

**MASARYKOVA UNIVERZITA
Lékařská fakulta**

MUDr. Eva Vlčková (roz. Moravcová)

**NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN:
KOMPLEXNÍ DIAGNOSTIKA A ETIOLOGIE**

Disertační práce k získání vědecké hodnosti Ph.D.

Vědní obor: Neurologie 5103V032

Školitel: prof. MUDr. Josef Bednařík, CSc.

Školící pracoviště: Neurologická klinika LF MU a FN Brno

Brno 2010

OBSAH:

I. PŘEHLED PROBLEMATIKY

1. Úvod
2. Definice neuropatie tenkých vláken a neuropatické bolesti
 - 2.1. Neuropatie tenkých vláken
 - 2.2. Neuropatická bolest
3. Anatomicko-patofyziologický podklad neuropatie tenkých vláken a neuropatické bolesti
 - 3.1. Anatomický podklad neuropatie tenkých vláken
 - 3.2. Poznámky k patofyziologii neuropatické bolesti u periferních neuropatií
 - 3.2.1. Experimentální modely neuropatické bolesti
 - 3.2.2. Periferně neurogenní mechanismy rozvoje neuropatické bolesti
 - 3.2.3. Vliv centrální senzitivace
 - 3.2.4. Role imunitního systému v patofyziologii neuropatické bolesti
4. Vztah k jiným typům polyneuropatií
5. Klinický obraz
 - 5.1. Senzitivní symptomy
 - 5.2. Autonomní symptomy
 - 5.3. Objektivní klinický nález
6. Diagnostické metody
 - 6.1. Klinické škály a dotazníky
 - 6.2. Kvantitativní testování senzitivity
 - 6.3. Kvantitativní testování autonomních funkcí
 - 6.3.1. Variabilita srdeční frekvence
 - 6.3.1.1. Ewingovy testy
 - 6.3.1.2. Spektrální analýza variability srdeční frekvence
 - 6.3.2. Sudomotorické testy
 - 6.3.2.1. Sympatická kožní odpověď.
 - 6.3.2.2. Další metody testování sudomotorických funkcí
 - 6.4. Kožní biopsie
 - 6.4.1. Inervace epidermis
 - 6.4.2. Historie diagnostického využití kožní biopsie v neurologii
 - 6.4.3. Metodika odběru, zpracování vzorku
 - 6.4.3.1. Způsoby odběru kožního vzorku
 - 6.4.3.2. Lokalizace odběru

6.4.3.3. Histologické zpracování a barvení vzorku

6.4.3.4. Hodnocení preparátů: volba konvenční nebo konfokální mikroskopie, rozsah vyšetření

6.4.4. Diagnostické parametry kožní biopsie

6.4.4.1. Intraepidermální hustota tenkých nervových vláken

6.4.4.1.1. Nálezy kožní biopsie ve vztahu k vyšetřované lokalitě

6.4.4.1.2. Vliv fyziologických proměnných na hodnoty IENFD

6.4.4.1.3. Normativní data intraepidermální inervace

6.4.4.1.4. Diagnostická validita metodiky

6.4.4.2. Méně obvyklé parametry kožní biopsie

6.4.4.2.1. Predegenerativní změny

6.4.4.2.2. Hustota subepidermálního nervového plexu

6.4.4.2.3. Změny tloušťky epidermis

6.4.5. Nálezy kožních biopsií u různých diagnostických jednotek

6.4.5.1. Diabetická neuropatie

6.4.5.2. Idiopatická neuropatie tenkých vláken

6.4.5.3. Méně obvyklé diagnostické jednotky

6.4.6. Další perspektivy kožní biopsie v diagnostice bolestivých neuropatií

6.4.6.1. Vanilloinový receptor

6.4.6.2. Hodnocení regenerace nervových vláken

7. Etiologie neuropatie tenkých vláken

7.1. Onemocnění bez jednoznačné genetické vazby

7.2. Hereditární neuropatie

7.3. Další geneticky podmíněná onemocnění, manifestující se vedle dalších příznaků charakteristicky také polyneuropatií

8. Literatura

II. KOMENTOVANÝ SOUBOR VLASTNÍCH PRACÍ

III. SEZNAM VLASTNÍ LITERATURY

IV. SOUHRN

V. POUŽITÉ ZKRATKY

VI. PODĚKOVÁNÍ

I. PŘEHLED PROBLEMATIKY

1. ÚVOD

Periferní neuropatie mohou v různé míře postihovat různé typy nervových vláken (Tabulka 1). Typ postižených nervových vláken pak určuje objektivní klinický obraz neuropatie, subjektivní symptomatiku a diagnostické metody, využitelné k její detekci.

Neuropatie tenkých nervových vláken („small fiber neuropathy” – SFN) je jedním z podtypů polyneuropatie, postihujícím predilekčně či výhradně tenká, málo myelinizovaná a nemyelinizovaná nervová vlákna typu A-delta a C (Tabulka 1) (Stewart et al., 1992, Lacomis, 2002).

Oproti jiným typům polyneuropatií má toto onemocnění částečně odlišný klinický obraz, vyžaduje užití specifických diagnostických metod a může mít i odlišné spektrum etiologických faktorů (Neuromuscular Home Page, Lacomis, 2002). Z uvedených důvodů bývá obvykle jako samostatná diagnostická jednotka vydělována ze spektra ostatních polyneuropatií. Jedná se o postižení v klinické praxi dosti časté, s intenzivními, pacienty výrazně obtěžujícími subjektivními symptomy. Dominantním subjektivním symptomem SFN je periferní neuropatická bolest, proto se tato jednotka významně překrývá s bolestivými neuropatiemi. Diagnostický přínos rutinních elektrofyziologických metod je však při výhradním postižení tenkých nervových vláken limitovaný a změny v objektivním neurologickém nálezů postihují pouze modality, které bývají při klinickém vyšetření často opomíjeny a jejichž postižení je hůře objektivizovatelné (bolest, termické čítí). Existence polyneuropatie, postihující výhradně tenká nervová vlákna, navíc není významné části odborné (a pochopitelně ani laické) veřejnosti známa. Z těchto důvodů je toto onemocnění v běžné praxi obtížně diagnostikovatelné a v současnosti pravděpodobně značně poddiagnostikované.

Cílem projektu bylo proto zavedení nových diagnostických metod umožňujících detekci postižení tenkých nervových vláken do klinické praxe v ČR, zhodnocení významu jednotlivých metod pro diagnostiku SFN a stanovení spektra nejčastějších rizikových faktorů, vedoucích ke vzniku tohoto typu postižení.

TABULKA 1: KLASIFIKACE PERIFERNÍCH NERVOVÝCH VLÁKEN PODLE JEJICH PRŮMĚRU, STUPNĚ MYELINIZACE A RYCHLOSTI VEDENÍ VZRUCHU.

TYP KLASIFIKACE		PRŮMĚR, RYCHLOST VEDENÍ	FUNKCE VLÁKEN
ALFABETICKÁ	NUMERICKÁ*		
<i>A-alfa</i>	Ia Ib	12-20 μm 70-120 m/s	eferentní – volní inervace extrafuzálních svalových vláken aferentní - propiocepce ze svalových vřetének aferentní - propiocepce ze šlachových tělísek
A-beta <i>A-gama</i>	II	5-12 μm 30-70 m/s	aferentní - dotyk, tlak <i>eferentní – inervace</i> <i>intrafuzálních svalových</i> <i>vláken</i>
A-delta	III	2-5 μm 12-30 m/s	aferentní - chlad, bolest
<i>B</i>		3 μm 5-15 m/s	<i>eferentní – pregangliová</i> <i>autonomní vlákna</i>
C <i>C</i>	IV	0,5-1 μm 0,5 – 2,5 m/s	aferentní - teplo, bolest <i>eferentní – postgangliová</i> <i>autonomní vlákna</i>

* Numerická klasifikace je určena pouze pro aferentní vlákna

Aferentní senzitivní vlákna jsou označena **tučně**, *eferentní vlákna kurzívou*.

Převzato z Bednařík J. Senzitivní systém. In: Ambler Z, Bednařík J, Růžička E. Klinická neurologie. I. Část obecná. Praha: Triton, 2004:167-198.

