

Potenciales electromiográficos inéditos

Ezequiel Jethmal M.D., M.A.

Director del Laboratorio de Neurofisiología Clínica del Hospital de Especialidades Pediátricas (CSS) y del Gabinete de Neurofisiología en el Centro Médico Paitilla; Neurofisiólogo de la Unidad de Neurofisiología del Hospital Santo Tomás, Panamá. Investigador visitante de la USMA.

email: ejethmal@cwpa.net.pa

Palabras claves: Electromiografía, canales, potenciales de fibrilación, positive sharp wave u ondas positivas agudas, ondas lentas, racimos o agregados.

Abstract

Alrededor del año 1997 iniciamos un proyecto de investigación con la finalidad de sustituir la aguja rígida de Electromiografía por un alambre ultrafino que disminuyera el dolor provocado por la intromisión percutánea y la posterior manipulación del electrodo dentro del músculo. Ese objetivo se alcanzó al tiempo que se estandarizaba un nuevo protocolo de Electromiografía. Adicional a la exitosa disminución significativa del dolor, se descubrieron ondas espontáneas del músculo denervado, cuyo curso en el tiempo es más lento que las dos ondas tradicionales denominadas potenciales de fibrilación y *positive sharp waves*. Por tener curso en el tiempo más lento, las nuevas ondas identificadas como positivas y negativas, no pueden ser explicadas como partes del potencial de acción o de fibrilación de las células musculares denervadas. Los dos puntiagudos potenciales tradicionales no sobrepasan 20 milisegundos mientras que las nuevas ondas lentas tienen una duración mayor de 50 milisegundos. En esta publicación ofrecemos ejemplos de las nuevas ondas lentas que hemos descubierto. Adicionalmente presentamos una hipótesis de trabajo sobre el origen de los tradicionales potenciales al igual que el de las nuevas ondas. Esta hipótesis está fundamentada en la dinámica de ciertos canales iónicos de la membrana sarcolemática denervada.

Abreviaturas

AHP: hiperpolarización post potencial de acción. AWG: calibre americano de alambre. Canales BK: canales de K(+) de alta conductancia, voltaje-dependiente, Ca(2+) activada. cm: centímetro. DM1: distrofia miotónica. EMG: electromiografía. FPs: potenciales de fibrilación. G: calibre o grosor. mm: milímetro. ms: milisegundos. mV: milivoltios. μ m: micrometros. μ V: microvoltios. PSWs: positive sharp waves u ondas positivas agudas. Canales RyR: canales receptores de rianodina. Canales SK3: canales de K(+) de baja conductancia, voltaje-independientes Ca(2+)-activada. sAHP: hiperpolarización lenta post potencial de acción. Canales TRAAK: canales K(+)

relacionados a twik, estimulados por ácido araquidónico. Canales TREK: canales K(+) relacionados con twik. Canales TWIK: canales de K(+) en tándem o pareados, débiles rectificadores en influjo.

Introducción

La Electromiografía clínica es un procedimiento electrofisiológico para el estudio de los músculos esqueléticos. Es útil para la investigación de enfermedades propias de los músculos como las distrofias y los procesos inflamatorios autoinmunes (*e.g.* polimiositis). Como quiera que la integridad funcional de las fibras musculares depende de su inervación motoneuronal, la electromiografía clínica también se utiliza en el estudio electrofisiológico de lesiones de los nervios, como es el caso de las radiculopatías y los síndromes de atrapamiento periférico.

Con la aguja de EMG se han caracterizado dos potenciales anormales llamados espontáneos porque no son activados por contracción voluntaria: FPs and PSWs. Descargan como potenciales únicos o repetitivos. En 1929 Adrian and Bronk (1) iniciaron el registro extracelular de potenciales neurales con agujas concéntricas y algún tiempo después, también registraron potenciales musculares. In 1938 Denny-Brown y Pennybacker detectaron FPs con electrodos bipolares y lograron trazos de los mismos en papel de bromuro (8). En 1949 Jasper and Ballem (13), mediante el uso de agujas monopolares, detectaron potenciales que ellos llamaron PSWs. Excepción hecha de las descargas repetitivas, no se ha informado en la literatura, ningún otro potencial espontáneo, originario de fibras musculares individuales.

