Kožní biopsie v diagnostice senzitivní neuropatie tenkých vláken

Josef Bednařík, Eva Vlčkova-Moravcová
(*Neurologická klinika, MU a FN Brno)*
Claudia Sommer
(Neurologická klinika Wurzburg)

Cíl sdělení

- Přehled současného významu kožní biopsie v diagnostice senzitivní neuropatie tenkých vláken

Anatomie

- Silná („large“) vlákna: myelinizovaná o průměru <7 μm: max. do 15 %
- Tenká („small“) vlákna: nemyelinizovaná a myelinizovaná o průměru <7 μm
  - Typ Aδ (kolem 20 m/s): chlad, bolest
  - Typ C (<2 m/s): teplo, bolest
  - Autonomní vlákna jsou myelinizovaná (1,5-4 μm) nebo nemyelinizovaná (postganglionární)

Východiska

- Neuropatická bolest u bolestivých polyneuropatií je pravděpodobně podmíněna postižením senzitivních tenkých vláken
- Senzitivní neuropatie tenkých vláken (Sensory Small Fiber Neuropathy - SSFN) je poddiagnostikovaná pro obtíže s její diagnostikou
- Během poslední dekády byly zavedeny nové vyšetřovací metody které vedly ke zlepšení v diagnostice (jednou z nich je kožní biopsie)

Definice

Lacomis 2002 (M&N):

Podle navržené definice, určené především pro vědecké účely, je senzitivní neuropatie tenkých vláken (SSFN) typicky **bolestivou neuropatií** a diagnóza by měla být založena na třech diagnostických okruzích:

- neurologickém vyšetření (porucha termické a algické percepce)
- specializovaných elektrodiagnostických testech (t-QST)
- histopatologických nálezech (kožní biopsie)

Navrženy tři úrovně jistoty diagnózy SSFN:

- Možná („Possible“) – jedna pozitivní komponenta
- Pravděpodobná („Probable“) – dvě komponenty
- Jistá („Definite“) – tři komponenty

Definice

Lacomis 2002 (M&N):

Výraznější známky postižení **silných** senzitivních i motorických vláken jsou podle této definice **vylučující**: snížená propriocepce na palci, porucha vibrace na kotníku a proximálněji, jakákoli svalová slabost či jasná atrofie, generalizovaná areflexie, abnormální nález v kondukčních studiích či jehlové EMG.

Klinická symptomatika

- Pozitivní senzitivní symptomy: bolest (vyvolaná i evokovaná), parestézie, dyzestézie

ALE: periferní neuropatická bolest ≠ SSFN (bolest se vyskytuje i při současném postižení silných vláken, ne každé postižení tenkých vláken vede k bolesti)

Klinická symptomatika

- Objektivně přítomny poruchy termické a algické percepce

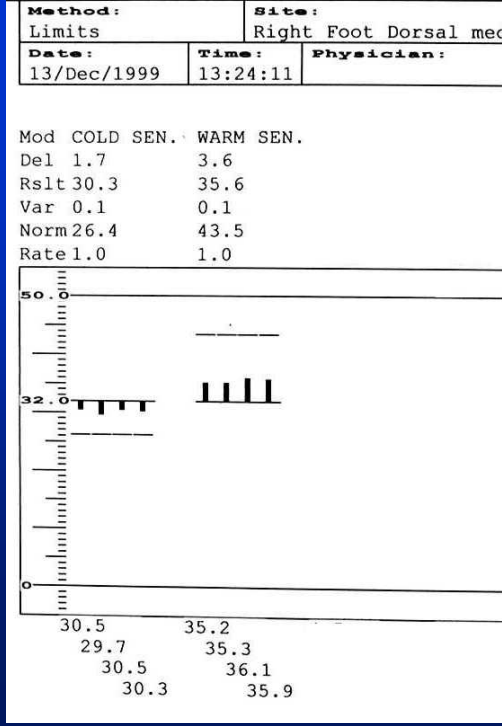
ALE: určitá část nemocných s neuropatickou bolestí nemá klinicky detekovatelné poruchy těchto senzitivních modalit; objektivní testování není příliš standardizované, lze je obtížně kvantifikovat

