

# Hudbiopsi og kvantitativ sensorisk testning kan bidrage til diagnostik af småfiberpolyneuropati

Thomas Krøigård<sup>1</sup>, Pall Karlsson<sup>2</sup>, Nanna Brix Finnerup<sup>2</sup>, Søren Hein Sindrup<sup>1</sup> & Troels Staehelin Jensen<sup>2</sup>

## STATUSARTIKEL

1) Neurologisk Afdeling, Odense Universitetshospital  
2) Dansk Smerte-forskningscenter, Aarhus Universitetshospital

Ugeskr Læger  
2016;178:V02160134

Med indførelse af nye diagnostiske metoder er der opstået en erkendelse af, at en del af patienterne med polyneuropati udelukkende eller overvejende har påvirkning af de tynde nervefibre (A $\delta$ - og C-fibre), der er ansvarlige for sensibilitet for temperatur og smerte. Småfiberpolyneuropati er sandsynligvis underdiagnosticeret, da den ikke kan påvises ved nerveledningsundersøgelse, hvor kun funktionen af de tykke, myeliniserede nervefibre bliver vurderet. Man må få mistanke om småfiberpolyneuropati hos patienter med symptomer og tegn på sensorisk polyneuropati med påvirket funktion af tynde nervefibre og normal nerveledningsundersøgelse.

## DET KLINISKE BILLEDE

Karakteristisk ses en kombination af positive og negative symptomer og fund. De positive symptomer er smerter, der kan være af brændende, jagende eller prikkende karakter, eller kløe [1]. Smerterne kan være til stede spontant eller udløses af let berøring eller tryk og er oftest mest udtalte i hvile og sidst på dagen. Der kan være kramper, sovende fornemmelse og fornemmelse af, at noget strammer omkring huden. De negative symptomer kan være nedsat sensibilitet for kulde, varme og smerte. Symptomerne er oftest lokaliseret distalt og symmetrisk. Ved påvirkning af autonome nervefibre kan symptomerne være tørre øjne eller mund, ortostatisme, gastrointestinale gener, vandladningsfor-

styrrelse, hyper- eller hypohidrose, akkomodationsproblemer, impotens, hjertebanken m.m. I en opgørelse af patienter med småfiberpolyneuropati og patienter, som havde polyneuropati med påvirkning af tykke fibre, samt patienter med en kombination af de to tilstande var spontane smerter oftere til stede hos patienterne med småfiberpolyneuropati end hos patienter uden småfiberpolyneuropati [2]. Ved objektiv undersøgelse kan der f.eks. påvises nedsat følesans for stik eller temperatur på fødderne og sjældnere hyperalgesi eller alodyni, men hos omtrent en tredjedel af patienterne med småfiberpolyneuropati er der normale forhold ved objektiv undersøgelse.

Forekomsten af småfiberpolyneuropati på befolkningsniveau kendes endnu ikke.

## DIAGNOSTISKE METODER

De metoder, der p.t. anvendes i klinisk praksis, er bestemmelse af antallet af nervefibre, der krydser den dermoepidermale overgang i en hudbiopsi fra underbenet (intraepidermal nervefiberdensitet (IENFD)) og kvantitativ sensorisk testning (QST). Flere metoder, herunder korneal konfokal mikroskopi, er under udvikling.

## BESTEMMELSE AF NERVEFIBERTÆTHED I HUDBIOPSI

I lokalanalgesi tages en stansebiopsi på 3 mm i diameter 10 cm proksimalt for den laterale malleol [3]. Biopsien tages her, og altså ikke fra det mest symptomgivende område, mhp. sammenligning med det alders- og kønsjusterede normalmateriale, der er baseret på 550 personer [4]. Hudbiopsier tages også i nogle tilfælde proksimalt på benet (20 cm distalt for spina iliaca anterior superior) mhp. ved sammenligning med den distale biopsi at undersøge for en længdefafhængig reduktion i antallet af nervefibre. Hudbiopsien fikseres og skæres lodret på hudoverfladen i 50 mikrometer tykke snit, der farves ved immunhistokemisk metode med et antistof mod proteinet PGP9.5, der findes på overfladen af perifere nervefibre (**Figur 1**). Herefter gennemses tre snit under et lysmikroskop, og antallet af nervefibre, der krydser den dermoepidermale overgang, tælles. Resultatet opgøres som antallet af nervefibre pr. millimeter. Fordelen ved hudbiopsi er, at der er tale om en direkte og specifik påvisning af den perifere

