

肌萎缩侧索硬化的神经生理学生物标志物研究进展

尚丽 王清萍 卢祖能

【中图分类号】 R744.8 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)03-0366-04
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.03.025

肌萎缩侧索硬化(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种同时累及上运动神经元(Upper motor neuron, UMN)和下运动神经元(Lower motor neuron, LMN)的神经退行性疾病,患者主要表现为进行性的肌肉萎缩和无力,并最终因呼吸衰竭而死亡^[1]。由于其临床异质性,且缺乏明确的诊断实验或生物标志物,故常导致患者诊断延迟,且在临床实验中难以监测疾病进展及治疗结果^[2]。因此,迫切需要客观的生物标志物来完善疾病诊断,监测疾病进展。

神经生理学生物标志物可客观评估 ALS 患者 UMN 和 LMN 的功能障碍,以帮助疾病早期诊断及相应管理策略的制定。此外,神经生理学生物标记物还可作为临床治疗试验中非侵入性的结局指标,并为了解疾病机制提供重要依据^[3]。本研究就 ALS 患者 UMN 和 LMN 的神经生理学生物标志物进行综述,旨在为疾病的早期诊断和管理提供帮助。

1 UMN 功能障碍的评估

UMN 受累是支持 ALS 诊断的重要组成部分。目前,神经系统体检仍是检测 UMN 损害的金标准,但较主观且取决于临床医生的技能^[4]。当患者存在肌肉萎缩、肌张力下降、腱反射减弱等显著的 LMN 变化时可掩盖共存的 UMN 体征,这使得疑似 ALS 患者诊断延迟,也不可避免地延缓了其早期神经保护治疗^[5]。因此,UMN 功能的客观评估异常重要。

经颅磁刺激(Transcranial magnetic stimulation, TMS)是一种无创且相对无痛的神经电生理技术,该技术利用指向皮质区域的脉冲磁场,并在该区域引起神经元去极化,进而产生动作电位^[2]。TMS 是评估 UMN 功能障碍的客观指标^[6],为理解 ALS 潜在的病理生理机制提供了重要资料,使 ALS 的诊断和预后生物标志物的开发成为可能^[6]。目前, TMS 技术常用参数包括运动阈值(Motor threshold, MT)、运动诱发电位(Motor evoked potential, MEP)、中枢运动传导时间(Central motor conduction time, CMCT)、皮质刺激静息期(Cortical stimulation silent period, CSP)、皮质内促进和抑制等^[7]。

1.1 单脉冲 TMS

单脉冲 TMS 是评估 UMN 功能障碍最早且最成熟的技术,其参数已为 ALS 皮质超兴奋性提供了确凿的证据^[8]。

1.1.1 MT

MT 指在靶肌肉诱发出运动诱发电位(Motor evoked

potential, MEP)的最小刺激强度,是评估皮质运动神经元兴奋性的指标。已发现 ALS 患者中静息运动阈值(Resting motor threshold, RMT)异常,但在不同研究中有所差异。Chervyakov 等^[9]发现,与健康对照者比较,ALS 患者双侧大脑半球 RMT 均显著增加,且与修订后的 ALS 功能评分(Revised ALS functional rating scale, ALSFRS-R)呈负相关;部分研究结果表明,患者 RMT 保持不变甚至减少^[10-11]。造成这种差异的原因尚不清楚,但 ALS 表型的异质性和检测时的疾病所处阶段可能是其解释^[6]。与此相关的是,纵向研究表明在病程早期, RMT 较低,提示皮质过度兴奋;随着疾病的进展 RMT 增加;在 ALS 晚期最终出现皮质无兴奋性^[7, 12],表明 RMT 与疾病进展相关。这在另一项前瞻性研究中得到验证,即 ALS 患者 RMT 随疾病进展呈线性增加^[13]。但值得注意的是,有研究发现只有 LMN 征象与 RMT 增加相关,即尽管 RMT 可评估疾病进展,但似乎不是 UMN 受累的特定标志物^[13],故 RMT 对 UMN 的评估价值仍值得进一步探索。

RMT 受谷氨酸能神经递质系统的影响。谷氨酸是中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质。通过突触后膜上 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA)受体,过量的谷氨酸可降低 MT^[6]。已经发现,ALS 的发病机制与谷氨酸诱导的兴奋毒性相关,UMN 通过谷氨酸诱导的兴奋毒性过程介导 LMN 的退行性变,即“顺行性死亡”假说^[14]。考虑到 RMT 可能受谷氨酸活性调节,故在 ALS 病程早期 MT 降低可能支持“顺行性死亡”假说^[7]。

