

Miastenia gravis: a propósito de uma caso clínico

Myasthenia Gravis - a clinical case-report

Paula Vaz Marques*

Resumo

A miastenia gravis é uma doença autoimune da junção neuromuscular na qual se verifica a produção de anticorpos dirigidos contra os receptores nicotínicos da acetilcolina, localizados na membrana pós-sináptica. Esse ataque autoimune traduz-se, clinicamente, por fraqueza muscular com predomínio bulbar e fadiga com actividade muscular repetida.

Os autores, a propósito de um caso clínico, discutem a etiopatogenia, manifestações clínicas, diagnóstico e opções terapêuticas na miastenia gravis.

Palavras chave: acetilcolina, autoimune, miastenia gravis.

Abstract

Myasthenia gravis is an autoimmune disease affecting the neuromuscular junction, in which autoantibodies are synthesized against the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors. This autoimmune attack results in predominantly bulbar muscle weakness and fatigability on repetitive use.

The authors present a clinical case and discuss the aetiopathogenesis, clinical manifestations, diagnosis and treatment of myasthenia gravis.

Key words: acetylcholine, autoimmune, myasthenia gravis.

Introdução

A miastenia gravis (MG) é uma doença autoimune, de causa desconhecida, que afecta a junção neuromuscular, na qual se verifica a produção de anticorpos anti-receptor da acetilcolina. Afecta predominantemente mulheres na segunda e terceira décadas e homens na sexta e sétima décadas de vida. Clinicamente manifesta-se por fraqueza muscular e fadiga com o uso repetido, de predomínio nos músculos bulbares e faciais, podendo também afectar os

músculos proximais dos membros, geralmente de modo assimétrico, e o diafragma, resultando em fraqueza respiratória e, eventualmente, necessidade de ventilação assistida. A confirmação da suspeita clínica de MG faz-se realizando o teste com anticolinesterase, a estimulação nervosa repetida, a electromiografia e a pesquisa de anticorpos anti-receptores da acetilcolina que é considerada a prova definitiva. O tratamento assenta no uso de fármacos anti-colinesterásicos, timectomia, nos casos indicados, corticosteróides e, eventualmente, imunossuppressores.

Caso clínico

Um homem caucasiano de 79 anos é internado para estudo de fadiga muscular. Dois meses antes notara aparecimento de dificuldade na deglutição e na mastigação de sólidos, que se agravava ao longo da refeição e ao longo do dia, engasgando-se frequentemente. Três semanas antes do internamento desenvolve ptose palpebral, mais acentuada à esquerda. O doente era hipertenso, tinha tido um acidente vascular cerebral isquémico três anos antes, tinha patologia prostática mal esclarecida, que andava a ser estudada pelo médico assistente e estava medicado com ácido acetilsalicílico (100 mg/dia) e lisinopril (5 mg/dia). Os antecedentes familiares eram irrelevantes, nomeadamente, não existia história de doenças neuromusculares ou autoimunes.

Objectivamente encontrava-se consciente, colaborante e orientado temporo-espaçialmente. Apresentava sinais vitais dentro da normalidade, exceptuando tensão arterial de 150/100 mm Hg, e não tinha alterações ao exame físico do tórax ou abdómen. Observava-se ptose palpebral bilateral, completa à esquerda, com fotorreactividade pupilar bilateral e simétrica, sem anisocoria, diplopia ou xeroftalmia. Estava ligeiramente disártrico e com voz nasalada, características que se acentuavam ao longo do discurso. Não tinha desvios da língua ou da úvula ou xerostomia e não apresentava défices motores nos membros ou alterações na sensibilidade ou nos reflexos tendinosos profundos, exceptuando reflexos bicipital, cubital e rotuliano diminuídos à direita, prováveis sequelas do acidente vascular cerebral.

