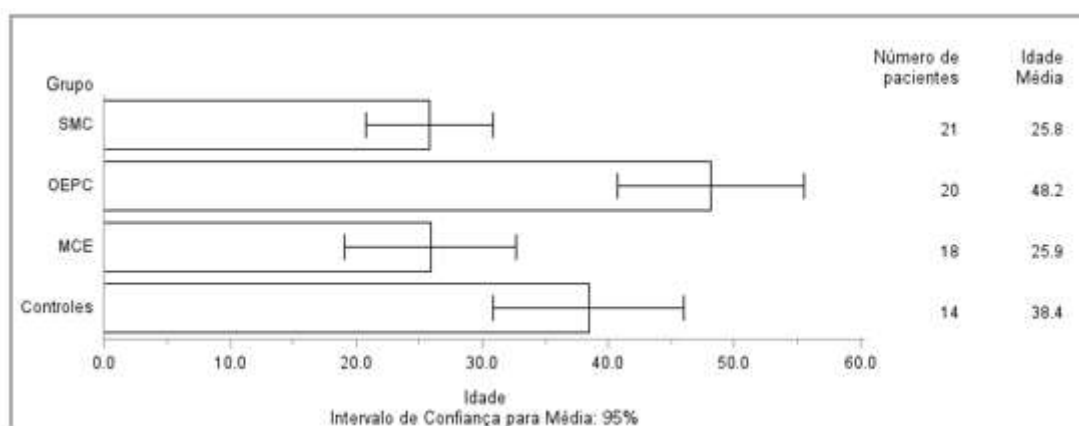
Os principais achados clínicos dos pacientes e dos indivíduos normais (controles) estão apresentados na Tabela 1.

Pode-se observar que houve uma distribuição uniforme de gênero entre os grupos (Figura 6), não apresentando diferença significativa entre eles ( $p = 0,8460$ ). Com relação à idade, os pacientes com OEPC foram significativamente mais velhos do que os pacientes com SMC ou MCE e os controles ( $p < 0,0001$ ). Os pacientes com SMC e MCE tiveram idades médias semelhantes entre si, conforme pode-se observar na Figura 7.



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 6** – Distribuição dos pacientes segundo o gênero por grupos



**Figura 7** – Média da idade por grupo e respectivos intervalos de 95 % de confiança



**Tabela 1** - Distribuição de variáveis demográficas e clínicas por grupo (SMC, OEPC, MCE e controles)

Variáveis	SMC	OEPC	MCE	Controles	p-valor
<b>Número de pacientes</b>	21	20	18	14	
<b>Idade</b>	25,8 ± 11,0	48,1 ± 15,8	25,9 ± 13,7	38,4 ± 13,1	< 0,0001
<b>Sexo</b>					0,8460
Masculino	9 (42,9)	10 (50,0)	8 (44,4)	8 (57,1)	
Feminino	12 (57,1)	10 (50,0)	10 (55,6)	6 (42,9)	
<b>Queda Palpebral</b>					< 0,0001
Ausente	1 (4,8)	0	15 (83,3)	14 (100,0)	
Assimétrica	2 (9,5)	12 (60,0)	0	0	
Simétrica	18 (85,7)	8 (40,0)	3 (16,7)	0	
<b>Oftalmoparesia</b>					< 0,0001
Ausente	4 (19,0)	1 (5,0)	15 (83,3)	14 (100)	
Moderada	17 (81,0)	7 (35,0)	3 (16,7)	0	
Acentuada (Oftalmoplegia)	0	12 (60,0)	0	0	
<b>Fraqueza Muscular Permanente</b>					< 0,0001
Ausente	10 (47,6)	8 (40,0)	0 (0,0)	14 (100,0)	
Presente	11 (52,4)	12 (60,0)	18 (100,0)	0 (0,0)	
<b>Fraqueza Muscular Flutuante</b>					< 0,0001
Ausente	1 (4,8)	20 (100,0)	18 (100,0)	14 (100,0)	
Presente	20 (95,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
<b>História Familiar*</b>					0,0026
Negativa	10 (47,6)	17 (85,0)	12 (66,7)	14 (100,0)	
Positiva	11 (52,4)	3 (15,0)	6 (33,3)	0 (0,0)	0,0010
<b>Anti AChR</b>					
Negativo	0 (0,0)	6 (30,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Não Colhido	21 (100,0)	14 (70,0)	18 (100,0)	14 (100,0)	
<b>Anti MuSK</b>					0,0017
Negativo	0 (0,0)	5 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Não Colhido	21 (100,0)	15 (75,0)	18 (100,0)	14 (100,0)	
<b>Resposta a anticolinesterásico</b>					<0,005
Negativa	7 (33,3)	5 (25,0)	3 (14,3)	0 (0,0)	
Positiva	14 (66,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Não Testado	0 (0,0)	15 (75,0)	15 (83,3)	14 (100,0)	

SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

Os pacientes com SMC apresentaram uma frequência significativamente maior de fraqueza muscular com flutuação de sintomas, queda palpebral simétrica e oftalmoparesia leve a moderada do que os demais grupos (Tabela 1). Vale ressaltar que 52% destes pacientes também apresentaram também fraqueza muscular escapular permanente, especialmente naqueles com as mutações nos genes *RAPSN*, *DOK-7* e *COLQ*, conforme melhor observado na Tabela 2.

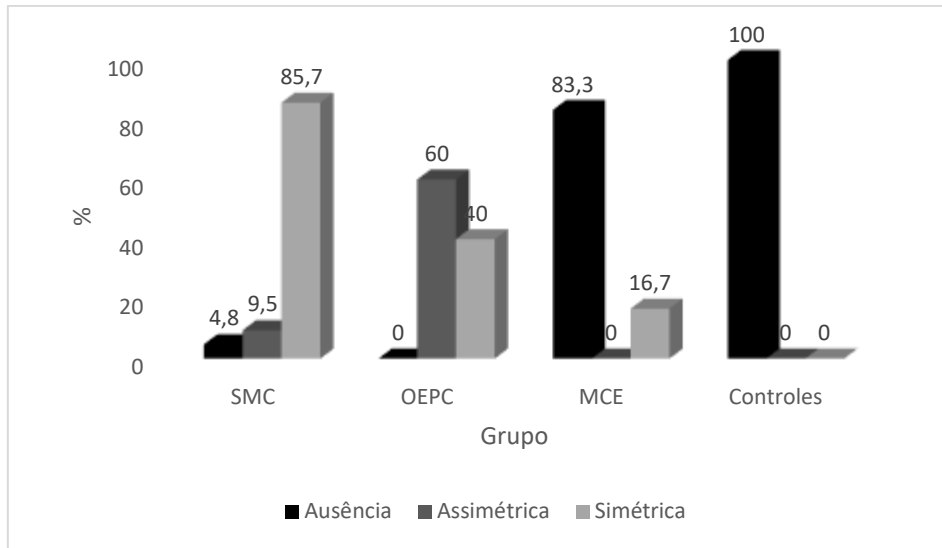
**Tabela 2** - Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com SMC

Variáveis	CHRNE	RAPSN	DoK-7	COLQ	COL13A1
<b>Número de pacientes</b>	13	3	2	2	1
<b>Idade</b>	23,0 ± 9,9	25,0 ± 18,2	32,5 ± 10,6	36,5 ± 4,9	30,0
<b>Sexo</b>					
Masculino	5 (38,5)	1 (33,3)	1 (50,0)	1 (50,0)	1 (100,0)
Feminino	8 (61,5)	2 (66,7)	1 (50,0)	1 (50,0)	0 (0,0)
<b>Queda Palpebral</b>					
Ausente	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Assimétrica	0 (0,0)	1 (33,3)	0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)
Simétrica	13 (100,0)	2 (66,7)	1 (50,0)	1 (50,0)	1 (100,0)
<b>Oftalmoparesia</b>					
Ausente	0 (0,0)	1 (33,3)	2 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)
Moderada	13 (100,0)	2 (66,7)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)
Acentuada (Oftalmoplegia)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>Fraqueza Muscular Permanente</b>					
Ausente	10 (76,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Presente	3 (23,1)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
<b>Fraqueza Muscular Flutuante</b>					
Ausente	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Presente	13 (100,0)	3 (100,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
<b>História Familiar</b>					
Negativa	5 (38,5)	3 (100,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Positiva	8 (61,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
<b>Anti AChR</b>					
Negativo	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Não Colhido	13 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
<b>Anti MuSK</b>					
Negativo	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Não Colhido	13 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
<b>Resposta a anticolinesterásico</b>					
Negativa	0 (0,0)	3 (100,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	1 (100,0)
Positiva	13 (100,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

SMC=Síndromes miastênicas congênitas

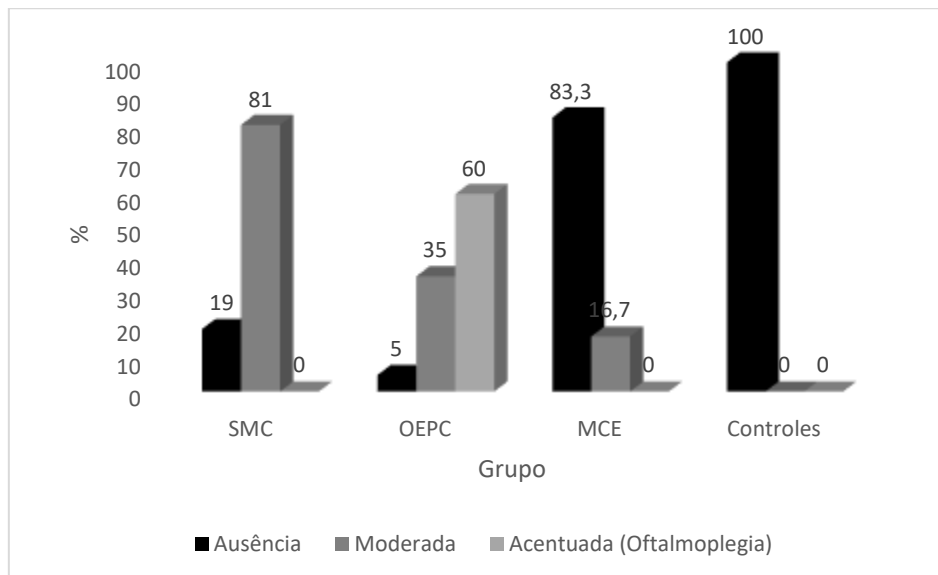
Os pacientes com OEPC apresentaram uma frequência significativamente maior de queda palpebral assimétrica, oftalmoparesia moderada a acentuada, inclusive com oftalmoplegia (Figuras 8 e 9), sem significativa flutuação de sintomas do que os demais grupos (Tabela 1).

Os pacientes com MCE apresentaram com achados mais comuns a presença de fraqueza apendicular proximal não flutuante, sem oftalmoparesia ou queda palpebral na maioria dos casos (Tabelas 1 e 3). Apenas quatro pacientes do grupo MCE apresentaram sintomas oculares associados, sempre com oftalmoparesia moderada (sem oftalmoplegia) e com queda palpebral simétrica (Figuras 8 e 9).



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 8** – Distribuição dos pacientes segundo o tipo de queda palpebral, por grupo



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 9** – Distribuição dos pacientes segundo a gravidade da oftalmoparesia por grupo

Considerando os subtipos de pacientes com MCE, com relação aos seus diagnósticos histológicos específicos, pode ser observado na Tabela 3, que os pacientes do grupo MCE do tipo centronuclear foram os que apresentaram maior proporção de queda palpebral simétrica, com oftalmoparesia moderada.

**Tabela 3** - Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com MCE

Variáveis	Centronuclear	Multiminicore	Nemalinica	Central core	DCF
<b>Número de pacientes</b>	6	5	3	2	2
<b>Idade</b>	29,7 ± 14,0	21,8 ± 6,9	37,3 ± 22,5	17,0 ± 2,8	16,5 ± 10,6
<b>Sexo</b>					
Masculino	2 (33,3)	4 (80,0)	1 (33,3)	1 (50,0)	0 (0,0)
Feminino	4 (66,7)	1 (20,0)	2 (66,7)	1 (50,0)	2 (100,0)
<b>Queda Palpebral</b>					
Ausente	4 (66,7)	4 (80,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)
Assimétrica	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Simétrica	2 (33,3)	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>Oftalmoparesia</b>					
Ausente	3 (50,0)	5 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)
Moderada	3 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Acentuada (Oftalmoplegia)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>Fraqueza Muscular Permanente</b>					
Ausente	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Presente	6 (100,0)	5 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)
<b>Fraqueza Muscular Flutuante</b>					
Ausente	6 (100,0)	5 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)
Presente	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>História Familiar*</b>					
Negativa	4 (66,7)	4 (80,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	1 (50,0)
Positiva	2 (33,3)	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)
<b>Resposta a anticolinesterásico</b>					
Negativa	2 (40,0)	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Positiva	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Não Testado	4 (60,0)	4 (80,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)

DCF=Desproporção congênita de fibras musculares

Considerando os achados moleculares de pacientes com MCE, pode ser observado na Tabela 4, que os pacientes com diagnóstico histológico desconhecido foram os pacientes com maior proporção de oftalmoparesia e queda palpebral.

**Tabela 4** - Distribuição de variáveis demográficas e clínicas nos pacientes com MCE

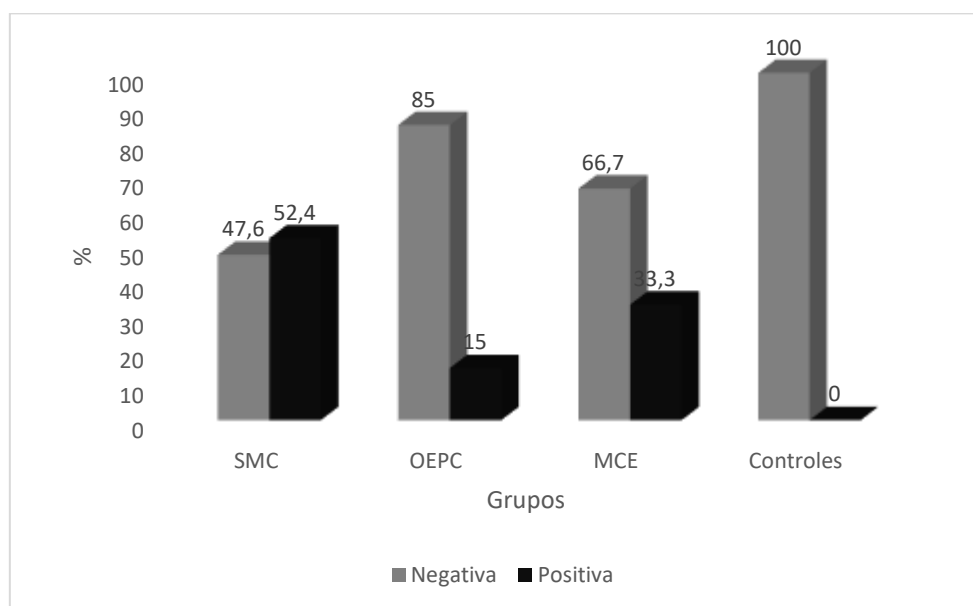
Variáveis	<i>RYR1</i>	<i>NEM</i>	<i>TTN</i>	Desconhecido
<b>Número de pacientes</b>	5	2	2	9
<b>Idade</b>	19,2 ± 7,3	28,5 ± 23,3	24,5 ± 12,0	29,3 ± 15,6
<b>Sexo</b>				
Masculino	3 (60,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	3 (33,3)
Feminino	2 (40,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	6 (66,7)
<b>Queda Palpebral</b>				
Ausente	4 (80,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	7 (77,8)
Assimétrica	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Simétrica	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (22,2)
<b>Oftalmoparesia</b>				
Ausente	5 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	6 (66,7)
Moderada	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (33,3)
Acentuada (Oftalmoplegia)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>Fraqueza Muscular</b>				
<b>Permanente</b>				
Ausente	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Presente	5 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	9 (100,0)
<b>Fraqueza Muscular</b>				
<b>Flutuante</b>				
Ausente	5 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	9 (100,0)
Presente	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>História Familiar*</b>				
Negativa	3 (60,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	6 (66,7)
Positiva	2 (40,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	1 (33,3)
<b>Resposta a anticolinesterásico</b>				
Negativa	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (11,1)
Positiva	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Não Testado	3 (60,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	8 (88,9)

MCE=Miopatias congênicas estruturais

Com relação a resposta terapêutica, foi possível observar que a maioria dos pacientes com a variante *CHRNE* apresentou resposta positiva ao tratamento com anticolinesterásicos, ao passo que a maioria dos demais pacientes do grupo SMC não apresentou melhora com esta medicação (Tabela 2).

Nos grupos OEPC e MCE, apenas os pacientes com alterações neurofisiológicas anormais (ER ou EMGFU-AC alterados) foram submetidos a provas terapêuticas com piridostigmina, mas em nenhum destes pacientes houve resposta terapêutica evidente, conforme observado na Tabela 1.

Por fim, pode-se observar uma associação significativa de história familiar com o tipo de doença. Pacientes com SMC e MCE estão mais associados presença de história familiar do que os demais grupos (Tabela 1, Figura 10).



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 10** - Distribuição dos pacientes segundo a ocorrência de história familiar por grupo

#### 4.2 Estimulação Repetitiva

Em todos os pacientes e controles, pelo menos seis músculos foram testados com técnicas de ER. Considerando os critérios tradicionais para interpretação da ER, foram considerados anormais os pacientes com pelo menos um músculo com respostas decrementais superiores a 10%.

