



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

VALORACIÓN NEUROFISIOLÓGICA EN EL PACIENTE CON ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

Alumno: Teresa Gavilà Lattur

Tutor: Emilio Flores Pardo

Curso: 2017/2018

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa de aparición progresiva en el adulto que afecta principalmente la neurona motora superior e inferior. La extensión de la enfermedad varía entre individuos.

Actualmente se diagnostica mediante la clínica y pruebas convencionales neurofisiológicas, electroneurografía y la electromiografía convencional con aguja, según los criterios de Awaji Shima.

No existe tratamiento curativo y el tratamiento actual es sintomático.

Estudio preclínicos y ensayos clínicos han mostrado posibilidades terapéuticas mediante células madre en la ELA.

Mediante diferentes pruebas neurofisiológicas no convencionales como el estudio del potencial de acción motor (CMAP), el CMAP Scan junto con el D50, índice de número de unidad de motor (MUNIX) y densidad de fibra muscular.

La hipótesis del trabajo que se plantea en este estudio es que en pacientes en seguimiento con ELA la utilidad de las pruebas neurofisiológicas no convencionales, tales como CMAP, CMAP Scan D50, MUNIX, y densidad de fibra, no es inferior y aporta ciertas ventajas respecto a la utilización de pruebas convencionales, tales como conducciones sensitivas y motoras y electromiografía convencional. El objetivo principal será determinar la utilidad de las pruebas neurofisiológicas no convencionales para el estudio de la progresión y evolución de la esclerosis lateral amiotrófica. El objetivo secundario será la valoración mediante las pruebas neurofisiológicas no convencionales de la respuesta al tratamiento mediante terapia celular en pacientes diagnosticados de esclerosis lateral amiotrófica como probables o definitivos.

Se ha diseñado un estudio Mixto, para el objetivo principal estudio observacional transversal. Para el objetivo secundario un estudio de cohortes. Se trata de un estudio neurológico y electromiográfico de pacientes diagnosticados de ELA, durante 2 años, dividido en varias visitas para las pruebas neurofisiológicas y neurológicas y una primera visita basal para el tratamiento mediante inyección intramuscular de las células madre; se estudiarán ambos tibiales anteriores de las extremidades inferiores así como

ambos primer interóseo dorsal de las manos mediante un grupo control y otro experimental a doble ciego.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease of progressive onset in the adult that mainly affects the upper and lower motor neurons. The extent of the disease varies among individuals.

Currently it is diagnosed by clinical and conventional neurophysiological tests, electroneurography and conventional needle electromyography, according to the criteria of Awaji Shima.

There is no curative treatment and the current treatment is symptomatic.

Preclinical studies and clinical trials have shown therapeutic possibilities using stem cells in ALS.

Through different unconventional neurophysiological tests such as the study of motor action potential (CMAP), the CMAP Scan together with the D50, motor unit number index (MUNIX) and muscle fiber density.

The hypothesis of the work proposed in this study is that in patients under follow-up with ALS the utility of non-conventional neurophysiological tests, such as CMAP, CMAP Scan D50, MUNIX, and fiber density, is not inferior and provides certain advantages to the use of conventional tests, such as sensory and motor conductions and conventional electromyography. The main objective will be to determine the utility of unconventional neurophysiological tests for the study of the progression and evolution of amyotrophic lateral sclerosis.

The secondary objective will be the assessment by non-conventional neurophysiological tests of the response to treatment by cell therapy in patients diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis as probable or definitive.

A Mixed study has been designed for the main objective of the cross-sectional observational study. For the secondary objective, a cohort study. This is a neurological

and electromyographic study of patients diagnosed with ALS, for 2 years, divided into several visits for neurophysiological and neurological tests and a baseline visit for treatment by intramuscular injection of the mother cells; Both anterior tibialis of the lower extremities will be studied as well as both first dorsal interosseous of the hands by means of a control group and another experimental double blind.

PALABRAS CLAVE/KEYWORDS

Esclerosis lateral amiotrófica; pruebas neurofisiológicas, potencial de acción muscular y D50, estudio densidad de fibra muscular, MUNIX, tratamiento, trasplante células mesenquimales humanas

Amyotrophic lateral sclerosis, neurophysiological tests, compound muscle action potential and D50, study of muscle fiber density, MUNIX, treatment, human mesenchymals stem cells transplantation.



INDICE:

1.- INTRODUCCIÓN -----	7
2.- HIPÓTESIS DE TRABAJO -----	10
3.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN -----	11
3.1.- OBJETIVO GENERAL	
3.2.- OBJETIVO PRINCIPAL	
3.3.- OBJETIVOS SECUNDARIOS	
4.- MATERIAL Y MÉTODOS -----	12
4.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO	
4.2 - MÉTODO DE MUESTREO	
4.3.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN	
4.4.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	
4.5.- CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL	
4.6.- PÉRDIDAS EN SEGUIMIENTO	
4.7.- ORGANIZACIÓN DEL ESTUDIO	
4.8.- SUJETOS DEL ESTUDIO	
4.9.- VARIABLES	
4.9.1.- VARIABLES PRINCIPALES	
4.9.2.- VARIABLES SECUNDARIAS	
4.10.- ESTRATEGIA DE ANÁLISIS	
5.- PLAN DE TRABAJO -----	17
6.- MEDIOS DISPONIBLES PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO -----	19
7.- LIMITACIONES Y POSIBLES SESGOS -----	20
8.- PROBLEMAS ÉTICOS -----	20

9.- PRESUPUESTO -----	20
10.- RESULTADOS -----	21
11.- APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS -----	22
12.- BIBLIOGRAFÍA -----	23
13.- ANEXOS -----	26

12.1 ANEXO I: CONCEPTO ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

12.2 ANEXO II: CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

12.3 ANEXO III: CONSENTIMIENTO INFORMADO

12.4 ANEXO IV: RPEUBAS NEUROFISIOLÓGICAS CONVENCIONALES

12.5 ANEXO V: PRUEBAS NEUROFISIOLÓGICAS NO

CONVENCIONALES



1.- INTRODUCCIÓN

La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta principalmente a las motoneuronas del córtex, el troncoencéfalo y la médula espinal (1)

Característicamente, cursa sin alteraciones mentales, sensitivas, sensoriales ni esfinterianas. Puede comenzar por un síndrome bulbar (parálisis bulbar progresiva), por un síndrome de motoneurona superior (esclerosis lateral primaria) o por un síndrome de motoneurona inferior (atrofia muscular progresiva). (2)