2. DEFINICE NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN A NEUROPATICKÉ BOLESTI

2.1. NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN

Neuropatie tenkých vláken je samostatným subtypem polyneuropatie, postihujícím predilekčně či výhradně málo myelinizovaná a nemyelinizovaná tenká nervová vlákna. V rámci „neuropatie tenkých vláken“ dochází k postižení jak somatických (senzitivních), tak autonomních vláken nebo k jejich kombinaci (Novak et al., 2001, McManis et al., 1994). Stewart (Stewart et al., 1992) definoval neuropatii tenkých vláken jako periferní neuropatii se známkami dysfunkce tenkých vláken v klinickém neurologickém nálezu, manifestující se paresteziemi (resp. pozitivními senzitivními symptomy), které jsou typicky bolestivé (příčemž podle dnešní definice jsou parestezie typicky nebolestivé na rozdíl od dalších typů pozitivních senzitivních symptomů, tedy dysestezií a bolestí, takže v uvedené definici by podle aktuálně užívané terminologie byl vhodnější spíše termín „dysesteziemi“). Zmíněná nejčastěji užívaná Stewartova definice SFN připouští alteraci vibračního cití na palcích nohou a/nebo absenci reflexu Achilovy šlachy. Výraznější známky dysfunkce silných vláken (např. alterace propriocepce na palcích, změny pallestezie v oblasti kotníků či proximálněji, distální svalová slabost či atrofie, generalizovaná areflexie nebo abnormální nález v kondukčních studiích periferních nervů či jehlové EMG) diagnózu neuropatie tenkých vláken vylučují.

Problémem uvedené definice je m.j. skutečnost, že část pacientů s klinickými a současně elektrofyziologickými nebo histologickými známkami polyneuropatie tenkých nervových vláken má zcela normální nález v klinickém neurologickém vyšetření (viz níže – část Objektivní neurologický nález). Pro klinické účely se proto jako výhodnější jeví používání Lacomisovy modifikace uvedené definice (Lacomis, 2002), která neuropatii tenkých vláken definuje jako senzitivní neuropatii, klinicky se manifestující paresteziemi, které jsou typicky bolestivé (resp. dle aktuálního názvosloví spíše „dysesteziemi“ –viz výše), a současně dysfunkcí tenkých nervových vláken prokazatelnou nejméně jednou z následujících metod: 1. klinickým neurologickým vyšetřením, 2. specializovanými elektrofyziologickými testy nebo 3. histopatologickým vyšetřením, a to při zachování vylučujících kritérií SFN dle Stewarta.

Pro experimentální účely lze s pomocí této definice SFN dále klasifikovat jako možnou (s abnormitou prokazatelnou pouze jedním ze tří uvedených metod verifikujících diagnózu), pravděpodobnou (s abnormálním nálezem na dvou z uvedených metod) a jistou (s postižením tenkých vláken prokazatelným pomocí všech tří zmíněných vyšetření). Tento způsob klasifikace využíváme i pro účely našich publikací (Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a).

2.2. NEUROPATICKÁ BOLEST

Bolest může být výrazným či dominujícím klinickým příznakem řady polyneuropatií (zejména v případě významného či výhradního postižení tenkých nervových vláken) i dalších onemocnění periferního i centrálního nervového systému. Podle epidemiologických studií dosahuje prevalence neuropatické bolesti kolem 8 % populace (Torrance et al., 2006, Bouhassira et al., 2008).

V obecné rovině je neuropatická bolest definována jako bolest, vznikající důsledkem léze nebo nemoci postihující somatosenzitivní nervový systém (Treede et al., 2008). Tato současná definice tak aktualizuje původně užívané vymezení neuropatické bolesti jako bolesti vyvolané či způsobené lézí či dysfunkcí nervového systému (podle definice International Association for the Study of Pain – Merskey a Bogduk, 1994).

Neuropatická bolest se patofyziologicky, klinicky i z hlediska potenciálního terapeutického ovlivnění se významně liší od bolesti nociceptivní (jejímž generátorem je primárně poškození neneuronálních tkání) a na rozdíl od ní nevyžaduje stimulaci nocisenzorů, i když jejich současná stimulace může bolest zdůrazňovat.

3. ANATOMICKO-PATOFYZIOLOGICKÝ PODKLAD NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN A NEUROPATICKÉ BOLESTI

3.1. ANATOMICKÝ PODKLAD NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN

SFN postihuje somatická a případně i autonomní nervová vlákna typu A-delta, B a C. Nemyelinizovaná vlákna typu C o průměru 0,5-1 μm vedou rychlostí nižší než 2 m/s a zprostředkují percepci tepla a bolesti evokované teplem, některými chemickými podněty či tlakem. K typu C dále patří postgangliová autonomní nervová vlákna, zatímco pregangliová vegetativní vlákna jsou málo myelinizovaná typu B o průměru kolem 3 μm a rychlosti vedení kolem 5-15 m/s. Nízce myelinizovaná vlákna typu A-delta mají průměr 2-5 μm a rychlost vedení okolo 12-30 m/s a zprostředkují vnímání chladu a hrají určitou roli v kožní nocicepci (Bednařík, 2004, Lawson, 2005) (Tabulka 1).

V případě somatických vláken se jedná o výběžky pseudounipolárních primárních senzitivních neuronů, jejichž těla jsou uložena v gangliích zadních míšních kořenů. Periferní výběžky těchto neuronů probíhají ve smíšených senzitivně-motorických a kožních senzitivních nervech a končí v kůži jako tzv. volná nervová zakončení.

Pregangliová autonomní vlákna jsou axony neuronů uložených v nucleu intermediolaterales míšní šedi (C8-L3 sympatická, S2-4 parasympatická) či v některých jádrech mozkového kmene (parasympatická) a jsou přepojována na vlákna postganglionární v para- či prevertebrálních sympatických gangliích nebo v parasympatických gangliích umístěných v blízkosti cílových orgánů či přímo v jejich stěně.

Dle patologických studií je v somatických periferních nervech významně vyšší počet tenkých nervových vláken ve srovnání s vlákny silnými. Nemyelinizovaná vlákna tak ve většině periferních nervů převažují nad vlákny myelinizovanými v poměru 3-4:1, podle některých autorů dokonce 8:1 (Griffin et al., 2001, Ochoa, 1978). Asi 32-45 % myelinizovaných vláken navíc představují tenká vlákna typu A-delta (Ochoa, 1978).

3.2. POZNÁMKY K PATOFYZIOLOGII NEUROPATICKÉ BOLESTI U PERIFERNÍCH NEUROPATIÍ

Bolest může vzniknout při postižení na některé z mnoha úrovní periferního i centrálního nervového systému, přičemž podmínkou jejího rozvoje je, že primární léze, vedoucí k jejímu vzniku, musí přímo postihovat nociceptivní nervové dráhy (Boivie et al., 1989). Nejčastějším generátorem bolesti je tak postižení málo myelinizovaných a nemyelinizovaných tenkých nervových vláken typu A δ a C a/nebo léze spino-thalamo-kortikální dráhy. Překvapivě však výše uvedené pravidlo neplatí i naopak, takže ne všechny léze, postihující nociceptivní

nervové dráhy, vedou automaticky ke vzniku neuropatické bolesti (bolest se tak často nevyskytuje např. u lézí zadních kořenů, lemniskálního systému vč. zadních provazců, ani při postižení kortikálním) (Campbel a Meyer, 2006).

Ve skupině polyneuropatií se neuropatickou bolestí manifestují nejčastěji neuropatie při metabolických chorobách (např. diabetu mellitu (Dyck et al., 1993), amyloidóze (Wang et al., 2008), dyslipidemiích (McManis et al., 1994, Hughes et al., 2004, Bednařík et al., 2009), chronickém abusu alkoholu (Koike et al., 2001, Bednařík et al., 2009), infekčních onemocněních (např. AIDS (McArthur et al., 2000)), Fabryho chorobě (MacDermot et al., 2001), Guillainově-Barrého syndromu (Martinez et al., 2010), vaskulitidách, některých paraproteinemiích a dále u pacientů s hereditární senzitivní a autonomní neuropatií (Pareyson, 2003) a idiopatickou bolestivou neuropatií (Gorson a Ropper, 1995, Holland et al., 1997, Periquet et al., 1999, Lacomis, 2002), tedy u polyneuropatií se známým výrazným, ev. dominujícím či výhradním postižením tenkých nervových vláken.

