

Validita kožní biopsie u bolestivé senzitivní polyneuropatie při využití intraepidermální a subepidermální denzity kožních nervových vláken

J.Bednařík¹, E.Moravcová¹, L.Dušek²,
C.Sommer³

¹ II.neurologická klinika LFMU v Brně

² Centrum biostatistiky a analýz LF MU

³ Neurologická klinika Würzburg

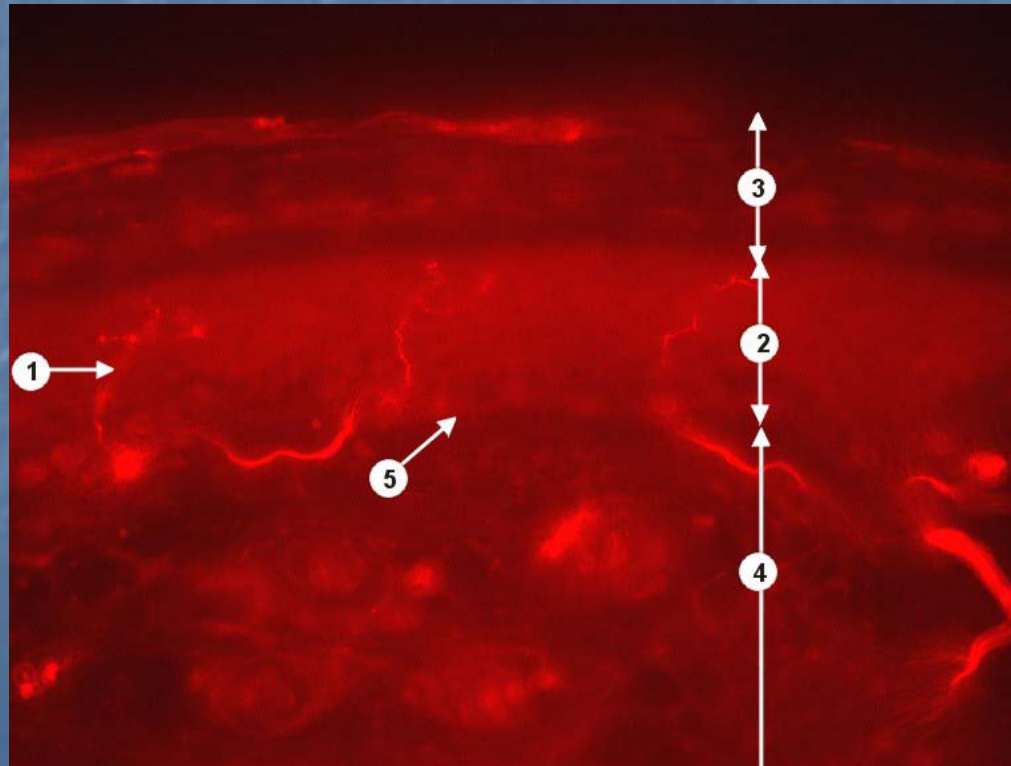


Východiska

- Kožní biopsie se stala standardní diagnostickou metodou u bolestivé senzitivní polyneuropatie
- Nejčastěji používaným parametrem je stanovení intraepidermální denzity nervových vláken (IENFD)
- Denzita subepidermálního plexu (SENFD) nebyla dosud systematicky studována

Cíl práce

- Určit validitu kožní biopsie u bolestivé senzitivní polyneuropatie za použití IENFD a SENFD



Diagnostická kritéria NTV

Lacomis 2002:

- Neuropatie tenkých vláken je senzitivní neuropatie manifestující se pozitivními senzitivními symptomy, typicky bolestí, spolu s abnormálními nálezy funkce tenkých vláken pomocí některý z následujících metod:
 - Neurologické vyšetření
 - Specializované elektrodiagnostické metody
 - Kožní biopsie
- Dg. Možná (jeden pozitivní nález)
- Dg. Pravděpodobná (dva nálezy)
- Dg. Jistá (tři nálezy)

Soubor

- 99 pacientů se senzitivní bolestivou polyneuropatií a abnormálním termickým prahem (zjištěným kvantitativní metodou stanovení termického prahu –TTT)
 - Podskupina s izolovanou neuropatií tenkých nervových vláken (pSFN) - normální kondukční studie
 - Podskupina se smíšenou polyneuropatií (MFN) – abnormální kondukční studie
- 37 zdravých dobrovolníků