La incidencia en nuestro entorno es de 1 caso /100.000 habitantes/año, y la prevalencia de 3.5 casos/100.000 habitantes. (1,2)

El diagnóstico es fundamentalmente clínico, se basa en la demostración de signos de afectación de primera motoneurona (hiperreflexia, clonus, Babinski, espasticidad) asociados a debilidad, atrofia, y fasciculaciones que indican lesión de la segunda motoneurona. (1, 2,3)

Para el diagnóstico se emplean los criterios de Awaji Shima y se consideran 4 categorías:

ELA DEFINITIVA	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 3 o 4 regiones corporales (bulbar, cervical, torácico y lumbosacro)
ELA PROBABLE	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 regiones corporales con signos de disfunción de MNS por encima de signos de MNI
ELA PROBABLE CON APOYO DE LABORATORIO	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 1 o más regiones corporales junto con evidencia neurofisiológicas de compromiso de MNI al menos en 2 regiones
ELA POSIBLE	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en solo una región corporal Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 o

	<p>más regiones corporales</p> <p>Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 regiones corporales, sin signos de disfunción de MNS por encima de los signos de MNI</p>
--	--

El diagnóstico se apoya en las pruebas neurofisiológicas convencionales, que evidencian la degeneración de la motoneurona inferior, Esta batería de pruebas son conducciones sensitivas, motoras, onda F, y estudio mediante electromiografía de aguja convencional en 4 regiones (facial, cervical dorsal y lumbosacro) ; se utilizan en cualquier laboratorio de neurofisiología; se realizan para el diagnóstico y no para valorar su evolución ya que se analiza en el momento del estudio el estado en ese momento de la musculatura así como los nervios del paciente y no se vuelve a realizar al paciente ya que son pruebas largas y pesadas; no se utilizan intensidades supramaximales y no se puede valorar con integridad el estado de las fibras musculares, sino de los músculos. (3-6)

Existen además, una batería de pruebas no convencionales, el potencial de acción motora (CMAP), el CMAP Scan D50, MUNIX y la densidad de fibra , sirven para estudiar la progresión y evolución de la enfermedad así como la respuesta a tratamiento o no mediante terapia celular; el potencial de acción muscular es una respuesta eléctrica del total del número de fibras musculares activadas durante una estimulación nerviosa supramaximal; la densidad de fibra significa el número de fibras musculares inervadas por el mismo axón , y MUNIX es un parámetro que es proporcional al número de unidades motoras funcionales del músculo. (7 - 16)

La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad de curso inexorablemente progresivo que lleva a la muerte del paciente en un tiempo medio desde el diagnóstico de 3 años (23-52 meses). Aproximadamente un 25% de los pacientes sobreviven 5 años, y entre un 8 y un 16% sobreviven más de 10 años. En general, cuanto más joven es el paciente mejor es el pronóstico de la enfermedad. Una tasa de progresión rápida en los primeros 6 meses tras el diagnóstico se correlaciona con un peor pronóstico (2)

No existe tratamiento curativo para la ELA y el tratamiento actual es sintomático mediante Riluzole

Los ensayos terapéuticos no han mostrado beneficio con el uso de inmunosupresión, inmunomodulación, plasmaféresis, irradiación linfática total, antagonistas del glutamato, factores de crecimiento nervioso, agentes antivirales y otros fármacos. El único fármaco que parece tener efecto sobre la evolución de la enfermedad es el Riluzole que reduce la activación de las motoneuronas disminuyendo la activación de los receptores del glutamato, y que aumenta la supervivencia de los pacientes de 2 a 6 meses, aunque no mejora ni su funcionalidad ni su calidad de vida (19 – 22)

Se ha estudiado el potencial neural de células madre derivadas de médula ósea en el cerebro, y múltiples trabajos sugieren que son capaces de diferenciarse en neuronas, astrocitos y microglia (23 ,24)

Dada la complejidad patogénica de la enfermedad, es posible que la terapia celular determine cambios a varios niveles

los datos generados en modelos animales sustentan la evidencia de que el principal mecanismo de acción de las CMH se basa en la producción de moléculas tróficas

Ya se han publicado los primeros ensayos en fases iniciales en pacientes con ELA.

La principal conclusión de estos estudios es la seguridad de las técnicas empleadas, y aunque en algunos se sugiere cierta mejoría, ninguno de ellos aporta datos fiables de eficacia debido al diseño y al reducido tamaño muestral. (24)

2.- HIPÓTESIS

La hipótesis que se plantea en este estudio es que en pacientes en seguimiento con ELA la utilidad de las pruebas neurofisiológicas no convencionales, tales como CMAP, CMAP Scan D50, MUNIX, y densidad de fibra, no es inferior y aporta ciertas ventajas respecto a la utilización de pruebas convencionales, tales como conducciones sensitivas y motoras y electromiografía convencional.



3.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.- OBJETIVO GENERAL

Valorar la utilidad de las pruebas neurofisiológicas, no convencionales tales como CMAP, CMAP Scan D50, MUNIX, y densidad de fibra, en comparación con las pruebas convencionales, tales como conducciones sensitivas y motoras y electromiografía convencional.

3.2.- OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la utilidad de las pruebas neurofisiológicas no convencionales para el estudio de la progresión y evolución de la esclerosis lateral amiotrófica.

3.3.- OBJETIVOS SECUNDARIOS

Valoración mediante las pruebas neurofisiológicas no convencionales de la respuesta al tratamiento mediante terapia celular en pacientes diagnosticados de esclerosis lateral amiotrófica como probables o definitivos.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trataría de un estudio Mixto, para el objetivo principal estudio observacional transversal. Para el objetivo secundario un estudio de cohortes.

4.2- MÉTODO DE MUESTREO

Muestreo consecutivo según el orden de llegada a las consultas hasta conseguir el tamaño muestral previamente calculado.

4.3.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Diagnóstico definido de acuerdo con los criterios establecidos por al World Federation of Neurology
- Duración de la enfermedad comprendida entre los 6 y 36 meses
- Inicio medular de la enfermedad
- Edad comprendida entre los 18 y 70 años
- Capacidad vital forzada $\geq 50\%$
- Porcentaje del tiempo total de sueño con desaturaciones de oxígeno por debajo del 90% inferior al 5% ($T90 < 5\%$)
- Paciente que ofrezca garantías suficientes de adhesión al protocolo
- Firme el consentimiento informado.