Mechanismy vzniku neuropatické bolesti nejsou dosud zcela přesně známy a zřejmě se do určité míry liší mezi jednotlivými diagnostickými jednotkami manifestujícími se neuropatickou bolestí (zásadní rozdíly jsou tak např. mezi bolestí periferní a centrální, které je nutno z patofyziologického hlediska důsledně odlišovat). Důležitým mechanismem je pravděpodobně periferní senzitivace se zvýšením excitability nociceptorů jako takových. Prokázána je také centrální senzitivace vyvolaná zejména změnami v oblasti zadního rohu míšního, která může být zvýšenou elektickou aktivitou periferních nociceptorů dále podněcována.

3.2.1. EXPERIMENTÁLNÍ MODELŮ NEUROPATICKÉ BOLESTI

Zásadní poznatky o patofyziologii neuropatické bolesti jsou získávány z modelů periferně neurogenních lézí u experimentálních zvířat. Nejčastěji jde o modely částečného poranění nervu, vyvolaného mechanickou traumatizací nebo ligaturou některé části periferního nervu nebo kořene, vedoucí optimálně k postižení pouze některých (ale nikoli všech) aferentních vláken z oblasti nohy (která je využívána pro další behaviorální, patologické ev. elektrofyziologické testování). Existuje několik jasně definovaných modelů takového poranění, mezi nejužívanější patří chronický útlak n. ischiadicus (tzv. „chronic constriction injury“) pomocí 4 chromovaných ligatur, nasazených těsně na příslušný nerv v různých místech jeho průběhu, kdy imunitní odpověď na použité ligatury vyvolá otok a útlak n. ischiadicus s poškozením části aferentních vláken (Bennett a Xie, 1988, Wang a Wang, 2003). Dalším užívaným modelem je částečné podvázání n. ischiadicus (tzv. „partial sciatic nerve

ligation model“) (Seltzer et al., 1990), kdy je podvázána pouze část n. ischiadicus (cca ½ tloušťky nervu) vysoko v jeho průběhu, či podvázání míšního nervu (tzv. „spinal nerve ligation model“), kdy je jeden či více míšních nervů (nejčastěji L5 nebo L6) podvázán, ev. přetát v oblasti distálně od ganglia zadního kořene (Kim a Chung, 1992, Wang a Wang, 2003). U všech zmíněných modelů dochází k rozvoji dlouhodobých behaviorálních známek spontánní bolesti, hyperalgezie a alodynie.

Méně je využíván model kompletního přetětí n. ischiadicus (tzv. „sciatic nerve transection model“, „neuroma model“), protože při tomto modelu nedochází k rozvoji alodynie a hyperalgezie a nelze jej validně použít ani pro tzv. behaviorální testování, kdy je hodnocen např. tzv. „hind paw withdrawal threshold“ a/nebo „hind paw withdrawal latency“, tedy intenzita podnětu či doba jeho aplikace, které vedou u vyšetřovaného zvířete k elevaci částečně denervované končetiny, na níž je předpokládán rozvoj neuropatické bolesti, což je považováno za analogii algického prahu u experimentálních zvířat. Vyšetřovaná zvířata navíc po tomto typu zákroku jeví autoagresivní, resp. automutilující tendence vůči denervované končetině (tzv. „autotomy“) a využití tohoto modelu je proto sporné i z etického hlediska (Wang a Wang, 2003).

Každý ze zmíněných typů traumatické léze periferního nervového systému u experimentálních zvířat pak prokazatelně vyvolává změny aktivity nejen ve vlastních traumatizovaných nervových vláknech, ale také v okolních intaktních neporaněných nervových strukturách (včetně nociceptorů inervujících oblasti v sousedství degenerovaných nervových vláken) (Wu et al., 2001) stejně jako v centrálním nervovém systému včetně descendentních drah a následně i autoimunitní odpověď v centrálním i periferním nervovém systému a svědčí tak pro komplexní změny, k nimž v organismu v rámci rozvoje neuropatické bolesti dochází. Při interpretaci experimentálních studií je však vždy nutno zohlednit skutečnost, že sice jde o obecně přijímané experimentálními modely neuropatické bolesti, ale od typické bolesti při periferních neuropatiích v humánní medicíně se do určité míry liší (je zde např. daleko častější alodynie a hyperalgezie, než je obvyklé v humánní medicíně, humánní neuropatie také často nebývají důsledkem akutního jasně definovaného inzultu, ale chronických, dlouhodobě probíhajících a pozvolna progredujících změn, což může zásadně ovlivňovat angažované patofyziologické mechanismy). Nálezy je dále nutno interpretovat i s ohledem na skutečnost, že v úvodu pokusu prodělá každé ze zvířat operační zákrok, který sám o sobě může vést k řadě systémových změn (zejména v oblasti imunologických markerů) aniž by tyto změny byly podmíněny rozvojem neuropatické bolesti. Design většiny experimentálních studií proto zahrnuje i tzv. „sham operated animals“, tedy zvířata, u nichž je

proveden operační zákrok v identické oblasti, ale bez přetětí či podvazu příslušného nervu a tato zvířata (nikoli tedy zvířata neoperovaná) jsou pak brána jako kontrolní „normální“ soubor. Alternativou takového postupu je provedení zmíněné „sham“ operace na kontralaterální končetině zvířete, u něhož je druhostranně současně provedena klasická operace vedoucí k unilaterálnímu rozvoji neuropatické bolesti v rámci některého z výše popsaných modelů.

Pro specifický výzkum diabetické neuropatie je nejčastěji využíván model, při kterém je diabetes u experimentálních zvířat indukován streptozocinem. Již ojedinělá intraperitoneální injekce streptozocinu je dostačující k vyvolání významného zániku buněk Langerhansových ostrůvků, produkujících inzulin, a vede k dlouhodobé termické a mechanické hyperalgezií a alodynii, indukované chladovými či tepelnými podněty (Courteix et al., 1993). Méně často jsou pak využívány geneticky modifikované kmeny myši s inzulinovou rezistencí či deficitem inzulinové produkce.

Existuje i řada dalších experimentálních modelů, využívaných pro výzkum např. neuropatií toxických (indukovaných cis-platinou či taxolem), hereditárních, postinfekčních (imitujících např. postherpetickou neuralgii u humánních subjektů) a dalších. Jejich detailní popis však přesahuje rámec tohoto sdělení.

3.2.2. PERIFERNĚ NEUROGENNÍ MECHANISMY ROZVOJE NEUROPATICKÉ BOLESTI

V patofyziologii vzniku a pravděpodobně i udržování neuropatické bolesti u periferních neuropatií se jednoznačně významně podílí změny periferního nervového systému a to především (ale nejen) v místě, poškozeném vlastním inzultem, vedoucím k rozvoji periferní neuropatické bolesti. Řada studií prokazuje jednoznačně význam přetrvávajících signálů z periferního nervového systému pro vznik a udržování neuropatické bolesti. Zjevným zdrojem takových signálů jsou pochopitelně iniciálním inzultem (např. traumatem) postižená nervová vlákna a řada studií skutečně prokazuje významné změny těchto struktur, podporující hypotézu o jejich roli v patofyziologii bolesti.

Farmakologické studie s preparáty, blokujícími či aktivujícími některé receptory, vyskytující se výhradně v periferním (a nikoli centrálním) nervovém systému (např. kanabinoidní receptor CB2 nebo tetrodotoxin rezistentní sodíkový kanál Na_v 1,8, který je exprimován především na malých senzitivních neuronech) prokazují na animálních modelech ovlivnění rozvoje neuropatické bolesti, resp. vymizení jejích příznaků. Efekt těchto periferně působících látek je patrný i v případě, že jsou podány v době již rozvinuté neuropatické bolesti (6-14 dní po primárním nervovém poranění), což svědčí pro klíčový význam přetrvávajících signálů z

periferního nervového systému v udržování neuropatické bolesti vzniklé v souvislosti s lézí periferních nervů (např. Ibrahim et al., 2003, Porreca et al., 1999). Řada studií tak podporuje hypotézu, že podkladem spontánní bolesti jsou pravděpodobně abnormální výboje v aferentních nervových drahách, přičemž struktury, poškozené v rámci primární léze, vedoucí k rozvoji neuropatické bolesti jsou zjevným (ale zřejmě nikoli jediným) zdrojem takových výbojů. Tyto struktury vykazují významné změny funkce sodíkových kanálů, které jsou pravděpodobně zdrojem výbojů spontánní aktivity, klinicky se projevující jako záchvatovité bolesti. Napětově řízené sodíkové kanály jsou proto stále perspektivním cílem pro výzkum farmakologického ovlivnění neuropatické bolesti a klinické zkušenosti s již známými látkami, působícími na tento typ kanálů (např. antikonvulzivy karbamazepinem, fenytoinem či lamotriginem), prokazují jejich výrazný efekt ve zmírnění neuropatické bolesti.