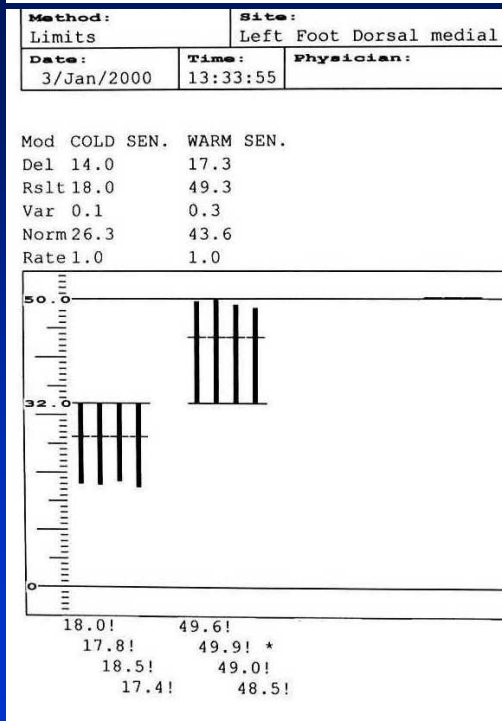
Elektrodiagnostika

- EP: vyvolané laserem („radiant-heat“ evokované potenciály-LEPs) nebo stimulací kontaktním teplem (CHEPS)

Elektrodiagnostika

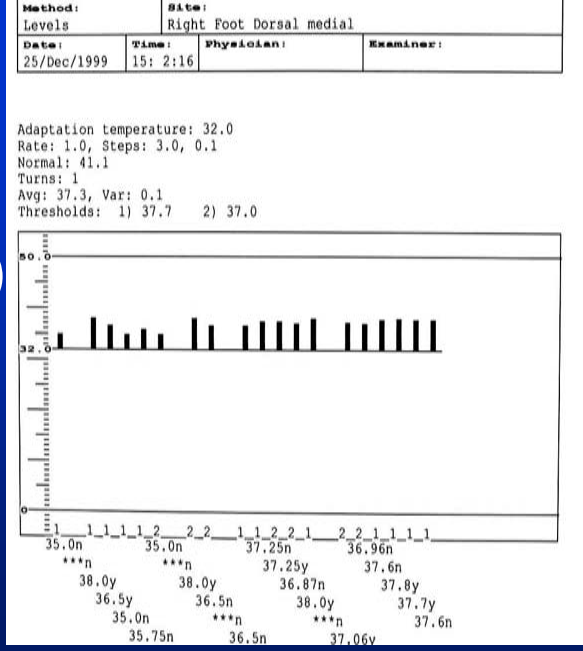
- Termický kvantitativní senzitivní test (t-QST): Sensitivita 60-85 %
  - Různé algoritmy
    - Metody reakčního času
    - Metody konstantního stimulu
  - Jde o psychofyzikální metodu se subjektivní komponentou

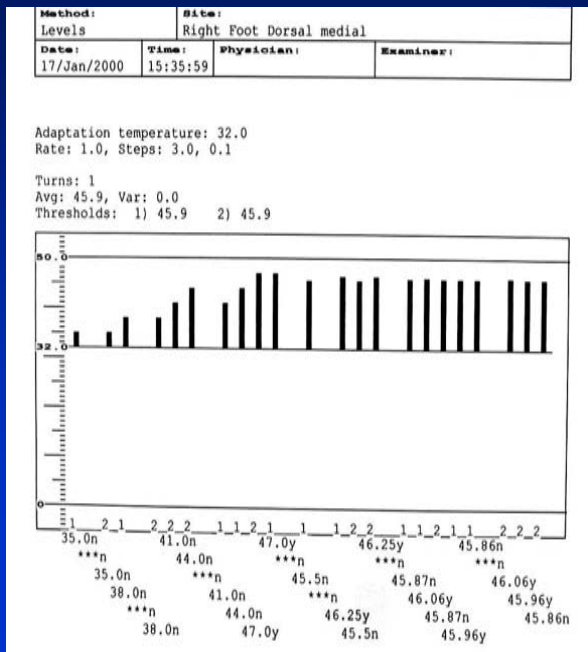




Elektrodiagnostika

- Termický kvantitativní senzitivní test (t-QST) Sensitivita 60-85 %
  - Různé algoritmy
    - Metody reakčního času
    - Metody konstantního stimulu
  - Jde o psychofyzikální metodu se subjektivní komponentou





Kožní biopsie

- V poslední dekádě byla zavedena kožní biopsie jako metoda detekce postižení **tenkých nervových vláken** v **epidermis** a **dermis**.
- Zejména byla používána ke kvantitativnímu či kvalitativnímu vyšetření somatických nemyelinizovaných **intraepidermálních nervových vláken (IENF).**
- Rostoucí počet laboratoří v Evropě a Severní Americe začal používat tuto metodu k diagnostice pacientů s neuropatií. Nevýhodnou je, že byly použity různé techniky zpracování a hodnocení kožních vzorků.

Kožní biopsie

- V r. 2005 The EFNS Task Force revidovala používané techniky a algoritmy a publikovala doporučení použití kožní biopsie v diagnostice periferní neuropatie (Eur J Neurol 2005).