Es necesario que cumpla todos los criterios de inclusión

4.4.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Enfermedad neurológica o psiquiátrica concomitante
- Necesidad de nutrición parenteral o enteral
- Enfermedad sistémica concomitante
- Tratamiento con corticoides, inmunoglobulinas o inmunosupresores en los últimos 6 meses
- Inclusión en otros ensayos clínicos
- Incapacidad de comprender el consentimiento informado.

4.5.- CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se calcula el tamaño muestra previo a través de las variables cualitativas para poblaciones infinitas Los cálculos se realizan asumiendo la población de la provincia de Alicante (1,8 millones); mayor variabilidad, una precisión del 5% y un nivel de confianza del 95%

$$n = \frac{Z^2 [P(1 - P)]}{E^2}$$

$$N= 36$$

4.6.- PÉRDIDAS EN SEGUIMIENTO

Éxitus en el seguimiento

4.7 ORGANIZACIÓN DEL ESTUDIO

Se reclutarán pacientes diagnosticados de esclerosis lateral amiotrófica probable o definida de tipo espinal.

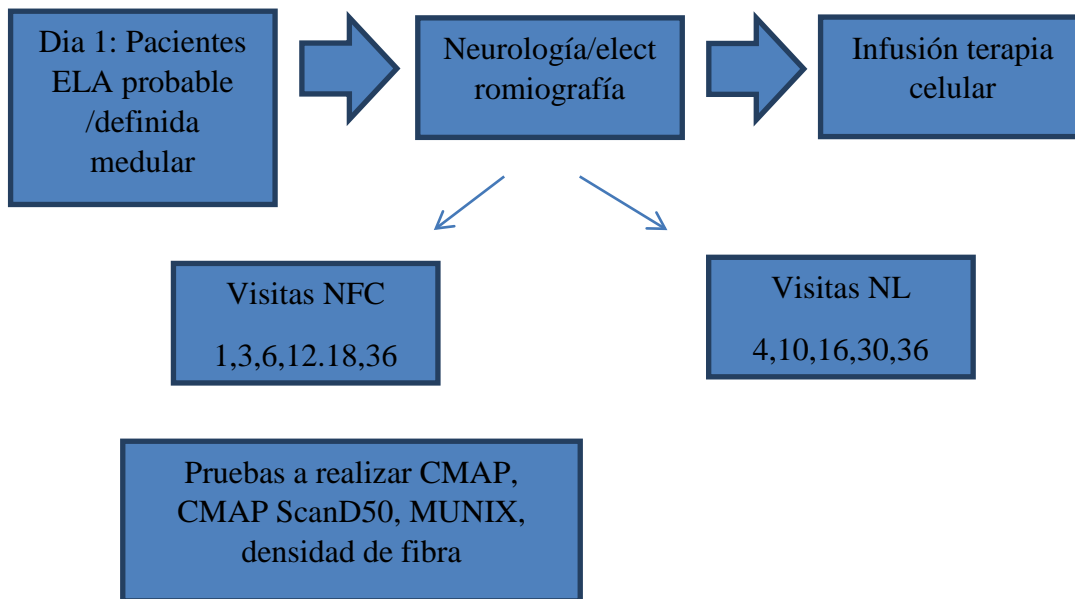
Se realizará una primera visita neurológica y neurofisiológica para la obtención de los datos basales; sin tratamiento, ese mismo día se le tratará a l paciente mediante terapia celular.

A los pacientes se les realizará los estudios convencionales y no convencionales en todas las visitas.

Se realizarán visitas neurofisiológicas al mes, 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses y 36 meses.

Las visitas neurológicas serán a los 4 meses, 10 meses, 16 meses, 30 y 36 meses

Por lo que se estarán durante 2 años recogiendo datos neurofisiológicos; 3 – 5 meses para el análisis de datos



- ↓
- CMAP: registro del punto de recuerdo para posteriores visitas
 - Amplitud pico y área del CMAP se mide usando la técnica de conducción nerviosa motora estándar con el electrodo de superficie activo situado en el punto de recuerdo
 - Densidad de fibra mediante aguja jitter

DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN A REALIZAR

- Estudio mediante las pruebas neurofisiológicas en todas las visitas a realizar a la consulta de electromiografía.
- Una visita a hematología para la inyección de terapia celular
- Visitas a neurología, la primera coincide con el resto de especialidades, las restantes no.

4.8 SUJETOS DEL ESTUDIO

Pacientes diagnosticados de esclerosis lateral amiotrófica, con un balance muscular de 4/5 en tibial anterior y primer interóseo dorsal de ambos lados

4.9.- MÉTODO DE RECOGIDA DE DATOS

Mediante equipo de electromiografía synergy – medeltec y extrapolarlos a plantilla Excel.

4.10.- VARIABLES

4.10.1.- VARIABLES PRINCIPALES

- Evaluación neurofisiológica
 - Estudio convencional
 - CMAP
 - CMAP Scan con D50
 - MUNE- MUNIX
 - Estudio densidad de fibra muscular.

4.10.2.- VARIABLES SECUNDARIAS

- Evaluación neurológica
 - Examen neurológico estándar.
 - Escala funcional (ALS-FRS) (The ALS-CNTF treatment Study 1996).
 - Medida de la fuerza muscular según la escala MRC (Medical Research Council 1943) de los siguientes grupos musculares: extensores del carpo; abductores; flexores del codo; flexores de la cadera, extensores de rodilla y dorsiflexores de pies.
 - Historia clínica redactada por el Neurólogo.
- Estudio de supervivencia.

4.11.- ESTRATEGIA DE ANÁLISIS

Se realizará un análisis descriptivo de cada una de las pruebas neurofisiológicas analizadas en función del tipo de distribución que sigan los resultados de dichas variables.

Se calculará sensibilidad, especificidad, VPP y VPN en tablas de concordancia 2x2 en relación a los resultados de las pruebas convencionales.

Se calculará el riesgo relativo de las variables en los estudios de cohortes.

Para el análisis de supervivencia se utilizará el método de Kaplan-Meier

Para los cálculos estadísticos se utilizará el programa SPSS versión 12.0.



5.- PLAN DE TRABAJO

Distribución de tareas y servicios implicados

- Laboratorio de Neurobiología. Instituto de Neurociencias. Universidad Miguel Hernández Dr. Salvador Martínez Pérez

Responsable de generar datos celulares y experimentación en modelos animales para sustentar el ensayo clínico y para la monitorización biológica posterior. Procesamiento y estudio histológico, inmunohistoquímico y molecular de las muestras post-mortem obtenidas de las donaciones de los pacientes participantes en el ensayo clínico.