## FAKTABOKS

- ▶ Ved isoleret småfiberpolyneuropati er resultaterne af nerveledningsundersøgelse normale.
- ▶ Spontane smerter eller smerter udløst af berøring, tryk eller temperaturændring forekommer hyppigt.
- ▶ Med immunhistokemisk farvning af hudbiopsi kan de tynde, umyeliniserede nervefibre visualiseres, hvorved tab af nervefibre kan påvises.
- ▶ Ved kvantitativ sensorisk testning diagnosticeres neuropatien indirekte ved en abnorm temperaturdetektionstærskel.
- ▶ Diagnosen bygger på relevante symptomer, tegn på abnorm smerte- og temperatursans, normale resultater af nerveledningsundersøgelse og enten reduceret antal nervefibre i hudbiopsi eller abnormt resultat af kvantitativ sensorisk testning.
- ▶ Sygdommen kan udløses af en lang række tilgrundliggende årsager, der i nogle tilfælde kan behandles, og der er ofte behov for behandling af neuropatiske smerter.

nervepåvirkning i form af tab af distale nervefibre. Det er en ulempe, at man med metoden ikke kan sige noget om nervefibreens funktion, herunder bevarede spontant aktive smertefibre, der kan give neuropatiske smerter. Korrekt diagnostik er afhængig af tæt kvalitetskontrol af specielt den immunhistokemiske farvning, da f.eks. manglende penetration af det primære antistof vil medføre ufuldstændig farvning af nervefibre og dermed risiko for at få et falsk positivt resultat.

### KVANTITATIV SENSORISK TESTNING

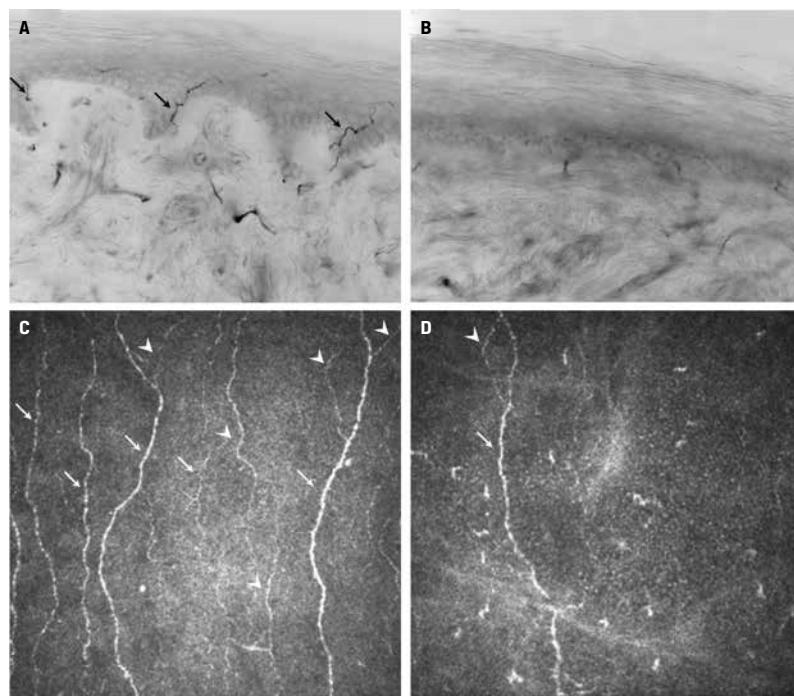
Et veldefineret anatomisk område, oftest fodryggen, påvirkes med afkøling, opvarmning, let berøring, stik og vibration med kalibrerede instrumenter som eksempelvis beskrevet i en standardprotokol fra det tyske netværk vedrørende neuropatisk smerte [5]. I samme regi er der mulighed for træning af procedurer med efterfølgende certificering på individuelt niveau og laboratorieniveau. Der er publiceret et omfattende normalmateriale [6]. Metodens styrke er, at der er mulighed for karakterisering af en smertestilstand, mht. hvilke sensoriske modaliteter der er påvirket, og om der er tale om hyper- eller hypofunktion, hvilket muligvis kan bidrage til, at man kan målrette behandlingen af neuropatiske smerter [7]. I forbindelse med diagnostik af småfiberpolyneuropati er det først og fremmest detektionstærskler for temperatur, der er interessante. Metodens største svaghed er, at der er tale om en psykofysisk test, der er afhængig af en velkoopererende patient, og som ikke kan benyttes til afgørelse af, om der er tale om læsion i det centrale eller perifere nervesystem. Det anbefales derfor, at man ikke baserer diagnostik af polyneuropati eller klassificerer smerter som værende neuropatiske alene ved hjælp af kvantitativ sensorisk testning [8]. Teknikken udvikles dog fortsat, og ved stimulation med langsom ændring af temperaturen er der fundet signifikant forskel i temperaturdetektionstærskler mellem raske personer og patienter med småfiberpolyneuropati [9].