Metodika

- Kožní biopsie průbojníkem (ø 4 mm) z distální části bérce

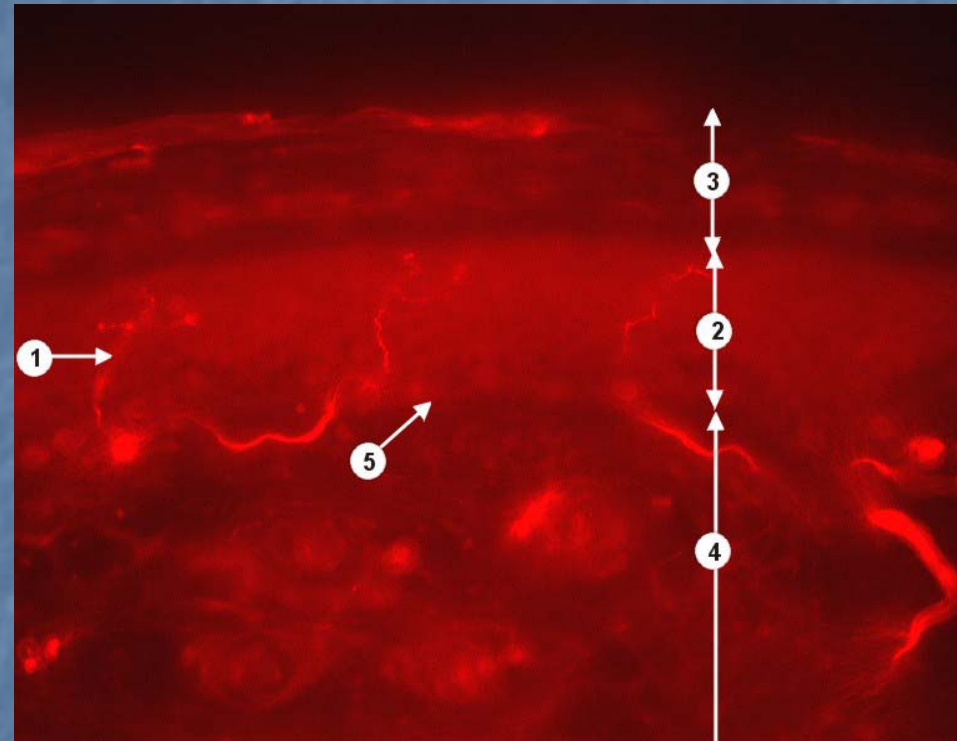


Metodika

- Fixace ve 4% paraformaldehydu ve fosfátovém pufru
- Zmražení na -20°C , nařezání v kryostatu na $40\ \mu\text{m}$ silné řezy