- Laboratorio de Terapia Celular. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Dr. José M^a Moraleda Jiménez, Dr. Miguel Blanquer Blanquer, Dr. Andrés Sánchez Salinas, Dra. Consuelo Funes Vera, Dra. Ana M^a García Hernández, Lda. Francisca Iniesta Martínez.

Responsables de realizar experimentos de trasplantes de células troncales en modelos animales para neuroregeneración, en colaboración con el laboratorio del Prof. Salvador Martínez. Encargados de la extracción, procesamiento, manipulación y transporte de las células troncales.

Visitas: una, basal (tratamiento)

- Servicios de Neurología Clínica. Hospital General Universitario de Alicante Dra. Carmina Díaz, Dra. Rosa Sánchez

Responsables de la selección, valoración, seguimiento y evolución clínica de los pacientes incluidos en el ensayo, así como coordinación de las exploraciones complementarias realizadas por el resto de servicios clínicos.

Responsables de la infusión intratecal.

Visitas NL 4, 10, 16, 30,36 meses

- Servicio de Neurofisiología. Instituto Neurociencias, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Hospital San Juan de Alicante. Dr. Carlos Pastore, Dr. Emilio Geijoo, Dr. Pedro de Mingo, Dra. Teresa Gavilà

Responsables de la evaluación y seguimiento neurofisiológico de los pacientes incluidos en el ensayo.

Visitas: 1, 3, 6, 12, 18, 36 meses



6.- MEDIOS DISPONIBLES PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO

- Equipo electromiografía Synergy Medelec
 - Aguja monopolar
 - Electrodo de superficie desechables
 - Estimulador
 - Aguja jitter
- Temperatura de la piel del paciente entre 34 – 36°C
- Será el mismo neurofisiólogo quien realice las pruebas



7.- LIMITACIONES Y POSIBLES SESGOS

- Los pacientes ya vienen diagnosticados de ELA

8.- PROBLEMAS ÉTICOS

- Pacientes con enfermedad en la actualidad letal
- Porcentaje de pacientes con herencia familiar

9.- PRESUPUESTO

- Equipo neurofisiología -----	40 000 €
- Neurofisiólogo -----	10 000 €
- Tratamiento con células madre con laboratorio de hematología----	30 000 €
- Neurología-----	10 000 €
TOTAL -----	90 000 €



10.- RESULTADOS

Actualmente aun no disponemos de resultados ya que no se ha podido iniciar el proyecto por falta de financiación.

Resultados esperables son la no pérdida e incluso aumento de unidades motoras tras la infusión de células madre mesenquimales en tibial anterior y primer interóseo dorsal de paciente con esclerosis lateral amiotrófica.



11.- APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS

Actualmente las pruebas neurofisiológicas utilizadas de rutina para el diagnóstico de la esclerosis lateral amiotrófica motoneurona inferior son pruebas convencionales tales como conducciones sensitivas y motoras, onda F y la electromiografía convencional de aguja.

Mediante estas pruebas y según los criterios de Awaji Shima se clasifica al paciente en ELA definida, probable, posible.

Existen además nuevas estrategias neurofisiológicas no convencionales para el estudio de la progresión – evolución de la enfermedad, estas pruebas son CMAP, CMAP Scan D50, MUNIX y densidad de fibra.

Actualmente la enfermedad no tiene tratamiento curativo, únicamente paliativo.

Ensayos clínicos valorar como posibilidad de tratamiento la terapia celular.

Con esta batería de pruebas además de conocer la evolución de la enfermedad se podría valorar la respuesta o no al tratamiento mediante terapia celular.

En definitiva, la incorporación de estas pruebas en la valoración del paciente con ELA podría aportar datos objetivos para la progresión o evolución de la enfermedad así como la respuesta o no al tratamiento mediante terapia celular.

12.- BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, Chiò A, Rix-Brooks B, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system. *Lancet Neurology*. 2016 Oct; 15(16):1182-1194.
- 2.- Turner MR, Hardiman O, Benatar M, Brooks BR, Chio A, de Carvalho M, Ince PG, Lin C, Miller RG, Mitsumoto H, Nicholson G, Ravits J, Shaw PJ, Swash M, Talbot K, Traynor BJ, Van den Berg LH, Veldink JH, Vucic S, Kiernan MC. Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*. 2013; 12(3):310-22.
3. - de Carvalho Mamede, Swash Michael. Fasciculation discharge frequency in amyotrophic lateral sclerosis and related disorders. *Clinical Neurophysiology* 2016; 127(5):2257-2262.
4. - Jokela Manu E ,Jääskeläinen Satu K , Sandell Satu , Palmio Johanna , Penttilä Sini , Saukkonen Annamaija , Soikkeli Raija , Udd Bjarne. Spontaneous activity in electromyography may differentiate certain benign lower motor neuron disease forms from amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2015; 355(1-2):143–146
5. - Hang J. Lee, DeLisa Joel A. Nerve Conduction study and surface anatomy for needle electromyography. Fourth Edition. Philadelphia. 2005
- 6.- Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic lateral sclerosis. *New England Journal Medicine*. 2001; 344(22):1688-1700.
- 7.- Sanjeev D. Nandekar, Phd, Paul E. Barkhaus, MD, and Erik V. Stålberg, MD, Phd. Motor unit number index (MUNIX): principle, method, and findings in healthy subjects and in patients with motor neuron disease. *Muscle and Nerve*. 2010; 42(5): 798 – 807
- 8.- .Sleutjes B.T.H.M Montfoort I .Maathuis E.M .Drenthen J .van Doorn P.A .Visser G.H .Blok J.H . CMAP scan discontinuities: automated detection and relation to motor unit loss. *Clinical Neurophysiology* .2014, 125(2): 388-395
9. - Bostock, Hugh PhD. Estimating motor unit numbers from a CMAP Scan. *Muscle and Nerve*. 2016; 53(6): 889 - 896