1.1.2 CMCT

CMCT 指神经冲动穿过中枢神经系统,并激发脊髓或延髓运动神经元所花费的时间,反映了皮质脊髓束的完整性。CMCT 通过刺激运动皮层和由此产生的 MEP 之间的时间间隔减去周围神经和神经-肌肉接头传递时间计算而得^[13]。CMCT 的产生受多种因素影响,包括锥体细胞的激活时间、皮质脊髓束下行传导时间、突触传递和脊髓运动神经元激活^[6]。CMCT 延长是 UMN 受累的敏感标志^[13],有助于 ALS 的早期诊断,在无 UMN 受累的临床体征的 ALS 患者中出现 CMCT 延长的敏感性为 50%~71%^[3]。有研究发现,对 ALS 患者延髓、上肢、下肢区域评估均显示 CMCT 延长,且 CMCT 延长与病程呈正相关,与手肌肌力呈负相关^[13]。此外,在仅有延髓或肢体受累的 ALS 患者中延髓区域的 CMCT 延长更频繁,可更早揭示 UMN 的亚临床异常^[15]。尽管 ALS 患者 CMCT 延长的潜在机制尚不清楚,但已提出继轴突丢失后皮质运动神

神经元退行性变同步化增加以及快速传导的皮质脊髓纤维的轴突变性被认为是可能的机制^[3,13]。

1.1.3 CSP

运动皮层受到刺激后靶肌肉自发性肌电活动的中断被称为 CSP,其持续时间定义为从 MEP 反应开始到靶肌肉恢复自发性肌电活动之间的时间^[6]。CSP 的产生一部分归因于脊髓前角细胞内部的抑制过程;另一部分是由于 γ -氨基丁酸受体系统介导的皮层内抑制^[13]。目前,对 ALS 患者 CSP 的报道并不一致。尽管部分研究者认为,CSP 持续时间的显著减少是 ALS 可靠的生物标志物,尤其在病程早期^[16],但另有研究表明 ALS 患者 CSP 持续时间延长,且随着疾病的进展呈线性增加,并与 ALSFRS-R 和肌力评分呈负相关^[13]。ALS 中 CSP 持续时间减少的确切机制尚不清楚,推测 γ -氨基丁酸受体系统介导的皮质抑制性中间神经元的变性似乎是一种可能的解释^[3];至于 CSP 持续时间延长,现有研究的解释为,皮质运动神经元丢失后初级运动皮质抑制性作用的补偿性上调以及锥体束的突触重组^[13],故未来对于 CSP 生物标志物的可靠性仍需进一步验证。此外,CSP 异常对 ALS 具有特异性,而在脊髓延髓肌肉萎缩(肯尼迪病)、获得性神经性肌强直以及伴锥体束征的远端遗传性运动神经病等类似疾病中 CSP 未见异常^[6]。

1.2 双脉冲 TMS

双脉冲 TMS 可有效地评估皮质兴奋性,其中条件刺激被用来调节第 2 个测试刺激的效果^[3]。虽然已经开发了不同的双脉冲模式来评估皮层兴奋性,但短间隔皮层内抑制(Short-interval intracortical inhibition, SICI)、皮层易化(Intracortical facilitation, ICF)和长间隔皮层内抑制(Long-interval intracortical inhibition, LICI)的评估在 ALS 临床研究中的应用最为频繁^[17]。

SICI 是皮质内抑制性 γ -氨基丁酸能神经元功能的生物标志物^[11]。在散发性和家族性 ALS 中 SICI 的减少或消失以及 ICF 的增加已被广泛证实,提示皮质过度兴奋^[6]。SICI 的减少或消失是 ALS 早期最显著的特征,常在 LMN 功能异常的临床和神经电生理发作之前出现,并与神经退行性病变的生物标志物相关^[18-19]。对无症状的铜/锌超氧化物歧化酶-1(Copper/Zinc superoxide-dismutase-1, SOD-1)突变携带者进行纵向评估,发现在 ALS 临床症状出现前 SICI 已降低了 32%,表明皮质兴奋性增高先于临床症状发作^[20];使用阈值追踪 TMS 技术发现 SICI 异常的敏感性约 73%,特异性为 81%^[20]。依据 Awaji 诊断标准,约 56%可能的 ALS 患者存在 SICI 降低,且该参数异常使 88%的可能的 ALS 重新分类为很可能或确定的 ALS^[21],故 SICI 异常似乎是 ALS 可靠的诊断参数,并有助于 ALS 的早期诊断^[3]。此外,在 ALS 患者疾病发作侧的对侧皮层 SICI 的降低更明显,但两侧皮层的差异无统计学意义,且 SICI 降低与患者 LMN 功能障碍的严重程度及起病部位无相关性^[12,21]。有研究报道,在疾病发作后的前 2 年内 SICI 降低是 ALS 患者独立的预后生物标志物^[22]。经抗谷氨酸能药物利鲁唑治疗后 SICI 可部分恢复正常^[23],且与利鲁唑临床疗效相似,这种调节作用持续约 3 个月^[24],这表明在药物开发初期阈值跟踪 TMS 技术尤其是 SICI 在评估化