### KORNEAL KONFOKAL MIKROSKOPI

Ved konfokal lasermikroskopi af cornea øges opløsningen og kontrasten af billedet, idet man undgår støj fra de dele af vævet, der ikke er i fokus. Teknikken bruges ved diagnostik af øjensygdomme, men kan også anvendes til visualisering af de tynde nervefibre i det subbasale nervepleksus i cornea [10]. Efter lokalbedøvelse føres kameraet frem til cornea, således at det netop har kontakt via en gel, og der tages repræsentative billeder ned gennem det ca. 10 mikrometer dybe nervepleksus ved at justere fokus [11]. Optagelsen varer ca. 2 min pr. øje. Tre billeder fra hvert øje analyseres. Efter billedanalyse med manuel eller automatiseret software (CCMetrics, University of Manchester) beregnes densi-

### FIGUR 1

Vævsnit fra en hudbiopsi farvet med immunhistokemisk teknik med antistof mod PGP9.5 fra en rask person (A) og en patient med diabetisk småfiberpolyneuropati (B). Nervefibre, der krydser den dermoepidermale overgang (pile) tælles. Det subbasale korneale nervepleksus visualiseret ved konfokal mikroskopi fra en rask person (C) og en patient med idiopatisk småfiberpolyneuropati (D). Hovednerv (pile), nervegrene (pilehoveder) og deres forgreningspunkter markeres ved hjælp af specialiseret software.



teten af nervefibre, længden af nervefibre og nervefibregrerne samt densiteten af nervefibregrerne og tortuositeten (hvor snoede nervefibre er). Der er fundet lav intra- og interobservatorvariation, undtagen for estimering af densiteten af nervegrene [12].

### ANDRE DIAGNOSTISKE METODER

Varmeevokerede potentialer, hvor det kortikale respons på varmestimulation registreres [13], vurdering af det neurovaskulære respons [14] og et plaster, der pga. koboltindhold registrerer svedsekretion [15], er teknikker, der bruges i forskningssammenhæng. Sidstnævnte kan muligvis anvendes som et screeningsredskab for småfiberpolyneuropati, og der er en god korrelation med korneal nervefibrerlængde.

### TESTNING AF DET AUTONOME NERVESYSTEM

Den sympatiske, kolinerge innervation af huden ledes også i tynde, umyeliniserede nervefibre og kan undersøges med f.eks. den kvantitative sudomotoraksonreflekstest. Acetylkolin appliceret på et mindre hudområde udløser et svedrespons, der kvantificeres i et nærliggende område afhængigt af funktionen af nervefibre. I klinisk praksis vurderes desuden den para-

sympatiske innervation af hjertet og den sympatiske vasomotoriske innervation ved analyse af hjertefrekvens og blodtryksvariation under dyb vejrtrækning, Valsalvas manøvre og *tilt table*-test [16].

### DIAGNOSTISK STRATEGI

De bedst validerede diagnostiske metoder er bestemmelse af IENFD og QST. I et retrospektivt studie med 110 patienter med polyneuropati, heraf 67 patienter med småfiberpolyneuropati, påviste man god korrelation mellem metoderne [2]. IENFD havde højere sensitivitet end QST med en diagnostisk effektivitet (abnorm diagnostisk test i forhold til en guldstandard, defineret som to abnorme resultater ved klinisk undersøgelse, IENFD og QST) på hhv. 88% og 47%. 12% af patienterne med småfiberpolyneuropati havde normal IENFD og abnorm QST. Resultaterne må vurderes med det forbehold, at nerveledningsundersøgelserne ikke levede op til international standard, bl.a. fordi der ikke blev sammenlignet med et aldersopdelt normalmateriale, og fordi en del af patienterne fik stillet diagnosen småfiberneuropati baseret på klinisk undersøgelse og QST, hvorved sygdommen ikke entydigt blev lokaliseret i det perifere nervesystem. I et andet studie fandt man ingen signifikant korrelation mellem IENFD og temperaturdetektionstærskler hos patienter med småfiberpolyneuropati, hvilket var tilfældet hos patienter med påvirkning af tykke nervefibre [17]. Metoderne kan muligvis betragtes som komplementære, idet man undersøger henholdsvis nervernes struktur og funk-