- 10.- Henderson R. D, Ridall, G. R PhD, Pettitt A. N, PhD, McCombe P. A, PhD, and Daube J. R, MD. The stimulus–response curve and motor unit variability in normal subjects and subjects with amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle and Nerve*.2006; 34(1): 34 - 43
11. - de Carvalho Mamede, Barkhaus Paul E , Nandedkar Sanjeev D, Swash Michael . Motor unit number estimation (MUNE): Where are we now? *Clinical Neurophysiology*.2018; 129(8):1507–1516
12. - Daube JR. Motor unit number estimates--from A to Z. *Journal Neurological Science*. 2006 15; 242(1-2):23-35.
13. - Nandedkar SD, Barkhaus PE, Stålberg EV. Motor unit number index (MUNIX): principle, method, and findings in healthy subjects and in patients with motor neuron disease. *Muscle and Nerve*. 2010; 42(5):798-807.
- 14.- Liu MS, Niu JW, Li Y, Guan YZ, Cui LY. Quantitating Changes in Jitter and Spike Number Using Concentric Needle Electrodes in Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Chinese Medical Journey (English)*. 2016; 129(9):1036-40.
- 15.- McComas AJ, Fawcett PR, Campbell MJ, Sica RE. Electrophysiological estimation of the number of motor units within a human muscle. *Journal Neurology Neurosurgery Psychiatry*. 1971; 34(2):121-31.
16. - de Carvalho Mamede , Turkman Antonia , Swash Michael Sensitivity of MUP parameters in detecting change in early ALS. *Clinical Neurophysiology*; 2014: 125(1):166–169
- 17.- Boekestein WA, Schelhaas HJ, van Putten MJ, Stegeman DF, Zwarts MJ, van Dijk JP. Motor unit number index (MUNIX) versus motor unit number estimation (MUNE): a direct comparison in a longitudinal study of ALS patients. *Clinical Neurophysiology*. 2012; 123(8):1644-9
18. – Boekestein Werner A. , Schelhaas Helenius J. , van Putten Michel J.A.M. , Stegeman Dick F, Zwarts Machiel J. , van Dijk Johannes P . Motor unit number index (MUNIX) versus motor unit number estimation (MUNE): A direct comparison in a longitudinal study of ALS patients. *Clinical Neurophysiology* 2012; 123(8):1644–1649
19. - Aggarwal S, Cudkowicz M. ALS drug development: reflections from the past and way forward. *Neurotherapeutics* 2008; 5(4): 516-527.

20. - Eglitis MA, Mezey E. Haematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proceedings of the National Academy of Science U S A* 1997; 94(8):4080-4085.
- 21.- Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, DiGirolamo C, Prockop DJ. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats similarities to astrocyte grafts. *Proceedings of the National Academy of Science* 1998; 95(7):3908-3913. 22.- Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proceedings of the National Academy of Science U S A*.1999; 96(19):10711-10716.
- 23.- Pastor D, Viso-León MC, Botella-López A, Jaramillo-Merchan J, Moraleda JM, Jones J, Martínez S. Bone marrow transplantation in hindlimb muscles of motoneuron degenerative mice reduces neuronal death and improves motor function. *Stem Cells and Development*. 2013; 22(11):1633-44.
- 24.- Suzuki M, McHugh J, Tork C, Shelley B, Hayes A, Bellantuono I, Aebischer P, Svendsen CN. Direct muscle delivery of GDNF with human mesenchymal stem cells improves motor neuron survival and function in a rat model of familial ALS. *Molecular Therapy*. 2008; 16(12):2002-2010.

13.- ANEXOS

13.1 ANEXO I: CONCEPTO ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta principalmente a las motoneuronas del córtex, el troncoencéfalo y la médula espinal.

Característicamente, cursa sin alteraciones mentales, sensitivas, sensoriales ni esfinterianas. Puede comenzar por un síndrome bulbar (parálisis bulbar progresiva), por un síndrome de motoneurona superior (esclerosis lateral primaria) o por un síndrome de motoneurona inferior (atrofia muscular progresiva).



13.2 ANEXO II: CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE EL ESCORIAL

El diagnóstico de ELA requiere:

A. Presencia de:

(A: 1) signos clínicos, neurofisiológicos o neuropatológicos de afectación de motoneurona inferior,

(A: 2) signos clínicos de afectación de motoneurona superior, y

(A: 3) los síntomas y los signos, constatados por la historia y exploración clínica, deben tener carácter progresivo, con afectación sucesiva de diferentes regiones anatómicas,

Junto con

B. Ausencia de:

(B: 1) signos electrofisiológicos o patológicos de otras enfermedades que puedan explicar la afectación de motoneurona superior y/o motoneurona inferior, y

(B: 2) estudios de neuroimagen con lesiones que puedan explicar los signos clínicos y los hallazgos electrofisiológicos.

Dependiendo de la presencia de signos de afectación de unidad motora superior e inferior en las diferentes regiones (troncoencéfalo, médula cervical, dorsal y lumbosacra) se puede establecer las siguientes categorías diagnósticas:

1. ELA clínicamente definida
2. ELA clínicamente probable
3. ELA clínicamente probable apoyada por el laboratorio
4. ELA clínicamente posible
5. Sospecha clínica de ELA.

(1) Escorial World Federation of Neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis, J Neurol Sci 1994; 124 (Suppl.): 96-10

En el año 2006 se proponen otros nuevos criterios por un grupo de expertos reunidos en Japón la isla de Awaji-Shima , con alguna diferencia relevante con los anteriores al considerar los hallazgos electrofisiológicos y los signos clínicos de afectación de la neurona motora inferior con el mismo valor a la hora de establecer la categoría diagnóstica en la que está el paciente y reconsidera los hallazgos electrofisiológicos al reintroducir a las fasciculaciones (de morfología compleja) como evidencia de

denervación activa cuando se presentan conjuntamente en músculos con hallazgos en el EMG de denervación crónica (potenciales de amplitud y duración aumentadas), equivalentes a las fibrilaciones y ondas positivas (las fasciculaciones se presentan de forma tan frecuente en la ELA, que su ausencia plantea dudas sobre su diagnóstico).

Los criterios de Awaji estipulan que las categorías diagnósticas de ELA deberían definirse por la evidencia clínica o neurofisiológica de disfunción de neurona motora inferior (NMI), y disfunción de neurona motora superior (NMS), en determinado número de regiones. Específicamente, esto significa que al utilizar los criterios de Awaji, los músculos individuales que muestran denervación activa y crónica con reinervación se pueden usar neurofisiológicamente para ayudar al diagnóstico de ELA en conjunción con la exploración física, obviando la necesidad de demostrar cambios en la EMG con aguja en el total de una extremidad. Otro cambio más a partir de los criterios revisados de El Escorial es que usando los criterios de Awaji, en presencia de hallazgos neurogénicos crónicos en la EMG de un paciente con historia sugerente de ELA, los potenciales de fasciculación equivalen a los potenciales de fibrilación y ondas agudas positivas al denotar la denervación aguda, especialmente si los potenciales de fasciculación con inestables o de morfología compleja. Los estudios que evalúan la utilidad de los criterios de Awaji comparados con los criterios revisados de El Escorial para el diagnóstico de ELA sugieren una mejoría de la sensibilidad del 28 al 61% sin modificaciones en la especificidad, que permanece en el 96%.