- Hlavním závěrem bylo, že kožní biopsie je bezpečnou a spolehlivou metodou s velmi vysokou diagnostickou validitou a prediktivní hodnotou (doporučení úrovně A)

Kožní biopsie

Metody odběru kožní biopsie:

- Punkční biopsie (obvykle ø3 mm)

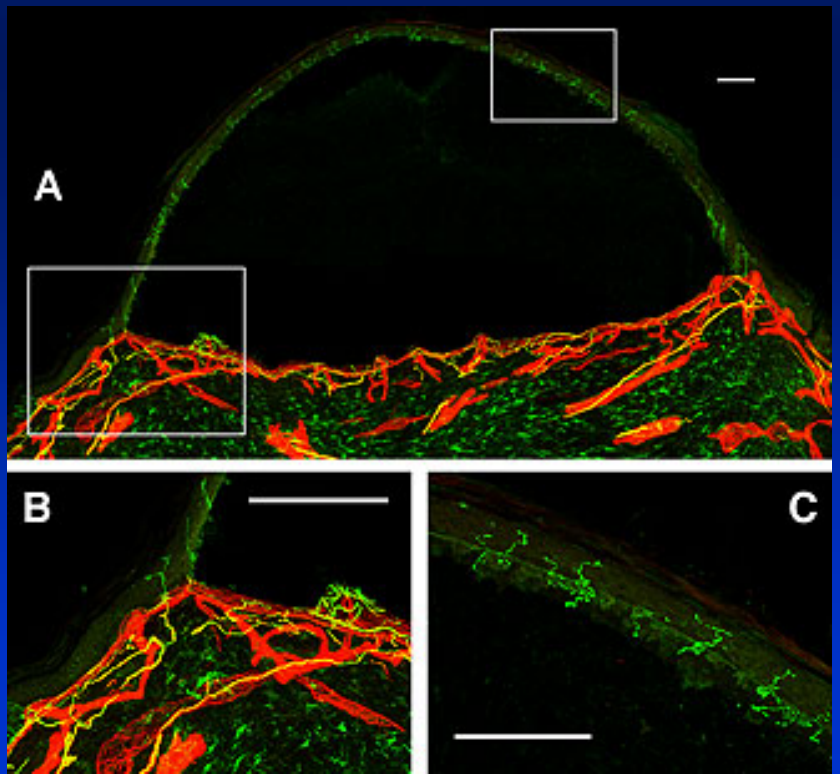
Poprvé vyvinuta v r. 1990 (Wang, Karolinska Institute), a později standardizována na Universitě v Minnesotě (Kennedy and Weldelschafer-Crabb, 1993) a na Johns Hopkins University (McCarthy et al., 1995).

Kožní biopsie

Metody odběru kožní biopsie:

- Metoda puchýře

Méně invazivní, ale chybí informace o inervaci dermis a potních žláz (University of Minnesota, Kennedy and Wendelschafer-Crabb, 1996).



Kožní biopsie

Výběr místa odběru biopsie:

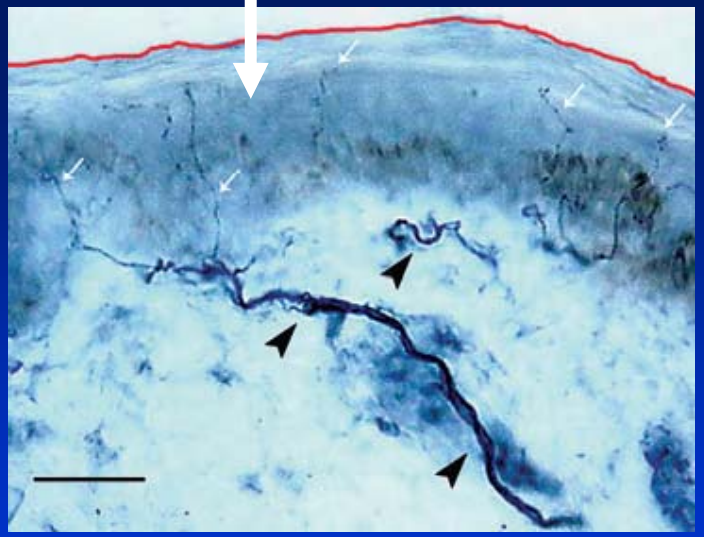
Obvykle distální část bérce (10 cm nad zevním kotníkem);