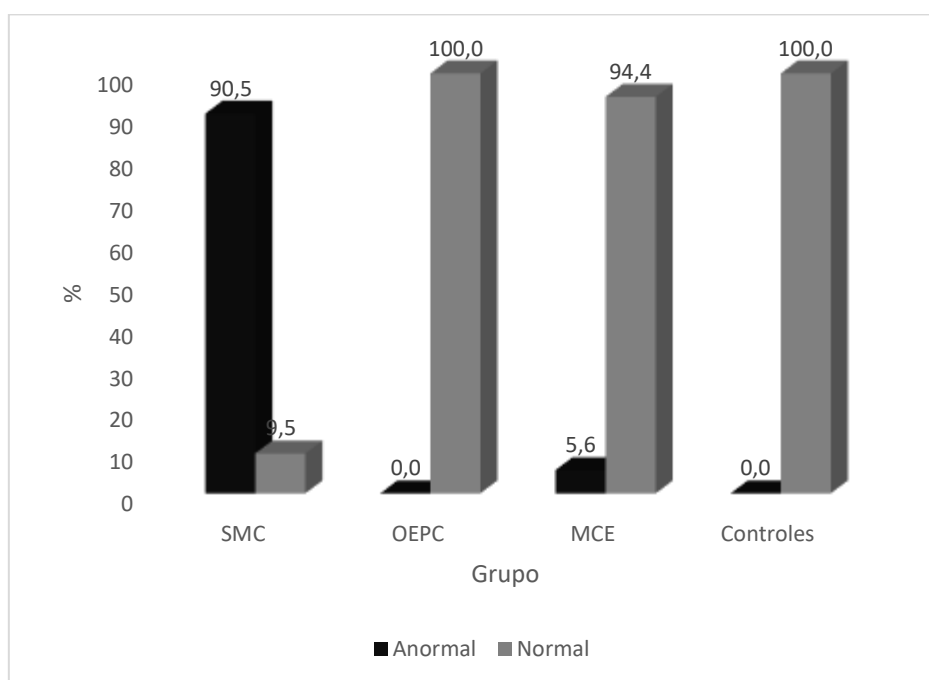
A ER apresentou decremento superior a 10% em pelo menos um músculo testado em 90,5% dos pacientes com SMC (Tabela 5, Figura 11). Somente dois pacientes do grupo SMC (9,5%) apresentaram ER normal em todos os seis

músculos testados (indivíduo 6 do grupo SMC, com mutação no gene *CHRNE*; e indivíduo 9 do grupo SMC com mutação no gene *RAPSN*, conforme melhor detalhado na Figura 12). Podemos observar na Figura 13 exemplos de ER alterada em cada um dos músculos estudados em pacientes com SMC.

**Tabela 5** – Percentual de decremento anormal nos músculos analisados para ER entre todos os grupos analisados

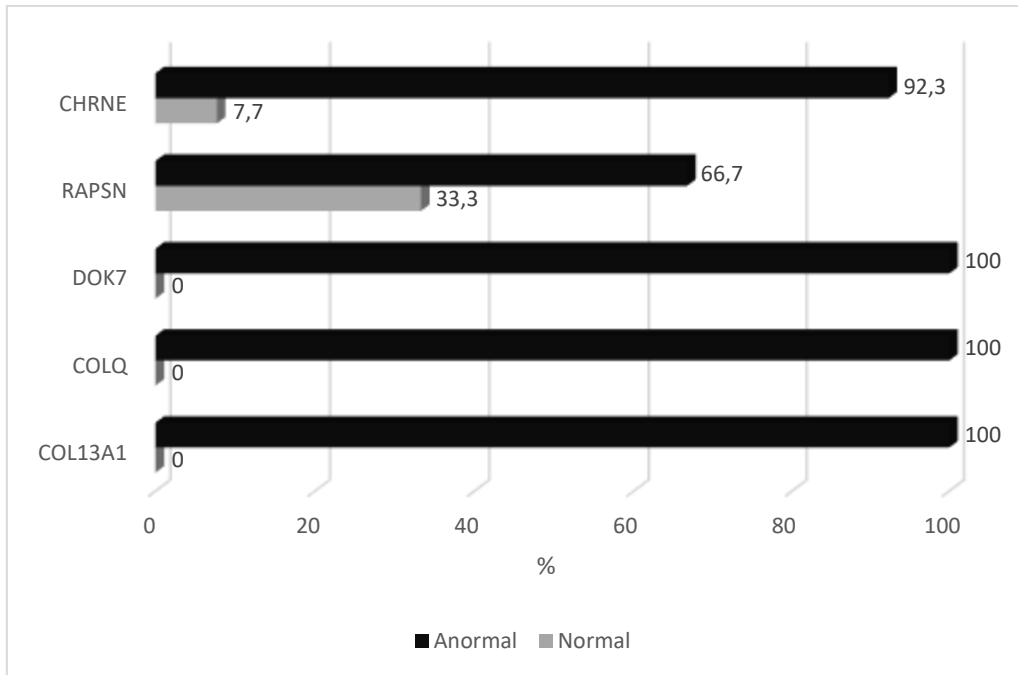
	SMC	OEPC	MCE	Controles
Número de casos por grupo	21	20	18	14
Decremento patológico, qualquer músculo (%)	90,5	0	5,4	0
Decremento patológico, DEL muscle (%)	76,2	0	5,4	0
Decremento patológico, TRA muscle (%)	61,9	0	5,4	0
Decremento patológico, OO muscle (%)	61,9	0	0	0
Decremento patológico, NAS muscle (%)	54,2	0	0	0
Decremento patológico, TA muscle (%)	42,8	0	0	0
Decremento patológico, ADM muscle (%)	35	0	0	0

SMC=Síndromes miastênicas congênicas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênicas estruturais



SMC=Síndromes miastênicas congênicas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênicas estruturais

**Figura 11** – Percentual de pacientes com decremento superior a 10% em pelo menos um músculo para cada grupo analisado



SMC=Síndromes miastênicas congênitas

**Figura 12** – Percentual de pacientes com decremento superior a 10% em pelo menos um músculo para cada variante do grupo SMC



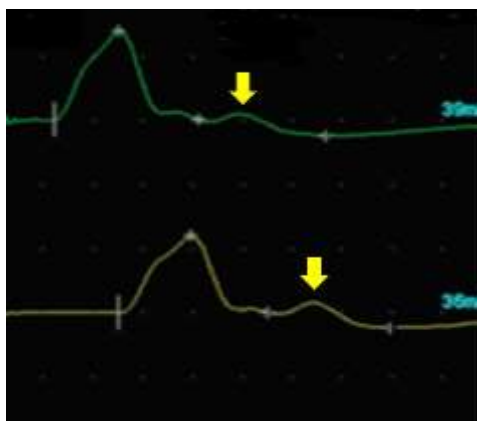
ER=Estimulação repetitiva; SMC=Síndromes miastênicas congênitas

ADM=Abductor Digitorum Minimi; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltoideus; OO=Orbicularis oculi

**Figura 13** - ER com decremento patológico (>10%) em cada um dos músculos testados em diferentes pacientes dos grupos SMC (A. ADM; B. TRA; C. NAS; D. TA; E. DEL; F. OO)



Os dois pacientes com a mutação no gene *COLQ* (irmãos) apresentaram além do decremento superior a 10% na ER, um padrão típico na neurocondução, caracterizado pela presença de duplo potencial motor durante a obtenção dos CMAPs tradicionais nos nervos medianos, ulnares e tibiais. A Figura 14 exemplifica o duplo potencial no nervo ulnar em um dos pacientes mencionados. Vale ressaltar que o decremento superior a 10% é ainda mais evidente, ainda que dificilmente quantificável, nesse segundo potencial.



SMC=Síndromes miastênicas congênicas

**Figura 14 – A.** Estudo de condução nervosa de nervo ulnar na paciente 11 do grupo SMC, com variante do gene *COLQ* mostrando duplo potencial após estímulo único

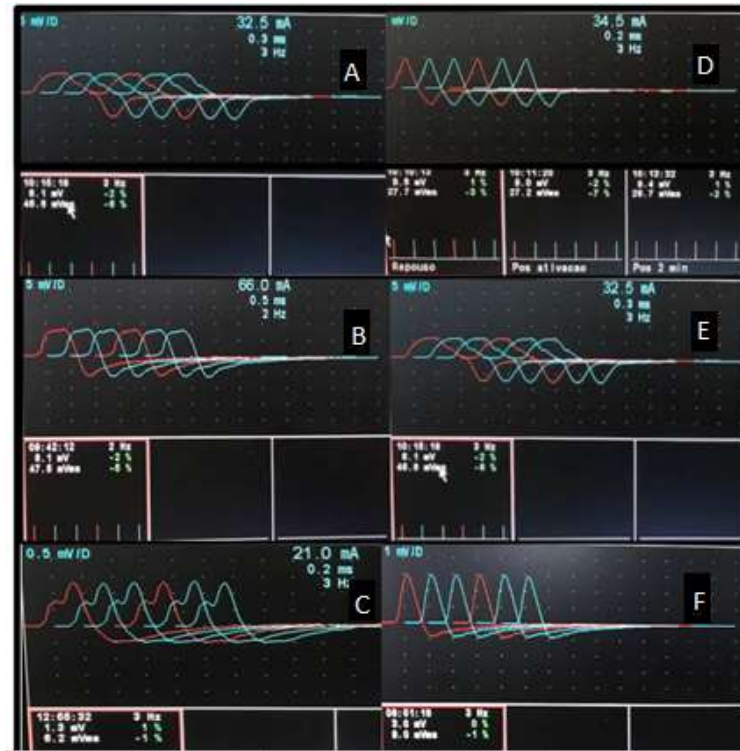
Apenas um paciente fora do grupo SMC apresentou decremento superior a 10% em pelo menos um músculo (indivíduo do grupo MCE, com miopatia multiminicore, sem diagnóstico molecular definido). A Figura 15 mostra o decremento máximo de 22% observado no músculo *Trapezius* neste paciente.



MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 15** – Estimulação repetitiva anormal no músculo *Trapezius* um paciente do grupo MCE com miopatia do tipo multiminicore

Nenhum dos pacientes do grupo OEPC ou do grupo controle apresentou ER com decremento superior a 10% em quaisquer dos músculos testados. A Figura 16 mostra exemplos de ER normal em cada um dos músculos analisados em pacientes do grupo controle.



ADM=Abductor Digitorum Minimi; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltoides; OO=Orbicularis oculi

**Figura 16** - Estimulação repetitiva normal em cada um dos músculos testados em diferentes pacientes do grupo controle (A. ADM; B. TRA; C. NAS; D. TA; E. DEL; F. OO)

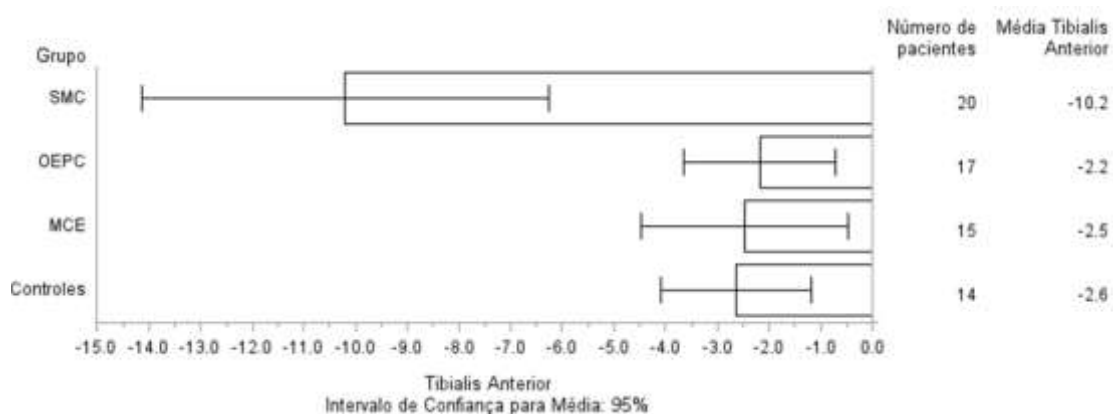
A Tabela 6 mostra o valor de decremento percentual médio de cada um dos músculos estudados em todos os grupos com as comparações entre o grupo SMC e os demais grupos. A análise evidenciou que o decremento médio observado em todos os músculos avaliados no grupo SMC foi superior ao decremento médio nos demais grupos para todos os músculos analisados. As Figuras de 17 a 24 discriminam essa análise músculo a músculo.

**Tabela 6** - Valores do decremento percentual médio dos músculos por grupo

Músculos	SMC (1)	OEPC (2)	MCE (3)	Controles (4)	p-valor		
					1 x 2	1 x 3	1 x 4
TA	-10,2 ± 8,4	-2,2 ± 2,9	-2,5 ± 3,6	-2,6 ± 2,5	0,0001	0,0004	0,0008
ADM 1	-9,2 ± 9,9	-0,9 ± 2,8	-1,5 ± 2,6	0,0 ± 1,6	0,0001	0,0006	<0,0001
ADM 2	-6,6 ± 8,0	-0,3 ± 3,6	0,5 ± 2,3	0,3 ± 2,7	0,0009	0,0004	0,0016
ADM 3	-11,1 ± 11,9	-0,3 ± 3,0	-0,7 ± 3,0	0,3 ± 2,7	<0,0001	0,0002	<0,0001
DEL	-17,9 ± 9,1	-1,4 ± 2,8	-1,7 ± 5,3	-0,5 ± 3,9	<0,0001	<0,0001	<0,0001
TRA	-14,7 ± 13,6	-1,5 ± 2,2	-2,3 ± 6,0	1,9 ± 2,7	<0,0001	<0,0001	<0,0001
NAS	-14,4 ± 12,8	0,4 ± 4,6	-0,1 ± 2,7	0,9 ± 2,9	<0,0001	<0,0001	<0,0001
OO	-16,9 ± 12,5	-0,7 ± 2,4	-1,3 ± 3,5	0,6 ± 2,4	<0,0001	<0,0001	<0,0001

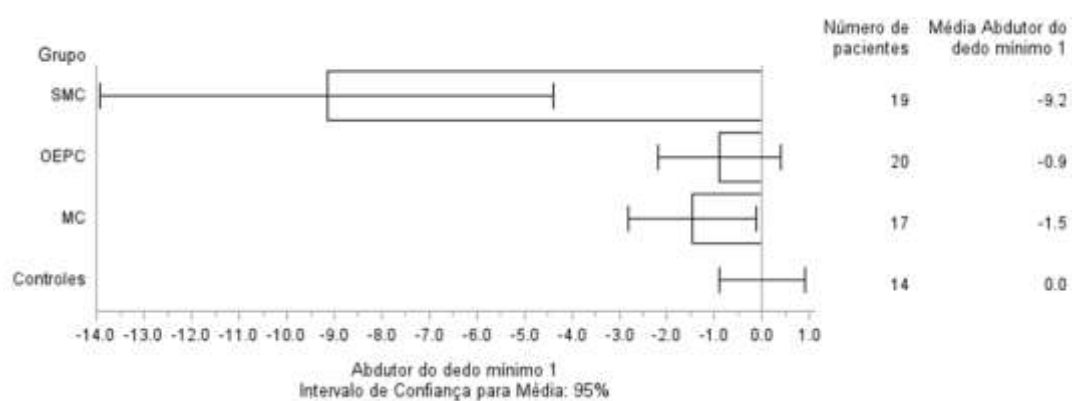
SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

ADM=Abductor Digitorum Minini; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltóideus; OO=Orbicularis oculi



