proLékaře.cz | 12.7.2025

Vyšetření hustoty intraepidermálních nervových vláken z kožní biopsie – normativní data

The Evaluation of Intraepidermal Nerve Fiber Density in Skin Biopsy – Normative Data

Souhrn

Úvod: Vyšetření intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken (IENFD) z kožní biopsie patří v současnosti mezi klíčové metody v diagnostickém algoritmu neuropatické bolesti a senzitivních neuropatií, zejména neuropatie tenkých vláken. Cílem práce je ověření vlivu fyziologických proměnných na hodnoty IENFD, derivace validních normativních dat IENFD pro oblast distálního lýtka a dále zhodnocení nálezů této metodiky u pilotní skupiny vzorků z oblasti proximálního stehna. *Soubor a metodika:* Kožní biopsie z oblasti distálního lýtka byla provedena u souboru 74 zdravých dobrovolníků (39 mužů, 35 žen, věk: medián 54,5 let, rozmezí 27–84 let). Ve všech vzorcích byla stanovena IENFD metodou nepřímé imunofluorescence. Následně byl vyhodnocen vliv věku a pohlaví na IENFD a byla derivována věkově stratifikovaná normativní data (v podskupinách 20–40, 40–60 a 60+ let). U 14 jedinců byla kožní biopsie vyšetřena i z oblasti proximálního stehna a nálezy byly srovnány s distálními vzorky kožních biopsií. *Výsledky:* V oblasti distálního lýtka byl zaznamenán statisticky nevýznamný trend k vyšším hodnotám IENFD u žen oproti mužům a vysoce signifikantní pokles IENFD s věkem. Dolní normální limit byl pro jednotlivé věkové kategorie stanoven na úrovni 5,5–5,1–1,9 vláken na 1 mm délky epidermis u mužů a 6,1–5,2–3,1 u žen. Hodnoty IENFD v oblasti proximálního stehna byly signifikantně vyšší než v distální lokalizaci. *Závěr:* IENFD v oblasti distálního lýtka vykazuje signifikantní vliv věku a méně významný vliv pohlaví vyšetřených jedinců na nálezy ve skupině zdravých dobrovolníků. Při hodnocení IENFD z kožních biopsií je tedy vhodné zohlednění uvedených věkově stratifikovaných normativních dat pro jednotlivá pohlaví. Srovnání distálních vzorků s nálezy z oblasti anterolaterálního stehna potvrzuje existenci signifikantního proximo-distálního gradientu u zdravých dobrovolníků.

Abstract

Introduction: At present, evaluation of intraepidermal nerve fiber density (IENFD) from skin biopsies represents one of the most important methods for diagnosing neuropathic pain and sensory neuropathies, particularly in small-fiber neuropathy patients. The aim of the study was to analyze the effects physiological variables may have on IENFD values and to establish valid IENFD normal limits for distal calf region. Furthermore, we evaluated the IENFD values from anterolateral proximal thigh samples in a pilot study with a small group of healthy individuals. *Patients and methods:* Skin biopsies from the distal calf were obtained from a group of 74 healthy individuals (39 men, 35 women, age: median 54.5 years, range 27–84 years). IENFD was established in all the samples using the indirect immunofluorescence method. The effect of age and gender on IENFD values was evaluated and age-stratified normal values were derived in subgroups of patients aged 20–40, 40–60 and 60+ years. In addition, IENFD values obtained from proximal thigh skin biopsies of 14 individuals were compared to the distal samples. *Results:* Significant age-related decrease in IENFD values and non-significant trend to higher IENFD values in women were found in distal skin biopsy samples. Lower normal limits in the respective age subgroups were set at 5.5–5.1–1.9 fibers per 1 mm in men and 6.1–5.2–3.1, respectively, in women. Compared to the distal samples, proximal IENFD values were significantly higher. *Conclusion:* In a group of healthy volunteers, a significant effect of age and non-significant trend towards an effect of gender on IENFD values was found. Therefore, age-stratified and gender-specific normal values should be used when evaluating IENFD in distal skin biopsy samples. Comparison of these findings to proximal thigh samples confirms significant proximo-distal gradient of IENFD values.