合物生物有效性方面具有实用性,也可能作为临床试验中监测新型疗法效果的有效生物标志物^[3]。

2 LMN 功能障碍评估

利用神经生理学技术对 LMN 功能障碍进行客观评估似乎比临床评估更为敏感^[25]。常规的神经电生理技术包括测量复合肌肉动作电位(Compound muscle action potential, CMAP)幅度,但由于慢性 LMN 损伤可产生神经再支配现象,检测时 CMAP 波幅可能仍在正常范围内,故 CMAP 对 LMN 损伤的评估相对不敏感^[26]。尽管如此,但大多数 LMN 的神经生理标志物都依赖于 CMAP。

2.1 神经生理指数

神经生理指数(Neurophysiological index, NI)是评估 ALS 患者 LMN 丢失的潜在的电生理生物标志物。de Carvalho 等^[27]研究发现,小指展肌的肌力与 CMAP 波幅和 F 波出现率呈正相关,而与远端运动潜伏期(Distal motor latency, DML)呈负相关,故首次提出 NI,并表示为 CMAP 波幅/远端运动潜伏期 \times F 波出现率,以研究单个神经-肌肉系统的变化,即可解释为随着疾病的进展,CMAP 波幅下降,远端运动潜伏期延长,F 波出现率下降,进而导致 NI 降低^[2]。NI 能够检测 ALS 患者症状前肢体肌肉中运动神经元的丢失,并监测疾病的进展。前瞻性研究发现,在无 LMN 临床征象、缓慢进展的 ALS 患者中当 ALSFRS-R 评分趋于稳定时 NI 却逐渐降低,提示亚临床期持续性运动神经元丢失^[25]。一项混合效应模型的研究证实,NI 是监测 ALS 进展的有效的生物标志物,与其他常规疾病进展指标(例如 ALSFRS 评分)比较,NI 在短时间内的下降速度更快,且与患者功能恶化呈中度相关^[28]。此外,NI 的下降与患者起病部位无关^[28]。除早期诊断及监测疾病进展外,NI 还可作为 ALS 的预后指标。与 NI >2.4 的患者比较,NI <2.4 的患者生存期较短^[29]。鉴于 NI 可以通过简单且熟悉的测量工具获得,并且几乎在每个神经内科都可以使用,因此有可能成为广泛适用且可重复的生物标志物,用于监测 ALS 的疾病进展及预后判断^[29]。

2.2 运动单位数目估计

运动单位数目估计(Motor unit number estimation, MUNE)是 LMN 功能障碍的又一生物标志物,用以估计靶肌肉中的运动神经元的数量。MUNE 的基本原理是以一块肌肉中所有运动单位(Motor unit, MU)全部兴奋时的最大的 CMAP 值除以表面记录的平均单个运动单位电位(Single motor unit potential, SMUP)值,即 MUNE = 最大 CMAP/SMUP 平均值^[2]。已报道 ALS 中 MUNE 呈线性下降,表明在临床试验中 MUNE 可作为疾病进展的潜在生物标志物^[30]。最初采用递增刺激法检测 MU,后来多点刺激法、F 波分析法、峰触发平均、贝叶斯统计、高密度表面肌电图、CMAP 扫描 MUNE(CMAP scan MUNE, MScan)等多种技术也被报道,其中最新开发的 MScan 通过将模型拟合到详细的刺激反应曲线或 CMAP 扫描来评估肌肉中的所有 MU,操作快速、灵敏,且有助于疾病诊断和病情进展监测^[31]。一项研究评估了 ALS 患者胫骨前肌的 MUNE,发现