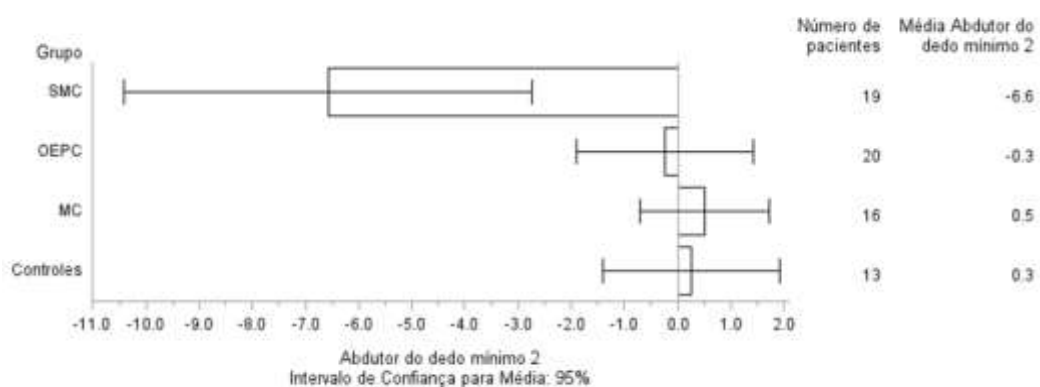
TA= Tibialis Anterior

**Figura 17** - Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo TA por grupo



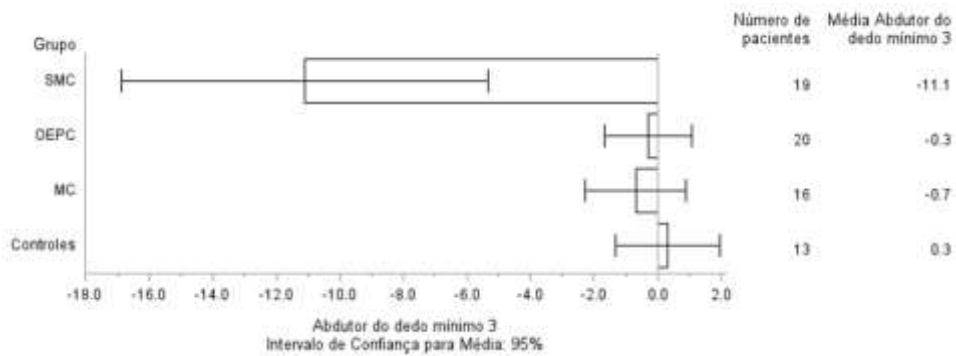
ADM=Abductor Digitorum Minini

**Figura 18** - Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 1 (basal) por grupo



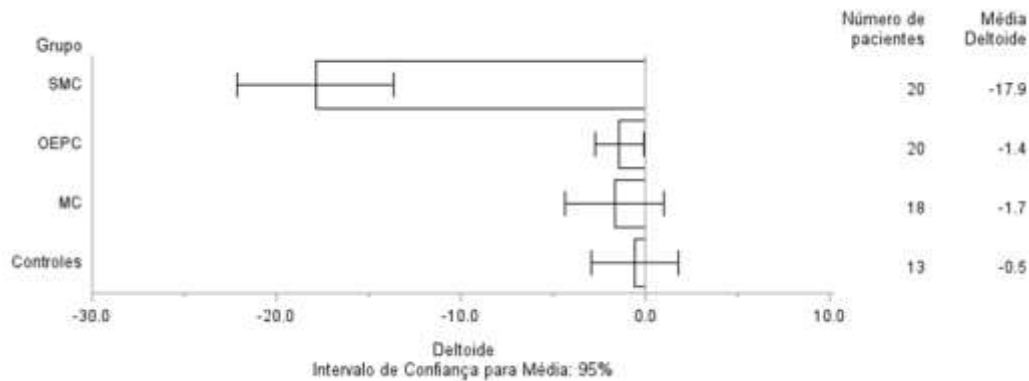
ADM=Abductor Digitorum Minini

**Figura 19** – Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 2 (pós esforço) por grupo



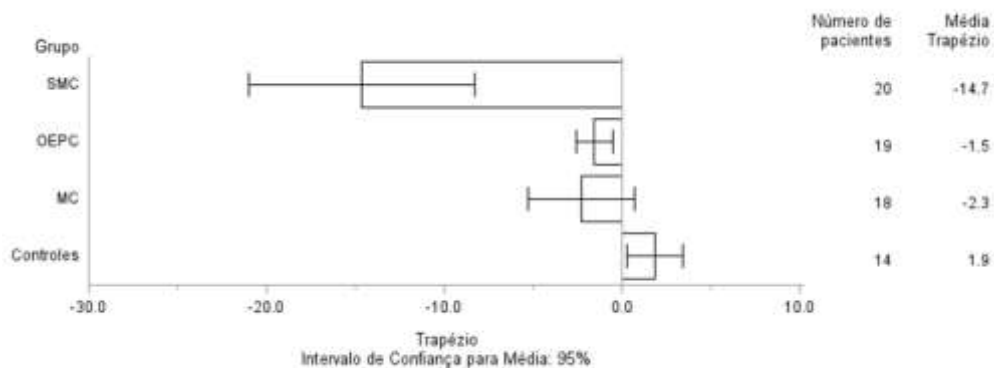
ADM=Abductor Digitorum Minini

**Figura 20** – Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo ADM 3 (repouso por 2 minutos) por grupo



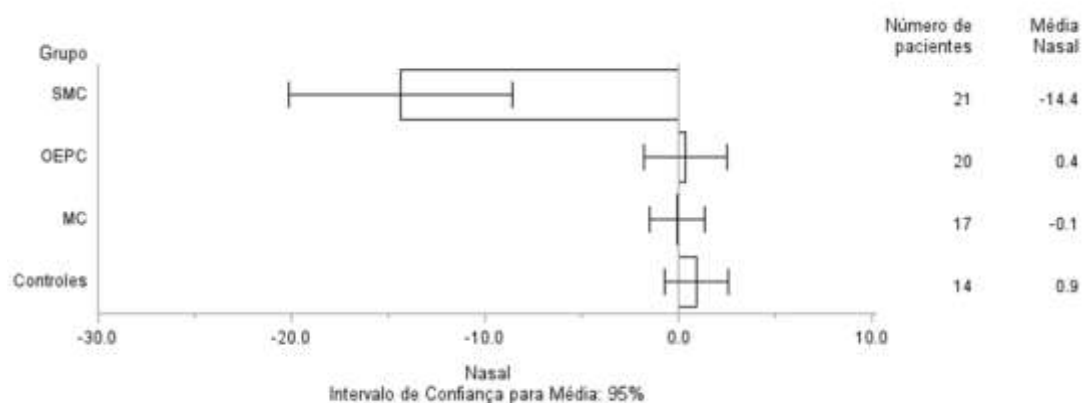
DEL=Deltoideus

**Figura 21** – Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo DEL por grupo



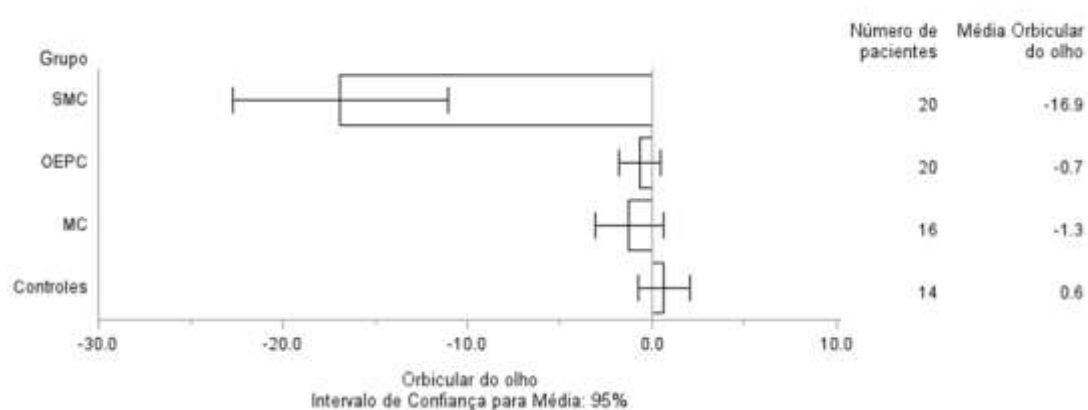
TRA=Trapezius

**Figura 22** – Valores do decremento percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo TRA por grupo



NAS=*Nasalis*

**Figura 23** - Valores do decréscimo percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo NAS por grupo



OO=*Orbicularis oculi*

**Figura 24** – Valores do decréscimo percentual médio e respectivos intervalos de 95 % de confiança do músculo OO por grupo

Individualmente, o estudo do músculo *Deltoideus* apresentou a melhor sensibilidade (76,2%) e acurácia (91,7%) para identificar decréscimo superior a 10% no grupo SMC em relação aos demais grupos, seguido pelos músculos *Trapezius*, *Nasalis* e *Orbicularis Oculi*, com acurácia próxima de 90%, conforme podemos analisar na Tabela 7.

**Tabela 7 – Sensibilidade, Especificidade e Acurácia da ER na análise muscular individual para diagnóstico de SMC**

Músculo	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	Acurácia (IC 95%)
TA	42,9 (21,8; 66,0)	100,0 (92,3; 100,0)	82,1 (70,8; 90,4)
ADM 1	30,0 (11,9; 54,3)	100,0 (93,0; 100,0)	80,3 (69,1; 88,8)
ADM 2	30,0 (11,9; 54,3)	100,0 (92,7; 100,0)	79,7 (68,3; 88,4)
ADM 3	35,0 (15,4; 59,2)	100,0 (92,7; 100,0)	81,9 (69,9; 89,6)
DEL	76,2 (52,8; 91,8)	98,1 (89,7; 99,9)	91,7 (83,0; 96,9)
TRA	61,9 (38,4; 81,9)	98,1 (89,7; 99,9)	87,5 (77,9; 94,2)
NAS	54,2 (29,8; 74,3)	100,0 (93,0; 100,0)	86,1 (75,9; 93,1)
OO	61,9 (38,4; 81,9)	100,0 (92,9; 100,0)	88,7 (79,0; 95,0)

ER=estimulação repetitiva; SMC=Síndromes miastênicas congênicas; IC=intervalo de confiança

ADM=Abductor Digitorum Minini; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltóideus; OO=Orbicularis oculi

A análise combinada de dois músculos faciais (*Orbicularis Oculi* e *Nasalis*, 91,5%) e de dois músculos proximais da cintura escapular (*Deltóideus* e *Trapézio*, 91,5%) revelou melhor acurácia geral para detectar decremento anormal nos pacientes com SMC em comparação com a análise combinada de músculos distais (*Tibialis Anterior* e *Abductor Digiti Minimi*, 86,4%), conforme podemos observar na Tabela 8.

**Tabela 8 – Sensibilidade, Especificidade e Acurácia da ER na análise combinada de músculos faciais, proximais e distais em pacientes com SMC**

Músculo	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	Acurácia (IC 95%)
TA + ADM	55 (25,7; 70,2)	100,0 (93,0; 100,0)	86,4 (74,6; 92,2)
DEL + TRA	76,2 (52,8; 91,8)	98,1 (89,7; 99,9)	91,5 (83,0; 96,9)
NAS + OO	71,4 (47,8; 88,7)	100,0 (93,0; 100,0)	91,5 (83,0; 96,9)
Qualquer músculo	90,5 (69,6; 98,8)	98,1 (89,5; 99,9)	95,9 (88,5; 99,1)

ER=estimulação repetitiva; SMC=Síndromes miastênicas congênicas; IC=intervalo de confiança

ADM=Abductor Digitorum Minini; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltóideus; OO=Orbicularis oculi

No geral, ao considerar como anormal o decremento superior a 10% em qualquer dos músculos testados, a ER apresentou sensibilidade global de 90,5%, especificidade de 98,1% e acurácia de 95,9% para distinguir pacientes com SMC dos demais grupos (Tabela 8).

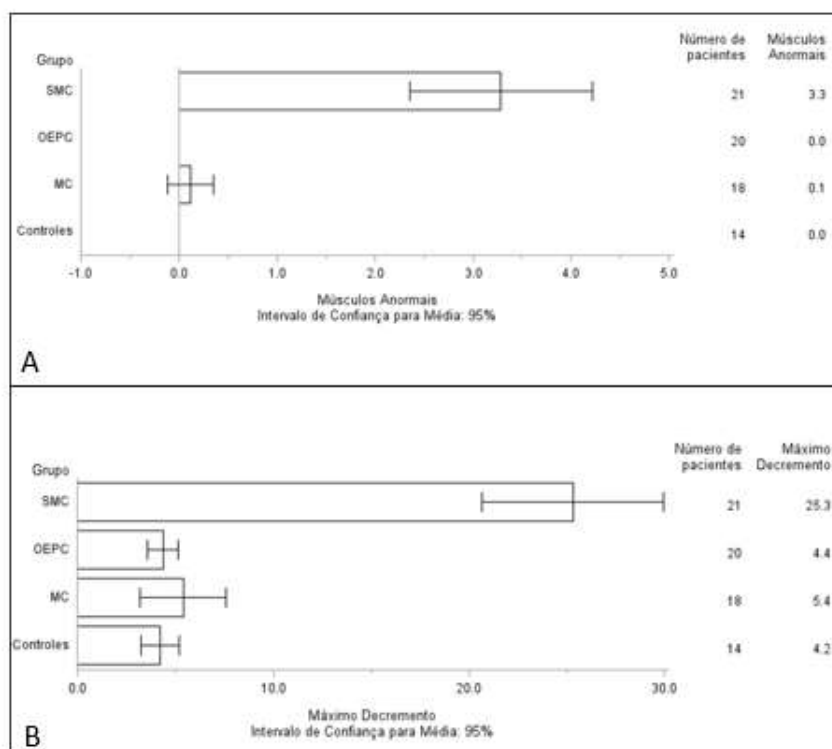


Com relação a quantidade de músculos alterados em cada grupo, pode-se observar na Figura 25 que a média de três músculos com decremento superior a 10% foi estatisticamente superior no grupo de pacientes com SMC em relação a todos os demais grupos ( $p < 0,0001$ , em todas as comparações).

Da mesma forma, a média do decremento máximo foi de 25,3% no grupo SMC, 4,4% no grupo OEPC, 5,4% no grupo MCE e 4,2% no grupo controle, com diferença significativa do grupo SMC em relação aos demais grupos ( $p < 0,0001$ , em todas as comparações).

Além disso, foi realizada uma análise longitudinal entre e intragrupos para avaliar a efetividade da técnica de exaustão muscular com obtenção da resposta basal (tempo 1), pós-esforço máximo (tempo 2) e repouso por 2 minutos (tempo 3), que é tradicionalmente realizada na rotina do nosso ambulatório. A Tabela 9 demonstra que o comportamento longitudinal não é o mesmo nos quatro os grupos ( $p = 0,0273$ ).

No grupo SMC a média dos valores obtidos entre os três tempos analisados (basal, pós esforço, repouso), tende a variar mais ao longo do tempo do que nos demais grupos analisados (OEPC, MCE e Controles), que tendem a manter-se praticamente constante.



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MC=Miopatias congênitas

**Figura 25** – A. Quantidade média de músculos com decremento superior a 10% entre os grupos analisados. B. Média do decremento máximo (%) entre todos os pacientes de cada um dos grupos analisados

**Tabela 9** – Análise intragrupos do decremento médio no músculo ADM no tempo basal (1), após esforço (2) e após repouso de 2 minutos

Grupo	p-valor		
	Tempo 2 x Tempo 1	Tempo 3 x Tempo 2	Tempo 3 x Tempo 1
<b>SMC</b>	0,0123	< 0,0001	0,0372
<b>OEPC</b>	1,0000	1,0000	1,0000
<b>MCE</b>	0,1677	0,6921	1,0000
<b>Controles</b>	1,0000	1,0000	1,0000

SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

ADM=Abductor Digitorum Minini; TRA=Trapezius; NAS=Nasalis; TA=Tibialis Anterior; DEL=Deltoideus; OO=Orbicularis oculi

Na Tabela 10 vemos que os decrementos médios nos tempos 1, 2 e 3 no grupo de pacientes com SMC são significativamente maiores que aqueles de pacientes do grupo controle ( $p < 0,0001$ ,  $p = 0,0006$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente). Para os pacientes dos grupos OEPC e MCE, os valores

médios não diferiram significativamente daqueles do grupo controle, nos três tempos analisados.

**Tabela 10** – Análise entre grupos do decremento médio no músculo ADM no tempo basal (1), após esforço (2) e após repouso de 2 minutos

ADM*	SMC (1)	OEPC (2)	Grupo		p-valor# Interação entre grupo e tempo	p-valor entre grupos@		
			MCE (3)	Controles (4)		(1) X (4)	(2) X (4)	(3) x (4)
					0,0273			
<b>Tempo 1</b>	-9,2±1,3	-0,90±1,24	-1,47±1,35	0,00±1,49		<0,0001	1,0000	1,0000
<b>Tempo 2</b>	-6,6±1,1	-0,25±1,09	0,36±1,20	0,36±1,33		0,0006	1,0000	1,0000
<b>Tempo 3</b>	-11,1±1,5	-0,30±1,50	-0,92±1,64	0,47±1,82		<0,0001	1,000	1,0000

\* valores expressos em média ± desvio-padrão

# p-valor obtido pelo ajuste do modelo de efeitos mistos com matriz de variância e covariância não estruturada

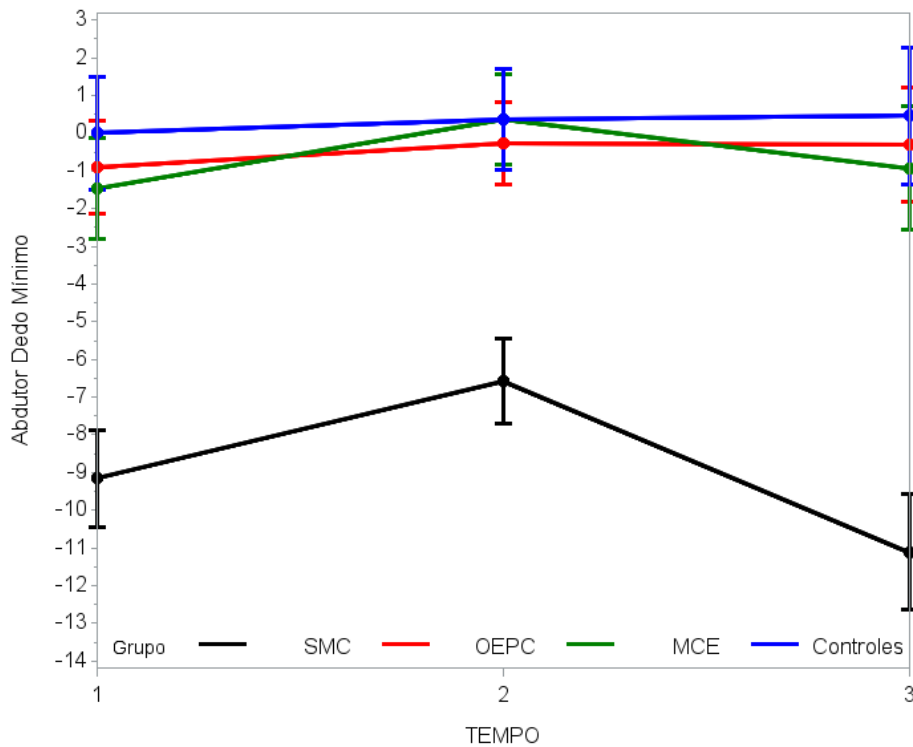
@ p-valor calculado com ajuste de Bonferroni

ADM=*Abductor Digitorum Minimi*

SMC=Síndromes miastênicas congênicas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênicas estruturais

Pela análise da Figura 26, fica claro que para o grupo de pacientes com SMC as mudanças ao longo do tempo se mostraram expressivas, sendo que o tempo 3 mostrou decremento significativamente maior que os tempos 1 e 2 ( $p = 0,0372$  e  $p < 0,0001$ ), respectivamente. Além disso, pode observar que o tempo 2 mostrou decremento menor que o tempo 1 após a facilitação motora ( $p = 0,0123$ ). Para os demais grupos essas mudanças não se mostraram significativas.

Podemos observar inclusive que esta rotina permitiu o aumento de quase 5% na sensibilidade do músculo *Abductor Digitorum Minimi* para o diagnóstico de SMC, com um decremento significativamente maior no tempo 3 (repouso de 2min após contração muscular) em relação aos tempos 1 e 2, conforme evidenciado na Tabela 11.



ADM=Abductor Digitorum Minini

**Figura 26** - Valores do decremento médio do músculo ADM em três tempos de análise (basal, pós esforço muscular máximo, repouso de 2min após esforço) analisados grupo a grupo

**Tabela 11** – Percentual de casos com ER anormal para cada tempo de análise no músculo ADM em todos os grupos analisados

Tempo analisado	SMC	OEPC	MCE	Controles
ADM 1 (%)	6/21 (28,5)	0/20 (0,0)	0/18 (0,0)	0/14 (0,0)
ADM 2 (%)	6/21 (28,5)	0/20 (0,0)	0/18 (0,0)	0/14 (0,0)
ADM 3 (%)	7/21 (33,3)	0/20 (0,0)	0/18 (0,0)	0/14 (0,0)

ER=Estimulação repetitiva

ADM=Abductor Digitorum Minini

SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

### 4.3 Eletromiografia de fibra única com agulha concêntrica (EMGFU-AC)

#### 4.3.1 Análise descritiva das anormalidades da EMGFU-AC entre os grupos

Na maioria dos pacientes e controles, registramos 20 pares de PAFMIs para cada paciente. Em um indivíduo do grupo controle, registramos 19 pares e em quatro pacientes do grupo SMC (indivíduos 6, 11, 12 e 18 da Tabela 12), obtivemos 13 pares devido à intolerância ao exame. Os demais pacientes e controles estudados permitiram a coleta de 20 pares para análise da EMGFU-AG.