Š. Buršová[1,2], E. Vlčková[1,2], M. Hnojčíková[1,2], M. Němec[1], P. Dubový[2,3], B. Mičánková Adamová[1,2], J. Bednařík[1,2]

[1] Neurologická klinika LF MU a FN Brno
[2] CEITEC – Středoevropský technologický institut MU, Brno
[3] Anatomický ústav LF MU, Brno

MUDr. Šárka Buršová
Neurologická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
email: bursova@email.cz

Přijato k recenzi: 26. 1. 2012
Přijato do tisku: 14. 2. 2012

Klíčová slova

kožní biopsie – intraepidermální hustota nervových vláken – normativní data – zdravé kontroly – věkové kategorie

Key words

skin biopsy – intraepidermal nerve fiber density – normative values – healthy individuals – age stratification

Práce byla podpořena grantem IGA č. NS9667-4/2008 „Bolestivá diabetická neuropatie“, projektem specifického výzkumu MUNI/A/0765/2011 a projektem „CEITEC – Středoevropský technologický institut“ (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) z Evropského fondu regionálního rozvoje.

proLékaře.cz | 12.7.2025

Úvod

Hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken (IntraEpidermal Nerve Fiber Density, IENFD) z kožní biopsie patří v současnosti mezi klíčové metody diagnostického algoritmu senzitivních neuropatií, především pak neuropatie tenkých vláken, tedy klinické jednotky vyznačující se izolovaným postižením tenkých nervových vláken typu A-delta a C [1,2]. Dle recentně publikovaných doporučení [3,4] patří kožní biopsie s hodnocením IENFD také mezi nejdůležitější diagnostické metody neuropatické bolesti obecně. Jedná se o minimálně invazivní metodu, umožňující hodnocení morfologických změn a především redukce počtu tenkých nervových vláken v oblasti epidermis [2]. Díky možnosti hodnocení strukturálních změn tak toto vyšetření představuje unikátní objektivní metodu diagnostiky postižení tenkých nervových vláken, které není detekovatelné standardním elektromyografickým vyšetřením, resp. kondukčními studiemi periferních nervů [1,2]. Základním a nejčastěji hodnoceným parametrem kožní biopsie je hustota intraepidermálních nervových vláken detekovaných prostřednictvím panneuronálního markeru Protein Gene Product PGP 9.5, označovaná zkratkou IENFD (obr. 1a–c) [2,5,6]. Současným trendem v oblasti kožních biopsií je pak snaha o nalezení markerů umožňujících detekci časnějších stadií periferně neurogenního postižení, než dovoluje rutinní hodnocení počtu vláken pomocí PGP 9.5, a to jak ve smyslu změn exprese specifických proteinů na hodnocených nervových vláknech, tak ve smyslu morfologických změn těchto vláken. Z hlediska změn exprese specifických proteinů se velmi perspektivně jeví např. marker regenerujících nervových vláken „Growth-Associated Protein 43" (GAP-43). Tento typ markerů vykazuje signifikantní pokles imunoreaktivity intraepidermálních vláken v časných stadiích diabetické neuropatie, kde tato změna u části pacientů předchází poklesu počtu PGP 9.5 pozitivních vláken [7]. Z morfologického hlediska je v časných fázích periferně neurogenního postižení prokazována častější fragmentace vláken, výskyt varikozit (obr. 1c) a/nebo změny jejich větvení, přičemž i tyto změny předcházejí vlastní redukci IENFD (obr. 1b) [8,9]. Zmíněné parametry jsou velmi zajímavé pro účely klinických a výzkumných studií, jejich hodnocení je však časově náročné, složitější než hodnocení IENFD a více závislé na zkušenostech vyšetřujícího. Také z těchto důvodů zůstává IENFD i nadále nejvýznamnějším prakticky využitelným parametrem kožních biopsií a je na něj zaměřena maximální pozornost i z hlediska tvorby validních normativních dat [10–12], jejichž správné nastavení je jedním z klíčových faktorů ovlivňujících využitelnost metodiky v klinické praxi i pro výzkumné účely. Všechny velké, recentně publikované normativní soubory [10–12] jsou přitom zaměřeny na imunohistochemické barvení vzorků, zatímco pro alternativní metodu barvení, využívající metodu nepřímé imunofluorescence, nebyla normativní data derivovaná na podobně rozsáhlém vzorku pacientů dosud publikována.