与 EMG 比较, MScan 可以更加灵敏地检测出这种 LMN 损失^[32]。此外, MScan 与多点刺激法或运动单位指数(Motor unit number index, MUNIX)比较, 具有更高的可重复性, 且在疾病早期 MScan 在区分 ALS 患者和健康对照者方面更具优势^[33]。

MUNIX 是一种相对较新的 MUNE 方法, 基于 CMAP 波幅和表面 EMG 干扰相(surface EMG interference pattern, SIP)来评估 MU 的数量。已经发现, ALS 患者与健康对照者比较, MUNIX 显著下降, 且随疾病进展 MUNIX 下降与所测试肌肉的肌力及 ALSFRS-R 评分呈显著正相关^[34-35]。此外, MUNIX 可反映 ALS 症状前肌肉的变化, 并且这些肌肉 MUNIX 的纵向变化较 ALSFRS-R 的变化更为敏感, 故 MUNIX 可作为 ALS 疾病进展可靠的神经生理学生物标记物^[2-3]。但值得注意的是, Bostock 等^[36]研究了 MUNIX 与 CMAP 波幅和 SIP 之间的关系, 发现无论在健康对照者还是在患者中 MUNIX 几乎完全取决于 CMAP 波幅, 而对 SIP 信号变化不敏感, 故强调 MUNIX 不应用作衡量肌肉中 MU 数量的指标。与之矛盾的是, Nandedkar 等认为 MUNIX 并不仅仅取决于 CMAP 幅度, 也受 SIP 信号的影响, 可衡量 ALS 患者 MU 数量的变化, 监测疾病进展^[35], 故 MUNIX 在监测 ALS 患者 MU 损失方面的作用仍需进一步探讨。

2.3 电阻抗肌电图

电阻抗肌电图(Electrical impedance myography, EIM)作为一种非侵入性检测技术, 可提供有关神经肌肉疾病的定量信息, 在纵向评估疾病严重性方面意义重大。EIM 通过对置于肌肉上方的两对激励电极施加高频低强度电流, 并在两对检测电极之间测量所得的表面电压, 从而获得组织的电阻和电容特性。其优势在于该技术不依赖组织的固有电活动, 而依赖于组织如何影响施加的外部电流, 使该技术对肌肉的结构和组成变化(如 ALS 患者肌肉的失神经、神经再生、萎缩及脂肪替代)敏感^[3]。此外, 该技术易于执行, 且可应用于近端肌肉、躯干肌以及延髓肌^[2]。一项研究评估了 ALS 患者舌肌 EIM, 发现 ALS 患者与健康对照者之间存在显著差异, EIM 数据与患者舌肌肌力和延髓 ALSFRS-R 得分呈线性相关, 且在随访中 EIM 可有效识别舌肌肌力及延髓症状改变的患者, 提示舌肌 EIM 可作为 ALS 延髓症状监测的可靠工具, 为临床实践和实验研究提供潜在的生物标记物^[37]。此外, 与 MUNE 及 ALSFRS-R 比较, EIM 评估 ALS 疾病进展的敏感性更高, 且要求的临床实验样本量下降了 5.2 倍^[38], 故在 ALS 临床试验中 EIM 可作为方便、有效的结局指标。尽管在 ALS 病程及临床未受累的肌群中可早期检测到 EIM 变化, 但这些变化无法有效鉴别 ALS 与其他神经肌肉疾病。此外, 该技术是否能够在神经再支配之前检测到 MU 的初始损失尚不清楚。

2.4 轴突兴奋性

轴突兴奋性技术提供了轴突离子通道功能和膜电位的体内评估, 已被广泛用于神经系统疾病的研究中, 为了解神经退行性变的病理生理机制以及 ALS 和其他神经肌肉疾病的临床特征提供了依据。在散发性和家族性 ALS 中轴突兴奋性改变表现为持续性 Na^+ 电流增加以及 K^+ 电流减少, 两

者都会导致轴突过度兴奋, 进而引起肌肉痉挛和肌束震颤。此外, 还通过 Ca^{2+} 介导的过程来促进神经变性级联反应^[39]。有研究发现, 轴突持续性 Na^+ 电流是 ALS 患者生存期较短的强有力的独立预测因子, 膜高兴奋性可能与运动神经元死亡有关, 故对 Na^+ 电流的调节可能为 ALS 的治疗提供新的选择^[40]。与此相关的是, Na^+ 通道阻滞剂美西律可使 ALS 患者肌肉痉挛的频率和严重程度呈剂量依赖性降低^[41]。此外, 在使用钠离子通道阻滞剂氟卡尼的 ALS 患者中其 NI 的下降速率明显降低^[42], 这进一步强调了轴突兴奋性改变在 ALS 中的临床重要性。