A análise final do *jitter* foi considerada anormal tanto em caso de *jitter* médio alterado ( $> 31 \mu\text{s}$ ), quanto em caso de percentual superior a 10% de pares com *jitter* individual alterado ( $> 45 \mu\text{s}$ ). Assim, o *jitter* final resultou anormal em 20 dos 21 (95,2%) pacientes com SMC, sendo apenas normal em um paciente do grupo SMC, em que tanto a média dos vinte pares analisados ( $17,1 \mu\text{s}$ ) quanto o percentual de pares anormais (5%) resultou dentro dos parâmetros da normalidade (caso 10 da Tabela 12).

Considerando apenas o *jitter* médio, 19 dos 21 pacientes do grupo SMC (90,5%) apresentaram média dos pares analisados com valor anormal ( $> 31 \mu\text{s}$ ), variando de 31,3 a 98,5  $\mu\text{s}$ . A Tabela 12 demonstra que apenas a paciente 5 (média limítrofe de 29,9  $\mu\text{s}$ ) e a paciente 10 (média 17,3  $\mu\text{s}$ ) apresentaram *jitter* médio normal entre os pacientes com SMC.

Com relação ao critério de percentual de pares anormais, este mostrou-se mais sensível que a análise do *jitter* médio, com alteração em 20 de 21 (95,2%) dos pacientes do grupo SMC, que apresentaram mais de 10% de pares com *jitter* individual anormal ( $> 45 \mu\text{s}$ ), variando de 15% a 90% (Tabela 12).

**Tabela 12 – Características neurofisiológicas dos pacientes com SMC**

N	Gênero	Idade	Gene	ER	Pares coletados	Jitter Final	Pares anormais	Jitter médio (µs)
1	F	17	<i>CHRNE</i>	A	20	A	65%	73,4
2	M	40	<i>DOK-7</i>	A	20	A	20%	31,3
3	F	16	<i>RAPSN</i>	A	20	A	45%	58,0
4	M	14	<i>CHRNE</i>	A	20	A	15%	40,1
5	F	32	<i>CHRNE</i>	A	20	A	20%	29,9
6	F	21	<i>CHRNE</i>	N	13	A	46%	42,8
7	F	21	<i>CHRNE</i>	A	20	A	40%	60,6
8	F	39	<i>CHRNE</i>	A	20	A	30%	48
9	M	13	<i>RAPSN</i>	N	20	A	15%	40,1
10	F	25	<i>DOK-7</i>	A	20	N	5%	17,3
11	M	33	<i>COLQ</i>	A	13	A	69,2%	98,5
12	F	40	<i>COLQ</i>	A	13	A	58,3%	80,2
13	M	14	<i>CHRNE</i>	A	20	A	40%	66,3
14	M	33	<i>CHRNE</i>	A	20	A	90%	89,3
15	M	16	<i>CHRNE</i>	A	20	A	45%	62,8
16	F	23	<i>CHRNE</i>	A	20	A	50%	57,1
17	M	13	<i>CHRNE</i>	A	20	A	70%	70,9
18	M	30	<i>COL13A1</i>	A	13	A	53,8%	83,6
19	F	46	<i>RAPSN</i>	A	20	A	40%	56,6
20	F	15	<i>CHRNE</i>	A	20	A	30%	47,1
21	F	41	<i>CHRNE</i>	A	20	A	35%	48,2

A: resultado anormal; N: resultado normal  
ER= Estimulação repetitiva  
SMC=Síndromes miastênicas congênitas

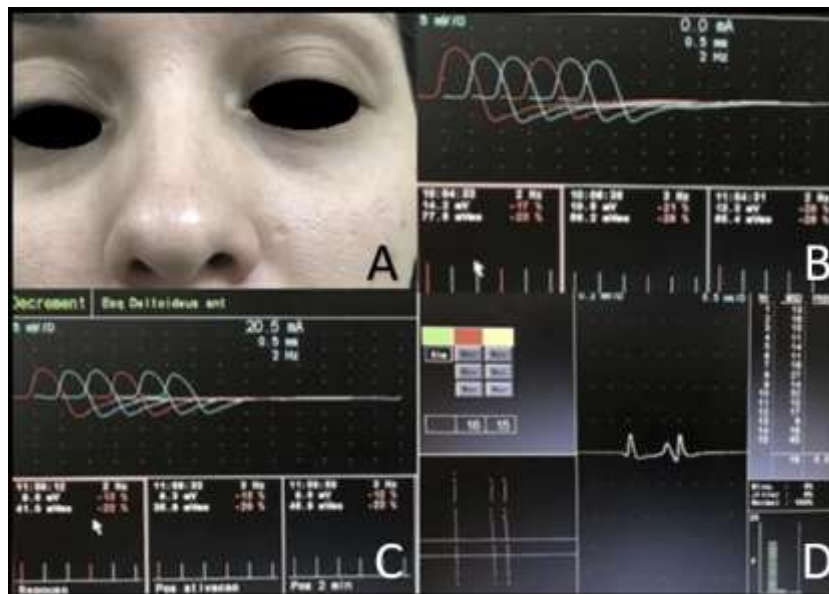
A única paciente do grupo SMC (paciente 10 da Tabela 12) com EMGFU-AC normal tratava-se de uma mulher de 25 anos, com quadro clínico de queda palpebral simétrica sem oftalmoparesia, associada a fraqueza proximal com

flutuação motora desde a infância (início dos sintomas no primeiro ano de vida), sem história familiar, com mutação documentada no gene *DOK-7*. Como este foi o único caso deste grupo com EMGFU-AC normal, foi sugerida a realização de uma segunda análise do *jitter* agora em outro grupo muscular, que não o músculo *Orbicularis Oculi*, mas a mesma se recusou a prosseguir com o teste.

Curiosamente esta paciente apresentou ER anormal restrita aos músculos *Deltoides* bilateralmente, sem alterações nos demais músculos avaliados, inclusive na face (Figura 27). Antes do seu diagnóstico molecular, a paciente em questão não havia apresentado resposta satisfatória com tratamento com piridostigmina mas obteve melhora parcial com uso de efedrina 50mg 2x. Após a descontinuação desta última medicação por efeitos adversos, a paciente vem em uso de Salbutamol 4mg 2x ao dia, também com melhora sintomática parcial.

Os pacientes 11 e 12 do grupo SMC (irmãos com variantes no gene *COLQ*) apresentaram ER e EMGFU-AC alterados. Clinicamente, ambos apresentavam uma clínica de queda palpebral flutuante, oftalmoparesia moderada, fraqueza apendicular proximal, com história familiar positiva. Outros achados no exame clínico foram a presença de reflexo pupilar lentificado em ambos pacientes e sinais de hiperelasticidade articular na paciente do gênero feminino. Nenhum dos dois apresentou melhora clínica com tratamento com piridostigmina ou efedrina, mas evoluíram com resposta clínica parcial ao salbutamol oral 4mg 2x ao dia, medicação mantida nos mesmos até a presente data.

Do ponto de vista neurofisiológico, uma alteração característica observada na obtenção de CMAPs nos testes de neurocondução, foi a presença de duplo potencial motor em múltiplos nervos analisados. Este segundo potencial apresenta, inclusive, um decremento ainda mais evidente no teste de estimulação repetitiva, conforme pode ser observado na Figura 28.



SMC=Síndromes miastênicas congênitas  
EMGFU-AC =Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica  
DEL=*Deltoides*

**Figura 27** – Paciente 10 do grupo SMC. A. Evidência de queda palpebral leve e simétrica bilateralmente. B/C. Estimulação repetitiva anormal em ambos músculos DEL, direita e esquerda. D. EMGFU-AC normal no traçado inferior direito





SMC=Síndromes miastênicas congênitas

CMAP= *Compound muscle action potential*

EMGFU-AC =Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica

ER=Estimulação repetitiva

**Figura 28** – Paciente 12 do grupo SMC. A. Evidência de hiperelasticidade presente em pacientes com variantes no gene COLQ. B: presença de duplo potencial no CMAP do nervo tibial; C: decremento normal no nervo tibial; D. EMGFU-AC com amostra de par alterado (valor do *jitter* de 105 µs); E: presença de duplo potencial no CMAP do nervo ulnar; F: decremento >10% observado na ER do no nervo ulnar

A EMGFU-AC foi anormal em cinco dos 20 (25%) pacientes com OEPC. Todos esses cinco pacientes mencionados apresentaram um *jitter* médio anormal (> 31 µs), variando de 35,7 a 46,9 µs. Quatro de 20 (20%) apresentaram mais de 10% de pares com *jitter* individual anormal (> 45 µs), variando de 15% a 25% (Tabela 13). Todos os cinco casos mencionados apresentavam ao exame queda palpebral (simétrica ou assimétrica) e oftalmoparesia moderada a acentuada (oftalmoplegia), sem importante flutuação de sintomas.

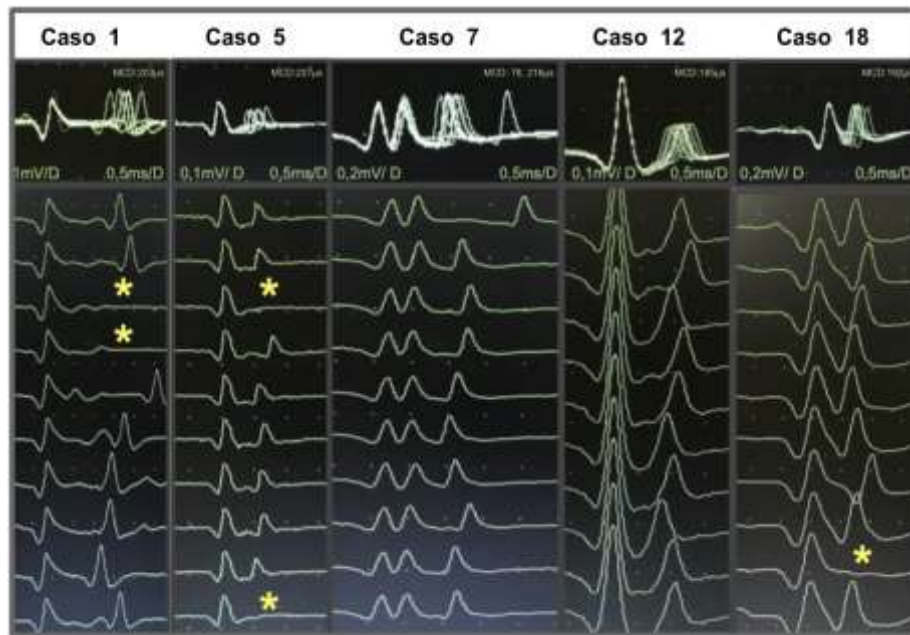
Vale notar que todos os pacientes do grupo OEPC, incluindo os cinco casos supracitados, apresentaram teste de ER normal em todos os músculos avaliados e os cinco que apresentaram EMFGU-AC anormal foram submetidos a dosagem de anticorpos anti-AchR e anti-MuSK, que resultaram negativos. Os cinco pacientes também foram submetidos a prova terapêutica com

piridostigmina, mas não apresentaram melhora clínica após semanas de uso de doses otimizadas. Na Figura 29 podem ser observados exemplos de pares com *jitter* individual anormal nos cinco pacientes supracitados.

**Tabela 13 – Características neurofisiológicas dos pacientes com OEPC**

N	Gênero	Idade	ER	Pares coletados	<i>Jitter</i> Final	Pares anormais	<i>Jitter</i> médio (µs)
1	F	59	N	20	A	15%	44,7
2	M	51	N	20	N	0%	23,9
3	M	34	N	20	N	5%	27,7
4	M	74	N	20	N	0%	22,3
5	M	62	N	20	A	20%	46,9
6	F	48	N	20	N	5%	30,5
7	F	62	N	20	A	15%	35,7
8	F	57	N	20	N	5%	23,7
9	M	48	N	20	N	0%	19,4
10	M	49	N	20	N	0%	20,7
11	F	24	N	20	N	0%	21,5
12	M	59	N	20	A	25%	43,5
13	F	57	N	20	N	0%	27,3
14	F	72	N	20	N	0%	19,4
15	F	27	N	20	N	0%	19,9
16	F	51	N	20	N	5%	24,5
17	M	44	N	20	N	0%	22,3
18	M	14	N	20	A	10%	39,2
19	M	38	N	20	N	0%	21,2
20	F	33	N	20	N	0%	18,4

A: resultado anormal; N: resultado normal  
 OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica  
 ER=Estimulação repetitiva



OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica  
EMGFU-AC =Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica

**Figura 29** – Exemplos de pares alterados em cada um dos cinco pacientes com OEPC e EMGFU-AC anormal. O asterisco amarelo indica locais onde há bloqueio de impulso

O *jitter* médio foi anormal em dois dos 18 (11,1%) pacientes do grupo MCE (indivíduos 13 e 17 da Tabela 14, com valores médios do *jitter* em 53,7  $\mu$ s e 32,1, respectivamente). Entretanto, apenas no paciente 13 da Tabela 14 apresentou mais de 10% dos pares de PAFMIs alterados (30% dos pares com *jitter* individual superior a 45  $\mu$ s). O bloqueio por impulso esteve presente apenas neste último paciente (Figura 30).

O primeiro paciente do grupo MCE (caso 13 da Tabela 14) com EMGFU-AC alterada é um paciente do gênero masculino, de 16 anos, com fenótipo de miopatia proximal desde o primeiro ano de vida, sem fadigabilidade clínica, ainda deambulante, sem queda palpebral ou oftalmoparesia ao exame, com história familiar positiva de padrão recessivo (irmã mais nova acometida) e com alterações do tipo centronuclear na biópsia muscular, com mutação confirmada

no gene da RYR1. Foram identificados 6 pares com *jitter* com MCD >45us, três dos quais com bloqueio de impulso significativo, com *jitter* médio de 53,56us (Figura 30). A ER neste paciente foi normal em todos os músculos testados. Realizado teste terapêutico com piridostigmina, sem melhora clínica, sendo suspenso por efeitos colaterais intoleráveis.

**Tabela 14** – Características neurofisiológicas dos pacientes com MCE

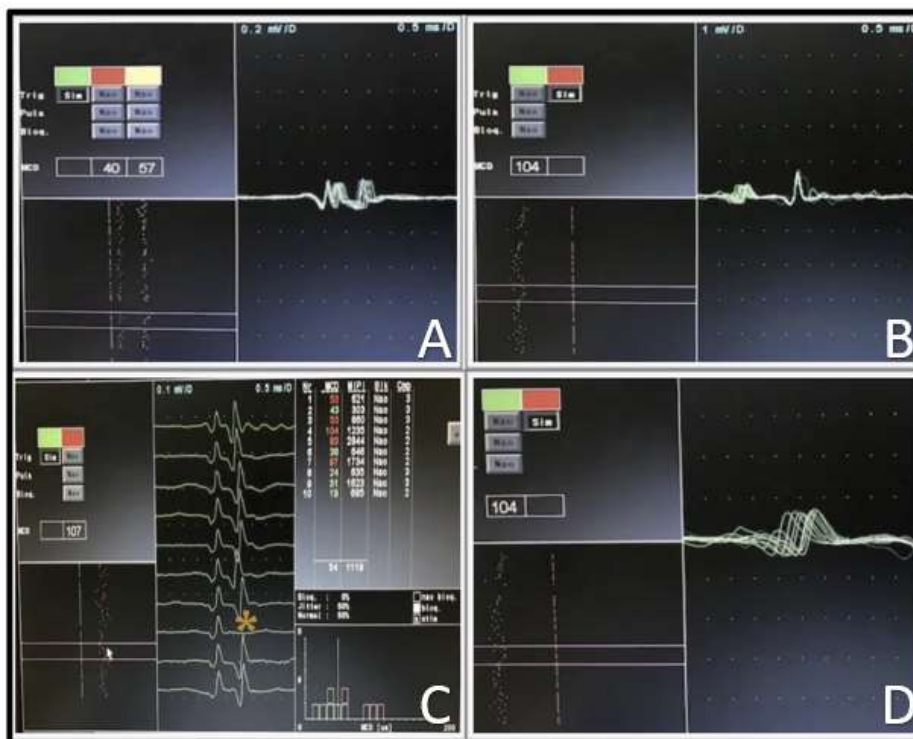
N	Gênero	Idade	Histologia	Gene	ER	<i>Jitter</i> Final	Pares anormais	<i>Jitter</i> médio (µs)
1	F	24	DCF	-	N	N	0%	24,3
2	F	33	Centronuclear	<i>TTN</i>	N	N	0%	22,1
3	F	45	Centronuclear	-	N	N	5%	24,6
4	F	18	Centronuclear	-	N	N	0%	23,1
5	F	47	Centronuclear	-	N	N	0%	27,4
6	M	28	Multiminicore	-	A	N	0%	23,9
7	F	24	Inespecífico	<i>RYR</i>	N	N	0%	23,1
8	M	19	Central Core	-	N	N	0%	21,4
9	F	45	Nemalínica	<i>NEB</i>	N	N	0%	23,1
10	M	16	Inespecífico	<i>TTN</i>	N	N	0%	19,0
11	F	15	Central Core	-	N	N	0%	21,4
12	F	55	Nemalínica	-	N	N	5%	25,9
13	M	16	Centronuclear	<i>RYR</i>	N	A	30%	53,6
14	F	9	DCF	<i>RYR</i>	N	N	5%	27,0
15	M	12	Nemalínica	<i>NEB</i>	N	N	5%	24,3
16	M	28	Inespecífico	<i>RYR</i>	N	N	5%	29,6
17	M	19	Centronuclear	<i>RYR</i>	N	A	10%	32,0
18	M	13	Multiminicore	<i>RYR</i>	N	N	5%	29,7

A: resultado anormal; N: resultado normal

MCE=Miopatias congênitas estruturais

ER=Estimulação repetitiva

DCF=Desproporção congênita de fibras musculares



EMGFU-AC =Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica

MCE=Miopatias congênitas estruturais

MCD=*Mean consecutive difference*

PAFMIs= Potenciais aparentes de fibra única

**Figura 30** – EMGFU-AC alterada em paciente 13 do grupo MCE, com miopatia do tipo centronuclear com mutação no gene RYR1. A e B. exemplo de dois dos seis pares anormais com *jitter* individual com MCD > 45us; C. exemplo de par com *jitter* anormal e bloqueio de impulso, evidenciado pelo asterisco amarelo. D. PAFMIs com *jitter* anormal

O segundo paciente do grupo MCE (caso 17 da Tabela 14) com EMGFU-AC alterada é um paciente do gênero masculino, de 19 anos, com fenótipo de miopatia proximal moderada desde os três anos de vida, sem fadigabilidade clínica, ainda deambulante, sem queda palpebral ou oftalmoparesia ao exame, com história familiar negativa e com alterações do tipo centronuclear na biópsia muscular, com mutação confirmada no gene da RYR1. Foram coletados e aceitos 20 pares, dos quais dois apresentaram *jitter* com MCD >45us, sem bloqueio de impulso significativo, mas com *jitter* médio de 32,23us, preenchendo critério de exame anormal. A ER neste paciente foi normal em todos os músculos

testados. Realizado teste terapêutico com piridostigmina, também sem melhora clínica.