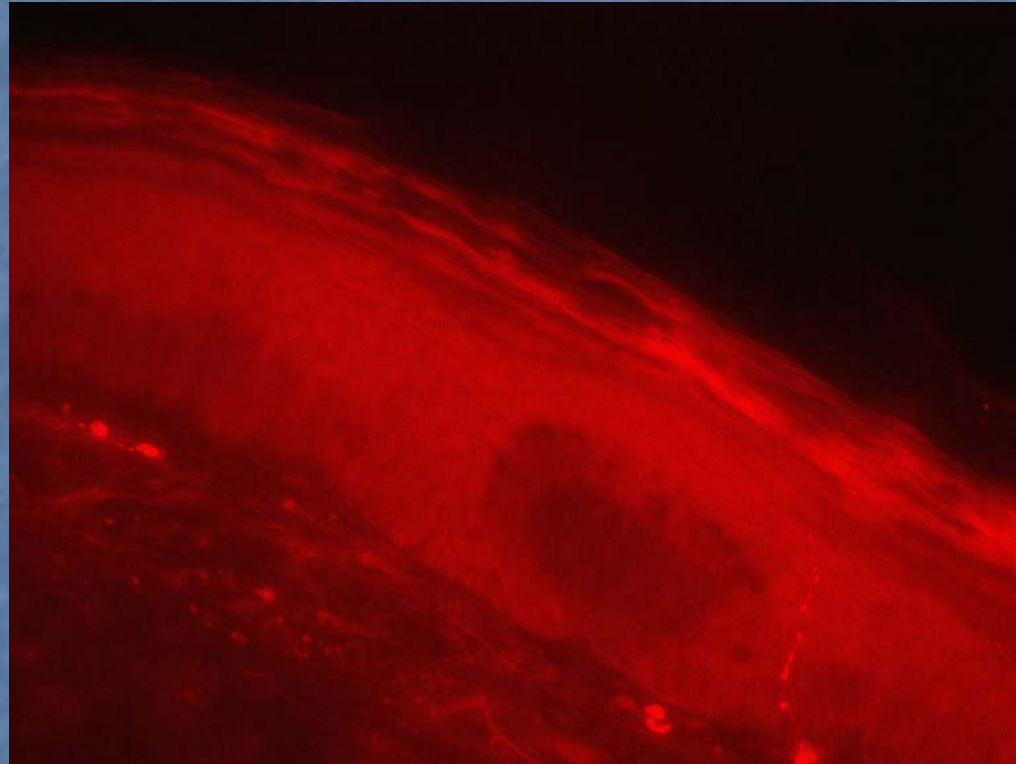
Metodika

- Primární polyklonální králičí protilátka proti panneuronálnímu markeru PGP 9.5
- Sekundární, fluorescenčně značené protilátky (myší proti králičím imunoglobulinům značené rhodaminem, později kozí značené cyaninem)



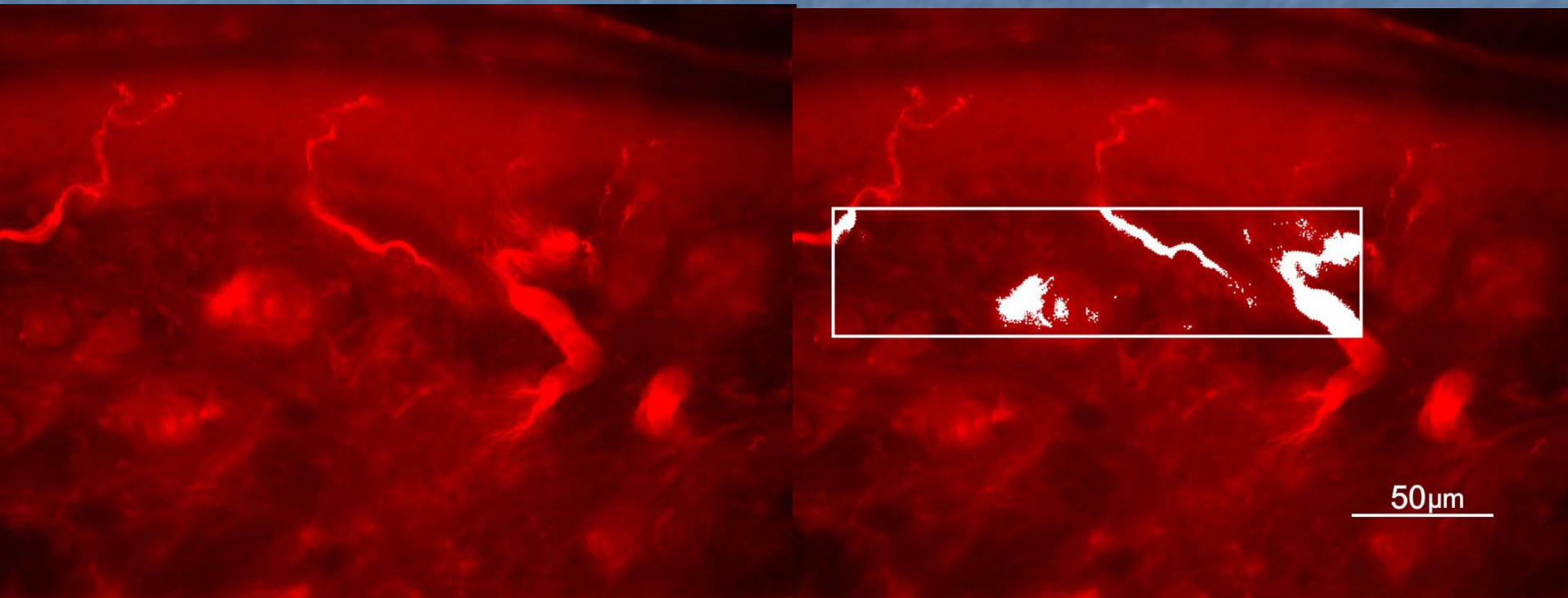
Metodika

- Epifluorescenční mikroskop firmy Leica s užitím filtru N21 při 40-násobném zvětšení, později Zeiss Axiophot 2
- S pomocí Image Pro Plus 4.0 software byl kalkulován počet intraepidermálních vláken na 1 mm epidermis



Metodika

- SENFD byla měřena v poli 200 x 50 μm v sousedství dermo-epidermální junkce a vyjádřen jako procento procento imunoreaktivních struktur