O hemograma, ionograma e provas de função renal, hepática e tiroideia estavam normais, bem como a telerradiografia de tórax. A tomografia axial computadorizada (TAC) cerebral mostrou moderada atrofia cortico-subcortical generalizada compatível com o grupo etário. A TAC torácica não evidenciou nenhuma imagem com significado patológico, nomeadamente adenomegalias ou massas mediastínicas ou pulmonares. As provas funcionais respiratórias mostraram um padrão restritivo moderado. Foi realizado o teste com 2 mg de edrofónio endovenoso (teste de Tensilon®) que foi positivo, verificando-se melhoria acentuada mas transitória (cerca de 5 minutos) da ptose palpebral. O estudo electromiográfico mostrou disfunção da placa motora de tipo pós-sináptico (diminuição da resposta muscular com a estimulação repetida). Foi feita pesquisa de anticorpos

* *Interna do Internato Complementar de Medicina Interna Serviço de Medicina 1 do Hospital de São João, Porto*
Recebido para publicação a 09.01.2001

solúveis anti-receptor da acetilcolina (R-ACC) que foi positiva (8.99 nmol/l, com negativo <0.4). Verificou-se negatividade para os outros autoanticorpos pesquisados, nomeadamente anti-DsDNA, anti-nucleares, factor reumatóide e anti-tiroideus. Os marcadores tumorais (CA-19.9, CA-125 e ACE) foram negativos, mas o PSA apresentou um valor de 11.83 ng/ml (N<0.4) confirmado em segunda amostra. A ecografia vesico-prostática mostrou próstata com dimensões discretamente aumentadas (cerca de 33 cm³), hipertrofia grau II/IV, aparentemente sem neoformações. A biopsia evidenciou um adenocarcinoma moderadamente diferenciado (5 de Gleason).

Conjugando os dados clínicos e analíticos concluímos pelos diagnósticos de MG, adenocarcinoma da próstata e hipertensão arterial e iniciámos tratamento com prednisolona 20 mg/dia por via oral, piridostigmina oral 60 mg de 8/8 horas e lisinopril 10 mg/dia. Verificou-se melhoria clínica progressiva, tendo sido dada a alta, com envio do doente para as consultas de Medicina Interna e de Urologia.

Discussão

Etiopatogenia

A MG afecta cerca de 40 a 140 indivíduos por milhão de habitantes^{1,2,3}. É mais frequente no sexo feminino (3:2) e tem dois picos de incidência: mulheres na segunda e terceira décadas e homens na sexta e sétima décadas² de vida.

A causa da MG não é conhecida, tal como acontece com as restantes doenças autoimunes. Sabe-se, no entanto, que existe associação aos antigénios HLA B8 e DRw3 e uma grande tendência à ocorrência de outras doenças autoimunes nestes doentes e seus familiares¹.

Pensa-se que o timo possa estar implicado, uma vez que cerca de 75% dos doentes com MG têm anomalias tímicas⁴, sejam elas hipertrofia (85%) ou timoma (15%), e que a timectomia resulta em melhoria dos sintomas na maioria destes doentes⁵. Por outro lado, sabe-se que existem, em timos normais e de doentes com MG, células mióides^{6,7} que expressam R-ACC à sua superfície⁷, estrategicamente rodeadas de células apresentadoras de antigénio e linfócitos T helper⁸, de modo a poderem interagir activamente. O normal equilíbrio entre estas células pode ser quebrado, desencadeando perda de tolerância e aparecimento de uma resposta autoimune. Especula-se que um factor desencadeante possa ser uma infecção bacteriana^{3,9} (*E. coli*, *Klebsiella*³) ou vírica^{10,3}, tendo já sido implicado o vírus *Herpes simplex*, que actuará por um mecanismo envolvendo fenómenos de mimetismo molecular entre alguns dos seus peptídeos e sequências da subunidade alfa do receptor da ACC^{1,3}.

A MG é mediada por anticorpos anti-R-ACC, que actuam, pelo menos, por três mecanismos diferentes: endocitose e degradação acelerada de receptores, bloqueio funcional dos locais de ligação da ACC e lesão dos receptores mediada

pelo complemento^{1,2}. Deste modo, a gravidade da doença não se correlaciona com a concentração sérica de anticorpos, mas depende da capacidade de cada anticorpo actuar segundo um mecanismo de acção^{11,12}.