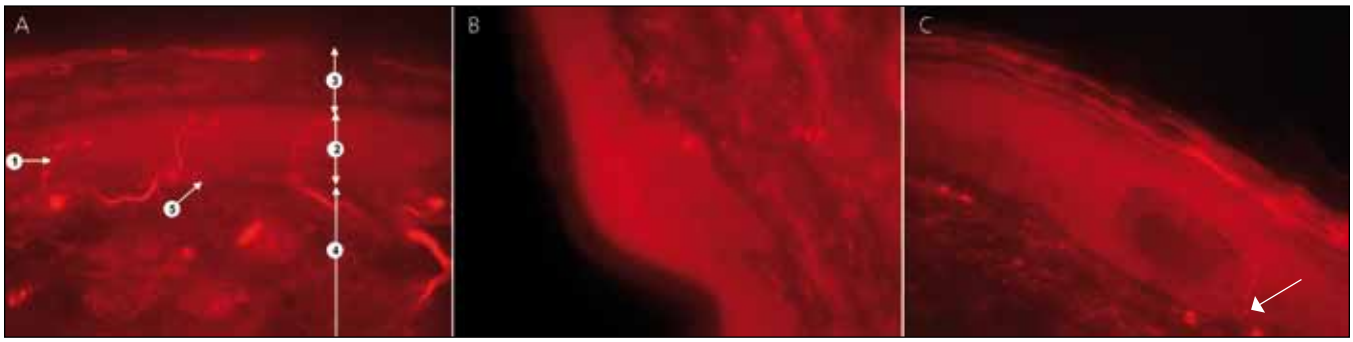
Cílem práce je proto nastavení validních, věkově stratifikovaných normativních dat využitelných v české populaci pro hodnocení IENFD stanovené v kožních biopsiích metodou nepřímé imunofluorescence, resp. ověření použitelnosti norem z recentně publikovaných souborů využívajících alternativní imunohistochemickou metodu barvení i pro detekci IENFD pomocí nepřímé imunofluorescence a v našich podmínkách.

Soubor

Normativní data pro IENFD byla derivována na základě nálezů zdravých dobrovolníků, u nichž byla kožní biopsie provedena na Neurologické klinice LF MU a FN Brno v rozmezí let 2000–2011. Většinu souboru představovali zaměstnanci kliniky, resp. FN Brno a jejich příbuzní a známí, menší část pak pacienti hospitalizovaní na naší klinice především pro bolesti hlavy, akutní vertebrogenní či jiné tranzitorní obtíže. U pacientů s vertebrogenní etiologií obtíží a s iradiací do některé dolní končetiny byl odběr biopsie proveden vždy na asymptomatické končetině, tj. kontralaterálně ke straně obtíží pacienta.

Vylučujícími kritérii zařazení do souboru byly:

1. anamnestické či klinické známky difuzního postižení periferního a/nebo centrálního nervového systému nebo fokální neuropatie ve vyšetřované distribuci,
2. známá přítomnost některého z rizikových faktorů vedoucích potenciálně k periferně neurogenní lézi – tedy zejména diabetu mellitu či poruchy glu-



Obr. 1. Srovnání normálního nálezu kožní biopsie (1a) s nálezy abnormálními (1b, c). Převzato z [5].

Obr. 1a) Normální nález kožní biopsie u zdravého jedince (zvětšení 400×). 1. PGP 9.5 – imunoreaktivní intraepidermální nervové vlákno. 2., 3. epidermis (2. stratum basale, spinosum, granulosum a lucidum. 3. stratum corneum), 4. dermis, 5. dermo-epidermální junkce.

Obr. 1b, c) Abnormální nálezy kožní biopsie (zvětšení 400×). 1b) Absence intraepidermálních vláken + redukce denzity subepidermálního plexu. 1c) Výrazná redukce počtu intraepidermálních vláken (zachyceno pouze jedno vlákno s patrnými „predegenerativními změnami" – fragmentace, varikozity).

proLékaře.cz | 12.7.2025

kózové tolerance, chronického abúzu etanolu, onkologických onemocnění, hepatopatie, nefropatie či zánětlivého onemocnění pojiva.

Všichni jedinci zařazení do studie podepsali informovaný souhlas a jejich spolupráce nebyla honorována. Projekt byl schválen etickou komisí FN Brno.