Desde 1997 iniciamos el uso de electrodos consistentes en alambre de cobre flexible y delgado dentro del rango del grosor o diámetro de sección de las fibras musculares esqueléticas. La razón primaria para este cambio de electrodo de EMG fue el intento de disminuir el dolor que produce la penetración transcutánea del electrodo rígido y su subsecuente manipulación dentro del músculo. El diámetro de los electrodos en gancho usados en quinesiología y monitorizaje EMGráfico, también está dentro del rango del grosor de las fibras musculares. El nuevo procedimiento fue sometido a estandarización con sujetos normales y pacientes entre febrero 1998 hasta noviembre 1999. El uso de alambre delgado y flexible como electrodo de EMG está en uso rutinario por el autor desde el inicio del año 2000. Además de ser menos doloroso, se logró un descubrimiento accidental de ondas positivas y negativas lentas registradas individualmente o acopladas. La revisión de la literatura no identificó referencias sobre ondas lentas excepto la publicación de Kimura (14) de ondas parecidas que el reporta como artificios de pulso arterial (vease la figura 14-8 en la página 348).

Esta publicación tiene como objetivo central, presentar ejemplos representativos de ondas positivas y negativas lentas no publicadas a la fecha. Adicionalmente avanzamos una explicación sobre la efectividad del alambre fino para el registro de ondas lentas aparte de las tradicionales. Hemos levantado una hipótesis de trabajo basada en la Biología Molecular de ciertos canales iónicos, tratando de encontrar un origen coherente de las ondas lentas y los PSWs, habida cuenta de la imposibilidad de aplicar el modelo del “injury potential” a las ondas lentas descritas en esta publicación (véase los comentarios sobre los “injury potentials” en la discusión).

Materiales y métodos

Como electrodo de los pacientes se empleó alambre de cobre para embobinado 43 AWG. El alambre estaba aislado eléctricamente excepto 1.5 mm del extremo intramuscular; el diámetro del alambre era de 56 μ m. En un caso (Figure 6B) el alambre de cobre fue substituido por alambre de níquel-cromo Stablohm 800B con diámetro nominal 0.0025 pulgadas, extremo desnudo de 2.0 mm y diámetro medido de 43 μ m. El alambre se montó a través de un ojal en la punta de una aguja hipodérmica 30G. La aguja 30G es muy delgada y tiende a doblarse a medida que se trata de penetrar la piel. Por esa razón la aguja 30G fue introducida en una camisa consistente en una aguja hipodérmica 18G. Con un mandril se empujó la aguja 30G en el centro de un rectángulo de aluminio o parche conductor 22mm x 32mm de Nicolet Biomedical que sirvió como electrodo de referencia. La aguja 30G se extrajo una vez que se destrabó el alambre, halándolo con los dedos de una mano mientras se mantenía fija la aguja con la otra mano. El alambre delgado de cobre o de níquel-cromo funcionó como el electrodo activo de EMG. Debido a la flexibilidad del alambre fino este no se podía insertar en pasos rápidos para provocar la llamada actividad de inserción como se realiza durante la EMG de aguja rígida. Se hizo necesario comprimir el músculo alrededor del alambre y solicitarle al paciente que realizara contracciones voluntarias varias veces. Todo esto se repitió cada vez que el electrodo se extraía 5 a 10 mm. Si el primer *locus* explorado no revelaba anomalías pero había sospecha de denervación por la clínica o por los hallazgos de la Resonancia Magnética Nuclear, se exploraba otro punto del músculo.

Uno de los registros fue realizado con equipo Nicolet Viking IV cuya ventana de filtros era 2Hz y 5KHz (Fig 6A). Todos los demás registros se realizaron con un equipo Dantec Keypoint portátil con una ventana de filtros entre 20Hz y 3KHz. Se ignoraron todas las ondas periódicas cerca de las frecuencias cardíaca o de pulso respiratorio, además de los movimientos accidentales del equipo o conectores, en el entorno del paciente.

Resultados

La **Figura 1** ilustra el registro de un paciente de 50 años de edad con radiculopatía C8. Hemos seleccionado este registro porque ilustra muchos PSWs de diferentes voltajes y unas pocas ondas menos agudas que los PSWs tradicionales. Dentro del mismo rango de voltajes pueden apreciarse tanto PSWs como ondas lentas. Esta figura también ilustra PSWs muy pequeños que podrían haberse generado a distancia pero sin distorsión de su forma, o sea que se mantienen los mismos componentes de frecuencia. Por las razones anotadas, interpretamos que las ondas lentas no son PSWs filtrados a través del tejido circundante.