Cerca de 10 a 20% dos doentes não têm anticorpos detectáveis no soro^{3,11,13,14}. Isto ocorre sobretudo em crianças e indivíduos com doença moderada ou localizada, cujos anticorpos têm baixa afinidade ou são dirigidos contra epítópos não presentes nos extractos solúveis de R-ACC, usados nos ensaios habituais³. Habitualmente estão presentes outros autoanticorpos no mesmo doente, nomeadamente anti-músculo estriado, anti-tireoglobulina e anti-microsomas tiroideus³, corroborando o conceito de defeito na regulação imune, facto que não se verificou neste doente.

O defeito fundamental na MG reside na diminuição do número total de R-ACC disponíveis na junção neuromuscular, por estarem bloqueados por anticorpos anti-R-ACC^{1,2,15}. Da interacção entre a ACC e o seu receptor produzem-se potenciais de acção que, em última análise, produzem contracção da fibra muscular. Na MG há algumas fibras musculares que não se contraem por não serem gerados potenciais de acção, resultando em perda de força do músculo afectado¹. A característica clínica mais importante é a fadiga neuromuscular, caracterizada por diminuição progressiva da força muscular com a contracção repetida, por falência da transmissão neuromuscular de cada vez mais fibras, motivada não só pelo número reduzido de receptores mas também pelo fenómeno normal de *rundown* de ACC¹ (redução progressiva da quantidade total de ACC libertada por impulso).

Morfológicamente, as junções neuromusculares de doentes com MG são diferentes das de indivíduos normais: as fendas tornam-se mais largas e a membrana pós-sináptica perde parte do seu pregueamento característico^{2,16}. Há estudos que demonstram que estas junções neuromusculares têm, em média, cerca de um terço do número total de R-ACC de indivíduos normais¹⁷ e que o grau de redução se correlaciona com a gravidade da doença, embora em doentes com MG limitada aos músculos extra-oculares se verifique redução de receptores também em músculos clinicamente não afectados¹.

Manifestações clínicas

Tipicamente a MG apresenta-se como fraqueza nos músculos esqueléticos e fadigabilidade com o uso repetido. O predomínio de músculos bulbares e faciais é característico no início da doença, ocorrendo frequentemente ptose palpebral, muitas vezes assimétrica, diplopia, voz nasalada, disártria e distónica, dificuldade em deglutir, por vezes regurgitação de líquidos ou sólidos por fraqueza do palato, língua ou faringe, e sorriso inexpressivo. Com a progressão da doença podem ser afectados os músculos dos membros, geralmente proximais e, de modo assimétrico, os extensores

do pescoço (originando queda da cabeça para a frente) e o diafragma, resultando em fraqueza respiratória que pode ser grave ao ponto de ser necessária ventilação assistida. Em cerca de 15 % dos doentes, os sintomas permanecem localizados aos músculos extra-oculares e às pálpebras¹⁸. Esta sintomatologia agrava-se ao longo do dia, após estimulação repetida, antes e durante o período menstrual, em alturas de *stress* ou durante infecções víricas ou bacterianas. Habitualmente os reflexos tendinosos profundos estão preservados, bem como a sensação e a coordenação, e não há alterações autonómicas ou cognitivas³.

A gravidade da doença pode ser classificada funcional e regionalmente usando a escala adaptada de Osseman¹⁹ que apresenta quatro graus: I - doença focal; II - doença generalizada (IIa - ligeira; IIb - moderada); III - doença generalizada grave; IV - em crise (com necessidade de ventilação assistida).

O doente em causa estava no estágio I pois apresentava disfagia, disartria e ptose palpebral, sinais de atingimento dos nervos craneanos.

Diagnóstico

A confirmação da suspeita clínica de MG deverá ser feita realizando o teste de anticolinesterase (edrofónio ou piridostigmina), estimulação nervosa repetida, electromiografia (EMG) e pesquisa de anticorpos anti-R-ACC.