Por lo que el diagnóstico de ELA requiere de los siguientes principios:

- Presencia de
 - o Evidencia de degeneración de NMI basada en datos clínicos, neurofisiológicos o neuropatológicos
 - o Evidencia de degeneración de NMS basada en datos clínicos
 - o Extensión de los síntomas o signos en una región o a otras regiones en base a datos de anamnesis, exploración clínica o neurofisiológica.
- Presencia de
 - o Evidencia electrofisiológica o patológica que pueda explicar los signos de degeneración de NMS/NMI

- Evidencia en pruebas de neuroimagen que puedan explicar los signos clínicos y neurofisiológicos observados.

Se establecen las siguientes categorías diagnósticas:

ELA DEFINITIVA	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 3 o 4 regiones corporales (bulbar, cervical, torácico y lumbosacro)
ELA PROBABLE	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 regiones corporales con signos de disfunción de MNS por encima de signos de MNI
ELA PROBABLE CON APOYO DE LABORATORIO	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 1 o más regiones corporales junto con evidencia neurofisiológicas de compromiso de MNI al menos en 2 regiones
ELA POSIBLE	Signos de disfunción progresiva de MNS e I en solo una región corporal Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 o más regiones corporales Signos de disfunción progresiva de MNS e I en 2 regiones corporales, sin signos de disfunción de MNS por encima de los signos de MNI

Tienen que realizarse estudios de neuroimagen y de laboratorio y otros posibles diagnósticos tienen que haber sido excluidos. Aplicando estos criterios de Awaji-Shima frente a los de El Escorial-revisados Douglas et al. (7) en el mismo grupo de pacientes comunican una sensibilidad del 60,7 % frente a un 28% con una especificidad de ambos criterios de un 95,9%

El diagnóstico neurofisiológico de la ELA comienza con la identificación de una historia y un examen físico que sugieren la enfermedad. El papel de los estudios de conducción nerviosa es el de ayudar a descartar otras causas de síntomas similares, tal y como requieren los principios generales de los criterios de El Escorial revisados y mejorados por los de Awaji. El papel de la electromiografía con aguja es el de establecer denervación aguda concomitante y reinervación crónica compensatoria en regiones específicas, de acuerdo a las especificaciones basadas en las modificaciones de Awaji.

Se desconoce la etiología de la enfermedad.

A. ELA ESPORÁDICA

Hipótesis propuestas:

1. Excitotoxicidad por glutamato (el riluzol, único medicamento aprobado en la actualidad para el tratamiento de la ELA, inhibe la transmisión glutamatérgica).
2. Estrés oxidativo y aumento formación de radicales libres.
3. Alteración del transporte axónico y/o estructura de los neurofilamentos
4. Procesos autoinmunes
5. Activación procesos pro-apoptosis

B. ELA FAMILIAR

El 20% de los pacientes con ELA familiar presentan mutaciones en el cromosoma 21q 22.1-22.2 que codifica la enzima superóxido dismutasa Cu-Zn (SOD-1).

Hipótesis propuestas:

1. Estrés oxidativo por aumento de radicales libres.
2. Toxicidad o disfunción del enzima mutado.

13.3 ANEXO III: CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE POR ESCRITO

**ENSAYO CLÍNICO EN FASE I/II DE UTILIZACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE DE
MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGAS EN PACIENTES CON ESCLEROSIS LATERAL
AMIOTRÓFICA**

Yo, (nombre y apellidos),.....

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He hablado con el Dr.....

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y a que mis datos sean recogidos y procesados de acuerdo con las especificaciones de la hoja de información adjunta.

Firma del participante: _____

Fecha: _____

Firma del médico: _____

Fecha: _____

Firma del testigo: _____

Fecha: _____

13.4 ANEXO IV: PRUEBAS NEUROFISIOLÓGICAS CONVENCIONALES

- **Electroneurografía.**

- Estudio conducción nerviosa sensitiva en extremidades superiores e inferiores
 - Amplitudes normales de los potenciales de acción nerviosa sensitivos. Aunque de esperar en la ELA, esto también puede suceder en radiculopatías cervicales o lumbares, dado que estas lesiones son proximales a los ganglios dorsales.
- Estudio conducción nerviosa motora en extremidades superiores e inferiores
 - Amplitudes motoras normales o disminuidas. La reducción de amplitudes motoras refleja la pérdida axonal, pero no distingue entre lesiones de la neurona motora, raíces nerviosas, plexo o nervio periférico.
- Estudio onda F en extremidades superiores e inferiores
 - Latencias de las ondas F normales. Las ondas F, que representan la estimulación antidrómica del 1 al 5% de las neuronas motoras en el asta anterior de la médula espinal, suelen ser normales en el inicio del curso de la ELA. Con la progresión de la enfermedad y la pérdida de neuronas motoras del asta anterior, pueden verse anomalías de las respuestas F. La falta de persistencia, definida como menos del 50% de ondas F obtenidas por número de estímulos, y la repetición de morfologías F similares por la estimulación de las mismas unidades motoras, reflejan el remanente disminuido de unidades motoras por la pérdida de neuronas motoras. Si se pierden las unidades motoras más grandes y rápidas, la latencia de la respuesta F puede encontrarse ligeramente prolongada. Las anomalías de las respuestas F en realidad son más probables en las radiculopatías que en la enfermedad de neurona motora, aunque no se puede utilizar para distinguir ambas entre sí.