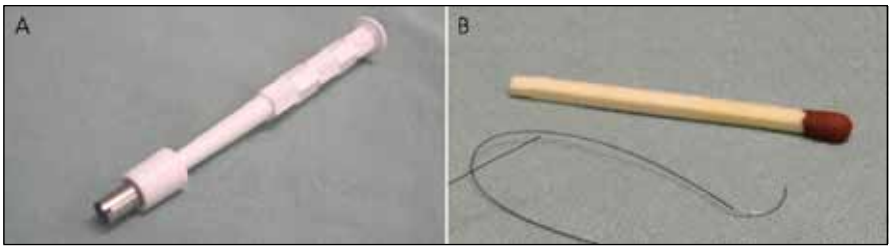
Celkem bylo hodnocení IENFD provedeno ve vzorcích kožních biopsií z oblasti distálního lýtka u 74 zdravých kontrol (39 mužů, 35 žen, věk: medián 54,5 let, rozmezí 27–84 let), u 14 pacientů byl tento parametr současně vyhodnocen i v proximálních vzorcích z oblasti anterolaterálního stehna. Pro účely derivace normativních dat byl dále soubor zdravých dobrovolníků věkově stratifikován do tří podskupin, definovaných dle věkových rozmezí:

- 20–40 let (14 jedinců, z toho 7 mužů a 7 žen, průměrný věk: 34,5 ± 3,4),
- 40–60 let (35 jedinců, z toho 16 mužů a 19 žen, průměrný věk: 51,1 ± 4,8),
- vyšší než 60 let (skupina 60+) (25 jedinců, z toho 16 mužů a 9 žen, průměrný věk: 66,4 ± 5,7 let).

Metodika

Vyšetření intraepidermální hustoty nervových vláken bylo provedeno ve vzorcích kožních biopsií z oblasti distálního lýtka (cca 10 cm nad pravým maleolus lateralis), u části zdravých dobrovolníků navíc i z anterolaterální strany proximálního stehna ipsilaterálně. Odběr byl proveden pomocí průbojníku o průměru 5 mm (obr. 2a) za aseptických kautel v lokální infiltrační anestezii 1% mezokainem. Po odběru následovala sutura jedním stehem pomocí atraumatického nevstřebatelného šití (obr. 2b), steh byl ponechán cca 10–14 dní a po zhojení jizvy extrahován.

Vzorky byly dále zpracovány standardním způsobem, který byl již opakovaně publikován [5–7]. Po fixaci a kryoprotekci byly z každého vzorku vytvořeny zmrazené řezy o tloušťce 50 µm, které byly následně obarveny metodou nepřímé imunofluorescence s polyklonální primární protilátkou, zaměřenou proti panneuronálnímu markeru PGP 9.5 (Ultraclone, Wellow, UK; 1 : 800), a sekundární protilátkou, značenou fluorescenčním barvivem (TRITC-conjugated goat anti-rabbit, Chemicon International Inc., Temecula, California, USA; 1 : 100). Obarvené preparáty byly mikroskopicky hodnoceny pomocí epifluorescenčního mikroskopu firmy Leica DMLB (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany), vybaveného příslušným filtrem při 400násobném zvětšení. V každém hodnoceném řezu byl vyhodnocen počet imunoreaktivních intraepidermálních nervových vláken s patrným přechodem přes dermoepidermální junkci (obr. 1a–c) v souladu s doporučeními publikovanými pro tuto metodiku [2] v alespoň třech nepřilehlých tkáňových řezech. Následně byla pro každý vyhodnocený řez změřena délka epidermis pomocí analytického zobrazovacího systému firmy NIS-Elements AR, Laboratory Imaging s.r.o., Prague, Czech Republic a ze získaných výsledků byl stanoven počet intraepidermálních nervových vláken na 1 mm délky epidermis, který představuje vlastní hodnocený parametr, tedy intraepidermální hustotu tenkých nervových vláken (IENFD).



Obr. 2. Vybavení pro odběr kožních biopsií. Převzato z [5].
Obr. 2a) Nástroj užívaný při odběru vzorků (průbojník).
Obr. 2b) Atraumatické nevstřebatelné šití (srovnání velikosti jehly s běžnou zápalkou).