O teste de anticolinesterase é feito, habitualmente, com edrofónio, 2 mg por via endovenosa (EV), pois tem um início de acção mais rápido (30 segundos) e duração de acção de cerca de cinco minutos. É considerado positivo se for objectivada melhoria acentuada do sintoma seleccionado para o teste²⁰. Se não houver resposta podem ser administrados 8 mg adicionais divididos em duas doses. Podem ocorrer falsos positivos e falsos negativos pelo que se deve prosseguir a investigação². Na estimulação nervosa repetida são administrados choques eléctricos a uma taxa de 3 por segundo e registados os potenciais de acção. A resposta é considerada positiva se se verificar redução da amplitude dos potenciais evocados (pelo menos 10 a 15%)²¹. Este teste, juntamente com o teste de anticolinesterase, são os menos sensíveis e específicos¹. A EMG de fibra única evidencia a falência ou atraso de transmissão em fibras musculares enervadas por uma única fibra nervosa²². É positiva em 88 a 92% dos doentes mas a sua especificidade é baixa^{22,23}. O teste considerado definitivo é a pesquisa de anticorpos anti-R-ACC, cuja positividade é específica da MG.

Após a confirmação de MG deve ser procurada a existência de um timoma ou hiperplasia tímica, através da realização de uma tomografia axial computadorizada (TAC) ou ressonância magnética nuclear (RMN) do mediastino, uma vez que cerca de 75% dos doentes com MG têm anomalias tímicas⁴.

Devem também ser pesquisadas alguma situações que

podem coexistir e agravar a MG ou complicar o seu tratamento, nomeadamente hipertiroidismo, presente em 3 a 8% dos doentes^{1,2}, hipotiroidismo, outras doenças autoimunes, tuberculose ou outras infecções não suspeitadas, diabetes *mellitus*, úlcera péptica, hipertensão arterial ou doença renal, cujo curso pode ser afectado pelo tratamento da MG¹.

Diagnóstico diferencial

É necessário excluir situações cujo quadro clínico possa mimetizar a MG. O tratamento com penicilamina pode originar um quadro semelhante, mas mais moderado e com melhoria após a suspensão da droga. Os aminoglicosídeos e a procainamida em altas doses podem exacerbar a fraqueza muscular em doentes com MG ou provocá-la em indivíduos normais².

O botulismo origina uma paralisia simétrica descendente com envolvimento dos nervos cranianos, precedida de contaminação pela neurotoxina produzida pelo *Clostridium botulinum*. Neste doente, a ausência de fonte evidente de contaminação bem como a clínica pouco sugestiva e o início insidioso com evolução de vários meses, juntamente com a positividade dos anticorpos anti-R-ACC, afastavam esta hipótese.

A existência de uma massa intracraniana também deve ser pesquisada e excluída mediante a realização de TAC cerebral, o que foi feito neste caso.

A hipótese de esclerose lateral amiotrófica é também de considerar, atendendo à idade do doente e ao aparecimento gradual de disfagia e disartria. No entanto, a ausência de fasciculações e atrofia da língua, bem como a falta de atingimento do neurónio motor, parecem afastar este diagnóstico.

A sarcoidose pode originar paralisia de quase todos os nervos cranianos, pelo que poderia explicar o quadro. Contudo, a sua incidência é mais alta em adultos jovens e este doente não apresentava outros sintomas ou sinais da doença, nomeadamente atingimento parenquimatoso pulmonar, linfadenopatias, hipercalcemia ou irite. Apesar de não ter sido doseada a enzima de conversão da angiotensina nem realizados outros testes no sentido de excluir este diagnóstico, não parece muito provável que este fosse o caso.