- Electromiografía convencional de aguja

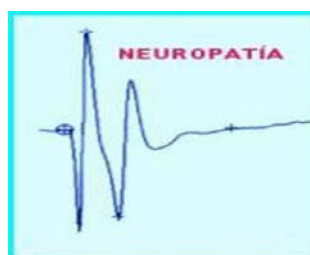
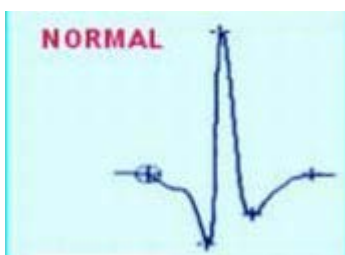
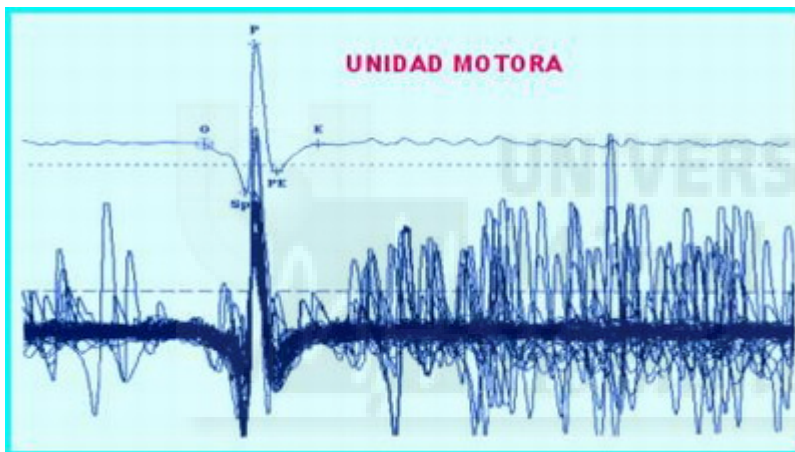
La característica típica de la ELA con la EMG es la pérdida activa y crónica de neuronas motoras inferiores que inervan músculos con inervación de múltiples raíces y extendida desde una región inicial a otras regiones.

- Actividad espontánea, en reposo
 - en condiciones normales no se observa actividad espontánea.
 - En pacientes con la enfermedad se suele observar ondas positivas, fibrilaciones y fasciculaciones
 - Fibrilaciones y ondas agudas positivas. En la ELA, estas ondas reflejan la despolarización espontánea de una fibra muscular desnervada en reposo. Aunque son patológicas, pueden observarse en otras condiciones de denervación, como las radiculopatías o neuropatías axonales, y en miopatías en las que sucede necrosis muscular, como en las polimiositis.
 - Potenciales de fasciculación. Estos potenciales reflejan las descargas espontáneas e involuntarias de una unidad motora única, y como tales pueden surgir de la neurona motora o de su axón, y se consideran como el signo principal de la ELA. Sin embargo, pueden constituir un hallazgo benigno en músculos normales, en el contexto de un examen neurológico normal de rutina, y sin otros hallazgos que sugieran denervación aguda o crónica en el EMG, como en el caso del síndrome de fasciculaciones benignas.



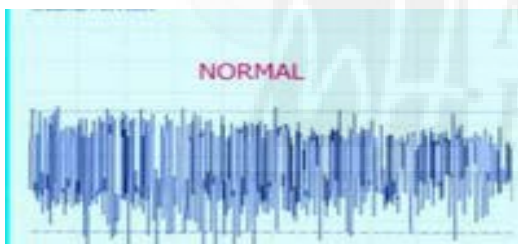
- Actividad voluntaria,
 - en condiciones normales se observan potenciales de unidad motora con duración y amplitud normal para la edad del paciente
 - en paciente con la enfermedad y según el estadio en que se realiza el estudio se observaran potenciales neurógenos con una duración y amplitud aumentados
 - Aumento de duración. El aumento de duración se debe al proceso de reinervación por ramificaciones axonales colaterales, ya que la duración refleja el número de fibras musculares dentro de la unidad motora, que aumenta a medida que las unidades motoras con axones intactos reinervan fibras musculares adyacentes de una unidad motora denervada.
 - Aumento de polifasia. Los potenciales de unidad motora suelen ser polifásicos en la ELA, aunque en procesos de progresión muy lenta, pueden ser escasamente frecuentes. La polifasia se define como más de cuatro fases en un potencial de unidad motora y puede tener lugar como hecho normal en hasta u 10% de los potenciales de unidad motora en un músculo determinado, y hasta el 25% en el deltoides. La polifasia más allá de este rango normal es un signo de asincronía de los disparos de las fibras musculares de una unidad motora, reflejando el proceso de reinervación a través de ramificaciones colaterales a partir de axones normales adyacentes tras la denervación de una unidad motora.

- Aumento de amplitud. La amplitud aumenta en un músculo crónicamente reinervado debido a la expansión del territorio de la unidad motora. Dependiendo de la proporción de progresión del proceso de la enfermedad, se pueden ver también potenciales de unidad motora anormalmente pequeños, lo cual refleja la incapacidad de axones individuales de soportar un número normal de ramificaciones nerviosas. Esto suele ser un reflejo de la enfermedad del axón justo antes de la muerte de la neurona asociada.



- Actividad máximo esfuerzo
Patrón interferencial (SIP), cada época en el patrón interferencial es de 300 ms; al paciente se le pide que mantenga una contracción isométrica a diferentes niveles de esfuerzo
 - En condiciones normales se observa un reclutamiento normal al esfuerzo máximo

- En pacientes con la enfermedad el reclutamiento es pobre
 - Disminución de reclutamiento. La disminución de reclutamiento de las unidades motoras refleja la pérdida de potenciales de unidad motora y manifiesta un disparo incrementado de un número inapropiadamente bajo de potenciales de unidad motora cuando el músculo es obligado a generar una mayor fuerza de contracción. Con la pérdida de neuronas motoras, una observación frecuente es que se aprecia un número reducido de unidades motoras de frecuencia rápida de disparo cuando el sujeto ejerce un esfuerzo máximo o casi máximo.. La disminución del reclutamiento de unidades motoras suele ser un indicador precoz y sensible de las anomalías de neurona motora inferior.



13.5 ANEXO V: PRUEBAS NEUROFISIOLÓGICAS

- **CMAP: potencial de acción muscular**

Se realiza usando las técnicas convencionales para la conducción motora nerviosa.

El electrodo activo se coloca en el punto motor, y la referencia se coloca distalmente.

La posición del electrodo activo será ajustada para conseguir la máxima amplitud del CMAP.

Para la eminencia tenar, se coloca el electrodo de referencia en la falange distal del dedo I y el electrodo activo en eminencia tenar/ APB

El electrodo de tierra, se coloca en el dorso de la mano.

El nervio es estimulado a una intensidad supramáxima, desde la muñeca.

Se establece el punto de recuerdo.

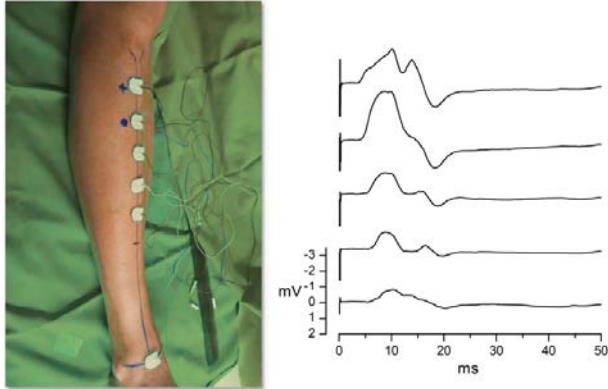


La temperatura de la piel debe ser superior a 32 grados centígrados.