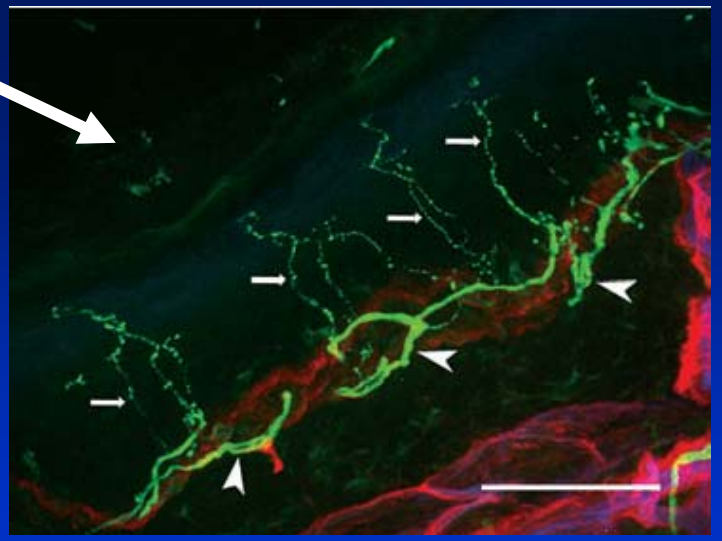
Pro posouzení postižení závislém na délce axonů („length-dependent“) se používá současný odběr z lýtka a laterální části stehna (20 cm kaudální od spina iliaca ant. sup.)

Kožní biopsie

K zobrazení intraepidermálních a dermálních nervových vláken byly použity dvě imunohistochemické metody s pomocí protilátek proti panneuronálnímu markeru PGP 9.5:

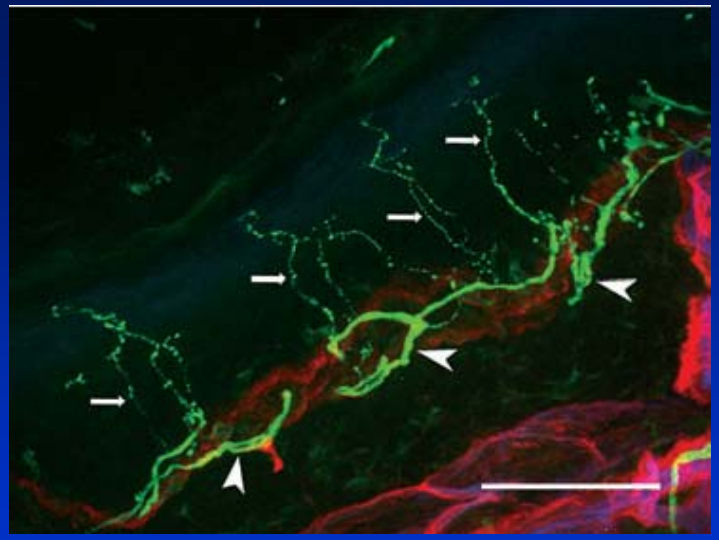
- imunohistochemie s použitím světelného mikroskopu
- nepřímá imunofluorescence s použitím sekundární protilátky s navázaným fluorescenčním barvivem a fluorescenčního mikroskopu (doporučení úrovně A).

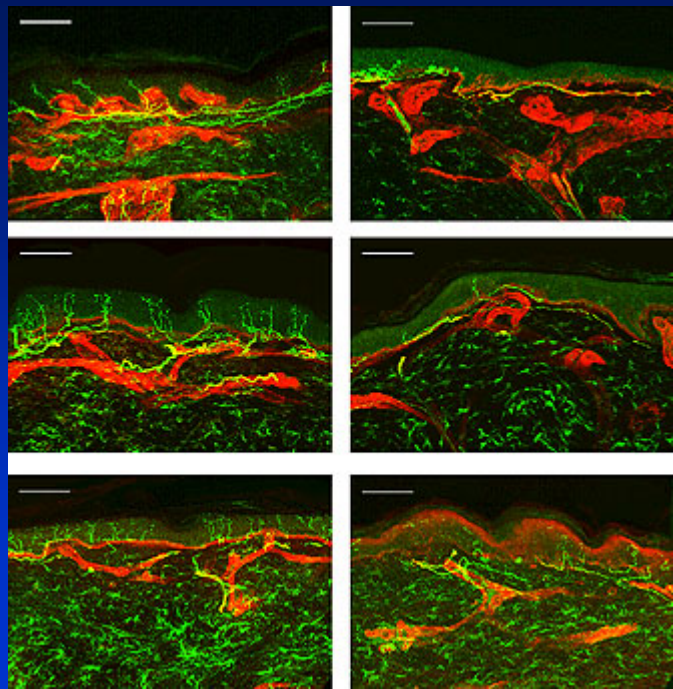




Kožní biopsie

Kromě klasického světelného či fluorescenčního mikroskopu je některými laboratořemi upřednostňováno použití konfokálního mikroskopu, který ve spolupráci s příslušným softwarem umožní automatické vyhodnocení v jednotlivých vrstvách a případně jejich 3D rekonstrukci