A síndrome miasténica de Eaton-Lambert é uma hipótese a ter em conta neste doente que apresentava também um adenocarcinoma da próstata. Embora esteja mais frequentemente associado ao carcinoma de pequena células do pulmão, pode ocorrer como síndrome paraneoplásica noutros tipos de neoplasias. Caracteristicamente, verifica-se um envolvimento predominante da musculatura proximal dos membros, os reflexos tendinosos estão abolidos ou diminuídos, há frequentemente alterações autonómicas (xerostomia, xeroftalmia, hipotensão ortostática, etc.) e verifica-se um aumento da resposta muscular com a estimulação repetida. O teste com anticolinesterase é

habitualmente negativo e a EMG mostra aumento dos potenciais de acção com a estimulação repetida. O defeito fundamental é pré-sináptico (produção de anticorpos anti-canais de cálcio P/Q no terminal motor). Contrariamente, este doente apresentava manifestações típicas de MG: envolvimento predominantemente bulbar, manutenção de reflexos tendinosos, ausência de alterações autonómicas e diminuição da resposta com a estimulação repetida, positividade do teste com anticolinesterase, diminuição dos potenciais de acção demonstrada electromiograficamente e anticorpos anti-receptores pós-sinápticos da ACC. A coexistência da MG manifestada na faixa etária típica, com o adenocarcinoma da próstata parece, portanto, ser simples coincidência.

Tratamento

O tratamento da MG assenta, fundamentalmente, em quatro pilares: fármacos anti-colinesterásicos, timentomia, terapêutica imunossupressora e imunoterapia.

O uso dos fármacos anti-colinesterásicos baseia-se na sua acção sobre a colinesterase, impedindo a degradação da ACC na fenda neuromuscular. Parece não haver diferenças na eficácia dos diferentes fármacos existentes. O mais utilizado continua a ser a piridostigmina (Mestinom®) por via oral. Tem um início de acção de 15 a 30 minutos e uma duração de acção de cerca de 4 horas, com pico às 2 horas¹². É habitual começar-se com uma dose de 60 mg, três a quatro vezes ao dia, que pode ser aumentada até 120 mg de 3/3 horas e adaptada às necessidades e queixas do doente. Por vezes podem surgir efeitos muscarínicos (diarreia, cólicas abdominais, náuseas) que limitam a dose a utilizar. Na maioria dos doentes a resposta é progressiva mas incompleta e pode diminuir com o tempo¹.

Em casos seleccionados, a timentomia é o procedimento terapêutico de escolha, mesmo que o benefício só se faça sentir ao fim de 1 a 10 anos e o procedimento esteja associado a elevadas taxas de mortalidade em centros especializados. Deve ser realizada em todos os doentes com timoma, para evitar a sua progressão local^{1,2,18}, e em doentes entre a adolescência e os 60 anos de idade, com MG generalizada, mesmo que não exista timoma ou hiperplasia tímica, pois parece alterar o curso da doença²⁴. Nos doentes sem timoma e com idade superior a 60 anos, parece não se justificar a realização de timentomia pela coexistência de situações mórbidas associadas que aumentam a morbidade e mortalidade da cirurgia e do pós-operatório²⁵, pelo longo período até à melhoria clínica evidente, pela possibilidade de a MG piorar no pós-operatório e pela incerteza de persistência da glândula tímica após os 60 anos. Nas crianças com MG sem timoma, a timentomia não é consensual. No entanto, embora não estejam descritos efeitos laterais da timentomia nesta faixa etária²⁶, a opção parece tender para a atitude expectante até à puberdade, pelo conhecido papel do timo no desenvolvimento do sistema imunitário.

A imunossupressão torna-se, na maioria das vezes, necessária e os fármacos mais usados são os corticosteróides, nomeadamente a prednisolona. Os mecanismos de acção propostos são a diminuição da síntese de auto-anticorpos anti-R-ACC, diminuição da reactividade dos linfócitos sanguíneos periféricos aos R-ACC^{27,28}, parecendo, também, existir evidência experimental do aumento da síntese de R-ACC e da transmissão neuro-muscular induzida pelos corticosteróides em culturas de células musculares humanas^{29,30}. Habitualmente começa-se por 15 a 20 mg/dia, dose que é aumentada 5 mg de 2/2 ou 3/3 dias até 50 a 60 mg/dia, de acordo com a necessidade. O uso desta metodologia evita o aparecimento de uma exacerbação da doença que ocorre em cerca de 48% dos doentes que iniciam corticoterapia com dose alta³¹. A melhoria ocorre, normalmente, ao fim de duas a quatro semanas com um benefício máximo atingido ao cabo de 6 a 12 meses. Ao fim de três meses com terapêutica em dose máxima inicia-se um regime de dias alternados seguido de redução lenta (meses a anos) da dose total, de acordo com a tolerância do doente, até ao mínimo possível.