Metodika

Statistika

- Použita ROC analýza se stanovením senzitivity a specificity při různých cut-off hodnotách. U každé křivky byla stanovena senzitivita a specificita pro cut-off s maximální validitou (Area Under Curve – AOC), maximální senzitivitou a přijatelnou specificitou a vice versa

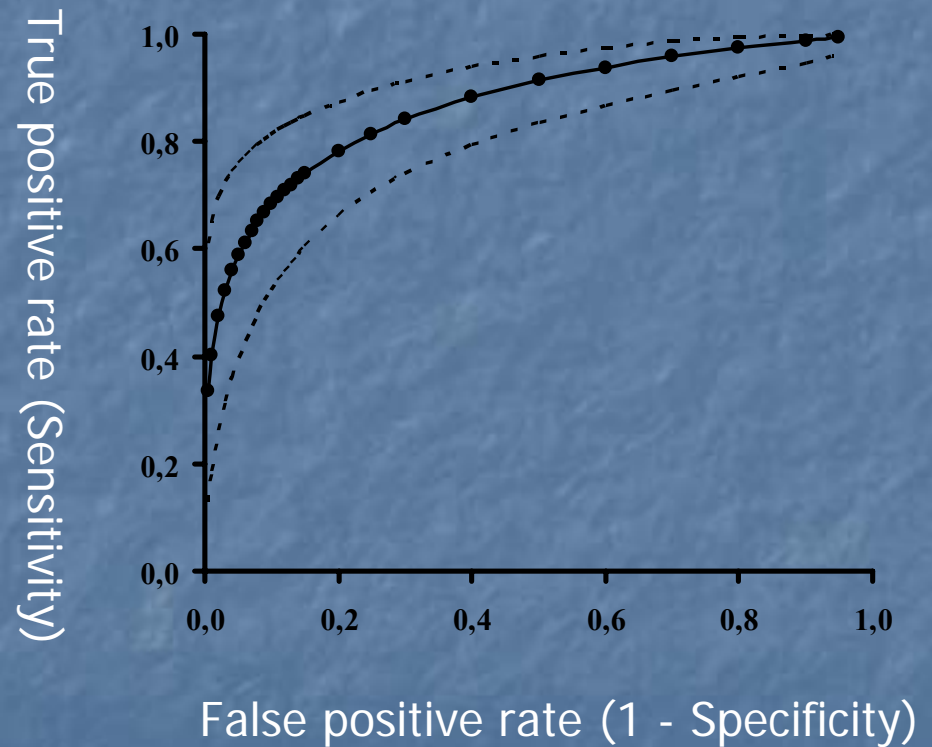
Výsledky

Skupiny	N	Průměr (standard error)		Median (min/max hodnoty)		Statistická významnost)
IENFD (vlákna/mm)						
Kontrolní skupina	37	11,25	(0,50)	10,73	(3,18/17,37)	p <0,001
Neuropatická skupina	99	5,50	(0,39)	4,79	(0,00/14,84)	
SFN	58	5,87	(0,46)	5,23	(0,08; 14,84)	p = 0,263
MFN	41	4,99	(0,66)	4,52	(0,00; 14,66)	

Výsledky

IENFD: ROC analýza zaměřená na diskriminaci mezi neuropatickou a kontrolní skupinou

<i>Cut-off</i>	Sensitivita	Specifita
$\leq 9,12 \text{ mm}^{-1}$	0,824	0,733
$\leq 8,80 \text{ mm}^{-1}$	0,797	0,821
$\leq 7,80 \text{ mm}^{-1}$	0,686	0,923