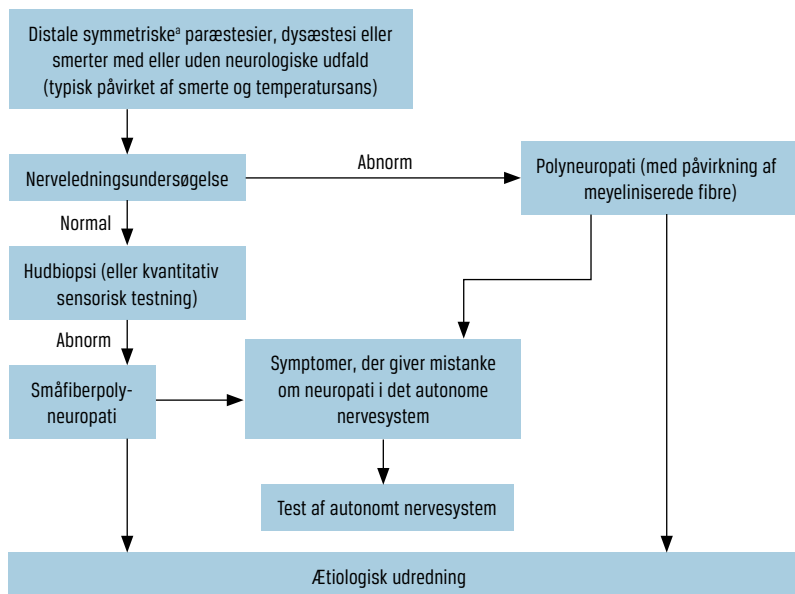
tion. Den manglende korrelation kan dog skyldes betydelig intraindividuel variation for begge metoders vedkommende. Hos patienter, som havde diabetes og symptomer på polyneuropati, var IENFD mere sensitiv (36% havde reduceret IENFD) end temperaturdetektionstærskler (27% havde abnorm kuldedetektionstærskel og 9% abnorm varmedetektionstærskel) [18]. Validiteten af ovenstående studier svækkes af, at inklusionskriterierne ikke er velbeskrevne, at der ikke er brugt stringente kriterier for nerveledningsundersøgelser, og at symptomer eller QST-resultater, som tydede på påvirkning af tykke nervefibre, ikke er beskrevet. Der er således fortsat et behov for prospektive, veludførte sammenlignende studier af den diagnostiske værdi af hudbiopsi, QST og de nyeste metoder. Baseret på den foreliggende evidens er der foreslået diagnostiske kriterier for diabetisk småfiberpolyneuropati, hvor diagnosen anses for at være sikker, hvis der forekommer længdeafhængige symptomer, objektive tegn på beskadigelse af tynde nervefibre, normal nerveledningsundersøgelse af n. suralis samt nedsat IENFD og/eller abnorm QST på foden [19]. I overensstemmelse hermed foreslås udredningen gennemført som vist i **Figur 2**, idet analyse af hudbiopsi foretrækkes frem for QST. Det er vigtigt at holde sig for øje, at udredning på mistanke om isoleret småfiberpolyneuropati ikke er relevant for patienter, der har symptomer og kliniske tegn på polyneuropati med påvirkning af tykke, myeliniserede nervefibre (nedsat muskelkraft, balanceproblemer, påvirkning af sensibilitet for let berøring, vibration eller ledstillingssans), selv om de har normale resultater af nerveledningsundersøgelse. Sensitiviteten af nerveledningsundersøgelse ved polyneuropati med påvirkning af tykke fibre er bl.a. afhængig af antallet af undersøgte nerver, og den øges desuden ved anvendelse af *near-nerve*-teknik, hvilket der er tradition for i Danmark. Endvidere vil man ved en standardnerveledningsundersøgelse ikke kunne afsløre polyneuropati med påvirkning af udelukkende den distale del af de tykke nervefibre.