La **Figura 2** corresponde al EMG de un paciente masculino de 56 años el cual sufrió múltiples traumas y neurotmesis del nervio peroneo común derecho. El electrodo de alambre fino recoge FPs y PSWs bien definidos. La forma, componentes de frecuencia y el curso en el tiempo de los FPs son incuestionablemente diferentes de los PSWs aunque algunos autores piensan que los PFs se pueden “transformar” en PSWs y *visé versa* (9,23).

Con la **Figura 3** tratamos de demostrar que los PSWs con dos fases son realmente un acoplamiento de una onda positiva (el PSW en propiedad) seguida por una onda negativa. Alternamente puede tratarse de una onda bifásica producto de las condiciones volumétricas del

registro extracelular. La onda marcada con el punto sólido en “B” se observa sola sin el componente positivo agudo. En C se aprecia un PSW disparando en forma regular y súbitamente pierde su fase negativa probablemente generada por otra fuente.

En la **Figura 4A** Se aprecia una onda negativa lenta acoplada a una onda positiva y luego dicha onda aparece sin el primer componente positivo. En **4B** hay un disparo con secuencia positiva-negativa casi semejantes. La siguiente es la **Figura 5A** que presenta cinco trazos del biceps izquierdo de un paciente con trauma al plexo braquial izquierdo. Los únicos potenciales registrados fueron los lentos. En nuestra búsqueda bibliográfica de posibles generadores de potenciales de denervación espontaneos, revisamos los experimentos de “patch-clamping”. El único artículo científico que informa la medición de voltajes además de las corrientes, es el de Pozo *et alli* (27) empleando células musculares lisas de la vesícula biliar. A mano libre dibujamos su figura 4B esquematizando unas cuantas ondas intracelulares (**Figura 5C** de este artículo). El primer trazo de la **Figura 5A** fue comprimida en la coordenada del tiempo y expandida en la coordenada del voltaje produciéndose la **Figure 5B**. La homologación de **5B** y **5C** sugiere similitudes entre las ondas positivas lentas de este paciente y los potenciales intracelulares BK de Pozo JM *et alli* (27). En nuestra hipótesis de trabajo, las ondas positivas mayores de 50 μ V son consideradas como putativos “potenciales BK agregados”

La **Figura 6** corresponde al registro de un paciente con distrofia miotónica (DM1). Se exploró el primer interoseo dorsal de este paciente en dos fechas distintas: en una ocasión con electrodo fino de cobre y en la otra con electrodo fino de níquel-cromo. Durante la relajación, los únicos potenciales no provocados que se registraron fueron ondas positivas lentas con duración aproximada de 50 μ V. Estas ondas se consideran como “putativos potenciales SK3 agregados”.

Discusión

No hemos encontrado referencia en la literatura sobre el uso de alambres delgados con diámetro en el rango de grosor de las fibras musculares esqueléticas para la realización de EMG clínica. Especulamos que el alambre se adosa a la membrana basal-sarcolema de las fibras musculares, mejor que los electrodos rígidos. Esto podría deberse a la geometría cilíndrica, flexibilidad y delgadez de toda su longitud. A lo largo del 1.5 mm desnudo de su extremo detector, el alambre entra en contacto con más fibras musculares que las agujas monopolares. Esto aumenta la probabilidad de detectar potenciales extracelulares con bajo voltaje. El diámetro de las fibras musculares normales está entre 50-100 μ m y el diámetro del alambre es 56 μ m o menos. El alambre delgado probablemente se beneficia de las fuerzas mecanoelásticas que se crea entre fibras musculares adyacentes y del entrecruzamiento de las fibras a lo largo de su curso entre los tendones extremos. Esto terminaría en un sello eléctrico que no es tan fácil que se produzca alrededor de una aguja concéntrica. El sello eléctrico sería sólo parcialmente posible con agujas monopolares gracias al milímetro desnudo de su punta detectora pero a pesar de la forma cónica de dicha punta y el diámetro de la parte uniforme. Las agujas gruesas podrían facilitar columnas de fluido triangulares a lo largo de la longitud total del electrodo sumergido en la masa muscular. Las columnas circundantes de fluido extracelular y segmentos dañados de fibras pueden funcionar como cortocircuitos mayores con agujas concéntricas que monopolares pero mucho menos con alambres delgados. Las puntas cónicas de las agujas monopolares

Medtronic Dantec número 25G tienen una base cuyo diámetro es 250 μ m. Se han realizado observaciones estereoscópicas preliminares de fibras musculares de conejos con una aguja 25G (diámetro nominal de 0.5 mm) insertada con lo cual se elaboró el esquema de la Figura 7. Sin embargo, se requiere investigación formal para objetivar las apreciaciones comentadas.