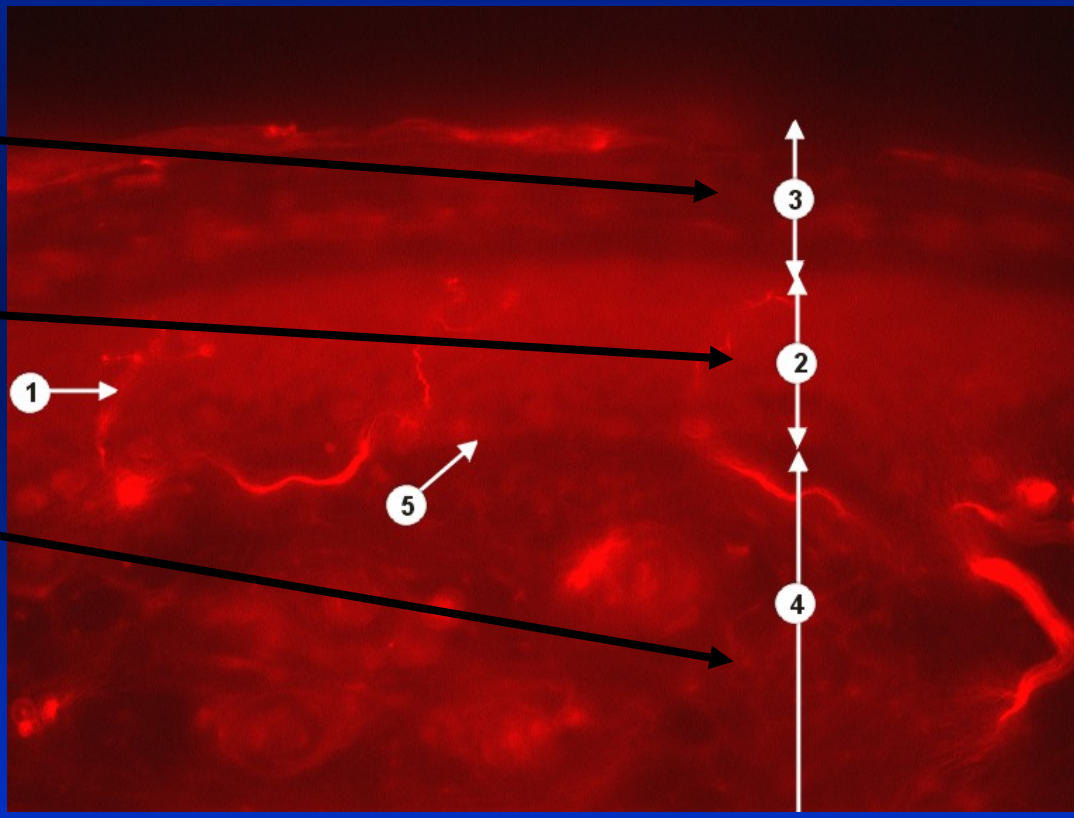




Kožní biopsie

Nepřímá imunofluorescence:

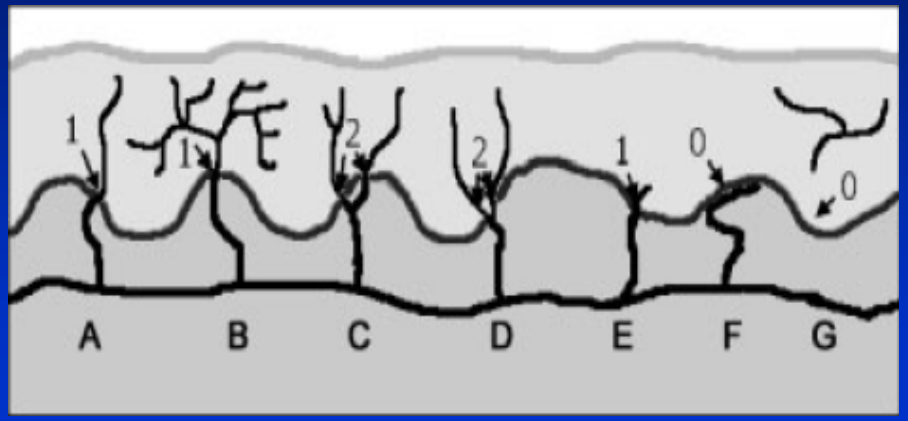
- Stratum corneum
- Epidermis
- Dermis



Kožní biopsie

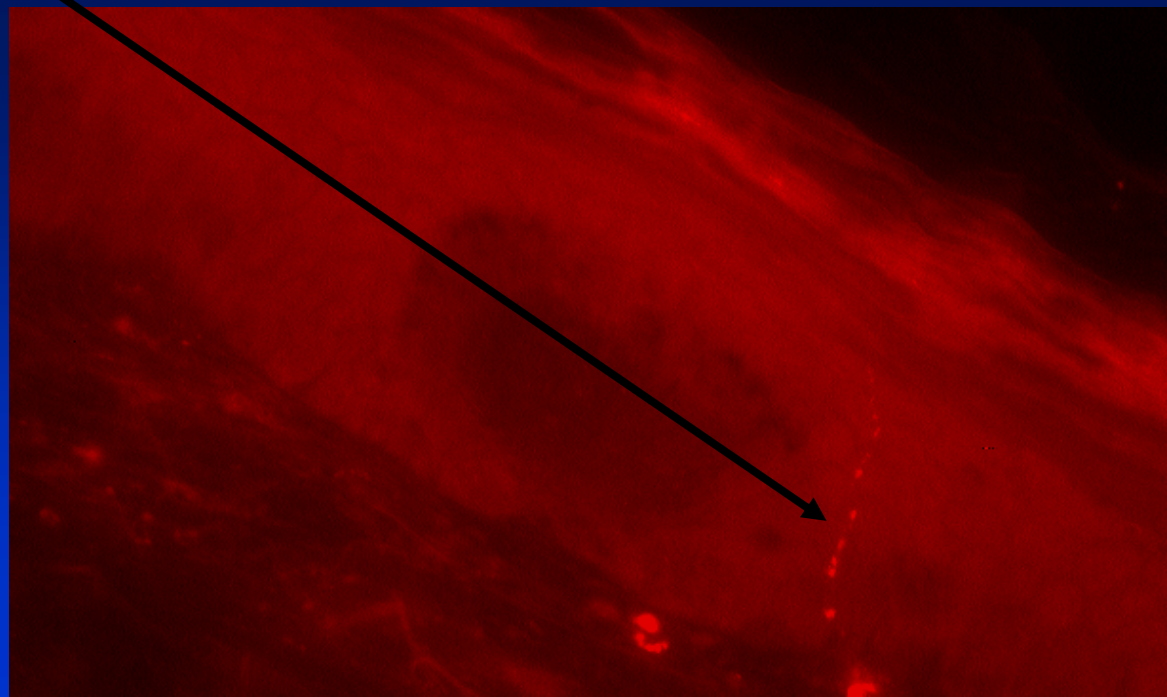
- Nejčastěji užívaným kvantitativním parametrem je hustota intraepidermálních nervových vláken (IENFD) udávaná na 1 mm délky epidermis

- Hodnocení IENFD se děje buďto manuálně při velkém zvětšení a za použití přesně stanovených pravidel nebo automaticky za pomocí software.