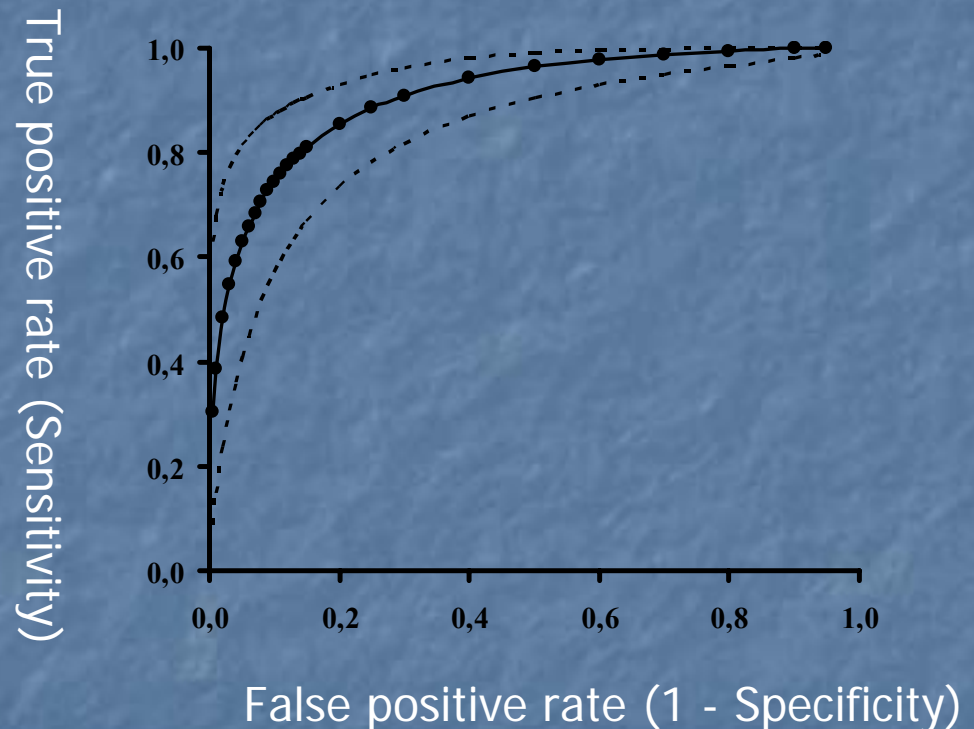
Výsledky

Skupiny	N	Průměr (standard error)	Median (min/max hodnoty)	Statistická významnost
SENF D (%)				
Kontrolní skupina	37	9,34 (0,41)	9,36 (3,37/14,65)	p <0,001
Neuropatická skupina	99	4,45 (0,27)	4,19 (0,21/14,00)	
SFN	58	5,72 (0,31)	5,26 (1,19/13,99)	p <0,001
MFN	41	2,66 (0,31)	2,01 (0,22/ 7,44)	

Výsledky

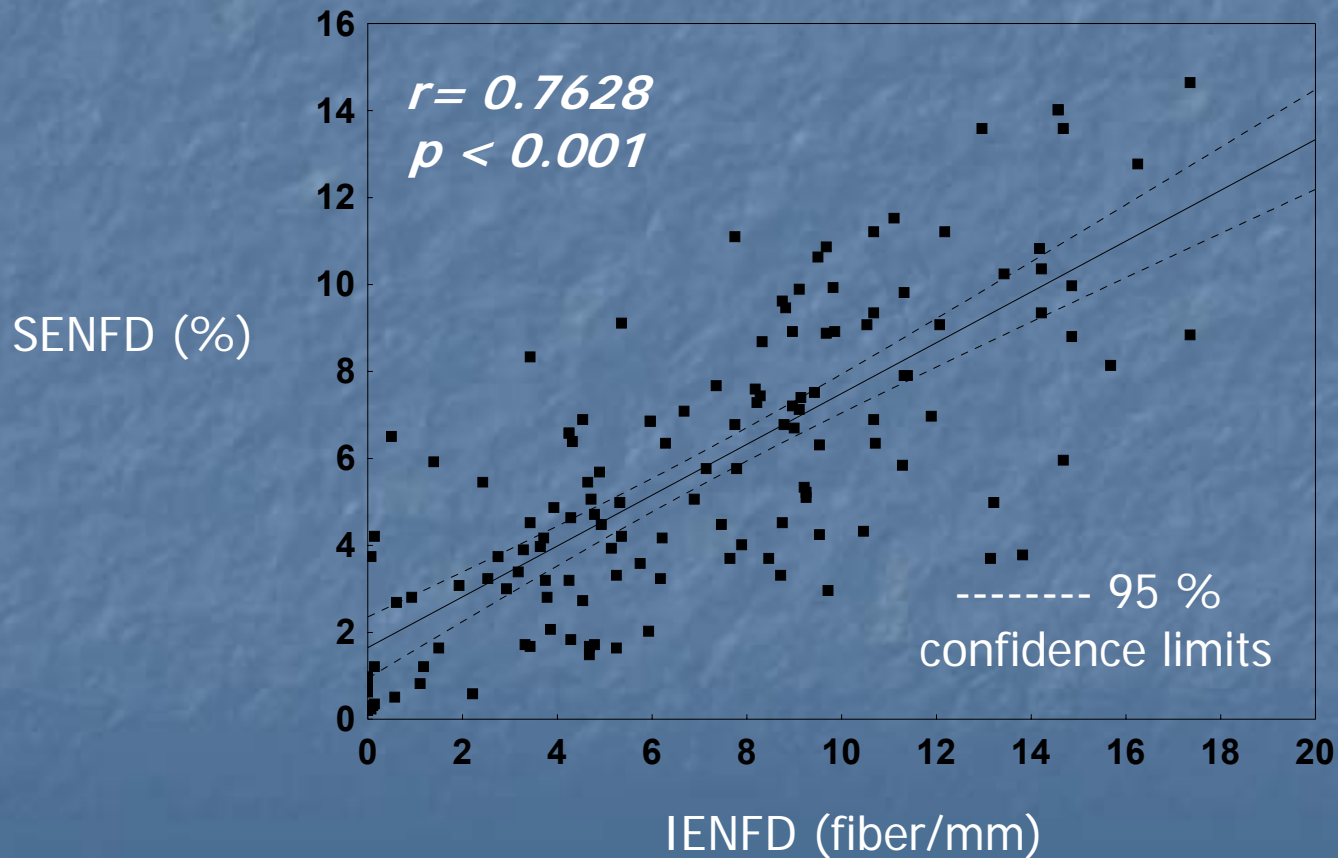
SENF: ROC analýza zaměřená na diskriminaci mezi neuropatickou a kontrolní skupinou