3 结束语

综上所述, 经 TMS 技术检测的皮质超兴奋性是 ALS 患者 UMN 功能障碍的特定生物标志物, 并与神经变性相关。阈值跟踪 TMS 有助于 ALS 的早期诊断, 并提供了疾病治疗的监测手段。LMN 功能障碍的生物标志物包括 NI, MUNE, EIM 和轴突兴奋性技术, 均可监测疾病进展。除完善 ALS 诊断及监测疾病进展外, 新兴的神经生理学生物标志物对临床实验研究及药物开发方面也具有重要意义。但由于 ALS 存在广泛的临床异质性, 这些新兴的生物标志物仍需在大样本、多中心的研究中进一步评估。

参 考 文 献

- [1] Imai E, Nakamura T, Atsuta N, et al. A nerve conduction study predicts the prognosis of sporadic amyotrophic lateral sclerosis[J]. J Neurol, 2020, 267(9): 2524-2532.
- [2] Vucic S, Rutkove SB. Neurophysiological biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Curr Opin Neurol, 2018, 31(5): 640-647.
- [3] Huynh W, Dharmadasa T, Vucic S, et al. Functional biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis[J]. Front Neurol, 2018, 9: 1141.
- [4] Rajagopalan V, Pioro EP. Unbiased MRI analyses identify micro-pathologic differences between upper motor Neuron-Predominant ALS phenotypes[J]. Front Neurosci, 2019, 13: 704.
- [5] Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system[J]. Lancet Neurol, 2016, 15(11): 1182-1194.
- [6] Vucic S, Kiernan MC. Utility of transcranial magnetic stimulation in delineating amyotrophic lateral sclerosis pathophysiology[J]. Handb Clin Neurol, 2013, 116: 561-575.
- [7] Huynh W, Simon NG, Grosskreutz J, et al. Assessment of the upper motor neuron in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Clin Neurophysiol, 2016, 127(7): 2643-2660.
- [8] Vucic S, Ziemann U, Eisen A, et al. Transcranial magnetic stimulation and amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiological insights[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013, 84(10): 1161-1170.
- [9] Chervyakov AV, Bakulin IS, Savitskaya NG, et al. Navigated transcranial magnetic stimulation in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Muscle Nerve, 2015, 51(1): 125-131.
- [10] Attarian S, Azulay JP, Lardillier D, et al. Transcranial mag-