### ÆTIOLOGISK UDREDNING OG BEHANDLING

Ud over at påvise årsagen til patientens symptomer, hvilket i sig selv kan have væsentlige psykologiske og socialmedicinske konsekvenser, giver diagnostik af småfiberpolyneuropati anledning til yderligere undersøgelser mhp. at udrede for tilgrundliggende, eventuelt systemisk sygdom (**Tabel 1**). I nogle tilfælde er der tale om sygdomme, hvor polyneuropatien vil progrediere og senere også inddrage myeliniserede nervefibre, mens der i andre tilfælde vil være tale om en specifik småfiberpolyneuropati. Til den første gruppe hører prædiabetisk og diabetisk polyneuropati [20, 21]. Til den anden gruppe hører sarkoidose [22] og Sjögrens syndrom [23]. Småfiberpolyneuropati er fundet hos

**FIGUR 2**

Foreslået strategi ved udredning af småfiberpolyneuropati.



a) Symptomer og fund kan have en generaliseret eller pletvis udbredelse.

 **TABEL 1**
**Udvalgte årsager til småfiberpolyneuropati (modificeret efter [1]).****Metaboliske**

Diabetes mellitus, *impaired glucose tolerance*, kronisk nyresvigt, hyperlipidæmi, hypothyroidisme

**Toksiske**

Alkoholoverforbrug, lægemidler: nitrofurantoin, flecainid, metronidazol, bortezomib, antivirale lægemidler, B<sub>6</sub>-vitamin

**Immunmedierede**

Sarkoidose, Sjögrens syndrom, cøliaki, inflammatorisk tarmsygdom, paraneoplastisk syndrom, systemisk lupus erythematosus, vaskulitis, amyloidose

**Genetiske**

Familær amyloidose, Fabrys sygdom, Tangiers sygdom, Friedreichs ataksi, aritidære sensoriske og autonome neuropatier, Na<sub>v</sub> 1.7-, Na<sub>v</sub> 1.8- eller Na<sub>v</sub> 1.9-mutation, erytromelalgi, hæmokromatose

nogle patienter, som er blevet diagnosticeret med *restless legs syndrome* og fibromyalgi [24-26]. Hos mindst 25% af patienterne påvises der dog ingen årsag trods omfattende udredning. Under alle omstændigheder betyder påvisningen af en læsion af det perifere nervesystem, at relevante smerter kan klassificeres som værende neuropatiske, hvilket har betydning for valget af smertebehandling [27].

**KONKLUSION**

Afhængigt af bl.a. ætiologi og udviklingsgraden af sygdomsprocessen påvirkes tynde, tykke eller begge typer af nervefibre ved polyneuropati. Ved klinisk mistanke om polyneuropati og normale resultater af nerveledningsundersøgelse må man derfor overveje at supplere med undersøgelser for småfiberpolyneuropati. Hvis mistanken bekræftes, er der grundlag for udredning for tilgrundliggende, muligvis behandlingskrævende, årsag og mulighed for målrettet symptomatisk behandling af eventuelle neuropatiske smerter.

**SUMMARY**

Thomas Krøigård, Pall Karlsson, Nanna Brix Finnerup, Søren Hein Sindrup & Troels Staehelin Jensen:

Skin biopsy and quantitative sensory testing can contribute to small fibre neuropathy diagnostics

Ugeskr Læger 2016;178:V02160134

Nerve conduction studies are normal in small fibre neuropathy and special methods such as skin biopsies or quantitative sensory testing are required for diagnosis. In skin biopsies, nerve fibres are stained immunohistochemically and loss of distal nerve endings can be quantified directly. Assessment of thermal detection thresholds is used to evaluate the function of the sensory thermal pathways,

but cannot discriminate between central and peripheral lesions. Small fibre neuropathy is often associated with potentially treatable diseases and treatment of neuropathic pain may be required.

**KORRESPONDANCE:** Thomas Krøigård. E-mail: Thomas.Kroigard@rsyd.dk

**ANTAGET:** 26. april 2016

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 20. juni 2016

**INTERESSEKONFLIKTER:** Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

**TAKSIGELSE:** Tilblivelsen af denne artikel er delvis støttet af International Diabetic Neuropathy Consortium (IDNC), der har modtaget støtte fra Novo Nordisk Foundation Challenge Programme (grant number NNF14SA0006).