Význam poraněných aferentních vláken v rozvoji neuropatické bolesti dále podporují výsledky studií prokazujících, že aplikace lokálních anestetik do místa poraněného nervu vede k významnému zmírnění bolesti a jejich aplikace do oblasti ganglia kořene L5 u experimentálních zvířat s modelem podvázání míšního nervu L5 vede k významnému zmírnění, resp. vymizení behaviorálních změn, svědčících pro neuropatickou bolest (Sukhotinsky et al., 2004).

I přes pravděpodobný význam přetrvávající aferentace z poraněných nervových struktur pro rozvoj neuropatické bolesti je však situace zřejmě složitější. Další studie totiž prokazují, signály z poškozeného nervu nejsou podmínkou rozvoje hyperalgie. Přetětí zadního kořene L5 bezprostředně před nebo ihned po ligatuře spinálního nervu L5 nezabránilo rozvoji neuropatické bolesti (Li et al., 2000, Eschenfelder et al., 2000). Naopak, přetětí zadního kořene může samo o sobě vyvolat hyperalgiu vůči mechanickým podnětům (Eschenfelder et al., 2000). Hyperalgie se tak může rozvinout i při absenci aferentace, resp. aktivity nervových vláken v poraněném nervu (Li et al., 2000).

Na vzniku neuropatické bolesti se naopak mohou podílet i změny v intaktních nociceptorech, inervujících identickou oblast, jako poškozené struktury. Experimentální studie prokazují výrazné fenotypové změny na tělech neuronů takových intaktních nociceptorů v oblasti ganglií zadního kořene a také spontánní výboje těchto nociceptorů (sice nízkofrekvenční, ale vyskytující se cca v polovině intaktních nervových vláken typu C v dané oblasti), které mohou vyvolat spontánní bolest a přispívat ke vzniku hyperalgie (Wu et al., 2001).

V souladu s touto hypotézou může arteficiální nízkofrekvenční stimulace C vláken vyvolat hyperalgezií v inervované oblasti u lidí i experimentálních zvířat.

Na intaktních nociceptorech z inervační oblasti poraněného nervu dochází také k senzitivaci vůči adrenergním stimulům (která pravděpodobně hraje roli m.j. v patofyziologii bolesti při komplexním regionálním bolestivém syndromu) či tumor nekrotizující faktor α („tumor necrosis factor“ – TNF α) (Hudson et al., 2001). V neuronech intaktních nociceptorů v oblasti ganglií zadních kořenů pak byla prokázána zvýšená exprese $TRPV1$ („transient receptor potential V1“, kationtový kanál s předpokládanou rolí v patofyziologii neuropatické bolesti – viz dále) (Fukuoka et al., 1998), TRPA1 („transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1“, iontový kanál, zúčastněný v percepci chladu a bolesti) (Fukuoka et al., 1998), „brain-derived neurotrophic factor“ a mRNA pro CGRP („calcitonine gene related peptide“) (Fukuoka et al., 1998). Změny exprese zmíněných proteinů a zejména iontových kanálů (TRPV a TRPA) vedou k senzitivaci intaktních nervových vláken např. prostřednictvím změn parametrů akčních potenciálů (kdy konstantní podnět vyvolá vyšší akční potenciál nebo je snížen práh pro jeho generování) (Hudson et al., 2001) a k rozvoji hyperalgezie na různé typy podnětů.

Popsané změny intaktních nociceptorů lze pravděpodobně přičíst především působení trofických faktorů, uvolňovaných z částečně denervovaných tkání, např. kůže (kde působí prostřednictvím příslušných receptorů na periferních nervových zakončeních) či denervovaných Schwannových buněk, z ganglií zadních kořenů a ze zadních rohů míšních. Změny působení trofických faktorů pak mají vliv jak na traumatem postižená, tak i na intaktní nervová vlákna. Přerušovaná nervová vlákna ztrácí vlivem ztráty konektivity s periferními tkáněmi i ovlivnění trofickými faktory. Jako nejvýznamnější v indukcii signálních mechanismů bolesti v postižených nervových vláknech se jeví absence nervového faktoru derivovaného z gliových buněk („glial cell line-derived neurotrophic factor“) (Boucher a McMahon, 2001). Naopak zvýšená exprese trofických faktorů (zejména nervového růstového faktoru – „nerve growing factor“ - NGF) v denervované tkáni hyperzásobuje zbývající intaktní nervová vlákna a vede k výše popsaným změnám.

Průkaz role změn původním traumatem nepostižených nociceptorů v rozvoji neuropatické bolesti pak vysvětluje známou klinickou zkušenost, že ke zmírnění neuropatické bolesti dochází po lokální aplikaci některých látek (capsaicin, lidokain) transdermálně, přičemž tato lokální léčba působí pouze na „intaktní“, traumatem nepostižená nervová vlákna (Campbell a

Meyer, 2006). Obdobné výsledky prokazují i experimentální modely, při nichž podání mifebranilu (blokátoru kalciových kanálů T-typu) nebo antagonistů glutamátových receptorů lokálně do oblasti nohy vede k vymizení hyperalgezie při aplikaci ipsilaterální, zatímco kontralaterální aplikace je bez efektu a tedy nejde o systémové působení zmíněných preparátů či o jejich vliv na proximálněji lokalizované nervové struktury, zúčastnění v patofyziologii bolesti (Dogrul et al., 2000, 2003).

3.2.3 VLIV CENTRÁLNÍ SENZITIZACE

Významnou roli v rozvoji neuropatické bolesti a zejména hyperalgezie a alodynii hraje však také centrální nervový systém, resp. jeho senzitivace (LaMotte et al., 1991), přičemž většina experimentálních prací prokazujících mechanismy centrální senzitivace je zaměřena na oblast zadních míšních rohů, i když změny mohou probíhat i rostrálněji v průběhu nociceptivních drah (spinothalamické dráhy, thalamus, kortex).

Řada mechanismů centrální senzitivace u neuropatické bolesti je podobných jako u bolesti nociceptivní. Pacienti s neuropatickou bolestí mají bolest a hyperalgezi v oblasti významně přesahující inervační oblast poškozeného nervu. Obdobně lze u nociceptivní bolesti prokázat oblast takzvané sekundární hyperalgezie, která je podstatně širší než je vlastní místo poranění. Dominujícím klinickým příznakem v této oblasti je mechanická alodynii, jejímž podkladem je podle řady nálezů experimentálních prací na animálních modelech i zdravých dobrovolnících pravděpodobně centrální senzitivace. Pro udržování zóny sekundární hyperalgezie u modelů nociceptivní bolesti je nezbytná přetrvávající nociceptivní aferentace z postiženého místa, protože po jejím vyřazení sekundární hyperalgezie bezprostředně vymizí (LaMotte et al., 1991). O podobné závislosti na přetrvávající aferentaci se spekuluje i u některých symptomů v rámci bolesti neuropatické, ale tato oblast vyžaduje další detailní výzkum.

Centrální senzitivace zahrnuje homo – i heterosynaptické mechanismy. Principem homosynaptické senzitivace je zvýšení odpovědi buněk zadního rohu míšního na nociceptivní stimuly následkem opakované stimulace nociceptorů. Tento fenomén (označovaný jako „wind-up“) je pouze krátkodobý a je zřejmě podkladem hyperalgezie. Příkladem heterosynaptické senzitivace je vliv aktivovaných nociceptorů na změny synapsí A- β mechanoreceptorů, které pak taktilním aferentním drahám umožňují aktivovat signální neurony centrální bolesti a vyvolat tak algickou percepci. Heterosynaptické mechanismy tak obvykle vedou k alodynii.