Aparte del modelo del “injury potential” no hemos identificado en la literatura, otras hipótesis sobre el origen de los PSWs y menos aún, sobre el origen de las ondas lentas. De acuerdo con ese modelo, el PSW es el brazo inicial positivo del potencial de acción o FP detectado en el volumen de tejido y líquido que circunda esa particular fibra muscular denervada. El otro brazo, o sea el negativo, no se puede registrar porque la aguja “ha herido” a la fibra y en ese punto, la solución de continuidad del sarcolema bloquea el resto del potencial de acción extracelular. Como quiera que el modelo del “injury potential” sostiene que el PSW es el registro de un potencial de acción, cualesquiera onda que sobrepase unos 20 milisegundos, no puede ser explicada como parte de un potencial de acción o FP (véase comentario en las páginas 46-47 de la referencia 8). Por otro lado, algunos de los defensores del modelo del “injury potential” han sugerido que las fibras denervadas que fibrilan podrían ocasionar artificios de movimiento que a su vez provocarían las ondas lentas aquí informadas. No favorecemos esta posibilidad porque los FPs pueden alcanzar voltaje tan alto (mayor de 500 μ V en la Figura 2), que sería difícil entender porqué se detecta un artificio que genera una onda lenta menor de 100 μ V y no la de voltaje varias veces mayor (*i.e.* PF) que se produjo inmediatamente antes de la sacudida fibrilante de la célula muscular justo en las inmediaciones del electrodo consistente en el alambre fino. Entre los artículos científicos generados por los biólogos moleculares no hemos encontrado alusiones sobre la correlación entre las ondas del EMG y las corrientes de los canales iónicos excepción hecha de las que corresponden a los FPs aceptados como potenciales de acción de la fibra muscular denervada. Se hace necesario, en consecuencia, una somera recapitulación de algunos aspectos de la Biología Molecular pertinentes a los diversos tipos de ondas patológicas detectadas durante la denervación porque nuestra hipótesis de trabajo sobre las ondas positivas y negativas lentas se fundamenta en la dinámica de ciertos canales iónicos.

Las células de los mamíferos usan Ca(2+) para variadas funciones. Las fluctuaciones en las concentraciones intracelulares del ión calcio afecta el potencial de la membrana. Hay tres tipos de canales de ión potasio que reaccionan a cambios en Ca(2+) intracelular: canales BK, canales IK y canales SK. Se han identificado tres isoformas de los canales SK: SK1, SK2 and SK3 (14). En las neuronas de los vertebrados (27) y en las fibras musculares denervadas (10,21,25) los potenciales de acción son seguidos por un AHP que puede persistir por varios segundos. Los AHP consisten en componente rápido o fAHP, medio o mAHP y lento o sAHP. Todos los AHP tienen consecuencias significativas en el patrón de disparos de las neuronas y fibras musculares denervadas. Los canales SK son responsables de los mAHP y una vez activados, conducen K(+) fuera de la célula resultando en hiperpolarización y, en consecuencia, inhibición del potencial de acción (9,25).

El siguiente comentario de Neelands TR *et alli* (24) lo consideramos pertinente a nuestra discusión: “.....SK channels contribute to the hyperexcitability by affecting the apparent action potential threshold in addition to the elevated resting potential that occurs as a result of denervation. Importantly, it also suggests that there is some basal SK channel activity at rest in denervated muscle fibres” (el subrayado es nuestro). En efecto, con el alambre fino *in situ* se