- netic stimulation in lower motor neuron diseases[J]. *Clin Neurophysiol*, 2005, 116(1): 35-42.
- [11] Menon P, Geevasinga N, Van Den Bos M, et al. Cortical hyperexcitability and disease spread in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *European Journal of Neurology*, 2017, 24(6): 816-824.
 - [12] Grieve SM, Menon P, Korgaonkar MS, et al. Potential structural and functional biomarkers of upper motor neuron dysfunction in ALS[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2015, 17(1/2): 85-92.
 - [13] Civardi C, Collini A, Mazzini L, et al. Single-pulse transcranial magnetic stimulation in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Muscle Nerve*, 2020, 61(3): 330-337.
 - [14] Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Lancet*, 2011, 377(9769): 942-955.
 - [15] Floyd AG, Yu QP, Piboolnurak P, et al. Transcranial magnetic stimulation in ALS: utility of central motor conduction tests[J]. *Neurology*, 2009, 72(6): 498-504.
 - [16] Vucic S, Nicholson GA, Kiernan MC. Cortical excitability in hereditary motor neuronopathy with pyramidal signs: comparison with ALS[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81(1): 97-100.
 - [17] Vucic S, Howells J, Trevillion L, et al. Assessment of cortical excitability using threshold tracking techniques[J]. *Muscle Nerve*, 2006, 33(4): 477-486.
 - [18] Menon P, Kiernan MC, Vucic S. Cortical hyperexcitability precedes lower motor neuron dysfunction in ALS[J]. *Clin Neurophysiol*, 2015, 126(4): 803-809.
 - [19] Menon P, Geevasinga N, Yiannikas C, et al. Sensitivity and specificity of threshold tracking transcranial magnetic stimulation for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: a prospective study[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(5): 478-484.
 - [20] Vucic S, Nicholson GA, Kiernan MC. Cortical hyperexcitability May precede the onset of familial amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Brain*, 2008, 131(Pt 6): 1540-1550.
 - [21] Geevasinga N, Menon P, Yiannikas C, et al. Diagnostic utility of cortical excitability studies in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *European Journal of Neurology*, 2014, 21(12): 1451-1457.
 - [22] Shibuya K, Park SB, Geevasinga N, et al. Motor cortical function determines prognosis in sporadic ALS[J]. *Neurology*, 2016, 87(5): 513-520.
 - [23] Vucic S, Lin CS, Cheah BC, et al. Riluzole exerts central and peripheral modulating effects in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 5): 1361-1370.
 - [24] Geevasinga N, Menon P, Ng K, et al. Riluzole exerts transient modulating effects on cortical and axonal hyperexcitability in ALS[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2016, 17(7/8): 580-588.
 - [25] Escorcio-Bezerra ML, Abrahao A, Nunes KF, et al. Motor unit number index and neurophysiological index as candidate biomarkers of presymptomatic motor neuron loss in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Muscle Nerve*, 2018, 58(2): 204-212.
 - [26] Bromberg MB. Electrodiagnostic studies in clinical trials for motor neuron disease[J]. *J Clin Neurophysiol*, 1998, 15(2): 117-128.
 - [27] De Carvalho M, Swash M. Nerve conduction studies in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Muscle Nerve*, 2000, 23(3): 344-352.
 - [28] Cheah BC, Vucic S, Krishnan AV, et al. Neurophysiological index as a biomarker for ALS progression: validity of mixed effects models[J]. *Amyotroph Lateral Scler*, 2011, 12(1): 33-38.
 - [29] Cao B, Wei Q, Ou R, et al. Neurophysiological index is associated with the survival of patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(9): 1730-1733.
 - [30] Gooch CL, Shefner JM. ALS surrogate markers. MUNE[J]. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 2004, 5(Suppl 1): 104-107.
 - [31] Jacobsen AB, Bostock H, Tankisi H. CMAP scan MUNE (MScan) - A novel motor unit number estimation (MUNE) method[J]. *J Vis Exp*, 2018 (136): 56805.
 - [32] Kristensen RS, Bostock H, Tan SV, et al. MScanFit motor unit number estimation (MScan) and muscle velocity recovery cycle recordings in amyotrophic lateral sclerosis patients[J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(8): 1280-1288.
 - [33] Jacobsen AB, Bostock H, Tankisi H. Following disease progression in motor neuron disorders with 3 motor unit number estimation methods[J]. *Muscle Nerve*, 2019, 59(1): 82-87.
 - [34] Moldovan M, Vucic S. Is motor unit number index (MUNIX) an index of compound muscle action potential amplitude rather than motor unit number? [J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(9): 1686-1687.
 - [35] Nandedkar SD, Barkhaus PE, Stålberg EV. Motor unit number index (MUNIX) and compound muscle action potential amplitude: A reappraisal[J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(10): 2010-2011.
 - [36] Bostock H, Jacobsen AB, Tankisi H. Motor unit number index and compound muscle action potential amplitude[J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(9): 1734-1740.
 - [37] Alix J, McDonough H, Sonbas B, et al. Multi-dimensional electrical impedance myography of the tongue as a potential biomarker for amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Clin Neurophysiol*, 2020, 131(4): 799-808.
 - [38] Shefner JM, Rutkove SB, Caress JB, et al. Reducing sample size requirements for future ALS clinical trials with a dedicated electrical impedance myography system[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2018, 19(7/8): 555-561.
 - [39] Park SB, Kiernan MC, Vucic S. Axonal excitability in amyotrophic lateral sclerosis: axonal excitability in ALS[J]. *Neurotherapeutics*, 2017, 14(1): 78-90.
 - [40] Kanai K, Shibuya K, Kuwabara S. [Motor axonal excitability properties are strong predictors for survival in amyotrophic lateral sclerosis][J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2011, 51(11): 1118-1119.
 - [41] Weiss MD, Macklin EA, Simmons Z, et al. A randomized trial of mexiletine in ALS: Safety and effects on muscle cramps and progression[J]. *Neurology*, 2016, 86(16): 1474-1481.
 - [42] Park SB, Vucic S, Cheah BC, et al. Flecainide in amyotrophic lateral sclerosis as a neuroprotective strategy (FANS): A randomized Placebo-Controlled trial[J]. *EBioMedicine*, 2015, 2(12): 1916-1922.