Podkladem homo i heterosynaptické senzitivace je především uvolňování excitačních neurotransmiterů a zvýšení synaptické aktivity a to na pre- i postsynaptické úrovni a dále na úrovni interneuronů a změn descendentní modulace, přičemž existují důkazy, že v rozvoji neuropatické bolesti hraje roli každá ze zmíněných úrovní.

Na presynaptické úrovni vyvolává periferně neurogenní trauma upregulaci α -2- δ podjednotek napětově řízených kalciových kanálů na neuronech ganglií zadních kořenů a na míšní úrovni (Li et al., 2004), což může vyvolat zvýšený influx kalcia a zvýšené uvolňování glutamátu na centrálním zakončení primárních senzitivních neuronů. Účinek gabapentinu a pregabalínu v léčbě neuropatické bolesti je přitom založen především právě na selektivní vazbě na tuto podjednotku a blokáde její funkce (Freynhagen et al., 2005), což vede k redukci hyperalgezie na animálních modelech, aniž by přitom byla zřetelně ovlivněna normální (t.j. nepatologická) percepce bolesti. Tyto nálezy tak podporují předpokládanou roli α -2- δ podjednotek napětově řízených kalciových kanálů v patofyziologii neuropatické bolesti.

Další změnou, prokazatelně vyvolanou traumatem periferních nervů, je fenotypová přeměna A- β vláken, která začnou exprimovat substanci P (Noguchi et al., 1994), takže stimulace těchto vláken pak následně prostřednictvím uvolňování substance P opět přispívá k senzitivaci v oblasti zadního míšního rohu.

Na postsynaptické úrovni dochází k aktivaci glutamátových receptorů AMPA a NMDA (pojmenovaných podle agonistů α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionátu a N-methyl D-aspartátu se selektivní afinitou vůči příslušným typům receptorů, ale nikoli vůči ostatním glutamátovým receptorům) (Yoshimura a Yonehara, 2006). Aktivace druhého z jmenovaných receptorů vyžaduje kromě vazby agonisty (za fyziologických podmínek obvykle glutamátu) také současnou depolarizaci membrány, vyvolanou substancí P a dalšími peptidy. Oba receptory jsou iontovými kanály, jejichž otevření vede k influxu kalcia s následným komplexním intracelulárním působením v neuronech zadních rohů míšních.

Vyřazení jedné z podjednotek NMDA receptoru prostřednictvím genetické modifikace experimentálních zvířat odstraní hyperalgezií bez vlivu na normální percepci bolesti (South et al., 2003), což podporuje jejich význam v patofyziologii neuropatické bolesti. Význam AMPA receptorů pak podporují nálezy jejich zvýšeného přesunu k povrchu neuronu a jejich zvýšené exprese v oblasti zadního rohu míšního po traumatické lézi míšního nervu (Harris et al., 1996).

Řada studií prokazuje také změny na úrovni interneuronů, které hrají klíčovou roli v regulaci senzitivity neuronů zadních rohů míšních (Gu et al., 1996). Po nervovém poranění je prokázána snížená exprese inhibičních receptorů na centrálních zakončeních primárních

senzitivních neuronů i na postsynaptických neuronech (Kohno et al., 2005) a výsledná desinhibice je pravděpodobně jedním z centrálních mechanismů vedoucích k senzitivizaci. Dalším dosud ne zcela objasněným jevem na úrovni interneuronů je selektivní apoptóza GABAergních inhibičních interneuronů v důsledku poranění periferních nervů (Moore et al., 2002). Tento jev je pozoruhodný zejména z hlediska potenciálních terapeutických možností neuropatické bolesti, protože ztráta inhibičních neuronů přetrvává i po vymizení primární aferentace, takže zde bolest přestává být přímo závislá na probíhající aferentaci z periferních nervů a stává se centralizovanou, což snižuje potenciální terapeutické možnosti preparátů ovlivňujících periferní nervový systém.

Signifikantní změny vyvolané experimentálním poraněním periferních nervů jsou prokazovány také na úrovni descendentních mechanismů, modulujících senzitivizaci v oblasti zadních rohů míšních. Klíčovou roli v rámci descendentní modulace hraje pravděpodobně rostrální ventromediální mícha, v níž se sbíhá aferentace z kortexu, thalamu a periaqueduktální šedi, tedy centrálních struktur, zúčastněných v percepci bolesti. Rostrální vebtromediální mícha pak vysílá descendentní excitační i inhibiční modulační signály pro oblast ipsilaterálních zadních rohů míšních. Selektivní ovlivnění těchto drah prostřednictvím hemisekce míšni (Bian et al., 1998), mikroinjekcemi lidokainu (Burgess et al., 2002) či dalšími mechanismy nebrání preventivně vzniku neuropatické bolesti, ale (je-li provedeno u již rozvinuté neuropatické bolesti) vede k eliminaci hyperalgezie indukované traumatem periferních nervů (Burgess et al., 2002). Uvedené nálezy tak podporují patofyziologický význam descendentních modulačních drah v udržování (ale zřejmě nikoli při vzniku) periferní neuropatické bolesti.

Poslední úroveň s prokazatelnou rolí v patofyziologii periferní neuropatické bolesti jsou supraspinální mechanismy, jejichž studium je aktuálně velmi se rozvíjející a perspektivní oblastí výzkumu neuropatické bolesti, především díky expanzi a narůstajícím možnostem funkční magnetické rezonance. Tyto studie prokazují význam supraspinálních mechanismů zejména v patofyziologii alodynies a hyperalgezie. Experimentální studie, hodnotící nálezy funkční magnetické rezonance před a po vzniku hyperalgezie, prokazují při taktilní stimulaci kůže v oblasti sekundární hyperalgezie zvýšenou aktivaci oblastí centrálního nervového systému, známých svým zapojením do percepcie bolesti (Maihöfner et al., 2004). Je ale obtížné rozhodnout, zda jde o pasivní změny nebo o známku funkční plasticity centrálního nervového systému v reakci na experimentální trauma. U pacientů s rozvinutou neuropatickou bolestí prokazuje funkční magnetická rezonance v reakci na bolestivě vnímanou taktilní stimulaci aktivaci komplexní sítě kortikálních center včetně nociceptivních, motorických i

kognitivních oblastí (Maihöfner et al., 2006). Perspektivní je také možnost funkční magnetické rezonance objektivizovat percepci u daného pacienta.

3.2.4. ROLE IMUNITNÍHO SYSTÉMU V PATOFYZIOLOGII NEUROPATICKÉ BOLESTI

Řada studií také jasně prokazuje roli periferně i centrálně působících imunitních mechanismů a to nejen v patofyziologii bolesti vyvolané zánětlivými mechanismy (kde je taková souvislost zřejmá), ale i v rozvoji bolesti neuropatické (Marchand et al., 2005). Po poranění periferních nervových struktur dochází k infiltraci makrofágů (které jsou atrahovány „denervovanými“ Schwannovými buňkami prostřednictvím sekrece specifických cytokinů a chemokinů), aktivaci T-lymfocytů a elevaci exprese proinflamatorních cytokinů v poškozeném nervu.

Na molekulární úrovni moduluje proces rozvoje neuropatické bolesti roli řada cytokinů, chemokinů a neurotrofních faktorů, z nichž k nejvýznamnějším a nejlépe prozkoumaným patří IL-1, IL-6 a TNF- α , působící na nociceptorech prostřednictvím specifických imunoreceptorů. Experimentální blokáda funkce zmíněných cytokinů, ať již u geneticky modifikovaných „knockout“ myši, které neexprimují receptor pro IL-1 (Wolf et al., 2006) nebo u experimentálních zvířat po preventivním podání TNF inhibitoru etarneceptu (Sommer et al., 2001) a nebo po podání monoklonálních protilátek proti některému z uvedených cytokinů a ještě výrazněji proti oběma současně (Schäfers et al., 2001) či u kmenů krys s absencí T-lymfocytů (Moalem et al., 2004), vede u testovaných zvířat k významné redukci rozvoje hyperalgie po poranění periferního nervu. U posledního zmiňovaného modelu (Moalem et al., 2004) pak pasivní transfer T-lymfocytů typu 1 vyvolá naopak zvýšení hyperalgie na úroveň, pozorovanou běžně u zvířat s normální hladinou lymfocytů. Ve všech zmiňovaných případech je ovlivnění rozvoje bolesti pomocí imunitních mechanismů účinné pouze v případě, že intervence je provedena před nebo současně s iniciální traumatickou událostí, vedoucí k rozvoji neuropatie a bolesti, případně zcela bezprostředně po ní (nebo jde o geneticky podmíněné změny, které jsou pochopitelně také přítomny „preventivně“ před vznikem bolesti). Naopak pokud již bolest vznikne, je efekt intervencí modulujících imunitní mechanismy významně menší nebo spíše žádný (Sommer et al., 2001).