A EMGFU-AC foi normal em todos os demais pacientes do grupo MCE, incluindo o paciente 6 da Tabela 14, que apresentou ER com decremento nos músculos *Deltoideus* e *Trapezius* (Figura 16).

Por fim, a EMGFU-AC foi absolutamente normal tanto na análise do *jitter* médio quanto na análise do percentual de pares anormais em todos os controles (Tabela 15). A Figura 32 demonstra um exame de pares de PAFMIs com *jitter* normal em um paciente do grupo controle.

**Tabela 15** – Características neurofisiológicas do grupo controle

N	Gênero	Idade	ER	Pares coletados	<i>Jitter</i> Final	Pares anormais	<i>Jitter</i> médio (µs)
1	M	51	N	20	N	0%	21,3
2	F	51	N	20	N	0%	19,9
3	M	22	N	20	N	0%	24,5
4	M	17	N	20	N	0%	19,4
5	F	51	N	19	N	0%	20,1
6	M	39	N	20	N	0%	25,1
7	M	32	N	20	N	0%	23,1
8	M	33	N	20	N	0%	22,9
9	F	55	N	20	N	0%	19,4
10	F	29	N	20	N	0%	24,1
11	F	49	N	20	N	0%	22,1
12	F	26	N	20	N	0%	22,3
13	M	29	N	20	N	0%	24,9
14	M	54	N	20	N	0%	21,9

A: resultado anormal; N: resultado normal  
ER=Estimulação repetitiva



PAFMIs= Potenciais aparentes de fibra única

**Figura 31** – Exemplo de dois pares de PAFMIs com *jitter* normal em paciente do grupo controle

Analisando os parâmetros do *jitter* médio, percentual de pares anormais e percentual de pares com bloqueio de impulso, podemos observar na Tabela 16 que as três análises demonstraram diferença estatística entre os pacientes do grupo SMC em relação aos demais grupos (Figura 32).

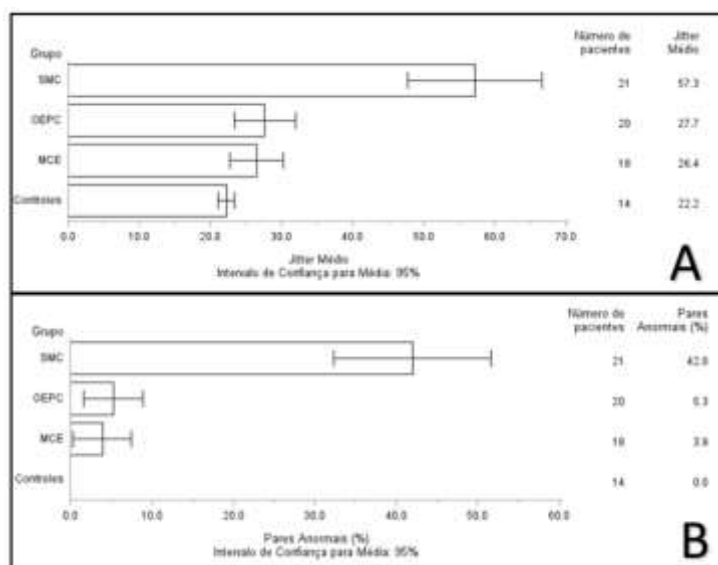
**Tabela 16** – Valores médios de *Jitter* médio, pares anormais e pares com bloqueio de impulso por grupo

Variáveis	Grupo*				p-valor#
	SMC	OEPC	MC	Controles	
<b>Jitter Médio</b>	57,26 ± 20,75	27,66 ± 9,24	26,44 ± 7,56	22,24 ± 2,00	< 0,0001
<b>Pares Anormais (%)</b>	42,0 ± 21,0	5,3 ± 0,8	3,9 ± 0,7	0,00 ± 0,00	< 0,0001
<b>Pares com Bloqueio (%)</b>	8,0 ± 1,0	2,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,00 ± 0,00	< 0,0001

\* Valores expressos em média ± desvio padrão

# p-valor calculado pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis

SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais



**Figura 32** – A. Valores médios do *jitter* médio por grupo; B. Percentual de pares com *jitter* individual anormal por grupo

Vale ressaltar que isoladamente o critério de *jitter* médio não demonstrou diferença estatística entre os grupos OEPC e controles, não sendo capaz de distinguir os dois grupos (Tabela 17). Da mesma forma, a análise do percentual de pares com bloqueio de impulso tampouco se mostrou capaz de distinguir pacientes com OEPC e controles ou pacientes com MCE e controles, não podendo distinguir os grupos (Tabela 17).

Assim, no grupo OEPC, apenas o percentual de pares anormais se revelou significativamente distinto dos controles, ao passo que no grupo MCE, tanto o *jitter* médio quanto o percentual de pares anormais demonstrou diferenças entre pacientes e controles.

Por fim, não houve diferença significativa em nenhum dos três parâmetros analisados entre os grupos OEPC e MCE.



**Tabela 17-** Valores P para comparação de *jitter* médio anormal ( $> 31 \mu\text{s}$ ), *jitter* individual anormal (10% de pares com *jitter* individual acima de  $45 \mu\text{s}$ ) e porcentagem média de pares com bloqueio de impulso

	<i>Jitter</i> médio ( $\mu\text{s}$ )	Pares anormais (%)	Pares com bloqueio (%)
SMC <i>versus</i> OEPC	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0375</b>
SMC <i>versus</i> MCE	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0022</b>
SMC <i>versus</i> Controles	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0017</b>
OEPC <i>versus</i> MCE	0,7451	0,7173	0,1839
OEPC <i>versus</i> Controles	0,2272	<b>0,0044</b>	0,0629
MCE <i>versus</i> Controles	<b>0,0174</b>	<b>0,0089</b>	0,9999

SMC=Síndromes miastênicas congênicas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênicas estruturais

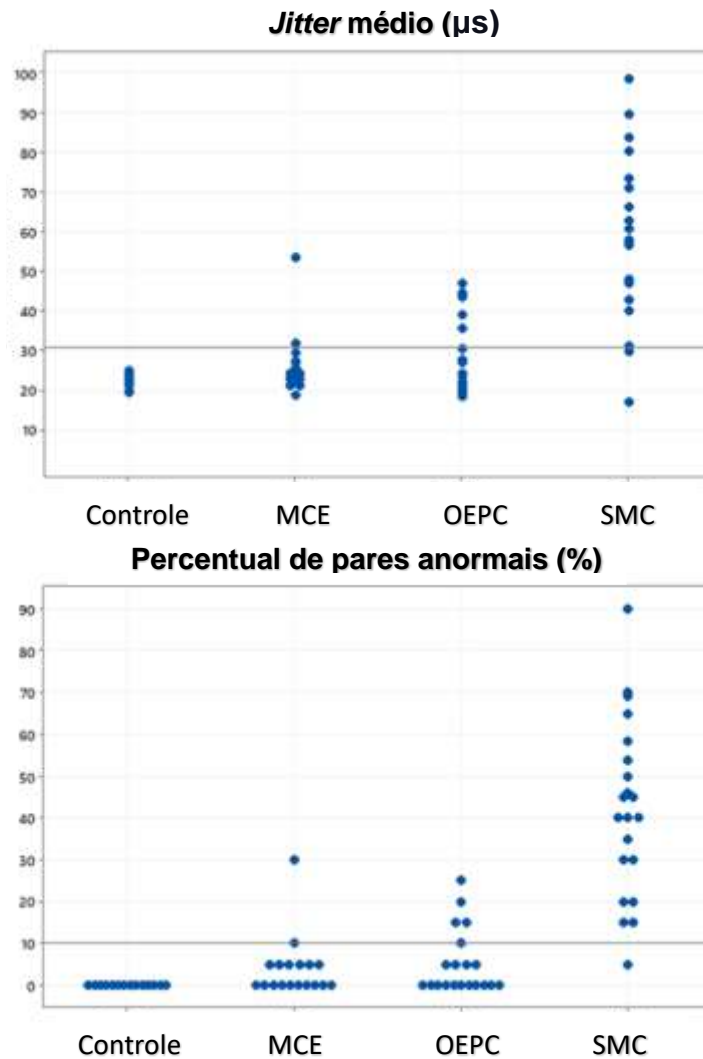
Individualmente, critério de percentual de pares anormais revelou sensibilidade de 95,2%, especificidade de 90,4% e acurácia de 91,8%, ao passo que o critério de *jitter* médio revelou sensibilidade de 90,5%, especificidade de 86,5% e acurácia de 87,7% para o diagnóstico de SMC na nossa amostra.

Ainda assim, considerando os valores de corte tradicionais para a análise do *jitter* obtido por contração muscular voluntária no músculo *Orbicularis Oculi* (42), foi possível observar que muitos casos dos grupos OEPC (20% da amostra utilizando o critério de pares anormais e 25% da amostra utilizando o critério de *jitter* médio) e MCE (5,5% da amostra utilizando o critério de pares anormais e 11,1% da amostra utilizando o critério de *jitter* médio) apresentaram resultado final do *jitter* anormal (Figura 33).

Assim, considerando qualquer dos critérios analisados, obtivemos uma alta sensibilidade (95,2%) e acurácia (89%) para detectar anormalidades na EMGFU-AC em pacientes com SMC na nossa amostra de pacientes, porém as custas de uma baixa especificidade geral (86,5%).

Dessa forma, com a finalidade de atingir a especificidade máxima (100%) para detectar anormalidades na análise do *jitter* em pacientes com SMC em nossa série, analisamos curvas ROC (Figura 34). Construimos a primeira curva ROC utilizando os valores médios do *jitter* dos 21 pacientes do grupo SMC

comparando-os com todos os demais pacientes e controles. Nesta curva, o ponto de corte que proporcionou a maior especificidade (100%) para identificar SMC na nossa amostra foi 54  $\mu$ s para o *jitter* médio.

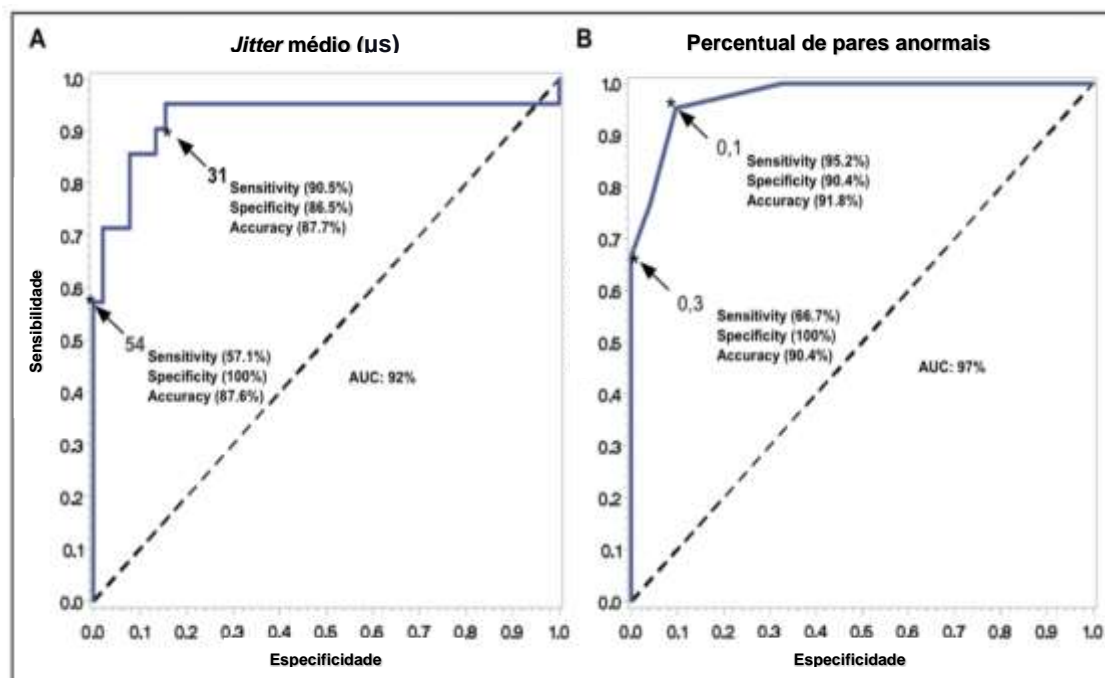


SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 33** – A. Distribuição de pacientes e controles conforme o *jitter* médio utilizado o ponto de corte tradicional de 31  $\mu$ s. B. Distribuição de pacientes e controles conforme o percentual de pares com valores individuais de *jitter* anormais utilizado o ponto de corte tradicional de 10%

Construímos a segunda curva ROC utilizando a porcentagem de pares com *jitter* individual anormal ( $> 45 \mu$ s) dos 21 pacientes do grupo SMC comparando-os com todos os demais pacientes e controles. O ponto de corte

que proporcionou a maior especificidade (100%) para identificar SMC na nossa amostra foi de 30% de pares anormais.

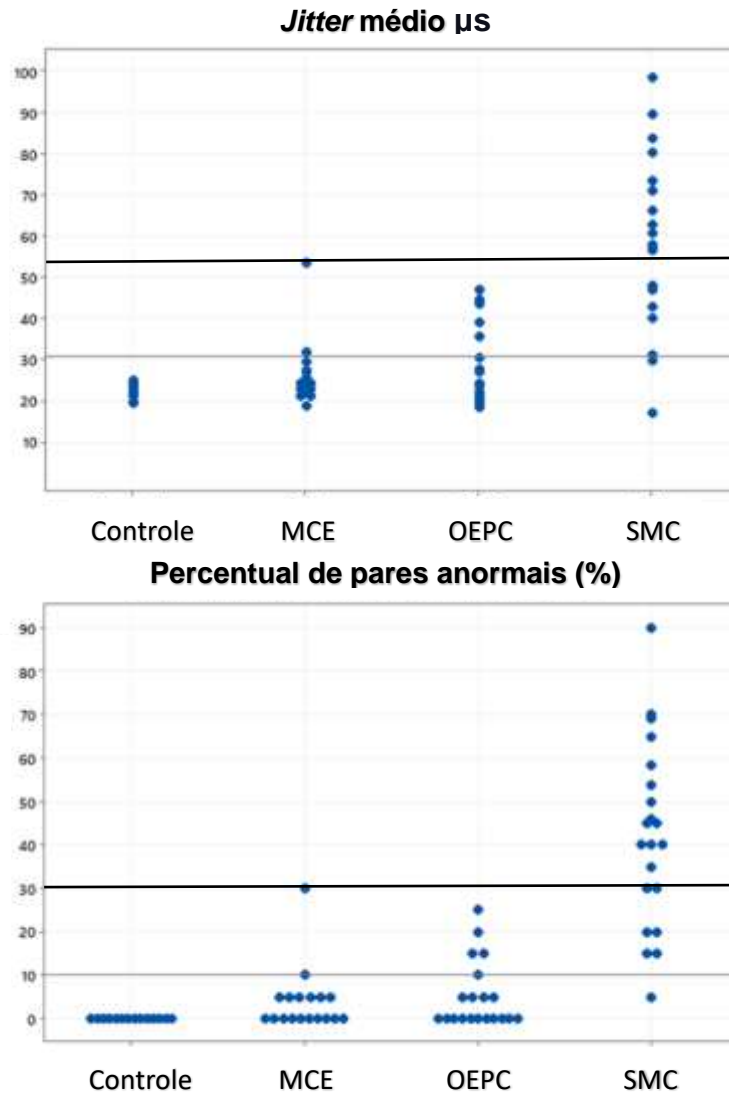


ROC=Receiver Operating Characteristic  
SMC=Síndromes miastênicas congênitas

**Figura 34-** A curva para a característica operacional receptora (ROC) para parâmetros de *jitter* em pacientes com SMC. A. O valor médio de *jitter* ( $\mu$ s) é mostrado para o corte de referência multicêntrico (31  $\mu$ s), e o corte alternativo de 54  $\mu$ s é usado para máxima especificidade. B. O percentual de valores de *jitter* anormal é mostrado para o corte de referência multicêntrico (percentual superior a 10%), e um corte alternativo superior a 30% é usado para a especificidade máxima

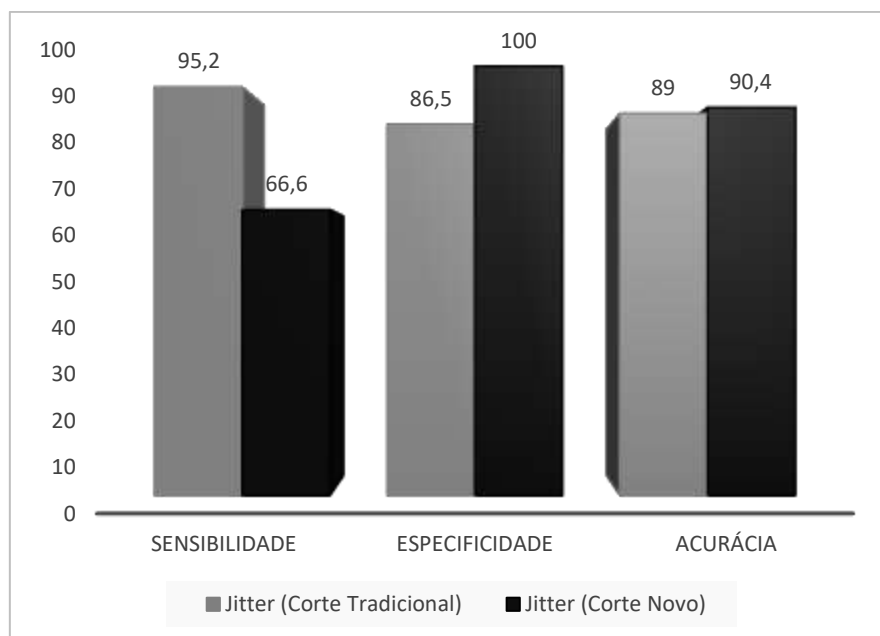
A análise dos critérios novos combinados (um corte de 54  $\mu$ s para o *jitter* médio e/ou ou a presença de pelo menos 30% pares com *jitter* individual anormal) mostrou uma especificidade máxima de 100%, o que permitiu descartar os casos de OEPC e MCE com EMGFU-AC inicialmente anormal (Figura 35), às custas de uma notável queda na sensibilidade global de 95,2% para 66,6%, sem perda de acurácia (na verdade foi observado um ligeiro aumento de 89% para

90,4% em relação aos resultados do estudo multicêntrico), conforme podemos observar na Figura 36.



SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MCE=Miopatias congênitas estruturais

**Figura 35-** Os valores médios de *jitter* (analisado com novo corte  $>54 \mu\text{s}$ ) e o percentual de valores individuais anormais (analisado com novo cortes  $> 30\%$  de pares com valor de *jitter* individual acima de  $45 \mu\text{s}$ ) permitiu separar melhor os pacientes com SMC dos demais pacientes com *jitter* alterado, tanto do grupo OEPC quanto do grupo MCE



ROC=Receiver Operating Characteristic

**Figura 36-** Análise comparativa da sensibilidade, especificidade e acurácia da análise do *jitter* utilizando os valores de cortes tradicionais e os valores obtidos pela curva ROC

#### 4.4 Análise combinada das técnicas de estimulação repetitiva e EMGFU-AC

Os dois únicos pacientes do grupo SMC com teste ER normal em todos os seis músculos avaliados (indivíduos 6 e 9 da Tabela 12), apresentaram análise do *jitter* anormal. Da mesma forma, a única paciente do grupo SMC que apresentou EMGFU-AC com *jitter* normal (paciente 10 da Tabela 12), apresentou ER alterada no músculo *Deltoideus* (decremento de 17%). Assim, todos os pacientes do grupo SMC apresentaram ER e/ou EMGFU-AC anormais, conforme podemos observar melhor na Tabela 18.

No grupo OEPC, todos os vinte pacientes apresentaram ER normal, inclusive os cinco pacientes com *jitter* anormal (pacientes 1, 5, 7, 12 e 18 Tabela 13). No grupo MCE, por sua vez, apenas um paciente (indivíduo 6 da Tabela 14), apresentou ER anormal, mas com *jitter* normal. Outros dois pacientes deste

grupo (pacientes 13 e 17 da Tabela 14) apresentaram *jitter* anormal, porém com ER normal. Assim, nenhum paciente dos grupos OEPC e MCE apresentaram ER e *jitter* anormais ao mesmo tempo (Tabela 18).

Considerando os critérios tradicionais de anormalidade para ambas as técnicas (ER e EMFGU-AC), se um paciente apresenta ambas as técnicas neurofisiológicas anormais, atinge-se sensibilidade de 85,7%, especificidade de 100% e acurácia de 95,8% para o diagnóstico de SMC na nossa amostra. Assim, todos os pacientes na nossa amostra que apresentaram ER e EMGFU-AC anormais ao mesmo tempo pertencem exclusivamente ao grupo SMC (Tabela 19).

Caso apenas pelo menos uma das técnicas (ER ou EMGFU-AC) apresente anormalidades, a sensibilidade é de 100% para o diagnóstico de SMC na nossa amostra (Tabela 19), mostrando como essas técnicas combinadas tem alto poder de triagem diagnóstica, ainda que com baixa especificidade (84,6%) neste cenário.

**Tabela 18** – Análise combinada das técnicas de ER e EMGFU-AC entre os grupos

Variáveis	Grupo			
	SMC	OEPC	MC	Controles
<i>Jitter</i> anormal (%)	20 (95,24)	5 (25,00)	2 (11,11)	0 (0,00)
ER anormal (%)	19 (90,48)	0 (0,00)	1 (5,5)	0 (0,00)
<i>Jitter</i> e/ou ER anormais (%)	21 (100,00)	5 (25,00)	3 (16,7)	0 (0,00)
<i>Jitter</i> e ER anormais (%)	18 (85,71)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)

ER=Estimulação repetitiva

SMC=Síndromes miastênicas congênitas; OEPC=Oftalmoplegia externa progressiva crônica; MC=Miopatias congênitas

**Tabela 19**– Valores de Sensibilidade, Especificidade e Acurácia para distinguir os pacientes com SMC entre os grupos por meio da análise combinada de ER e EMGFU-AC

<b>Parâmetro</b>	<b>Sensibilidade (IC 95%)</b>	<b>Especificidade (IC 95%)</b>	<b>Acurácia (IC 95%)</b>
<b><i>Jitter</i></b>	95,24 (76,18; 99,88)	86,54 (74,21; 94,41)	89,04 (79,54; 95,15)
<b>ER</b>	90,48 (69,62; 98,83)	98,08 (89,74; 99,95)	95,89 (88,46; 99,14)
<b><i>Jitter e</i>ou ER</b>	100,00 (83,89; 100,00)	84,62 (71,92; 93,12)	89,04 (79,54; 95,15)
<b><i>Jitter e</i> ER</b>	85,71 (63,66; 96,95)	100,00 (93,15; 100,00)	95,89 (88,46; 99,14)

ER=Estimulação repetitiva

SMC=Síndromes miastênicas congênitas

EMGFU-AC =Eletroneuromiografia de fibra única com uso de eletrodo de agulha concêntrica

IC=Intervalo de confiança

## 5. Discussão

Um diagnóstico de SMC é confirmado usando técnicas moleculares, como sequenciamento de próxima geração (74). Esse teste é especialmente útil para essa condição, para a qual existem muitos genes causadores (75). No entanto, em alguns casos, o diagnóstico molecular é inconclusivo, seja porque a variante genética não foi identificada ou porque a variante identificada tem significado incerto (75, 76). Em tais pacientes, as pistas diagnósticas são neurofisiológicas, como a avaliação da ER (77, 78) e a análise do *jitter* (75, 79).

Nossos resultados confirmaram a alta acurácia dos estudos neurofisiológicos (ER e EMGFU-AC) para detectar anormalidades em pacientes com SMC. Os testes foram especialmente úteis para diferenciar essa condição de miopatias com apresentações clínicas semelhantes, como a OEPC e a MCE.

Vários estudos mostram decremento anormal (16, 30-32) ou aumento do *jitter* em pacientes com SMC, independente da técnica realizada (16, 20, 30-32). Nosso trabalho avaliou 21 pacientes com várias formas genéticas de SMC, 19 dos quais tiveram um decremento anormal (sensibilidade de 90,4%) e 20 dos quais tiveram um *jitter* anormal (sensibilidade de 95,2%). Nosso protocolo ER com avaliação de seis grupos musculares distintos mostrou uma sensibilidade maior do que em estudos anteriores com pacientes com SMC (16, 30-32). O músculo *Deltoideus* alcançou a melhor acurácia individual. Além disso, notamos que a combinação de dois músculos faciais ou dois músculos proximais da



cintura escapular apresentou melhor acurácia individual do que o estudo dos dois músculos distais.

Uma forma de aumentar ainda mais a sensibilidade da ER é por meio de técnicas de facilitação (77), que pode ser realizada em qualquer músculo, e no nosso trabalho foi realizada de rotina no músculo ADM. Observamos 5% de aumento na sensibilidade final para o identificar SMC na nossa amostra, justificando o uso da técnica de facilitação de rotina.

Nossos resultados também demonstraram que a sensibilidade da análise de *jitter* em pacientes com defeito de transmissão neuromuscular usando EAC foi semelhante aos resultados de estudos de com eletrodo de fibra única (34, 40). Apenas dois pacientes com SMC apresentaram valores normais de decremento, mas ambos tinham parâmetros de *jitter* anormais, confirmando que esta última técnica é aquela com maior sensibilidade. Além disso, apenas um paciente com SMC apresentou parâmetros de *jitter* completamente normais. Vale ressaltar que em casos como este, altamente suspeitos de tratarem-se de distúrbios da transmissão neuromuscular, recomenda-se que um segundo músculo seja testado, selecionado com base nos achados clínicos (80).

Nesse caso em particular, o único paciente do grupo SMC com *jitter* normal recusou-se a prosseguir com um segundo teste muscular. No entanto, esse paciente apresentou um decremento superior a 10% na ER, restrito ao músculo *Deltoideus*. Assim, todos os pacientes com SMC em nosso estudo apresentaram pelo menos uma anormalidade eletrofisiológica da transmissão neuromuscular.

Para detectar anormalidades da transmissão neuromuscular em pacientes com SMC, obtivemos uma sensibilidade geral de 90,5%, uma especificidade de

98,1% e uma acurácia de 95,9% usando os testes de ER e uma sensibilidade geral de 95,2%, especificidade de 86,5% e acurácia de 89% usando a EMGFU-AC. Esses resultados são condizentes com a literatura (16, 32, 71, 81)

*Jitter* anormal já foi descrito em pacientes com miopatias, inclusive as de origem mitocondrial, com a própria OEPC (53, 54, 63) e em MCE (48, 59-61, 66, 82, 83). A fisiopatologia e o mecanismo preciso dos defeitos de transmissão neuromuscular nestes pacientes permanecem desconhecidos, mas deve estar relacionado a um defeito metabólico da própria junção neuromuscular (48). As manifestações clínicas de pacientes com OEPC ou MCE podem se sobrepor àqueles com SMC, especialmente quando se apresentam como um envolvimento ocular puro, o que dificulta ainda mais sua distinção na prática clínica (48).

Em nosso estudo, cinco pacientes com OEPC e dois pacientes com MCE (ambos com miopatia centronuclear e mutação no gene da RYR1) demonstraram *jitter* aumentado. Este achado suporta as observações anteriores acerca das limitações da análise de *jitter* em pacientes com miopatias no que tange a sua especificidade para o diagnóstico de uma disfunção real da junção neuromuscular (37, 48, 53, 54).

Uma forma de minimizar esses erros é utilizar a combinação de técnicas. Pudemos observar que na nossa amostra, apenas pacientes com SMC apresentaram tanto decremento na ER quanto *jitter* anormal na EMGFU. Ao passo que nenhum paciente do grupo SMC apresentou ambos os exames normais. Assim, a combinação de técnicas pode ao mesmo tempo oferecer grande poder de triagem (sensibilidade máxima quando um dos dois exames é

anormal) e grande poder de exclusão de casos sem defeito primário da JNM (especificidade máxima quando ambos os exames são anormais).

Apesar disso, apenas analisando os parâmetros dos valores de referência tradicionais para análise de *jitter* obtido por contração muscular voluntária do músculo *Orbicularis oculi* com o uso de EAC, mesmo por meio da combinação de técnicas, não foi possível diferenciar completamente pacientes com SMC de pacientes com miopatia (OEPC e MCE).

Para tentar melhorar a distinção destes grupos de pacientes, projetamos uma curva ROC para estabelecer o melhor ponto de corte com a maior especificidade e sem falsos positivos para os valores médios de *jitter* e para a porcentagem pares com *jitter* individual aumentado.

Descobrimos que nenhum indivíduo fora do grupo SMC apresentou um *jitter* médio superior a 54  $\mu$ s ou mais de 30% de pares com *jitter* individual anormal ( $> 45 \mu$ s).

Embora a sensibilidade do exame tenha reduzido progressivamente com o aumento do valor de corte (95,2% no corte do estudo multicêntrico versus 66,6% para os novos valores de corte), a acurácia final foi levemente superior com o novo corte (89% versus 90,4%, respectivamente).

Considerando que nenhum dos pacientes com miopatia (cinco indivíduos do grupo OEPC ou cinco indivíduos do grupo MCE) com ENMGFU-AC anormal tenha apresentado um *jitter* médio superior a 54  $\mu$ s ou mais de 30% de pares anormais, pode-se sugerir que um valor de corte aumentado possa ajudar a reduzir a proporção de erros do exame, especialmente em pacientes com ER normal, como é o caso dos sete pacientes mencionados. Esse novo ponto de

corde pode ser usado em casos duvidosos, em que há necessidade de maior certeza diagnóstica.

Vale ressaltar que nosso estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, estudamos um número relativamente pequeno de pacientes, o que pode ser justificado pela raridade das doenças avaliadas e pelo fato de o estudo ter sido realizado em um único centro.

Além disso, uma vez que nem todos os subtipos de SMC ou MCE foram incluídos por uma indisponibilidade na amostra, não podemos presumir que nossos resultados sejam universais e homogêneos para todos os pacientes com essas condições. Por exemplo, pacientes com deficiência de acetilcolina transferase (SMC pré-sináptica) ou mutações no canal de sódio (SMC sináptica) podem requerer testes de ER prolongada ou exercícios prolongados para provocar um decremento patológico e não foram incluídos em nosso estudo.

Em segundo lugar, o protocolo de ER foi limitado a pesquisar o decremento muscular em repouso por meio da estimulação elétrica de baixa frequência (3Hz). A pesquisa de decremento pode ser facilitada pela realização de esforço muscular e / ou por meio da estimulação em frequências mais altas, podendo ser muito útil no diagnóstico de alguns tipos de SMC (84). No entanto, nosso estudo foi possível usando a estimulação padrão de 3 Hz que é mais confortável para os pacientes.

Terceiro, a média etária dos pacientes com CMS e MCE era geralmente maior do que a da maioria dos pacientes com OEPC, e por isso não foi possível parear todos os grupos por idade.

Isso tem menor implicação se considerarmos que nenhum paciente avaliado tinha idade inferior a 12 anos. Sabe-se que em crianças não cooperativas ou muito pequenas, a ER pode ser realizado sob sedação, e a análise de *jitter* é geralmente realizada com estimulação elétrica e não sob contração voluntária. A escolha de pacientes e controles com idades maiores e maior poder de cooperação permitiu que de modo geral a aplicação dos testes neurofisiológicos fossem uniformes entre todos os grupos, permitindo uma comparação mais realista, ainda que não exatamente pareada por idade.

Uma limitação adicional deste estudo foi que o *jitter* foi medido apenas no músculo *Orbicularis oculi*. Trata-se de músculo altamente sensível para análise do *jitter* em pacientes com MG autoimune (73), e por isso foi nosso músculo de escolha. No nosso trabalho, apesar da alta sensibilidade da EMGFU-AC para diagnóstico de SMC utilizando um único músculo, seria recomendável que um segundo músculo fosse testado sempre que a EMGFU-AC resultasse normal (85), podendo aumentar ainda mais a acurácia da técnica. Entretanto, por questões metodológicas e de tolerância do paciente, apenas um músculo foi avaliado. Assim, seria muito relevante no futuro testar outros músculos clinicamente envolvidos em cada uma dessas condições.

No entanto, por se tratar de um estudo unicêntrico, algumas vantagens devem ser consideradas, como a utilização do mesmo equipamento, a colaboração da mesma equipe na investigação e a utilização da mesma metodologia e todos os pacientes, permitindo resultados mais homogêneos.

## 6. Conclusões

Em conclusão, a análise de *jitter* por meio da EMGFU-AC e os testes de ER são ferramentas eletrofisiológicas úteis para detectar anormalidades da transmissão neuromuscular em pacientes com SMC, assim como o são para pacientes com *Miastenia Gravis*.

Eles apresentam elevadas especificidade e acurácia quando ambos os testes são anormais, mesmo considerando o corte tradicional para análise de *jitter*.

O protocolo de ER, incluindo os músculos faciais e da cintura escapular, é altamente eficaz e acurado e pode ser útil para casos com valores de *jitter* limítrofes.

Finalmente, em pacientes com decremento normal nos testes de ER, a análise de *jitter* pode atingir especificidade ainda maior para detectar anormalidades da transmissão neuromuscular em pacientes com SMC utilizando valores de cortes superiores a 54  $\mu$ s para o *jitter* médio ou valores de cortes superiores a 30% para o percentual de pares com valores anormais de *jitter* individual.

## 7. Anexos

### Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

#### **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

#### **TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO**

#### **DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

**Título da pesquisa:** Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita estrutural e miopatia mitocondrial: uma análise quantitativa.

**Pesquisador principal:** Vitor Marques Caldas, CRM 153471-SP

**Pesquisador orientador:** Edmar Zanoteli

**Pesquisador co-orientador:** Carlos Otto Heise

**Instituição:** Departamento de Neurologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP)

O exame de eletroneuromiografia serve para diferenciar doenças dos nervos, dos músculos e da junção entre eles. É um exame simples, seguro e existe há mais de 30 anos. Ele possui duração média de 1 hora e meia ao todo e possui basicamente quatro etapas. A primeira etapa serve para avaliar o funcionamento dos nervos (eletroneuromiografia convencional). A segunda etapa (estimulação repetitiva) é feita com realização de 6 estímulos elétricos repetidos que são feitos em 4 a 6 nervos diferentes da face, pescoço, braço e perna, com a finalidade de observar se as respostas musculares são normais ou apresentam fadiga, que pode ser calculada pelo aparelho. A terceira etapa

(eletroneuromiografia por agulha) consiste na avaliação do músculo e da contração muscular, por meio da inserção de uma fina agulha em músculos da face, braço e perna, que devem ser contraídos voluntariamente por alguns segundos para que se possa fazer a avaliação eletrônica da sua funcionalidade. Por fim a quarta parte do exame (eletromiografia de fibra única), consiste na avaliação das menores partes dos músculos, as fibras musculares. Esse teste é semelhante ao teste anterior e envolve a inserção de uma fina agulha em um músculo da face, conhecido como orbicular dos olhos. Solicitamos que o paciente realize a contração voluntária do olho por alguns segundos a minutos, com a intenção de avaliar se a junção do nervo e músculo está funcionando normalmente.