Statistické zpracování

Statistické zpracování bylo provedeno pomocí softwaru Statistica 10 firmy Statsoft. Ke zviditelnění rozložení hodnot jednotlivých testovaných parametrů a derivaci věkově stratifikovaných normativních dat byla použita robustní sumární statistika (medián, kvantily) a současně statistika parametrická (průměry, směrodatné odchylky). Vzhledem k normální distribuci hodnot IENFD bylo jejich srovnání mezi jednotlivými věkovými podskupinami provedeno s použitím analýzy variance (ANOVA) s Tukeyho post-hoc korekcí. Srovnání jednotlivých parametrů mezi muži a ženami bylo uskutečněno nepárovým t-testem, k porovnání nálezů IENFD v jednotlivých lokalizacích byl použit párový t-test. Korelační analýzy byly provedeny pomocí Pearsonova korelačního koeficientu v případě hodnocení distálních vzorků a pomocí koeficientu Spearmanova u analýz zohledňujících IENFD ve vzorcích proximálních.

Výsledky

V rámci odběru kožních biopsií jsme nezaznamenali žádné komplikace. Jedinou částí vyšetření, hodnocenou některými jedinci jako mírně nepříjemnou, byla lokální infiltrační anestezie v úvodu výkonu. Samotný odběr vzorku k vyšetření pak hodnotili všichni zařazení jedinci jako nebolestivý. S výjimkou dvou jedinců (z nichž u jednoho muže došlo k ruptuře stehu při výrazné fyzické aktivitě krátce po výkonu a u jedné ženy byl steh navzdory instrukcím extrahován předčasně již po 5 dnech od odběru biopsie a došlo k částečné dehiscenci rány) není autorům známa jiná komplikace hojení jizvy u žádného z odebraných zdravých dobrovolníků. Zhojení jizvy po odběru kožní biopsie tedy proběhlo ve všech ostatních případech per primam s minimálními následky a definitivní zhojení rány bylo uspokojivé i u obou jedinců, u nichž nastaly výše zmíněné komplikace. Metodu tak lze hodnotit jako zcela bezpečnou a pacienty dobře tolerovanou.

Sumarizace hodnot IENFD v jednotlivých věkových skupinách je uvedena v tab. 1, a to jednak souhrnně v celém souboru zdravých dobrovolníků a jednak samostatně u mužů a žen. Hodnoty IENFD vykazovaly trend k vyšší hustotě intraepidermálních nervových vláken u žen ve srovnání s muži, který však nebyl statisticky významný ($p = 0,268$). Naopak vysoce významný byl vliv věku: hodnoty IENFD v distální lokalizaci vysoce signifikantně negativně korelovaly s věkem (tab. 1). Pokles hustoty intraepidermálních nervových vláken s věkem byl významný i při srovnání jednotlivých věkových skupin (tab. 1), a to statisticky nejvýznamněji v nejstarší věkové kategorii (60+) oproti

proLékaře.cz | 12.7.2025

Tab. 1. Sumarizace hodnot IENFD z kožní biopsie v distální lokalizaci.

	20–40				40–60				60+					Korelace s věkem	
	průměr (X)	SD	X – 2 SD	5. percentil	průměr (X)	SD	X – 2 SD	5. percentil	průměr (X)	SD	X – 2 SD	5. percentil	Srovnání věkových skupin (p)	r	p
IENFD: všichni	12,1	3,3	5,5	8,2	10,9	2,9	5,1	6,6	8,3	3,0	2,3	3,5	0,026	–0,4067	< 0,001
IENFD: muži	12,7	3,6	5,5	7,9	10,7	2,8	5,1	5,9	8,1	3,1	1,9	3,4	0,007	–0,4339	< 0,001
IENFD: ženy	11,3	2,6	6,1	9,0	11,2	3,0	5,2	6,9	8,6	2,7	3,1	4,7	0,272	–0,3179	0,08

Sumarizace hodnot IENFD z kožní biopsie v jednotlivých věkových kategoriích (20–40, 40–60, 60+), a to jednak souhrnně u všech jedinců dané věkové podskupiny, a dále odděleně u mužů a žen vč. korelace hodnot s věkem a srovnání nálezů mezi věkovými podskupinami. Hodnoty IENFD jsou uvedeny formou počtu vláken na 1 mm epidermis, a to v každé hodnocené skupině jako průměr, SD a 5. percentil hodnot. Výsledky lze použít k derivaci věkově stratifikovaných normativních dat, a to při dvou možných způsobech jejich nastavení, tj. na úrovni 5. percentilu prezentovaných hodnot a/nebo na úrovni X – 2 SD (obě hodnoty jsou explicitně uvedeny). Statistické zpracování bylo provedeno pomocí parametrické statistiky (ANOVA, t-test, Pearsonův korelační koeficient). IENFD – intraepidermální hustota nervových vláken (IntraEpidermal Nerve Fiber Density), SD – směrodatná odchylka (Standard Deviation), X – průměr

oběma kategoriím mladším (20–40, 40–60) (data post hoc korekce podrobněji neuvedena). Hodnoty IENFD naopak nevykazovaly statisticky významnou korelaci s výškou vyšetřených jedinců (Pearsonův korelační koeficient r = 0,1664; p = 0,298).