Obdobnou roli při vzniku neuropatické bolesti (ale již nikoli při jejím udržování) hrají vedle periferních imunitních mechanismů zřejmě i mechanismy centrální, jejichž význam podporuje stále větší počet publikovaných studií, i když jsou ještě velmi málo prozkoumané a často dosti nejasné. Poranění periferních nervů distálně od ganglií zadních kořenů vede k aktivaci

mikroglie (představující buňky analogické makrofágům v oblasti centrálního nervového systému) v zadním rohu míšním. Význam takové aktivace v patofyziologii neuropatické bolesti podporuje m.j. skutečnost, že poranění zadních míšních kořenů vyvolá významně menší aktivaci mikroglie a současně i signifikantně menší hyperalgezi než je pozorována při distálnějších typech léze, postihujících identický spinální nerv. Intratékální aplikace propentofylinu, selektivně inhibujícího aktivaci mikroglie, vede k rozvoji mírnější neuropatické bolesti jako následku traumatu periferního nervu než se rozvine u neléčených zvířat (Raghavendra et al., 2003). Způsob aktivace není zcela jasný, je pravděpodobně multifaktoriální a hrají v něm zřejmě roli ATP receptory P2X4 a P2X7 exprimované na mikroglie a dále chemokin fractalkin, protože blokáda jeho receptoru zmírňuje rozvoj hyperalgezie (Milligan et al., 2005). Aktivovaná mikroglie pak produkuje cytokiny IL-1 IL-6 a TNF α a dále oxid dusný, ATP, excitační aminokyseliny a prostaglandiny s komplexním vlivem na přilehlé neuronální i non-neuronální struktury, což pravděpodobně hraje klíčovou roli v iniciaci centrální senzitivace, vedoucí k rozvoji hyperalgezie ev. alodynii, zatímco role takovéto aktivace v patofyziologii spontánní bolesti je méně jednoznačná.

Molekulární mechanismy jsou tak aktuálně zřejmě jednou z nejperspektivnějších oblastí výzkumu patofyziologie neuropatické bolesti, na kterou je zaměřena pozornost zejména s ohledem na potenciální nové možnosti ovlivnění vzniku neuropatické bolesti cílenou intervencí v oblasti imunitních mechanismů, především bloádou či naopak simulací funkce některého ze zúčastněných mediátorů nebo intervencí na úrovni jeho signálních molekul.

4. VZTAH K JINÝM TYPŮM POLYNEUROPATIÍ

Tenká nervová vlákna mohou být u bolestivých neuropatií postižena izolovaně, v klinické praxi však častěji setkáváme s pacienty, kteří mají současně lehké, často pouze subklinické postižení vláken silných. Holland et al. (1997) našli ve skupině pacientů s bolestivou neuropatií a normálními šlachookostickovými reflexy (vyjma možné absence reflexu Achilovy šlachy) nízkou amplitudu či nevýbavnost senzitivního nervového akčního potenciálu („sensory nerve action potencial“ – SNAP) n. suralis (odrážející alteraci funkce silných nervových vláken typu A-beta) u 2/3 pacientů, zatímco u zbývajících 1/3 pacientů byly nálezy kondukčních studií zcela v normě a jednalo se tedy u jedince s izolovaným postižením tenkých nervových vláken. Obdobné výsledky poskytují i naše studie: ve skupině 30 diabetiků s bolestivou distální symetrickou neuropatií (Vlčková-Moravcová et al., 2008) splnili všichni pacienti diagnostická kritéria postižení tenkých nervových vláken, přičemž u 10 pacientů (1/3) bylo toto postižení kombinováno s elektromyograficky (EMG) a klinicky verifikovatelnou lézí vláken silných. V další práci (Vlčková-Moravcová et al., 2008a) jsme ve skupině 98 pacientů s bolestivou neuropatií a verifikovaným postižením tenkých nervových vláken prokázali současné postižení vláken silných u 41 pacienta (t.j. více než 2/5). V odborné literatuře není dosud exaktně definován rozsah současného postižení silných nervových vláken, který u pacientů s bolestivou neuropatií a klinicky dominujícím postižením vláken tenkých ještě připouští diagnózu SFN. Výše uvedené výsledky však naznačují, že neuropatie tenkých vláken není pravděpodobně izolovanou diagnostickou jednotkou, ale že jde o součást kontinuálního spektra neuropatií s přechodem od izolovaného postižení tenkých vláken (které může být – a pravděpodobně často bývá - iniciálním typem periferně neurogenní léze) přes smíšené formy s lézí tenkých i silných vláken (které je v klinické praxi u pacientů s bolestivou symetrickou polyneuropatií zřejmě nejčastější) až k formám postihujícím výhradně silná nervová vlákna. V souladu s nálezy výše zmíněných studií se proto jeví účelnější hovořit o bolestivé polyneuropatii postihující predilekčně (nebo výhradně) tenká (nebo silná) vlákna nebo postihující současně vlákna tenká i silná (spíše než pokoušet se definovat exaktní hranici mezi polyneuropatií tenkých vláken a neuropatiemi, postihujícími tenká i silná vlákna současně).

5. KLINICKÝ OBRAZ

5.1. SUBJEKTIVNÍ SENZITIVNÍ SYMPTOMY

Dominujícím klinickým příznakem dysfunkce tenkých nervových vláken jsou pozitivní senzitivní symptomy (parestezie, dysestezie, bolest) (Stewart et al., 1992, Lacomis, 2002).

Jako *parestezie* se označují abnormální senzitivní vjemy různého, ale nebolestivého charakteru (brnění, mrtvění, svědění, píchání), které vznikají spontánně nebo jsou vyvolané stimulem.

Dysestezie jsou rovněž spontánní nebo stimulem vyvolané pozitivní senzitivní vjemy, jsou však nemocným vnímány jako velmi nepříjemné až bolestivé.

Periferní neuropatická bolest je syndrom, zahrnující bolest spontánní (udávanou anamnesticky) nebo vyvolanou stimulací (tedy *alodynii* či *hyperalgezií*, detekovatelnou v rámci klinického vyšetření), kontinuální nebo intermitentní. Popisována bývá nejčastěji jako pálivá, případně jako bolestivý chlad (mrazení), lancinující bolest (ostrá řezavá nebo bodavá) a nebo elektrické výboje.

Obtíže jsou především klidové, objevují se spontánně zejména v nočních hodinách, kdy mohou interferovat se spánkem, obvykle přetrvávají delší dobu a mohou být spojeny se syndromem neklidných nohou (Lacomis, 2002, Polydefkis et al., 2000). Při chůzi může někdy docházet k jejich akcentaci.

Dalším často popisovaným typem obtíží jsou náhlé, velmi krátce trvající a mimořádně intenzivní bolesti, lokálně koncentrované do malého místa, nejčastěji na DKK (v anglosaské literatuře označované jako „lightning pains“, „sudden shock-like pains“, „ice-pick-like pains“). U části neuropatických pacientů může klinickému obrazu dominovat bolest vyvolaná stimulací, t.j. *alodynii* a *hyperalgezií*. *Alodynie* je bolest vyvolaná podnětem za běžných okolností nebolestivým. *Hyperalgezie* je pak zvýšená citlivost (resp. snížený práh bolesti) vůči bolestivým podnětům příslušné modalit (bolestivý podnět tak vyvolá bolest větší intenzity, než je obvyklé). *Alodynie* i *hyperalgezie* mohou být vyvolány různými typy podnětů (termické, mechanické), event. jejich kombinací, čemuž je nutno přizpůsobit i metodiku jejich vyšetření. *Alodynie* tak může být vyvolána teplem, chladem, lehkým manuálním tlakem (mechanická statická *alodynie*), lehkým pohybem např. smotku vaty po kůži (mechanická dynamická *alodynie*), resp. mírným píchutím pacienta např. silnějšími filamenti, která bolest obvykle nevyvolávají (mechanická bodová *alodynie*). *Hyperalgezie* je kromě termických modalit obvykle testována pouze mechanická bodová.