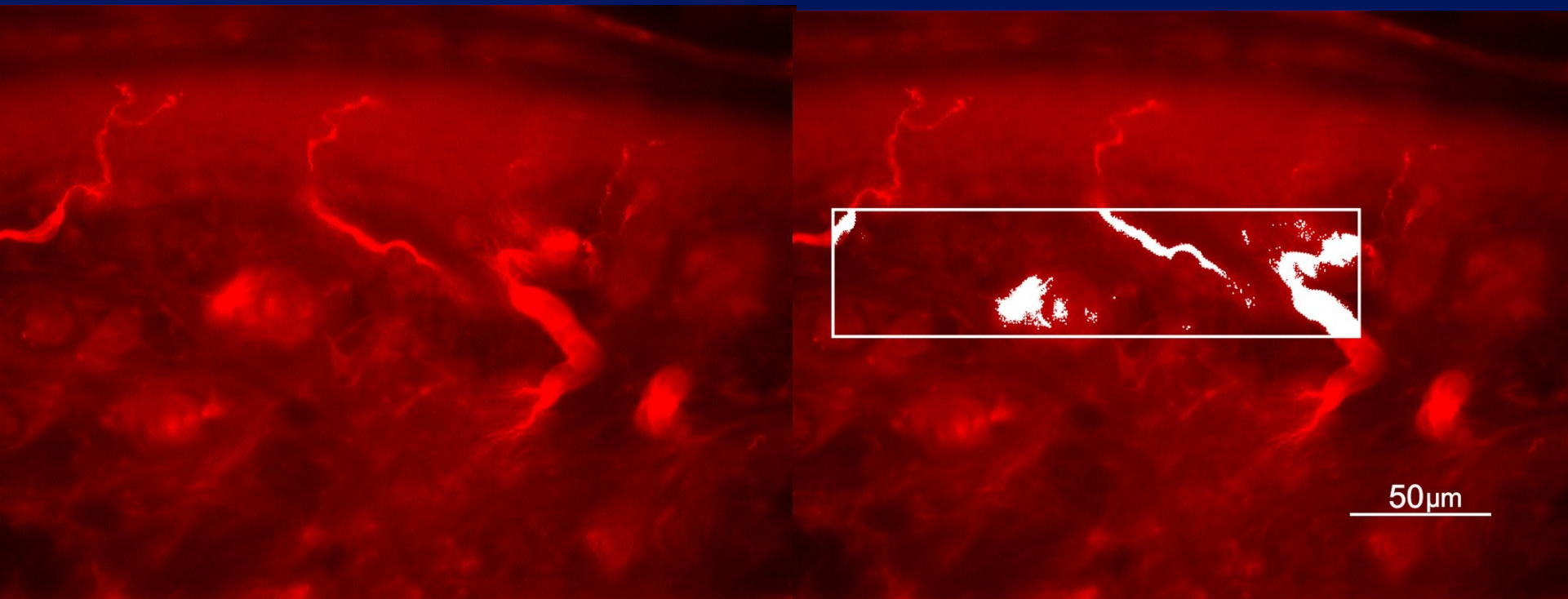
Kožní biopsie

- Kvalitativně jsou hodnoceny pre-degenerativní (otok, fragmentace, větvení) nebo re-inervační změny (excesivní proximální větvení) intraepidermální inervace nebo subepidermálního plexu



Vlastní výsledky

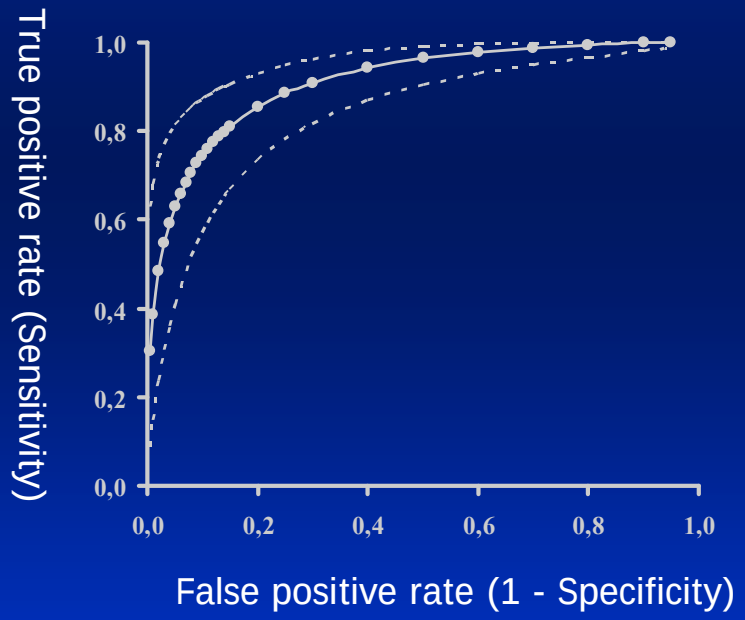
- Densita nervového subepidermálního plexu (SENPD) byla měřena na ploše 200 x 50 μm těsně při dermo-epidermální junkci a vyjádřena jako procento imunoreaktivních struktur



Vlastní výsledky

SENPD: ROC analýza zaměřená na diskriminaci mezi kontrolami a pacienty s neuropatií

	Critical test – result value		
	Cut-off point	Sensitivity at cutoff	Specificity at cutoff
SENPD (%) Neuropathy vs. control group	≤ **7.25 %**	0.811	0.882
SENPD (%) pSFN vs. control group	≤ **7.25 %**	0.782	0.790
SENPD (%) MFN vs. control group	≤ **6.64 %**	0.950	0.892