Como alternativa, em doentes que não toleram corticosteróides ou para reduzir a sua dose necessária, pode usar-se a azatioprina, numa dose inicial de 50 mg por dia durante uma semana, até 2 a 3 mg/kg/dia. Habitualmente, são necessários vários meses a 1 ano para que o seu efeito se faça sentir¹. A ciclosporina actua mais rapidamente do que a azatioprina e tem uma eficácia semelhante, embora com mais efeitos laterais. A dose habitual é de 5 mg/kg/dia, dividida em duas tomas diárias. Após atingimento do efeito desejado a dose é reduzida ao mínimo necessário. A ciclofosfamida, pelo elevado risco de efeitos laterais, está reservada aos doentes refractários às outras drogas.

A plasmaférese ou a imunoglobulina endovenosa são alternativas terapêuticas nos doentes em crise miasténica grave ou na preparação para a timentomia. A plasmaférese realiza-se em cinco sessões de 3 a 4 litros cada, durante duas semanas. A melhoria ocorre poucos dias após o início do tratamento. A imunoglobulina endovenosa é mais facilmente administrada e usa-se numa dose de 400 mg/kg/dia durante cinco dias. A melhoria é visível ao fim de 4 a 5 dias nos 73% de doentes que respondem³² e o efeito é, geralmente, temporário.

No doente em questão não foi identificado timoma e a idade era superior a 60 anos, pelo que a timentomia estava excluída. Iniciou tratamento com prednisolona 20 mg/dia e piridostigmina 60 mg de 8/8 horas. O efeito começou a sentir-se ao fim de poucos dias e não se verificaram efeitos laterais. A dose de piridostigmina foi aumentada progressivamente, encontrando-se neste momento com uma dose de 60 mg de 4/4 horas, antes das refeições para minimizar a disfagia, e omitindo a toma da noite. A neoplasia da próstata foi considerada sem indicação cirúrgica, encontrando-se o doente a fazer terapêutica com antiandrogéneos.