Distribuce senzitivních symptomů koreluje obvykle se vzorcem postižení senzitivních vláken v závislosti na délce („length-dependent“), při němž obtíže začínají distálně na končetinách a postupně se šíří proximálně. Deficit postihuje iniciálně akra DKK (prsty, plosky či nártý), později většinou dochází k progresi postižení ke kolenům, ev. i proximálněji, většinou však s přetrvávající akrální akcentací. Na horních končetinách se obtíže objevují méně často a většinou až při výraznějším postižení končetin dolních. Uvedený vzorec postižení je připisován Wallerově denegeraci postižených axonů („dying back degeneration“) (Said et al., 1983).

Vedle spontánně se vyskytujících senzitivních symptomů je u SFN významně zvýšen práh pro bolest provokovanou a dále práh citivosti pro tepelné podněty. Pacienti s alterací funkce tenkých nervových vláken proto často predisponují k vzniku nebolestivých poranění, která mohou vést ke vzniku vředů na DKK či Charcottomých kloubů. Hojení drobných poranění je dále zhoršováno trofickými změnami v postižené distribuci, k nimž přispívá také autonomní dysfunkce, často se vyskytující u pacientů s SFN (Quattrini et al., 2004).

Pro detailní popis, určení typu a případně kvantifikaci intenzity subjektivních senzitivních symptomů je u pacientů s bolestivou periferní neuropatií (včetně neuropatie tenkých vláken) možno využít specializované škály a dotazníky (viz oddíl Diagnostické metody).

5.2. AUTONOMNÍ SYMPTOMY

Nejčastějším symptomem autonomní dysfunkce u pacientů s poruchou funkce tenkých nervových vláken jsou změny potivosti (obvykle hypo- až anhidróza na DKK a kompenzační hyperhidróza v oblasti horní poloviny těla, zejména na trupu) (Novak et al., 2001). Změny kožní teploty a zabarvení, zarudnutí v obličeji a zvýšená suchost očí a úst se vyskytují u méně než poloviny pacientů s SFN (Novak et al., 2001). Až 40 % mužů s postižením tenkých nervových vláken trpí erektilní dysfunkcí (Novak et al., 2001, Stewart et al., 1992).

Ortostatická hypotenze a změny gastrointestinální motility se vyskytují méně často (Novak et al., 2001).

5.3. OBJEKTIVNÍ KLINICKÝ NÁLEZ

V objektivním klinickém neurologickém nálezu se vedle možných příznaků vegetativní dysfunkce vyskytuje pouze porucha percepce bolesti a termických podnětů, opět typicky s akrální akcentací, a to při intaktním nálezu proprioceptivních i exteroceptivních reflexů, normální svalové síle i trofice a zachované percepce ostatních senzitivních modalit (přípustná míra ev. koexistující dysfunkce silných nervových vláken byla diskutována výše). Přestože je

testování algického a termického cití obligátní součástí klinického neurologického vyšetření, je v klinické praxi často opomíjeno. Vzhledem ke zmíněnému normálnímu nálezu ostatních modalit klinického vyšetření tak neuropatie tenkých vláken zůstává bez doplnění dalších specializovaných vyšetřovacích metodik často nediodnostikována. U významné části pacientů jsou navíc abnormity objektivního neurologického nálezu pouze minimální nebo nejsou klinicky vůbec detekovatelné (Periquet et al., 1999), přestože alterace termického či algického cití v rámci klinického neurologického vyšetření je jedním z pilířů definice SFN, užívané pro účely vědeckých studií (Lacomis, 2002 – viz výše). V našem souboru pacientů s pozitivními senzitivními symptomy, abnormálním nálezem kvantitativního testování senzitivity („quantitative sensory testing“ - QST) a většinou i redukcí počtu intraepidermální inervace v kožní biopsii jsme objektivní klinické známky postižení tenkých senzitivních nervových vláken našli u 44 z 58 jedinců s izolovanou neuropatií tenkých vláken (76 %) (Vlčková-Moravcová et al., 2008a). Ve studii, mapující postižení tenkých nervových vláken u diabetiků s relevantními pozitivními senzitivními symptomy (a většinou také elevací termických prahů na QST a/nebo abnormitou kožní biopsie) byl objektivní klinický nález svědčící pro postižení tenkých nervových vláken prokázán u 20 z 30 testovaných subjektů (66 %) (Vlčková-Moravcová et al., 2008). Naše nálezy tak potvrzují skutečnost, že abnormita termického a/nebo algického cití nemusí být u významné části jedinců s neuropatií tenkých vláken při klinickém neurologickém vyšetření detekovatelná a podporují nutnost zařazení specializovaných metodik (QST, kožní biopsie, ev. autonomní testy) do diagnostického algoritmu periferních neuropatií.

6. DIAGNOSTICKÉ METODY NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN

Pokud nejsou současně postižena vlákna silná, vykazují pacienti s predilekčním postižením tenkých nervových vláken jen minimální abnormality při klinickém neurologickém vyšetření a normální nálezy kondukčních studií i jehlové EMG. V diagnostice SFN je tedy nutno použít specializované metody, umožňující objektivizaci funkčních a/nebo morfologických změn tenkých málo myelinizovaných a nemyelinizovaných vláken A-delta a C. Vedle validizovaných škál, detailně popisujících a kvantifikujících subjektivní senzitivní a/nebo autonomní symptomy, případně relevantní abnormality objektivního nálezu, se v diagnostice SFN uplatňuje především kvantitativní testování senzitivity („quantitative sensory testing“ – QST) s počítačem asistovaným stanovením termických („thermal threshold testing“ – TTT), ev. algických prahů (Yarnitski, 1997, Lacomis, 2002, Jamal et al., 1987, Dyck et al., 2005), hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken („intraepidermal nerve fiber density“ – IENFD), případně dalších parametrů z kožní biopsie (McCarthy et al., 1995, Levy et al., 1992, Kennedy et al., 2005). Nově se v diagnostickém algoritmu neuropatie tenkých vláken zejména typu A-delta uplatňují také dvě méně obvyklé modalities somatosenzorických evokovaných potenciálů a to LEPs (laserem evokované potenciály – „laser-evoked potentials“) (Kakigi et al., 1989) a CHEPs (evokované potenciály, vyvolané kontaktním teplem – „contact-heat evoked potentials“) (Chen et al., 2001). Obě metody jsou však náročné na přístrojové vybavení a nejsou prozatím v ČR užívány. Metody, vhodné pro testování funkce jednotlivých typů senzitivních nervových vláken jsou sumarizovány v tabulce 2. Pro testování funkce autonomních tenkých nervových vláken je dále možno využít např. sympatickou kožní odpověď („sympathetic skin response“ – SSR), kvantitativní sudomotorický test („quantitative sudomotor axon reflex test“ – QSART), nebo testování variability srdeční frekvence („heart rate variability“ = Ewingovy testy), kterou lze alternativně hodnotit prostřednictvím tzv. spektrální analýzy („spectral analysis of heart rate variability“ – SAHRV). Diagnostická validita testů autonomního nervového systému je však v průkazu SFN pravděpodobně nižší než validita QST a kožní biopsie, protože u části pacientů mohou být autonomní vlákna ušetřena a pacienti mohou vykazovat pouze postižení somatických (senzitivních) tenkých nervových vláken.

Obecně nejsou údaje o diagnostické validitě a reprodukovatelnosti většiny užívaných metod v publikovaných studiích jednotné (pokud vůbec byly publikovány). Obdobně je problémem dostupnost validních normativních dat pro řadu zmíněných testů, umožňujících jejich využití v klinickém hodnocení pacientů s neuropatií tenkých vláken. Tato problematika je proto řešena v části našich publikovaných prací (Moravcová a Bednařík, 2003, Moravcová et al.,

2005, Vlčková-Moravcová et al., 2008, Vlčková-Moravcová a Bednařík, 2009, Vlčková et al., 2010).