La fase negativa del CMAP es usada para calcular la amplitud y área.

Para registrar el CMAP se utilizan filtros de 3 a 10000Hz;

Para registrar el SIP se utilizan filtros de 10 -1000 Hz; por lo que lo más fácil par ano ir cambando de filtros es utilizar entre 3 y 3000 Hz.



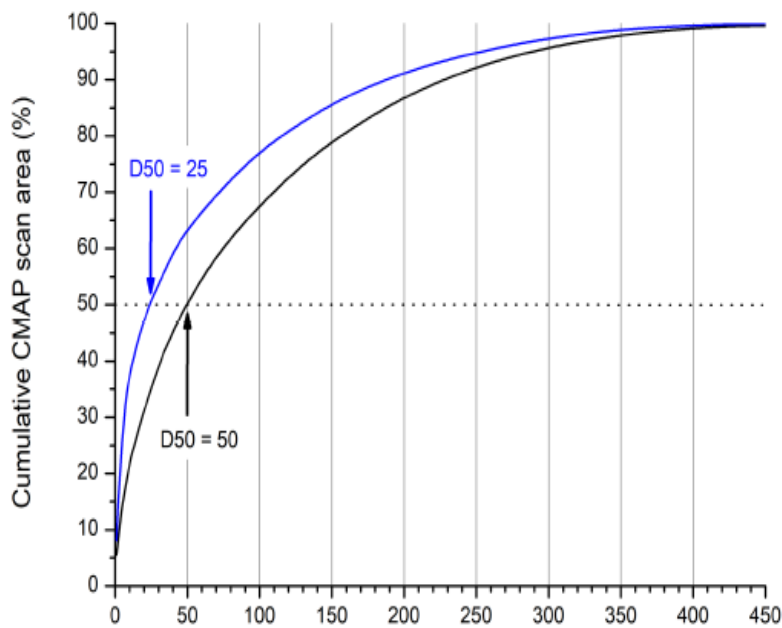
- **CMAP SCAN + D50:**

El cMAP Scan recoge la señal cuando la intensidad de estímulo aumenta en muy pequeños incrementos, alrededor de 500 ; las amplitudes de estas 500 respuestas están ordenadas ascendentes o descendentemente. Se calculan las diferencias entre amplitudes; el número de diferencias más grandes que se suman al 50% de la amplitud del CMAP es el D50. Este índice se reduce cuando el número de unidades motoras se pierden y las restantes se agrandan debido a la reinervación. D50 representa el número de respuestas consecutivas que aparece con el CMAP. Alteración es la variabilidad en la amplitud del CMAP resultante del hecho que cuando el rango de contracción varia de superposición de unidades motoras, cualquier combinación de estas unidades motoras podrá ser activada.

Las diferencias consecutivas más grandes resultan la activación de una única unidad motora adicional; las diferencias consecutivas más pequeñas, son principalmente por la alteración y el ruido.

Esto implica que para el diagnóstico y monitorización nos enfocaremos en las diferencias consecutivas más grandes.

Determinaremos el número de diferencias consecutivas más grandes para construir 50% del máximo CMAP: D50.



Rango de incremento del área con CMAPs consecutivos

- **MUNIX-MUSIX:**

Índice del número de unidades motoras MUNIX (*the motor unit number index*) es el método de evaluación del número y tamaño de los potenciales de unidad motora usando el CMAP y el patrón interferencial (SIP)

En las enfermedades de neurona motora, es interesante saber las unidades motoras supervivientes para estudiar así la progresión de la enfermedad.

Electrofisiológicamente se puede evaluar la pérdida de neuronas y la reinervación.

MUNIX sería el tercer paso, previamente se habrá estudiado el CMAP y el SIP.

- **MUNE**

Técnica sensible para identificar la pérdida de neuronas motoras inferiores, particularmente antes del inicio de la debilidad clínica, no suele realizarse de rutina y se utiliza fundamentalmente en el ámbito de la investigación. Puede usarse como un marcador de la progresión de la ELA, ya que puede relacionarse con el pronóstico, especialmente el de supervivencia. Una técnica recientemente descrita estandarizada para MUNE incremental en múltiples puntos genera unos datos muy reproducibles, y puede realizarse con equipos básicos de neurofisiología con mínimas molestias para el paciente a través del uso de bajas

intensidades de estímulos. Cuando se estudia en porcentajes sobre una línea base, esta medición del deterioro en la ELA puede compararse favorablemente con la escala de esclerosis lateral amiotrófica revisada.

- **DENSIDAD FIBRA mediante aguja.**

La técnica de densidad de fibra permite averiguar la disposición de las fibras musculares de la unidad motora, delimitando su arquitectura en condiciones normales y patológicas.

Contando el número de fibras musculares de una unidad motora dentro del área de registro de 270 micras, para cada uno de las 20 posiciones diferentes del electrodo se puede calcular el valor medio de la densidad de fibra. El electrodo es insertado perpendicularmente al azar y mediante pequeñas correcciones de su posición, que incluyen la rotación, se puede conseguir la máxima amplitud del potencial de acción de una fibra muscular. Se cuentan entonces, para una misma posición, el número de potenciales de fibra muscular que batan sincronizados con el potencial que sirve de trigger del osciloscopio. Solo se valoran los potenciales de, al menos, 200 micro voltios de amplitud, una pendiente menor de 300 micras y morfología constante.

En el músculo normal se obtiene el potencial de solo una fibra muscular en el 60 – 70 % de los puntos explorados, los potenciales correspondientes a dos fibras en el 30 a 35% y raramente la actividad perteneciente a 3 fibras.

La arquitectura de la unidad motora se modifica entre otros, en los procesos neurógenos, donde se observan agrupamientos de fibras como consecuencia de fenómenos de reinervación colateral. El aumento de densidad de fibra es más precoz en los procesos neurógenos que los cambios en los parámetros del potencial de unidad motora.

La unidad motora se va remodelando con la edad, según expresa el progresivo aumento de la densidad de fibras.

Valores que exceden la media más/menos 2 desviaciones estándar se consideran anormales.

Es una medida de concentración local de fibras musculares que pertenecen a una misma unidad motora.