Apesar de não apresentar risco, existe um certo desconforto relacionado à estimulação nervosa devido à sensação de choque que ela produz. A pele não sofre nenhuma queimadura ou lesão por conta do exame. Quanto às etapas com uso de agulha, essa parte do exame pode causar um certo desconforto relacionado a inserção da agulha nos músculos avaliados, e em alguns pacientes, pode haver formação de pequenas manchas roxas na pele, que devem desaparecer em questão de dias. O examinador usa agulhas finas e avalia o menor número de músculos possíveis para minimizar o desconforto dos pacientes.

Durante o exame, o paciente deve ficar confortável, em repouso, deitado na maca, podendo ficar acompanhado de familiares durante todo o tempo. Em caso de necessidade de interrupção, o exame pode ser realizado após a parada sem problemas. Na maioria dos casos, pode ser concluído em uma única visita ao hospital, mas se for necessário pode ser dividido para maior tolerância dos pacientes.

Com essas todas etapas do estudo, conseguimos avaliar se há funcionamento normal ou não dos nervos, músculos e da junção dos nervos e músculos. A nossa intenção com o trabalho é justamente utilizar os dados da eletroneuromiografia em pacientes com diagnósticos de doenças raras do músculo (miopatia mitocondrial, Miopatia Congênita) e da junção do nervo e do músculo (Miastenia Congênita) e assim definir se existe alguma forma mais detalhada de diferenciarmos essas doenças por meio da eletroneuromiografia.



Se você acompanha em nosso ambulatório de neurologia e possui o diagnóstico de alguma dessas doenças citadas, você será convidado a participar do nosso trabalho. A realização do exame traz o benefício de refinar o diagnóstico da sua doença e ao permitir o uso dos seus dados, permite que possamos diagnosticar outros pacientes com doenças semelhantes no futuro.

Caso nunca tenha feito esse exame previamente, realizaremos todas as suas quatro etapas, após seu consentimento e utilizaremos os dados coletados no nosso estudo. Caso você já tenha feito alguma parte desse exame em nosso serviço, realizaremos apenas as etapas complementares e utilizaremos os dados coletados no nosso estudo. Se todas as etapas do exame já tiverem sido feitas por nossa equipe, apenas revisaremos os resultados e solicitaremos sua autorização para uso dos dados no nosso trabalho.

Em caso de você tiver menos de 18 anos (menor de idade), esse termo especial conhecido como termo de Assentimento deve ser assinado, o que significa que você concorda em fazer parte de um grupo de crianças e adolescentes para participar de uma pesquisa. Para isso precisamos da autorização e assinatura de seus pais ou de um responsável legal para incluir seu caso no estudo.

Se por algum motivo você ou seu responsável não autorizar o uso dos seus dados no trabalho, não haverá problemas, pois seu tratamento no ambulatório continuará normalmente, sem nenhum prejuízo no seu acompanhamento. Mas caso seja permitido usar os dados do exame no nosso trabalho, você estará ajudando outras pessoas com suspeita de todas essas doenças raras no futuro. Em qualquer etapa da pesquisa, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Dr. Vitor Marques Caldas, que pode ser encontrado no telefone (11) 987051570 e no e-mail vitorcaldasm@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5o andar – tel: (11) 2661- 6442 ramais 16, 17, 18, ou (11) 2661-7585; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

*Fui suficientemente informado a respeito do estudo “Avaliação de distúrbio da junção neuromuscular em pacientes com miastenia congênita,*

miopatia congênita ou miopatia mitocondrial confirmadas”. *Eu discuti as informações acima com o pesquisador responsável (Dr Vitor Marques Caldas) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.*

NOME:.....

..... DOCUMENTO DE IDENTIDADE No : .....

SEXO : .M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....<sup>SEP</sup> TELEFONE: DDD

(.....).....

RESPONSÁVEL LEGAL (menores):.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD.....SEXO: M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....<sup>SEP</sup> TELEFONE: DDD (.....)

.....

---

Assinatura do participante

Data \_\_/\_\_/\_\_

---

Assinatura do responsável legal

(se menor de 18 anos)

Data \_\_/\_\_/\_\_

---

Assinatura do responsável pelo estudo

Data \_\_/\_\_/\_\_

## Anexo B- Ficha clínica dos pacientes estudados



Projeto de Pesquisa: Avaliação eletrofisiológica da junção neuromuscular em pacientes com miastenia congênita, miopatia congênita estrutural e miopatia mitocondrial: análise quantitativa.  
Setor de Eletro-neuromiografia da Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo



### PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

#### Dados técnicos e demográficos

Médico avaliador: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Aparelho (*jitter*) \_\_\_\_\_  
 Nome do paciente: \_\_\_\_\_ Gênero: masc ( ) fem ( )  
 Registro HC: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_\_  
 Endereço \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_  
 Telefone domiciliar: ( ) \_\_\_\_\_ Telefone celular: ( ) \_\_\_\_\_

#### Dados Clínicos

Idade aproximada de início dos sintomas: \_\_\_\_\_  
 História familiar semelhante ( ) não ( ) sim Padrão de herança: \_\_\_\_\_  
 Ptose: ( ) ausente ( ) simétrica ( ) assimetria pior a \_\_\_ ( ) unilateral direita ( ) uni esq.  
 Oftalmoparesia: ( ) ausente ( ) incompleta ( ) acentuada ( ) olhar congelado  
 RS ( ) RI ( ) RL ( ) RM ( ) OS ( ) OI ( ) Foria ( )  
 Diplopia: ( ) ausente ( ) presente Disfagia: ( ) ausente ( ) presente  
 Disfonia: ( ) ausente ( ) presente Disartria: ( ) ausente ( ) presente  
 Prova do gelo: ( ) negativa ( ) positiva Prova medida em cm: \_\_\_\_\_  
 Flutuação de sintomas: ( ) ausente ( ) subjetiva ( ) objetiva – fadigabilidade  
 Fraqueza em musculatura cervical: ( ) ausente ( ) presente  
 Fraqueza apendicular: ( ) ausente ( ) proximal ( ) distal ( ) proximal e distal ( ) astenia  
 Escala de Força 0-5: Total 120 \_\_\_\_\_  
 Cadeirante: ( ) não ( ) apenas fora de casa ( ) cadeirante todo tempo  
 Apoio: ( ) apenas para levantar ( ) duplo apoio para andar ( ) apoio unilateral para andar  
 Reflexos: normoativos ( ) hipoativos ( ) abolidos ( ) \_\_\_\_\_  
 Retinose pigmentar na fundoscopia: ( ) não ( ) sim  
 Cardiopatia: ( ) ausente ( ) estrutural FEVE% \_\_\_\_\_ ( ) arritmia \_\_\_\_\_  
 Encefalopatia: ( ) Atraso cognitivo: ( ) Escolaridade (anos): \_\_\_\_\_ Ocupação: \_\_\_\_\_  
 Espirometria \_\_\_\_\_ Dispnéia: ( ) sim ( ) não CPAP noturno: ( ) sim ( ) não

**Medicações de uso atual ou prévio:**

Anticolinesterásico (se sim, dose atual): \_\_\_\_\_ (tempo de uso): \_\_\_\_\_

Resposta a anticolinesterásico ( ) não ( ) parcial ( ) duvidosa ( ) significativa

Já fez uso de imunossupressor ( ) não ( ) sim \_\_\_\_\_

Outros: betabloqueador ( ) bloqueador de canal de cálcio ( ) toxina botulínica ( )

Multivitamínicos e coenzima Q10: \_\_\_\_\_

**Exames relevantes para diagnóstico etiológico**

CPK máxima \_\_\_\_\_ CPK atual \_\_\_\_\_ Aldolase \_\_\_\_\_ Lactato \_\_\_\_\_

Biopsia muscular ( // ): \_\_\_\_\_

Autoanticorpos se  
disponíveis: \_\_\_\_\_Teste  
genético: \_\_\_\_\_

Função tireoidiana: \_\_\_\_\_

**Dados da ENMG- Avaliador/Data:**\_\_\_\_\_  
Estudo de condução (resumo): ( ) normal ( ) alterado\_\_\_\_\_  
Estimulação repetitiva: TA \_\_\_ ADM \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ DEL \_\_\_ TPZ \_\_\_ NAS \_\_\_ OO \_\_\_

EMG hemicorpo: ( ) normal ( ) miopático ( ) neurogênico

QEMG: ( ) delt \_\_\_ ( ) bíceps \_\_\_ ( ) vasto \_\_\_ ( ) outro

Jitter OO (lado \_\_\_\_\_): total de pares \_\_\_ outliers \_\_\_ media \_\_\_

Valor de cada

par: \_\_\_\_\_

Piridistigmina (em caso de uso) suspenso há \_\_\_\_\_ horas

## 8. Referências

1. Lacomis D, Puwanant A. What is in the Neuromuscular Junction Literature? *J Clin Neuromuscul Dis.* 2018;20(2):76-84.
2. Rahman MM, Mahmud M, Vassanelli S. Effect of self-gating on action potential firing at neuromuscular junction. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011;2011:4082-5.
3. Verschuuren J, Strijbos E, Vincent A. Neuromuscular junction disorders. *Handb Clin Neurol.* 2016;133:447-66.
4. Engel AG, Shen XM, Selcen D, Sine SM. Congenital myasthenic syndromes: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol.* 2015;14(5):461.
5. Oh SJ. Neuromuscular junction disorders beyond myasthenia gravis. *Curr Opin Neurol.* 2021;34(5):648-57.
6. Liang CL, Han S. Neuromuscular junction disorders. *Pm r.* 2013;5(5 Suppl):S81-8.
7. Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies. *Lancet Neurol.* 2015;14(10):1023-36.
8. Mantegazza R, Bernasconi P, Cavalcante P. Myasthenia gravis: from autoantibodies to therapy. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(5):517-25.
9. Binks S, Vincent A, Palace J. Myasthenia gravis: a clinical-immunological update. *J Neurol.* 2016;263(4):826-34.
10. Narayanaswami P, Sanders DB, Wolfe G, Benatar M, Cea G, Evoli A, et al. International Consensus Guidance for Management of Myasthenia Gravis: 2020 Update. *Neurology.* 2021;96(3):114-22.
11. Phillips WD, Vincent A. Pathogenesis of myasthenia gravis: update on disease types, models, and mechanisms. *F1000Res.* 2016;5.
12. Kesner VG, Oh SJ, Dimachkie MM, Barohn RJ. Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome. *Neurol Clin.* 2018;36(2):379-94.
13. Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CS, Werneck LC. Congenital myasthenic syndrome: a brief review. *Pediatr Neurol.* 2012;46(3):141-8.

14. Ramdas S, Beeson D. Congenital myasthenic syndromes: where do we go from here? *Neuromuscul Disord*. 2021;31(10):943-54.
15. Rodríguez Cruz PM, Palace J, Beeson D. The Neuromuscular Junction and Wide Heterogeneity of Congenital Myasthenic Syndromes. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6).
16. Estephan EP, Sobreira C, Dos Santos ACJ, Tomaselli PJ, Marques W, Jr., Ortega RPM, et al. A common CHRNE mutation in Brazilian patients with congenital myasthenic syndrome. *J Neurol*. 2018;265(3):708-13.
17. Finsterer J. Congenital myasthenic syndromes. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):57.
18. Bevilacqua JA, Lara M, Díaz J, Campero M, Vázquez J, Maselli RA. Congenital Myasthenic Syndrome due to DOK7 mutations in a family from Chile. *Eur J Transl Myol*. 2017;27(3):6832.
19. Beeson D. Congenital myasthenic syndromes: recent advances. *Curr Opin Neurol*. 2016;29(5):565-71.
20. Ding Q, Shen D, Dai Y, Hu Y, Guan Y, Liu M, et al. Mechanism hypotheses for the electrophysiological manifestations of two cases of endplate acetylcholinesterase deficiency related congenital myasthenic syndrome. *J Clin Neurosci*. 2018;48:229-32.
21. Abath Neto O, Heise CO, Moreno CA, Estephan EP, Mesrob L, Lechner D, et al. Nonlethal CHRNA1-Related Congenital Myasthenic Syndrome with a Homozygous Null Mutation. *Can J Neurol Sci*. 2017;44(1):125-7.
22. McClelland C, Manousakis G, Lee MS. Progressive External Ophthalmoplegia. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2016;16(6):53.
23. Claeys KG. Congenital myopathies: an update. *Dev Med Child Neurol*. 2020;62(3):297-302.
24. Ciafaloni E. Myasthenia Gravis and Congenital Myasthenic Syndromes. *Continuum (Minneap Minn)*. 2019;25(6):1767-84.
25. Zivković SA, Shipe C. Use of repetitive nerve stimulation in the evaluation of neuromuscular junction disorders. *Am J Electroneurodiagnostic Technol*. 2005;45(4):248-61.
26. Howard JF, Jr. Electrodiagnosis of disorders of neuromuscular transmission. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2013;24(1):169-92.
27. Yiannikas C, Sheean GL, King PJ. The relative sensitivities of the axillary and accessory nerves in the diagnosis of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 1994;17(5):561-2.

28. Sanders DB. Clinical impact of single-fiber electromyography. *Muscle Nerve Suppl.* 2002;11:S15-20.
29. Oh SJ, Eslami N, Nishihira T, Sarala PK, Kuba T, Elmore RS, et al. Electrophysiological and clinical correlation in myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 1982;12(4):348-54.
30. Zafeiriou DI, Pitt M, de Sousa C. Clinical and neurophysiological characteristics of congenital myasthenic syndromes presenting in early infancy. *Brain Dev.* 2004;26(1):47-52.
31. Mihaylova V, Scola RH, Gervini B, Lorenzoni PJ, Kay CK, Werneck LC, et al. Molecular characterisation of congenital myasthenic syndromes in Southern Brazil. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010;81(9):973-7.
32. Klein A, Pitt MC, McHugh JC, Niks EH, Sewry CA, Phadke R, et al. DOK7 congenital myasthenic syndrome in childhood: early diagnostic clues in 23 children. *Neuromuscul Disord.* 2013;23(11):883-91.
33. Trontelj JV, Stålberg E. Single fiber electromyography in studies of neuromuscular function. *Adv Exp Med Biol.* 1995;384:109-19.
34. Sanders DB, Arimura K, Cui L, Ertaş M, Farrugia ME, Gilchrist J, et al. Guidelines for single fiber EMG. *Clin Neurophysiol.* 2019;130(8):1417-39.
35. Benatar M, Hammad M, Doss-Riney H. Concentric-needle single-fiber electromyography for the diagnosis of myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 2006;34(2):163-8.
36. F CNM, J AK, P EM. Diagnostic accuracy of concentric needle jitter in myasthenia: Prospective study. *Muscle Nerve.* 2017;55(2):190-4.
37. Pitt MC, McHugh JC, Deeb J, Smith RA. Assessing neuromuscular junction stability from stimulated EMG in children. *Clin Neurophysiol.* 2017;128(2):290-6.
38. Keeseey JC. Clinical evaluation and management of myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 2004;29(4):484-505.
39. Kouyoumdjian JA, Stålberg EV. Concentric needle single fiber electromyography: comparative jitter on voluntary-activated and stimulated Extensor Digitorum Communis. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(7):1614-8.
40. Ertaş M, Baslo MB, Yildiz N, Yazici J, Oge AE. Concentric needle electrode for neuromuscular jitter analysis. *Muscle Nerve.* 2000;23(5):715-9.
41. Sanders DB. Measuring jitter with concentric needle electrodes. *Muscle Nerve.* 2013;47(3):317-8.

42. Stålberg E, Sanders DB, Ali S, Cooray G, Leonardis L, Löseth S, et al. Reference values for jitter recorded by concentric needle electrodes in healthy controls: A multicenter study. *Muscle Nerve*. 2016;53(3):351-62.
43. Kokubun N, Sonoo M, Imai T, Arimura Y, Kuwabara S, Komori T, et al. Reference values for voluntary and stimulated single-fibre EMG using concentric needle electrodes: a multicentre prospective study. *Clin Neurophysiol*. 2012;123(3):613-20.
44. Kouyoumdjian JA, Fanani AC, Stålberg EV. Concentric needle jitter on stimulated frontalis and extensor digitorum in 20 myasthenia gravis patients. *Muscle Nerve*. 2011;44(6):912-8.
45. Sarrigiannis PG, Kennett RP, Read S, Farrugia ME. Single-fiber EMG with a concentric needle electrode: validation in myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 2006;33(1):61-5.
46. Stålberg E, Kouyoumdjian JA, Paiva GP, Yanaze LL, Sanders DB. Problems in Comparing Jitter Values Obtained with Voluntary Activation and Electrical Stimulation. *J Neuromuscul Dis*. 2018;5(2):225-30.
47. Tidswell T, Pitt MC. A new analytical method to diagnose congenital myasthenia with stimulated single-fiber electromyography. *Muscle Nerve*. 2007;35(1):107-10.
48. Nicolau S, Kao JC, Liewluck T. Trouble at the junction: When myopathy and myasthenia overlap. *Muscle Nerve*. 2019;60(6):648-57.
49. Valls-Canals J, Montero J, Pradas J. Stimulated single fiber EMG of the frontalis muscle in the diagnosis of ocular myasthenia. *Muscle Nerve*. 2000;23(5):779-83.
50. Stålberg E, Sanders DB, Kouyoumdjian JA. Pitfalls and errors in measuring jitter. *Clin Neurophysiol*. 2017;128(11):2233-41.
51. Stålberg EV, Sanders DB. Jitter recordings with concentric needle electrodes. *Muscle Nerve*. 2009;40(3):331-9.
52. Narayanaswami P, Pantoja-Galicia N, Betensky RA, Rutkove SB. Application of futility analysis to refine jitter recordings in myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 2012;45(4):486-91.
53. Girlanda P, Toscano A, Nicolosi C, Sinicropi S, Picciolo G, Macaione V, et al. Electrophysiological study of neuromuscular system involvement in mitochondrial cytopathy. *Clin Neurophysiol*. 1999;110(7):1284-9.
54. Ukachoke C, Ashby P, Basinski A, Sharpe JA. Usefulness of single fiber EMG for distinguishing neuromuscular from other causes of ocular muscle weakness. *Can J Neurol Sci*. 1994;21(2):125-8.