registran potenciales de bajo voltaje ($< 50 \mu\text{V}$) no provocados, de las fibras musculares esqueléticas denervadas. El sarcolema de las fibras musculares esqueléticas denervadas es rico en canales SK3 como lo han demostrado Roberta Roncarati *et alli* (28). La presencia de canales SK3 en DM1 ha sido confirmada en músculos distales pronos a las características descargas miotónicas (4,12,13,26). Los canales SK juegan un papel fundamental en la mayoría de las células excitables que participan en la adaptación de la frecuencia de disparos (9). La **Figura 6** revela ondas positivas pequeñas en un paciente con DM1 que hemos asumido como “putativos potenciales SK3 en racimos o agregados”. La presencia de canales SK3 en fibras musculares denervadas pero no en las inervadas, explicaría la activación repetitiva típica de los FPs y los PSWs. La presencia de canales SK3 en músculos de pacientes con DM1 podría ser responsable del patrón de secuencia repetitiva o rítmico de potenciales de acción y/o PSWs conocida como descargas miotónicas. Aparte de los canales SK3, debe haber otro canal presente en los músculos que expresan DM1 porque los canales SK3 solos no pueden explicar las descargas miotónicas. De lo contrario todos los músculos denervados manifestarían los eventos repetitivos característicos.

Otro tipo de canal de $\text{K}(+)$ independiente de la activación del ión calcio que consideramos pertinente a nuestra hipótesis de trabajo son los mecanosensibles que contienen dos poros y cuatro segmentos transmembrana (2,18,22,23). Los canales de ión potasio sensibles al estiramiento o mecano-activados son TREK-1, TREK-2 and TRAAK (22) los cuales se abren ante el incremento de presión mecánica aplicada a la membrana celular. La llamada “actividad de inserción” lograda mediante avances rápidos de la aguja tradicional de EMG, podría activar las ondas positivas rápidas (*i.e.* PSWs), produciendo deformación del sarcolema y la consecuente creación de cúpulas con la parte alta del domo orientada hacia el espacio extracelular virtual; el resultado final sería la apertura del canal mecanosensible (18). Es interesante observar que la ligadura del nervio ciático acumula canales TREK y TRAAK (3) al igual que canales SK3 (28) proximal y distal a la ligadura. Los canales TRAAK revelan presencia mínima en la médula espinal pero muy alta en los ganglios dorsales. Por el contrario, los canales TREK-1 y en menor grado los TREK-2, se expresan en alta concentración en la médula espinal (21) por lo que son los mejores candidatos para estar presentes en las motoneuronas de la médula espinal y con potencial capacidad de alcanzar las fibras musculares a través del flujo axoplásmico anterogrado. Cuando los canales TREK-1 y TREK-2 están abiertos, $\text{K}(+)$ se mueve hacia el espacio extracelular generando hiperpolarización (18). Ignoramos hasta donde se puede llevar este paralelismo metabólico para asumir la presencia concurrente de los canales SK3 y TREK-1 y/o TREK-2 en sarcolemas denervados, en pacientes con DM1 y tal vez, en otras canalopatías musculares o neurales.

La información de la Biología Molecular sobre los canales mecanosensibles presentes en concentraciones significativas en la médula espinal (*i.e.* TREK-1 and TREK-2) al igual que la información sobre los canales SK3 y BK es el centrofirme para la elaboración de nuestra hipótesis de trabajo que resumimos así:

1. Roncarati *et alli* (28) han probado que los canales SK3 se acumulan en las terminaciones presinápticas motoneuronales y que se expresan sobre el sarcolema cuando ocurre la denervación. Nuestra hipótesis sostiene que los canales TREK-1 y TREK-2 también, se expresan sobre el sarcolema al ocurrir la denervación. Los canales BK están presentes en fibras inervadas y tal vez no cambian o podría sobreexpresarse en fibras musculares

denervadas producto de la alta actividad de los centelleos de Ca(2+) en las fibras denervadas. Cada uno de estos cuatro tipos de canales de K(+) estarían organizados como racimos funcionales o microdominios funcionales que estructuran mosaicos entremezclados de generadores de corrientes a través del sarcolema.

2. Los canales SK3, BK, TREK-1 and TREK-2 hiperpolarizan las fibras musculares esqueléticas expulsando K(+). El electrodo extracelular de EMG (alambre fino o aguja) “vee” ondas con excursión positiva cuando los racimos o agregados de cualesquiera de esos racimos de canales se abren.
3. Los racimos de canales SK3 y BK generarían ondas lentas positivas. Las ondas hasta $\sim 50\text{ mV}$ las clasificamos como “putativos potenciales SK3 agregados” y por encima de 50 mV , como “putativos potenciales BK agregados”. Los canales TREK-1 and TREK-2 generarían ondas positivas rápidas (*i.e.* PSWs).
4. La ritmicidad de los FPs, PSWs, descargas miotónicas al igual que las descargas repetitivas complejas estarían bajo el control de los canales SK3 como es el caso de las neuronas que expresan canales SK3 (29).