<i>Cut-off</i>	Sensitivita	Specifita
$\leq 8,83 \%$	0,955	0,649
$\leq 7,25 \%$	0,811	0,882
$\leq 6,33 \%$	0,789	0,945



Výsledky

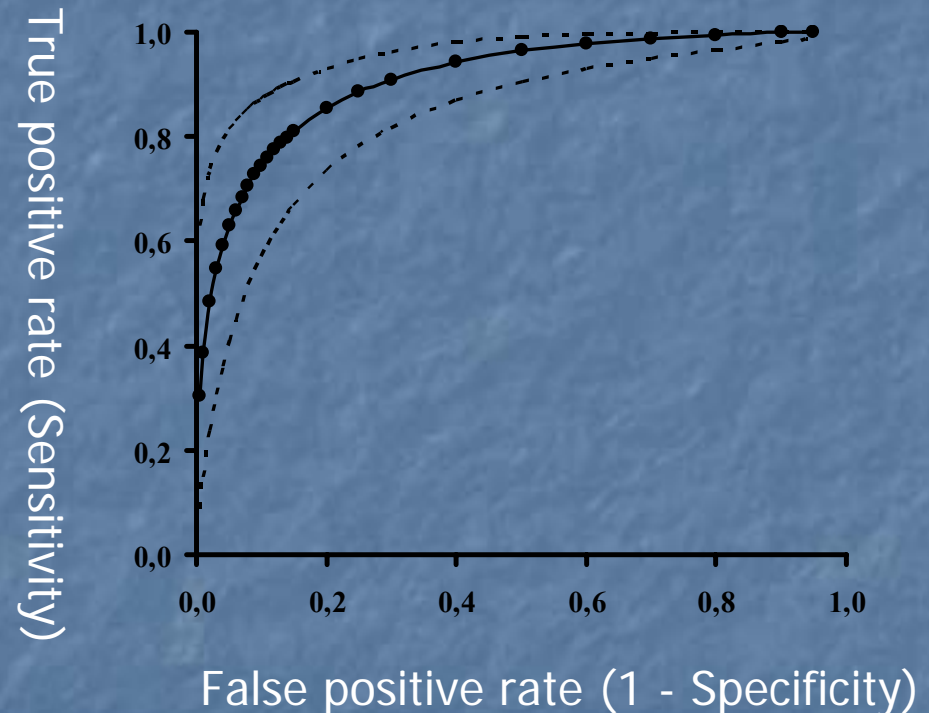
Korelace mezi IENFD a SENFD



Výsledky

SENF: ROC analýza zaměřená na diskriminaci mezi dvěma podskupinami s neuropatií

<i>Cut-off</i>	Sensitivita	Specifita
$\leq 4,23 \%$	0,837	0,687
$\leq 3,76 \%$	0,761	0,811
$\leq 3,22 \%$	0,654	0,909



Závěry

- Kožní biopsie při použití parametru IENFD má vysokou validitu v detekci neuropatie tenkých vláken
- Stanovení SENFD může dále diferencovat izolované postižení tenkých vláken od smíšené neuropatie