Bibliografía

1. Drachman DB. Myasthenia gravis. *N Engl J Med* 1994;330:1797-1810.
2. Drachman DB. Myasthenia gravis and other diseases of neuromuscular junction. Fauci AS et al, *Harrison's principles of Internal Medicine*, New York, McGraw-Hill, 1998, 2469-2472.
3. Dalakas MC. Disorders of neuromuscular transmission. Dale DC, Federman DD. *Scientific American Medicine*. New York, Scientific American Medicine Inc., 1999.
4. Castleman B. The pathology of the thymus gland in myasthenia gravis: *Ann N Y Acad Sci* 1966;135:496-505.
5. Buckingham JM, Howard FM Jr, Bernatz PE, et al. The value of thymectomy in myasthenia gravis: a computer-assisted matched study. *Ann Surg* 1976;184:453-458.
6. Wekerle H, Paterson B, Ketelsen U-P, Feldman M. Striated muscle fibers differentiate in monolayer cultures of adult thymus reticulum. *Nature* 1975;256:493-494.
7. Kao I, Drachman DB. Thymic muscle cells bear acetylcholine receptors: possible relation to myasthenia gravis. *Science* 1977;195:74-75.
8. Kirchner T, Hoppe F, Schalke B, Muller-Hermelink HK. Microenvironment of thymic myoid cells in myasthenia gravis. *Virchows Arch [B] Cell Pathol* 1988;54:295-302.
9. Stefansson K, Dieperink ME, Richman DP, Gomez CM, Marton LS. Shering of antigenic determinants between the nicotinic acetylcholine receptor and proteins in *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* and *Klebsiella pneumoniae*: Possible role in the pathogenesis of myasthenia gravis. *N Engl J Med* 1985;312:221-225.
10. Aoki T, Drachman DB, Asher DM, Gibbs CJ Jr, Bahmanyar S, Wolinsky JS. Attempts to implicate viruses in myasthenia gravis. *Neurology* 1985;35:185-192.
11. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis: prevalence, clinical correlates and diagnostic value. *Neurology* 1976;26:1054-1059.
12. Drachman DB, Adams RN, Josifek LF, Self SG. Functional activities of autoantibodies to acetylcholine receptors and the clinical severity of myasthenia gravis. *N Engl J Med* 1982;307:769-775.
13. Vincent A, Newsom-Davis J. Acetylcholine receptor antibody as a diagnostic test for myasthenia gravis: results in 153 validated cases and 2967 diagnostic assays. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1985;48:1246-1252.
14. Howard FM Jr, Lennon VA, Finley J, Matsumoto J, Elveback LR. Clinical correlations of antibodies that bind, block, or modulate human acetylcholine receptors in myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 1987;505:526-538.
15. Fambrough DM, Drachman DB, Satyamurti S. Neuromuscular junction in myasthenia gravis: decreased acetylcholine receptors. *Science* 1973;182:293-295.
16. Engel AG, Tsugihata M, Lindstrom JM, Lennon VA. The motor end plate in myasthenia gravis and in experimental autoimmune myasthenia gravis: a quantitative ultrastructural study. *Ann N Y Acad Sci* 1976;274:60-79.
17. Pestronk A, Drachman DB, Self SG. Measurement of junctional acetylcholine receptors in myasthenia gravis: clinical correlates. *Muscle Nerve* 1985; 8:245-251.
18. Grob D, Arsura EL, Brunner NG, Namba T. The course of myasthenia gravis and therapies affecting outcome. *Ann N Y Acad Sci* 1987;505:472-499.
19. Osserman KE. *Myasthenia gravis*. New York: Grune & Stratton, 1958:80.
20. Willis T. *De anima brutorum*. Oxford, England: Theatro Sheldoniano 1672:404-406.
21. Keeseey JC. Electrodiagnostic approach to defects of neuromuscular transmission. *Muscle Nerve* 1989;12:613-626.
22. Stalberg E, Trontelj J. *Single fiber electromyography*. Old Working, England: Mirvalle Press, 1979.
23. Oh SJ, Kim DE, Kuruoglu R, Bradley RJ, Dwyer D. Diagnostic sensitivity of the laboratory tests in myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 1992;15:720-724.
24. Scully RE, Mark EJ, McNeely WF, Ebeling SH, Phillips LD, Ellender SM. *Case Records of the Massachusetts General Hospital*. *N Engl J Med* 2000;342:1508-1514
25. Lanska DJ. Indications for thymectomy in myasthenia gravis. *Neurology* 1990;40:1828-1829.
26. Seybold ME, Howard FM Jr, Duane DD, Payne WS, Harrison EG Jr. Thymectomy in juvenile myasthenia gravis. *Arch Neurol* 1971;25:385-392.
27. Tindall RS. Humoral immunity in myasthenia gravis: effects of steroids and thymectomy. *Neurology* 1980;30:554-557.
28. Abramsky O, Aharonov A, Teitelbaum D, Fuchs S. Myasthenia gravis and acetylcholine receptor: effect of steroids in clinical course and cellular immune response to acetylcholine receptor. *Arch Neurol* 1975;32:684-687.
29. Kaplan I, Blakely BT, Pavlath GK, Travis M, Blau HM. Steroids induce acetylcholine receptors on cultured human muscle: implications for myasthenia gravis. *Proc Natl Acad sci U S A* 1990;87:8100-8104.
30. Van Wilgenburg H. The effect of prednisolone on neuromuscular transmission in the rat diaphragm. *Eur J Pharmacol* 1979;55:355-361.
31. Johns TR. Long-term corticosteroid treatment of myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 1987;505:568-583.
32. Arsura E. Experience with intravenous immunoglobulin in myasthenia gravis. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;53: S170-S179.