Normativní data stanovená oběma použitými metodami (tj. pomocí percentilů a/nebo na základě průměrů a směrodatných odchylek) jsou si ve všech věkových kategoriích poměrně blízká a odrážejí zmíněný věkově podmíněný pokles hodnot IENFD (tab. 1). Normy pro muže a ženy se v souladu s prokázanou absencí statisticky významných rozdílů hodnot IENFD liší pouze mírně, pro hodnocení tohoto parametru lze tedy využít i normativní data společná pro obě pohlaví (tab. 1).

Nálezy v proximálních vzorcích jedinců, u nichž byl odebrán vzorek v obou lokalizacích, vysoce významně korelovaly s nálezy ve vzorcích distálních (Spearmanův korelační koeficient r = 0,6615; p < 0,05) a hodnoty IENFD byly v oblasti proximálního stehna signifikantně vyšší (medián: 10,6; rozsah: 5,6–18,5) než v oblasti distálního lýtka (medián: 10,2; rozsah: 4,4–14,2) (Wilcoxonův párový test: p = 0,0219). Vliv věku, výšky ani pohlaví na zmíněné hodnoty nebylo možné vzhledem k malému počtu proximálních vzorků validně hodnotit.

Diskuze

Prezentovaný článek předkládá sumarizaci nálezů kožních biopsií z oblasti distálního lýtka s hodnocením intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken u reprezentativního vzorku zdravých dobrovolníků z české populace a z nich derivovaná věkově stratifikovaná normativní data pro obě pohlaví. Současně jsou zde prioritně v české odborné literatuře publikovány nálezy kožních biopsií z proximální lokalizace, a to na vzorku pacientů srovnatelném s ojedinělými publikovanými zahraničními soubory.

Naše studie prokázala bezpečnost a dobrou toleranci kožní biopsie, která je při dodržení používaných doporučení pro vyšetřované jedince prakticky bez komplikací. Tyto zkušenosti jsou v souladu s výsledky jiných publikovaných prací zaměřených na hodnocení IENFD z kožní biopsie a také s platnými doporučeními pro použití této metody [2,10–12] a opravňují její bezproblémové zařazení do diagnostického algoritmu senzitivních neuropatií a neuropatické bolesti.

Hodnoty IENFD v distálních vzorcích našeho souboru zdravých kontrol i derivovaná normativní data jsou plně srovnatelné s nálezy dalších publikovaných studií, prezentujících data získaná převážně v rámci evropské populace [11–13], což verifikuje správnost námi použité metodiky. Oproti tomu Umapathi et al [10] uvádějí signifikantně vyšší průměrné hodnoty IENFD i doporučené normy: jako optimální dolní normální limit IENFD v distálních vzorcích kožních biopsií doporučuje na základě ROC analýzy 10 vláken na 1 mm délky epidermis, což je hodnota významně vyšší v porovnání s našimi výsledky i všemi dalšími citovanými pracemi [11–13] a prakticky odpovídá průměrné hodnotě IENFD v této oblasti ve všech ostatních zmíněných studiích včetně naší. Možným vysvětlením je signifikantně vyšší průměrný věk našeho kontrolního souboru (53,2 ± 12,3) ve srovnání se zdravými dobrovolníky zařazenými do Umapathiho studie (39,4 ± 11,2) a také možné rasově podmíněné rozdíly IENFD: data v citované práci [10] byla derivována na podkladě výsledků souboru zdravých dobrovolníků z asijské populace (Singapore).