La ventaja máxima del electrodo de EMG consistente en alambre fino sería el acoplamiento de un sistema de perfusión al electrodo para la activación o bloqueo de racimos de canales en la vecindad del alambre tanto a nivel de la placa neuromuscular como en el resto de la membrana sarcolema. Behrens MI *et alli* (4) disminuyeron la excitabilidad de los músculos de los pacientes con DM1 perfundiendo apamina. Si nuestra hipótesis de trabajo es correcta y la perfusión de sustancias con alta afinidad por los canales pudiese ser rutinariamente exitosa, la EMG ampliaría su presente ámbito más allá de las patologías que alcanza en la actualidad con el protocolo tradicional de EMG, para el mejor entendimiento de otras canalopatías. Mi laboratorio progresa en esta área de la investigación a través de un modelo de denervación en el conejo. Los mejores candidatos, a la fecha, son Riluzole or Ebio (9) para abrir o activar y Apamina (toxina de la abeja) para bloquear o inhibir canales SK3 (10,21,25). El ácido araquidónico y algunos anestésicos halogenados activarían los canales TREK-1 and TREK-2 (8). La cafeína activaría los centelleos de Ca(2+) que a su vez abren los canales de RyR y BK channels (15,24,27). Desafortunadamente los centelleos de Ca(2+) no se han estudiado en fibras musculares denervadas a la fecha como tampoco se ha investigado la funcionalidad de los agregados o racimos de canales. Pronto los experimentos en este campo agregará información necesaria que junto a otras contribuciones de la Biología Molecular permitirá una mejor comprensión de la detección de canalopatías mediante electrodo de alambre fino. Podría ser posible la substitución futura de la EMG tradicional por la “EMG de canales”.

Referencias

1. Adrian ED, Bronk DV: Discharge of impulses in motor nerve fibers. *J Physiol* 1929; 67:119-151.
2. Anson BD, Robers WM. Sodium channel distribution on uninnervated and innervated embryonic skeletal myotubes. *J Neurobiol.* 2001;48(1):42-57.
3. Bang H, Kim Y, Kim D. TREK-2, a new member of the mechanosensitive tandem-pore K(+) channel family. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(23): 17412-17419.

4. Bearzatto B, Lesage F, Reyes R, Lazdunski M, Laduron PM. Axonal transport of TREK and TRAAK potassium channels in rat sciatic nerves. *Neuroreport* 2000; 11(5): 927-930.
5. Behrens MI, Jalil P, Serani A, Vergara F, Alvarez O. Possible role of apamin-sensitive K(+) channels in myotonic dystrophy. *Muscle & Nerve* 1994; 17(11): 1264-1270.
6. Daube JR. (Editor). *Clinical Neurophysiology*. First Edition. F. A. Davis Company. Philadelphia. 1996. 533 p.
7. Denny-Brown D, Pennybacker JB: Fibrillation and fasciculation in voluntary muscle. *Brain*, 1938; 61:311.
8. Dumitru D, Amato AA, Zwarts M. *Electrodiagnostic Medicine*. Second Edition, Hanley & Belfus, Inc./Philadelphia. 2002. 1524 p.
9. Dumitru D, King JC, McCarter R. Single muscle fiber discharge transformations: fibrillation potential to positive sharp wave. *Muscle & Nerve* December 1998; 21: 1759-1768.
10. Fink M, Lesage F, Duprat F, Heurteaux C, Reyes R, Fosset M, Lazdunski M. A neuronal two P domain K(+) channel stimulated by arachidonic acid and polyunsaturated fatty acids. *The EMBO Journal* 1998; 17: 3297-3308.
11. Grunnet M, Jespersen T, Angelo K, Frokjaer-Jensen C, Klaerke DA, Olesen SP, Jensen BS. Pharmacological modulation of SK3 channels. *Neuropharmacology* 2001; 40(7): 879-887.
12. Jacobson D, Herson PS, Neelands TR, Maylie J, Adelman JP. SK channels are necessary but not sufficient for denervation-induced hyperexcitability. *Muscle & Nerve* 2002; 26: 817-822.
13. Jasper H, Ballem G: Unipolar electromyograms of normal and denervated human muscle. *J Neurophysiol* 1949; 12:231-244.
14. Kimura J. *Electrodiagnosis in Diseases of Nerve and Muscle: Principles and Practice*. Edition 3, Oxford University Press. 2001. 991 p.
15. Kimura T, Takahashi MP, Okuda Y, Kaido M, Fujimura H, Yanagihara T, Sakoda S. The expression of ion channel mRNAs in skeletal muscles from patients with myotonic muscular dystrophy. *Neuroscience Letters*. 2000; 295(3): 93-96.
16. Kimura T, Takahashi MP, Fujimura H, Sakoda S. Expression and distribution of a small-conductance calcium-activated potassium channel (SK3) protein in skeletal muscles from myotonic muscular dystrophy patients and congenital myotonic mice. *Neuroscience Letters*, 2003; 347(3): 191-195.
17. Köhler M, Hirschberg B, Bond CT, Kinzie JM, Marrion NV, Maylie J, Adelman JP. Small-conductance, calcium-activated potassium channels from mammalian brain. *Science*, 1996; 273: 1709-1714.
18. Kotsias BA, Venosa RA. Sodium influx during action potential in innervated and denervated rat skeletal muscles. *Muscle & Nerve* 2001; 24(8): 1026-1033.
19. Kotsias BA, Venosa RA. Caffeine-induced depolarization in amphibian skeletal muscle fibres: role of Na(+)/Ca(2+) exchange and K(+) release. *Acta Physiol Scand* 2001; 171(4): 459-466.
20. Lesage F. Pharmacology of neuronal background potassium channels. *Neuropharmacology* January 2003; 44(1): 1-7.
21. Maingret F, Fosset M, Lesage F, Lazdunski M, Honoré E. TRAAK is a mammalian neuronal mechano-gated K(+) channel. *J Biol Chem* 1999; 274: 1381-1387.