**LITTERATUR**

1. Hoelmakers JG, Faber CG, Lauria G et al. Small-fibre neuropathies – advances in diagnosis, pathophysiology and management. *Nat Rev Neurol* 2012;8:369-79.
2. Devigili G, Tugnoli V, Penza P et al. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain* 2008;131:1912-25.
3. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. *Eur J Neurol* 2010;17:903-12.
4. Lauria G, Bakkens M, Schmitz C et al. Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study. *J Peripher Nerv Syst* 2010;15:202-7.
5. Rolke R, Magerl W, Campbell KA et al. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. *Eur J Pain* 2006;10:77-88.
6. Magerl W, Krumova EK, Baron R et al. Reference data for quantitative sensory testing (QST): refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data. *Pain* 2010;151:598-605.
7. Demant DT, Lund K, Vollert J et al. The effect of oxcarbazepine in peripheral neuropathic pain depends on pain phenotype: a randomised, double-blind, placebo-controlled phenotype-stratified study. *Pain* 2014;155:2263-73.
8. Backonja MM, Attal N, Baron R et al. Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus. *Pain* 2013;154:1807-19.
9. Medici C, Barraza G, Castillo CD et al. Disturbed sensory perception of changes in thermoalgesic stimuli in patients with small fibre neuropathies. *Pain* 2013;154:2100-7.
10. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F et al. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76:521-42.
11. Tavakoli M, Malik RA. Corneal confocal microscopy: a novel non-invasive technique to quantify small fibre pathology in peripheral neuropathies. *J Vis Exp* 2011;pii:2194.
12. Petropoulos IN, Manzoor T, Morgan P et al. Repeatability of in vivo corneal confocal microscopy to quantify corneal nerve morphology. *Cornea* 2013;32:e83-9.
13. Atherton DD, Facer P, Roberts KM et al. Use of the novel Contact Heat Evoked Potential Stimulator (CHEPS) for the assessment of small fibre neuropathy: correlations with skin flare responses and intra-epidermal nerve fibre counts. *BMC Neurol* 2007;7:21.
14. Caselli A, Spallone V, Marfia GA et al. Validation of the nerve axon reflex for the assessment of small nerve fibre dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77:927-32.
15. Ponirakis G, Petropoulos IN, Fadavi H et al. The diagnostic accuracy of Neuropad for assessing large and small fibre neuropathy. *Diabet Med* 2014;31:1673-80.
16. Low PA. Testing of the autonomic nervous system. *Semin Neurol* 2003;23:407-21.
17. Løseth S, Lindal S, Stålberg E et al. Intraepidermal nerve fibre density, quantitative sensory testing and nerve conduction studies in a patient material with symptoms and signs of sensory polyneuropathy. *Eur J Neurol* 2006;13:105-11.
18. Løseth S, Stålberg E, Jorde R et al. Early diabetic neuropathy: thermal thresholds and intraepidermal nerve fibre density in patients with normal nerve conduction studies. *J Neurol* 2008;255:1197-202.
19. Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care* 2010;33:2285-93.
20. Divisova S, Vlckova E, Hnojckova M et al. Prediabetes/early diabetes-associated neuropathy predominantly involves sensory small fibres. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17:341-50.
21. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Belobradkova J et al. Small-fibre involvement in diabetic patients with neuropathic foot pain. *Diabet Med* 2008;25:692-9.
22. Hoitsma E, Drent M, Verstraete E et al. Abnormal warm and cold sensation thresholds suggestive of small-fibre neuropathy in sarcoidosis. *Clin Neurophysiol* 2003;114:2326-33.

23. Chai J, Herrmann DN, Stanton M et al. Painfull small-fiber neuropathy in Sjogren syndrome. *Neurology* 2005;65:925-7.
24. Bachmann CG, Rolke R, Scheidt U et al. Thermal hypoaesthesia differentiates secondary restless legs syndrome associated with small fibre neuropathy from primary restless legs syndrome. *Brain* 2010; 133:762-70.
25. Oaklander AL, Herzog ZD, Downs HM et al. Objective evidence that small-fiber polyneuropathy underlies some illnesses currently labeled as fibromyalgia. *Pain* 2013;154:2310-6.
26. Üceyler N, Zeller D, Kahn AK et al. Small fibre pathology in patients with fibromyalgia syndrome. *Brain* 2013;136:1857-67.
27. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2015;14:162-73.