55. Cui LY, Liu MS, Tang XF. Single fiber electromyography in 78 patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(12):1830-3.
56. Oh SJ. The single-fiber EMG in chronic demyelinating neuropathy. *Muscle Nerve*. 1989;12(5):371-7.
57. Lagueny A, Le Masson G, Burbeaud P, Deliac P. Single fibre electromyography in multifocal motor neuropathy with persistent conduction blocks. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;65(3):357-61.
58. Hatanaka Y, Oh SJ. Single-fiber electromyography in sporadic inclusion body myopathy. *Clin Neurophysiol*. 2007;118(7):1563-8.
59. Wallgren-Pettersson C, Sainio K, Salmi T. Electromyography in congenital nemaline myopathy. *Muscle Nerve*. 1989;12(7):587-93.
60. Gibbs EM, Clarke NF, Rose K, Oates EC, Webster R, Feldman EL, et al. Neuromuscular junction abnormalities in DNM2-related centronuclear myopathy. *J Mol Med (Berl)*. 2013;91(6):727-37.
61. Elahi B, Laughlin RS, Litchy WJ, Milone M, Liewluck T. Neuromuscular transmission defects in myopathies: Rare but worth searching for. *Muscle Nerve*. 2019;59(4):475-8.
62. Fawcett PR, Mastaglia FL, Mechler F. Electrophysiological findings including single fibre EMG in a family with mitochondrial myopathy. *J Neurol Sci*. 1982;53(2):397-410.
63. Cruz-Martínez A, Arpa J, Santiago S, Pérez-Conde C, Gutiérrez-Molina M, Campos Y. Single fiber electromyography (SFEMG) in mitochondrial diseases (MD). *Electromyogr Clin Neurophysiol*. 2004;44(1):35-8.
64. Butterfield RJ. Congenital Muscular Dystrophy and Congenital Myopathy. *Continuum (Minneap Minn)*. 2019;25(6):1640-61.
65. Ogasawara M, Nishino I. A review of core myopathy: central core disease, multiminicore disease, dusty core disease, and core-rod myopathy. *Neuromuscul Disord*. 2021;31(10):968-77.
66. Illingworth MA, Main M, Pitt M, Feng L, Sewry CA, Gunny R, et al. RYR1-related congenital myopathy with fatigable weakness, responding to pyridostigmine. *Neuromuscul Disord*. 2014;24(8):707-12.
67. Nonaka I. Mitochondrial diseases. *Curr Opin Neurol Neurosurg*. 1992;5(5):622-32.
68. Clarke NF, North KN. Congenital fiber type disproportion--30 years on. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003;62(10):977-89.

69. Wallgren-Pettersson C. Nemaline and myotubular myopathies. *Semin Pediatr Neurol*. 2002;9(2):132-44.
70. Harriman DG, Ellis FR. Central-core disease and malignant hyperpyrexia. *Br Med J*. 1973;1(5852):545-6.
71. Estephan EP, Zambon AA, Marchiori PE, da Silva AMS, Caldas VM, Moreno CAM, et al. Clinical variability of early-onset congenital myasthenic syndrome due to biallelic RAPSN mutations in Brazil. *Neuromuscul Disord*. 2018;28(11):961-4.
72. Trontelj JV, Khuraibet A, Mihelin M. The jitter in stimulated orbicularis oculi muscle: technique and normal values. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51(6):814-9.
73. Valls-Canals J, Povedano M, Montero J, Pradas J. Stimulated single-fiber EMG of the frontalis and orbicularis oculi muscles in ocular myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 2003;28(4):501-3.
74. Vanhaesebrouck AE, Beeson D. The congenital myasthenic syndromes: expanding genetic and phenotypic spectrums and refining treatment strategies. *Curr Opin Neurol*. 2019;32(5):696-703.
75. Winder TL, Tan CA, Klemm S, White H, Westbrook JM, Wang JZ, et al. Clinical utility of multigene analysis in over 25,000 patients with neuromuscular disorders. *Neurol Genet*. 2020;6(2):e412.
76. Abicht A, Müller JS, Lochmüller H. Congenital Myasthenic Syndromes Overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle Copyright © 1993-2022, University of Washington, Seattle. *GeneReviews* is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
77. Nicolau S, Milone M. The Electrophysiology of Presynaptic Congenital Myasthenic Syndromes With and Without Facilitation: From Electrodiagnostic Findings to Molecular Mechanisms. *Front Neurol*. 2019;10:257.
78. Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CSK, Werneck LC, Horvath R, Lochmüller H. How to Spot Congenital Myasthenic Syndromes Resembling the Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome? A Brief Review of Clinical, Electrophysiological, and Genetics Features. *Neuromolecular Med*. 2018;20(2):205-14.
79. Sadeh M, Blatt I, Goldhammer Y. Single fiber EMG in a congenital myasthenic syndrome associated with facial malformations. *Muscle Nerve*. 1993;16(2):177-80.
80. Sanders DB, Howard JF, Jr. AAEE minimonograph #25: Single-fiber electromyography in myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 1986;9(9):809-19.

81. Lorenzoni PJ, Scola RH, Gervini BL, Kay CS, Werneck LC. Electrophysiological study in synaptic congenital myasthenic syndrome: end-plate acetylcholinesterase deficiency. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009;67(2b):502-4.
82. Fidziańska A, Goebel HH. Aberrant arrested in maturation neuromuscular junctions in centronuclear myopathy. *J Neurol Sci*. 1994;124(1):83-8.
83. Robb SA, Sewry CA, Dowling JJ, Feng L, Cullup T, Lillis S, et al. Impaired neuromuscular transmission and response to acetylcholinesterase inhibitors in centronuclear myopathies. *Neuromuscul Disord*. 2011;21(6):379-86.
84. LoRusso SJ, Iyadurai SJ. Decrement with high frequency repetitive nerve stimulation in a RAPSN congenital myasthenic syndrome. *Muscle Nerve*. 2018;57(3):E106-e8.
85. Kouyoumdjian JA, Paiva GP, Stålberg E. Concentric Needle Jitter in 97 Myasthenia Gravis Patients. *Front Neurol*. 2020;11:600680.

## Apêndice

### Publicação relacionada com a tese



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 30 (2020) 897–903



[www.elsevier.com/locate/nmd](http://www.elsevier.com/locate/nmd)

## Electrophysiological study of neuromuscular junction in congenital myasthenic syndromes, congenital myopathies, and chronic progressive external ophthalmoplegia

Vitor Marques Caldas<sup>a</sup>, Carlos Otto Heise<sup>a</sup>, João Aris Kouyoumdjian<sup>b</sup>,  
Antônio Alberto Zambon<sup>a</sup>, André Macedo Serafim Silva<sup>a</sup>, Eduardo de Paula Estephan<sup>a,c</sup>,  
Edmar Zanoteli<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Neurology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Av. Dr. Enéas Carvalho Aguiar 255, 05403-900 São Paulo SP, Brazil

<sup>b</sup> Laboratório de Investigação Neuromuscular, Faculdade Estadual de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

<sup>c</sup> Department of Medicine, Faculdade Santa Marcelina, São Paulo, Brazil

Received 3 August 2020; received in revised form 5 October 2020; accepted 7 October 2020

### Abstract

This study was designed to analyze the sensitivity, specificity, and accuracy of jitter parameters combined with repetitive nerve stimulation (RNS) in congenital myasthenic syndrome (CMS), chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO), and congenital myopathies (CM). Jitter was obtained with a concentric needle electrode during voluntary activation of the *Orbicularis Oculi* muscle in CMS ( $n=21$ ), CPEO ( $n=20$ ), and CM ( $n=18$ ) patients and in controls ( $n=14$ ). RNS (3 Hz) was performed in six different muscles for all patients (*Abductor Digiti Minimi*, *Tibialis Anterior*, upper *Trapezius*, *Deltoideus*, *Orbicularis Oculi*, and *Nasalis*). RNS was abnormal in 90.5% of CMS patients and in only one CM patient. Jitter was abnormal in 95.2% of CMS, 20% of CPEO, and 11.1% of CM patients. No patient with CPEO or CM presented a mean jitter higher than 53.6  $\mu$ s or more than 30% abnormal individual jitter ( $> 45 \mu$ s). No patient with CPEO or CM and mild abnormal jitter values presented an abnormal decrement. Jitter and RNS assessment are valuable tools for diagnosing neuromuscular transmission abnormalities in CMS patients. A mean jitter value above 53.6  $\mu$ s or the presence of more than 30% abnormal individual jitter ( $> 45 \mu$ s) strongly suggests CMS compared with CPEO and CM.

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Congenital myasthenic syndrome; Jitter; Single-fiber electromyography; Concentric needle electrode; Chronic progressive external ophthalmoplegia; Congenital myopathies.

### 1. Introduction

Congenital myasthenic syndrome (CMS) comprises inherited diseases in which the safety margin of neuromuscular transmission is impaired [1]. It is characterized by fatigue and fluctuating or fixed weakness in extraocular, facial, bulbar, truncal, respiratory, or limb muscles [1,2]. Weakness typically begins in young children but can also appear in teens or adults. The clinical severity of CMS

ranges from mild to disabling weakness, sometimes with respiratory insufficiency and premature death [2,3]. Due to this wide clinical variability, which occasionally appears without fatigability or fluctuating weakness, CMS diagnosis is a clinical challenge. In addition, it can be challenging to differentiate CMS from acquired Myasthenia Gravis (MG) and other nonjunctional neuromuscular disorders, such as congenital myopathies (CM) and mitochondrial myopathies, especially chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO), because the phenotypes may overlap. This distinction is clinically critical, as CMS is often responsive to specific symptomatic treatment [2,3].

\* Corresponding author.

E-mail address: [edmar.zanoteli@usp.br](mailto:edmar.zanoteli@usp.br) (E. Zanoteli).



## A common *CHRNE* mutation in Brazilian patients with congenital myasthenic syndrome

Eduardo de Paula Estephan<sup>1</sup> · Cláudia Ferreira da Rosa Sobreira<sup>2</sup> · André Clériston José dos Santos<sup>2</sup> · Pedro José Tomaselli<sup>2</sup> · Wilson Marques Jr.<sup>2</sup> · Roberta Paiva Magalhães Ortega<sup>3</sup> · Marcela Câmara Machado Costa<sup>4</sup> · André Macedo Serafim da Silva<sup>1</sup> · Rodrigo Holanda Mendonça<sup>1</sup> · Vitor Marques Caldas<sup>1</sup> · Antonio Alberto Zambon<sup>1</sup> · Osório Abath Neto<sup>1</sup> · Paulo Eurípedes Marchiori<sup>1</sup> · Carlos Otto Heise<sup>1</sup> · Umbertina Conti Reed<sup>1</sup> · Yoshiteru Azuma<sup>5</sup> · Ana Töpf<sup>5</sup> · Hanns Lochmüller<sup>5</sup> · Edmar Zanoteli<sup>1</sup>

Received: 6 November 2017 / Revised: 16 December 2017 / Accepted: 4 January 2018 / Published online: 30 January 2018  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

### Abstract

The most common causes of congenital myasthenic syndromes (CMS) are *CHRNE* mutations, and some pathogenic allelic variants in this gene are especially frequent in certain ethnic groups. In the southern region of Brazil, a study found the c.130dupG *CHRNE* mutation in up to 33% of families with CMS. Here, we aimed to verify the frequency of this mutation among individuals with CMS in a larger cohort of CMS patients from different areas of Brazil and to characterize clinical features of these patients. Eighty-four patients with CMS, from 72 families, were clinically evaluated and submitted to direct sequencing of the exon 2 of *CHRNE*. The c.130dupG mutation was found in 32 patients (23 families), with 26 patients (19 families, 26.3%) in homozygosis, confirming its high prevalence in different regions of Brazil. Among the homozygous patients, the following characteristics were frequent: onset of symptoms before 2 years of age (92.3%), little functional restriction (92.3%), fluctuating symptoms (100%), ocular muscle impairment (96.1%), ptosis (100%), limb weakness (88.4%), response to pyridostigmine (100%), facial involvement (77%), and bulbar symptoms (70.8%). The pretest probability of finding at least one allele harbouring the c.130dupG mutation was 38.1%. Selecting only patients with impaired eye movement together with limb weakness and improvement with pyridostigmine, the probability increases to 72.2%. This clinical pre-selection of patients is likely a useful tool for regions where *CHRNE* mutations have a founder effect. In conclusion, the *CHRNE* mutation c.130dupG leads to fairly benign natural course of the disease with relative homogeneity.

**Keywords** Congenital myasthenic syndrome · Neuromuscular junction · *CHRNE* · Acetylcholine receptor · Pyridostigmine

### Introduction

Congenital myasthenic syndromes (CMS) are a group of genetic disorders in which the safety factor of the neuromuscular transmission is impaired. The phenotype is variable, making diagnosis difficult [1, 2]. The increasing number of CMS causative genes adds to the difficulty of establishing the correct molecular diagnosis, and knowing the exact type of CMS has implications for appropriate care of the patients [1, 3]. However, *CHRNE* mutations account for up to 50% of all CMS [3, 4]. Other genes that more commonly lead to CMS are *DOK7*, *COLQ*, and *RAPSN* [5], but the frequency of the affected genes varies according to the studied geographic region and population [6, 7].

Although there are several *CHRNE* mutations described, some pathogenic allelic variants are especially frequent in

✉ Edmar Zanoteli  
edmar.zanoteli@usp.br

<sup>1</sup> Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Av. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 5o andar, sala 5084, Cerqueira César, São Paulo 05403-900, Brazil

<sup>2</sup> Department of Neurosciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

<sup>3</sup> Neuropediatric Division, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

<sup>4</sup> Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, Brazil

<sup>5</sup> Institute of Genetic Medicine, Central Parkway, Newcastle upon Tyne NE1 3BZ, UK



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 28 (2018) 961–964



[www.elsevier.com/locate/nmd](http://www.elsevier.com/locate/nmd)

Case report

## Clinical variability of early-onset congenital myasthenic syndrome due to biallelic RAPSN mutations in Brazil

Eduardo de Paula Estephan<sup>a,b</sup>, Antonio Alberto Zambon<sup>a</sup>, Paulo Eurípedes Marchiori<sup>a</sup>, André Macedo Serafim da Silva<sup>a</sup>, Vitor Marques Caldas<sup>a</sup>, Cristiane Araújo Martins Moreno<sup>c</sup>, Umbertina Conti Reed<sup>a</sup>, Rita Horvath<sup>d</sup>, Ana Töpf<sup>e</sup>, Hanns Lochmüller<sup>f,g,h</sup>, Edmar Zanoteli<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brazil

<sup>b</sup>Ambulatório de doenças neuromusculares, Hospital Santa Marcelina e Faculdade Santa Marcelina (FASM), São Paulo, Brazil

<sup>c</sup>Department of Neurology, Columbia University Medical Center, New York, USA

<sup>d</sup>Department of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge Biomedical Campus, Cambridge, CB2 0QQ, UK

<sup>e</sup>Institute of Genetic Medicine, Central Parkway, Newcastle upon Tyne NE1 3BZ, UK

<sup>f</sup>Department of Neuropediatrics and Muscle Disorders, Medical Center–University of Freiburg, Faculty of Medicine, Freiburg, Germany

<sup>g</sup>Centro Nacional de Análisis Genómico (CNAG-CRG), Center for Genomic Regulation, Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Barcelona, Spain

<sup>h</sup>Children's Hospital of Eastern Ontario Research Institute, University of Ottawa, Ottawa, Canada and Division of Neurology, Department of Medicine, The Ottawa Hospital, Ottawa, Canada

Received 2 July 2018; accepted 22 August 2018

### Abstract

Mutations in *RAPSN* are an important cause of congenital myasthenic syndrome (CMS), leading to endplate acetylcholine receptor deficiency. We present three *RAPSN* early-onset CMS patients (from a Brazilian cohort of 61 CMS patients). Patient 1 and patient 2 harbor the mutation p.N88K in homozygosity, while patient 3 harbors p.N88K in compound heterozygosity with another pathogenic variant (p.V165M; c.493G>A). At onset, patient 3 presented with more severe symptoms compared to the other two, showing generalized weakness and repeated episodes of respiratory failure in the first years of life. During adolescence, she became gradually less symptomatic and does not require medication anymore, presenting better long-term outcomes than patients 1 and 2. This case series illustrates the variability of *RAPSN* early-onset CMS, with patient 3, despite severe onset, revealing an almost complete reversal of myasthenic symptoms, not limited to apneic episodes. Moreover, it suggests that *RAPSN* CMS may be underdiagnosed in non-European countries.  
© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Congenital myasthenic syndrome; Congenital myasthenia; RAPSN; rapsyn; neuromuscular.

### 1. Introduction

Congenital myasthenic syndrome (CMS) comprises a heterogeneous group of genetic disorders in which the safety factor of the neuromuscular transmission (NMT) is impaired. These disorders are caused by defects in proteins that are essential for maintaining the integrity of the NMT. So far, more than 30 genes have been described harboring CMS causative variants [1], and clinical diagnosis may be difficult [2,3]. Af-

ter *CHRNE*, the *RAPSN* gene, which encodes the protein rapsyn, is the most common CMS-related gene [4]. Rapsyn is a postsynaptic protein essential for clustering and anchoring the acetylcholine receptor (AChR) in the postsynaptic membrane. Mutations in rapsyn compromise the safety margin of NMT by causing endplate AChR deficiency [5]. The pathogenic variant p.N88K (c.264C>A) is very commonly found in European CMS patients, and there is evidence of a founder effect [6,7].

Two distinct *RAPSN*-related phenotypes have been described: (1) an early-onset phenotype presenting at birth or in infancy with eventual presence of arthrogryposis, hypotonia, apneic crisis, and feeding difficulties; and (2) a late-onset

\* Corresponding author.

E-mail address: [edmar.zanoteli@fusp.br](mailto:edmar.zanoteli@fusp.br) (E. Zanoteli).

<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2018.08.007>

0960-8966/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.