22. Medhurst AD, Rennie G, Chapman CG, Meadows H, Duckworth MD, Kellsell RE, Gloger II, Pangalos MN. Distribution analysis of human two pore domain potassium channels in tissue of the central nervous system and periphery. *Molecular Brain Research* 2001; 86 (1-2); 101-114.
23. Nandedkar SD, Barkhaus PE, Sanders DB, Stalberg EV. Some observations on fibrillations and positive sharp waves. *Muscle & Nerve* June 2000; 23: 888-894.
24. Neelands TR, Herson PS, Jacobson D, Adelman JP, Maylie J. Small-conductance calcium-activated potassium currents in mouse hyperexcitable denervated skeletal muscle. *J Physiol* 2001; 536: 397-407.
25. Patel AJ, Honoré E, Maingret F, Lesage F, Fink M, Duprat F, Lazdunski M. A mammalian two pore domain mechano-gated S-linked K(+) channel. *The EMBO Journal* 1998; 17: 4283-4290.
26. Patel AJ, Honoré E. Properties and modulation of mammalian 2P domain K(+) channels. *Trends in Neurosciences* 2001; 24(6): 339-346.
27. Pozo MJ, Pérez G, Nelson MT, Mawe GM. Ca(2+) sparks and BK currents in gallbladder myocytes: role in CCK-induced response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G165-G174.
28. Pribnow D, Johnson-Pais T, Bond CT, Keen J, Johnson RA, Janowsky A, Silvia C, Thayer M, Maylie J, Adelman JP. Skeletal muscle and small-conductance calcium-activated potassium channels. *Muscle & Nerve* 1999; 22:742-750.
29. Renaud JF, Desnuelle C, Schmid-Antomarchi H, Serratrice G, Lazdunski M. Expression of apamin receptor in muscles of patients with myotonic muscular dystrophy. *Nature* 1986; 104(1): 253-262.
30. Rios E., Shirokova N, Kirsch WG, Pizarro G, Stern MD, Cheng H, Gonzalez A. A preferred amplitude of calcium sparks in skeletal muscle. *Biophys J* 2001; 80(1): 169-183.
31. Roncarati R, Di Chio M, Sava A, Terstappen GC, Fumagalli G. Presynaptic localization of the small conductance calcium-activated potassium channel SK3 at the neuromuscular junction. *Neuroscience* 2001; 104(1): 253-262.
32. Teshima K, Kim SH, Allen CN. Characterization of an apamin-sensitive potassium current in suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuroscience* 2003; 120(1): 65-73.