Podobnost námi derivovaných norem s výsledky rozsáhlejších publikovaných multicentrických studií poskytuje možnost využít pro hodnocení nálezů IENFD aplikujících metodu nepřímé imunofluorescence u pacientů v české populaci oba typy normativních dat, tj. vedle naší studie také normy publikované autory Bakkers či Lauriou [11,12]. Určitou nevýhodou našeho souboru je jeho limitovaný rozsah, který neumožňuje derivovat validní normy stratifikované po jednotlivých dekádách tak, jak byly publikovány na základě nálezů velkých multicentrických studií [11,12]. Rozdíly hodnot IENFD např. mezi skupinami 20–29 a 30–39 nebo 40–49 a 50–59 jsou však v obou zmíněných rozsáhlejších souborech [11,12] poměrně malé a sloučení těchto skupin v našem souboru nepředstavuje významnou ztrátu validity derivovaných normativních dat. Výhodou je naopak derivace norem pro alternativní metodiku barvení využívanou řadou pracovišť (tedy nepřímou imunofluorescenci), resp. ověření vy-

proLékaře.cz | 12.7.2025

užitelnosti normativních dat stanovených pro imunohistochemický způsob barvení vzorku i pro vzorky barvené metodou imunofluorescenční, u níž lze obecně předpokládat mírně vyšší počet IENFD oproti metodě imunohistochemické (kde jsou vlákna při mikroskopickém hodnocení poněkud hůře odlišitelná).

Hodnoty IENFD prokazují signifikantní věkově podmíněné změny. Tyto výsledky jsou v souladu s nálezy všech velkých souborů zdravých dobrovolníků recentně publikovaných pro IENFD [10–12]. Podobný trend bude zřejmě existovat i pro lokalizaci proximální, kde však s ohledem na malý rozsah našeho souboru nebylo možné věkově podmíněné změny validně hodnotit.

Vedle ovlivnění věkem prokazují naše výsledky také určité rozdíly nálezů mezi muži a ženami, které však v prezentované studii nebyly statisticky významné (p = 0,268), což je zřejmě ovlivněno limitovaným rozsahem našeho vzorku pacientů. Málo významné rozdíly mezi muži a ženami prokazují pro IENFD nicméně i další publikované studie [6,11], jiné pohlaví jako jeden z faktorů s potenciálním vlivem na IENFD nezohledňují a případné rozdíly mezi muži a ženami dokonce vůbec nehodnotí [10]. Většina studií nicméně prokazuje pro tento parametr určité genderově podmíněné rozdíly [11,12] a v souladu s tím uvádí i odlišná normativní data IENFD pro muže a ženy [11,12], která lze odvodit i z naší studie a jejichž použití autoři doporučují preferovat před využitím souhrnných norem nezohledňujících pohlaví pacienta. Existenci určitých rozdílů mezi muži a ženami nepřímo podporují i funkční testy tenkých nervových vláken prokazující signifikantně lepší percepci termických modalit a nižší algické prahy u žen v řadě publikovaných validních studií [14,15], i když vlastní hodnota IENFD je samozřejmě pouze jedním z řady faktorů ovlivňujících percepci termických modalit a bolesti.

Vedle výsledků IENFD z distální oblasti uvádí naše publikace i nálezy menšího vzorku pacientů v lokalizaci proximální, tj. v oblasti anterolaterálního stehna. Přestože počet pacientů neumožňuje věkovou stratifikaci norem pro tuto lokalizaci, jedná se o prioritní publikaci tohoto typu dat v rámci ČR. V publikované literatuře obecně existuje poměrně málo prací zaměřených na nálezy kožních biopsií v této lokalizaci a publikované soubory (s výjimkou Umapathiho práce [10]) navíc rozsahem nepřevyšují naši studii [13,16]. Námi zjištěné hodnoty IENFD v proximální lokalizaci jsou, obdobně jako v lokalizaci distální, plně srovnatelné s dalšími publikovanými pracemi v evropské populaci [13], ale nižší oproti hodnotám derivovaným z populace asijské [10], pravděpodobně opět z důvodu rasově podmíněných rozdílů tohoto parametru. Naše nálezy dále potvrzují očekávanou vysoce významnou korelaci hodnot IENFD v distální a proximální oblasti stejně jako existenci určitého proximo-distálního gradientu intraepidermální inervace, tedy poklesu hodnot IENFD v distálních oblastech ve srovnání s oblastmi proximálními, která je plně v souladu s dalšími publikovanými nálezy [10,13,16]. Tyto výsledky opět korelují s nálezy funkčních testů tenkých nervových vláken, zejména s výsledky kvantitativního testování senzitivity, které prokazuje signifikantně nižší termické prahy pro teplo i bolest vyvolanou teplem na stehně ve srovnání s běžně vyšetřovanou oblastí na dorzu nohy [14].