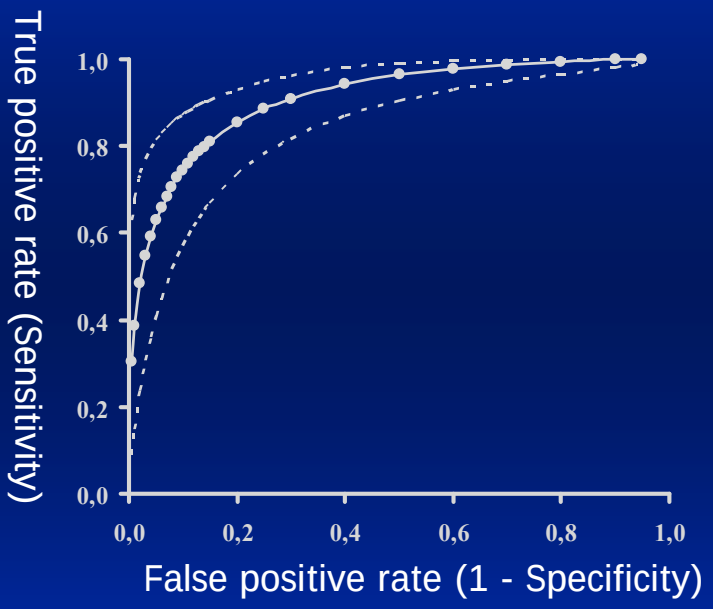


Senzitivita kožní biopsie (IENFD a SENPD): 92 %

Vlastní výsledky

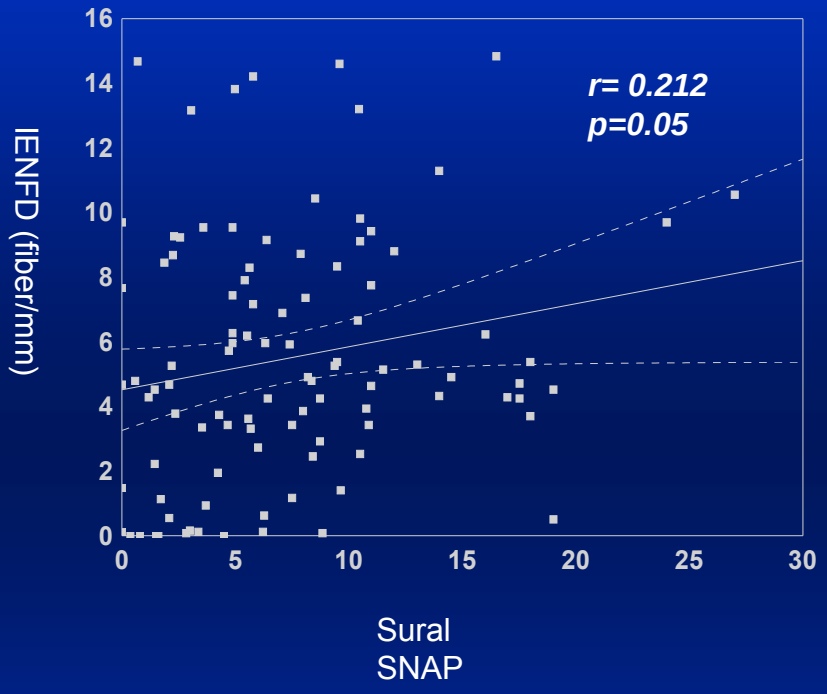
SENFD: ROC analýza zaměřená na diskriminaci mezi oběma podskupinami nemocných s neuropatií

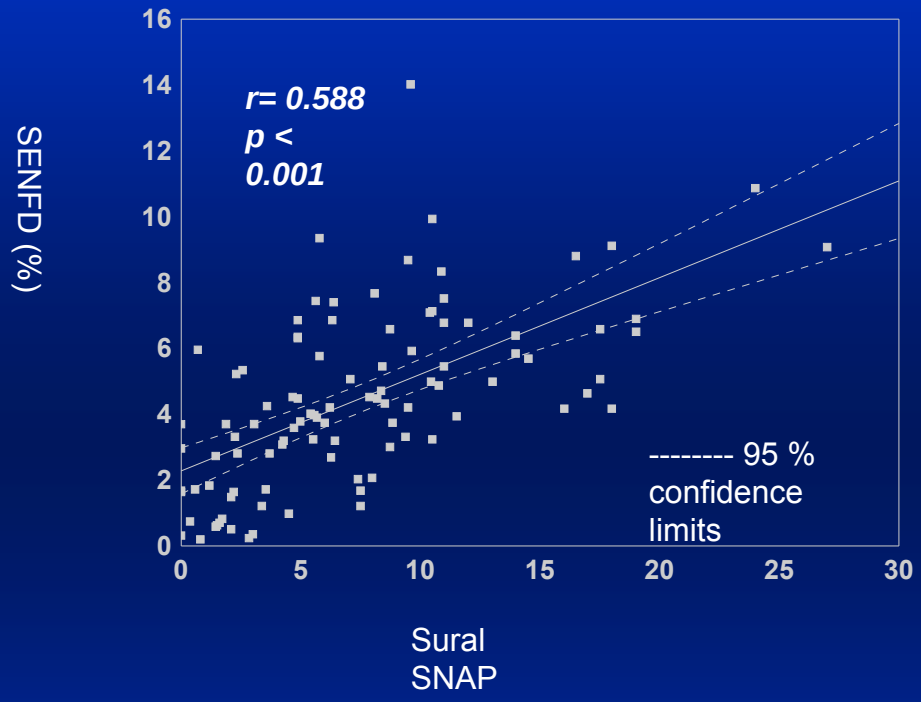
	Critical test – result value		
	Cut-off point	Sensitivity at cutoff	Specificity at cutoff
SENPD (%) pSFN vs. MFN	≤ **3.76 %**	0.761	0.811



Intraepidermální vlákna jsou tvořena nemyelinizovanými somatickými vlákny typu C, zatímco subepidermální plexus je tvořen i tenkými myelinizovanými vlákny!

Vlastní výsledky





Korelace obou parametrů kožní biopsie s amplitudou SNAP odrážející postižení myelinizovaných senzitivních vláken

Závěry

- Kožní biopsie je vysoce senzitivní a specifickou diagnostickou metodou u nemocných s bolestivou senzitivní neuropatií
- Nově zavedený parametr kožní biopsie (SENPD) senzitivitu kožní biopsie dále zvyšuje a přináší kvalitativně novou informaci i o typu postižených vláken