Závěry

Prezentovaná studie poskytuje validní normativní data pro hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken z kožní biopsie, která jsou plně srovnatelná s publikovanými nálezy větších multicentrických studií, a umožňují tak pro hodnocení IENFD stanovené metodou nepřímé imunofluorescence a pro českou populaci využívat při hodnocení IENFD oba typy normativních dat.

Hodnoty IENFD vykazují signifikantní věkově podmíněné změny a určité rozdíly mezi muži a ženami. Uvedená normativní data jsou z těchto důvodů věkově stratifikována a umožňují využití genderově specifických norem.

Nálezy IENFD v proximálních vzorcích části prezentovaného souboru zdravých kontrol potvrzují existenci proximo-distálního gradientu intraepidermální inervace.

Použité zkratky

IENFD intraepidermální hustota nervových vláken (IntraEpidermal Nerve Fiber Density)
PGP 9.5 Protein Gene Product 9.5
GAP-43 Growth Associated Protein 43

Literatura

1. Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G et al. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. Brain 2008; 131(Pt 7): 1912–1925.
2. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, Kennedy WR, Leger JM, Mellgren SI et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. Eur J Neurol 2010; 17(7): 903–912.
3. Cruccu G, Sommer C, Anand P, Attal N, Baron R, Garcia-Larrea L et al. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. Eur J Neurol 2010; 17(8): 1010–1018.
4. Haanpää M, Attal N, Backonja M, Baron R, Bennett M, Bouhassira D et al. NeuPSIG guidelines on neuropathic pain assessment. Pain 2011; 152(1): 14–27.
5. Moravcová E, Bednařík J, Feit J, Sommer C. Hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken z kožní biopsie u pacientů s polyneuropatií. Cesk Slov Neurol N 2005; 68/101(4): 219–226.
6. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Dušek L, Toyka KV, Sommer C. Diagnostic validity of epidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. Muscle Nerve 2008; 37(1): 50–60.
7. Bursova S, Dubovy P, Vlckova-Moravcova E, Nemec M, Klusakova I, Belobradkova J et al. Expression of growth-associated protein 43 in the skin nerve fibers of patients with type 2 diabetes mellitus. J Neurol Sci 2012; 315(1–2): 60–63.
8. Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A et al. Axonal swellings predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. Neurology 2003; 61(5): 631–636.
9. Gibbons CH, Griffin JW, Polydefkis M, Bonyhay I, Brown A, Hauer PE et al. The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. Neurology 2006; 66(2): 256–258.
10. Umapathi T, Tan WL, Loke SC, Soon PC, Tavintharan S, Chan YH. Intraepidermal nerve fiber density as a marker of early diabetic neuropathy. Muscle Nerve 2007; 35(5): 591–598.
11. Bakkers M, Merkies IS, Lauria G, Devigili G, Penza P, Lombardi R et al. Intraepidermal nerve fiber density and its application in sarcoidosis. Neurology 2009; 73(14): 1142–1148.
12. Lauria G, Bakkers M, Schmitz C, Lombardi R, Penza P, Devigili G et al. Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study. J Peripher Nerv Syst 2010; 15(3): 202–207.
13. Uçeyler N, Kafke W, Riediger N, He L, Necula G, Toyka KV et al. Elevated proinflammatory cytokine expression in affected skin in small fiber neuropathy. Neurology 2010; 74(22): 1806–1813.
14. Defrin R, Shachal-Shiffer M, Hadgadg M, Peretz C. Quantitative somatosensory testing of warm and heat-pain thresholds: the effect of body region and testing method. Clin J Pain 2006; 22(2): 130–136.
15. Buršová Š, Vlčková E, Hnojčíková M, Němec M, Bednařík J. Přístrojově asistované kvantitativní testování senzitivity – normativní data. Cesk Slov Neurol N 2012; 75/108(4): 444–453.
16. Pittenger GL, Ray M, Burcus NI, McNulty P, Basta B, Vinik AI. Intraepidermal nerve fibers are indicators of small-fiber neuropathy in both diabetic and nondiabetic patients. Diabetes Care 2004; 27(8): 1974–1979.