Každá ze zmíněných metod vykazuje určité limity a žádná nemá 100% senzitivitu a specifickost a dosud ani statut „zlatého standardu“ v diagnostice neuropatie tenkých vláken. Kvantitativní testování senzitivity je metoda funkční, psychofyzikální, závislá na vědomé spolupráci pacienta a jeho intaktních psychických funkcích a vyžaduje specializované přístrojové vybavení. Jedná se však o test zcela neinvazivní, pacienta nezatěžující a je možno jej bez omezení opakovat při sledování event. rozvoje onemocnění či dokumentaci případných změn postižení v jeho průběhu. Kožní biopsie je naopak metodika morfoloická, zcela objektivní, kvantitativní, ale do určité míry invazivní (i když jde o zákrok zcela minimální), nelze ji bez omezení provádět opakovaně a je závislá na erudici hodnotitelů a kvalitním histologickém zpracování vzorku.

V souladu s aktuálně užívanou definicí (Lacomis, 2002) považují proto autoři za nezbytné zařadit do diagnostického algoritmu neuropatie tenkých vláken větší počet užívaných metod. Jako optimální se jeví kombinace kvantitativního testování senzitivity (hodnotícího funkci tenkých vláken) s kožní biopsií (reflektující morfoloické změny u pacientů se SFN) a univerzálně dostupným klinickým neurologickým vyšetřením, v případě klinicky manifestní autonomní neuropatie či anamnestické přítomnosti některého z autonomních symptomů pak doplnění o některý z testů autonomních nervových funkcí.

Specifickou problematikou je pak diagnostika neuropatie tenkých vláken u pacientů vyššího věku, u nichž lze předpokládat určité limity řady užívaných diagnostických metod a ve většině případů i nutnost zohlednění věkově stratifikovaných normativních dat. Tato problematika je řešena v recentně publikované práci (Vlčková-Moravcová a Bednařík, 2009).

TABULKA 2. SUMARIZACE METOD TESTOVÁNÍ FUNKCE JEDNOTLIVÝCH TYPŮ NERVOVÝCH VLÁKEN

TYP VLÁKEN	MODALITA CITLIVOSTI	ZPŮSOB TESTOVÁNÍ		
		Jednoduché klinické testy	QST	Laboratorní testy
A β	Dotyk	Smotek vaty	Freyova filamenta	Kondukční studie senzitivních nervů, SEP
	Vibrace	Graduovaná ladička	Vibrometrie	
A δ	Bodnutí	Neuropen, špendlík	Algometrie	LEPs, CHEPs
	Chlad	Tip-therm, zkumavky	Termické testování	
C	Bolest (pálení)		Termické testování	Kožní biopsie
	Teplo	Zkumavky	Termické testování	

QST: kvantitativní testování senzitivity („quantitative sensory testing“)

LEPs: laserem evokované potenciály („laser evoked potentials“)

CHEPs: evokované potenciály vyvolatelné kontaktním teplem („contact-heat evoked potentials“)

Modifikováno z Cruccu G, Sommer C, Anand P, Attal N, Baron R, Garcia-Larrea L, Haanpaa M, Jensen TS, Serra J, Treede RD. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. Eur J Neurol 2010;17:1010-1018.

6.1. SPECIALIZOVANÉ ŠKÁLY A DOTAZNÍKY

Velmi jednoduchým diagnostickým nástrojem, který se však v poslední době stává stále častěji rutinní součástí diagnostického algoritmu řady neurologických (i neneurologických) klinických jednotek, jsou specializované škály a dotazníky. Cílem jejich použití je možnost získání standardizovaného, často částečně kvantifikovaného výstupu, využitelného zejména pro účely různých klinických studií lépe než běžné anamnestické a klinické vyšetření pacienta. Podmínkou používání jakékoli škály či dotazníku v klinické praxi je jejich standardizace (příčemž ne všechny rutinně užívané nástroje byly skutečně validizovány a standardizovány). V rámci standardizace dotazníkových nástrojů a škál je hodnocena nejen jejich validita (t.j. senzitivita a specifická nástroje v diagnostice konkrétní klinické jednotky) a reprodukovatelnost, ale také náročnost jejich provedení (např. časová, případně nutnost specializovaného vybavení či zácvičení osob, provádějících hodnocení). Při použití škál, původně vyvinutých pro jiné jazykové oblasti, je nutno převod do mateřského jazyka provést metodou zpětného překladu („forward-backward translation“) a po ustavení definitivní jazykové verze ověřit standardizaci dané jazykové modifikace.

V oblasti diagnostiky periferních neuropatií existuje řada různých škál a dotazníků, které umožňují nejen screening přítomnosti neuropatie či neuropatické bolesti, ale i kvantifikaci jejich tíže, stupně funkčního postižení, kvality života či intenzity a charakteru jednotlivých symptomů.

Mezi nejčastěji využívané nástroje v diagnostice neuropatie tenkých vláken (resp. bolestivých neuropatií obecně) patří jednoduché škály kvantifikující intenzitu subjektivních senzitivních obtíží. K takovým škálám patří např. vizuální analogová škála (kdy pacient přiřadí bolesti místo na 100 mm úsečce, jejíž začátek představuje žádnou bolest a konec nejhorší představitelnou bolest), numerické škály (např. Lickertova 11 bodová, kdy pacient přiřazuje bolesti hodnotu v rozsahu 0-10, kde 0 = žádná bolest, 10 = nejhorší představitelná bolest) nebo verbální škály (kdy pacient volí z výběru definovaných verbálních deskriptorů intenzity bolesti, kterým je přiřazena numerická hodnota, takže současně udávají stupeň nepříjemnosti bolesti). Příkladem posledního z jmenovaných typů je pětibodová Lickertova škála, kde 0 = žádná bolest, 1 = mírná bolest, 2 = středně silná bolest, 3 = silná bolest, 4 = extrémně silná bolest. Zmíněné vizuální, numerické či verbální škály mohou být užívány samy o sobě, nebo jsou pro hodnocení intenzity bolesti či dalších symptomů využívány v rámci komplexnějších screeningových dotazníkových testů, hodnotících neuropatickou bolest či bolest obecně (viz dále).

Hodnocení změny klinického stavu (např. v časovém průběhu či v návaznosti na terapii) pak lze provést buďto srovnáním aktuální hodnoty zmíněných škál s původní hodnotou před posuzovaným časovým obdobím či před zahájením terapie nebo lze pro tento účel opět využít některou z Likertových škál. Užívány jsou nejčastěji škála pětibodová (např. s deskriptory změny typu: výrazné zlepšení – zlepšení – beze změn – zhoršení – výrazné zhoršení), sedmibodová (s hodnocením změny na úrovni výrazné – střední – mírné zlepšení – beze změn – mírné – střední – výrazné horšení) nebo patnáctibodová (kdy pacient přiřadí změně číselnou hodnotu v rozmezí od -7 = velmi výrazné zhoršení přes 0 = žádná změna po +7 = velmi výrazné zlepšení).

Validnějším nástrojem, umožňujícím nejen odhad intenzity bolesti, ale i její detailní deskripci a/nebo popis dalších klinických obtíží a anamnesticky uváděných příznaků a v některých případech („Brief Pain Inventory“, „PainDETECT“ apod.) i specifikaci jejich anatomické distribuce, jsou komplexnější dotazníky, jako např McGillův dotazník bolesti („McGill pain questionnaire“ – Melzack, 1975), „Gracely Pain Scale“ (Gracely et al., 1978), „Brief Pain Inventory“ (BPI – Cleeland, 1991), „Michigan Neuropathy Screening Instrument“ – část I (MNSI I– Feldman et al., 1994), „Neuropathic Pain Scale“ (Galer a Jensen, 1997), „Pain Quality Assessment Scale“ (Jensen et al., 2006), „The LANSS Pain Scale: the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs“ (Bennett, 2001, Bennett et al., 2005), „Neuropathic Pain Questionnaire“ (Krause a Backonja, 2003) a jeho zkrácená verze (Backonja a Krause, 2003), „Neuropathic Pain Symptom Inventory“ (Bouhassira et al., 2004), „DN 4“ (Bouhassira et al., 2005), „ID Pain“ (Portenoy, 2006) či „Pain Detect“ (Freynhagen et al., 2006).

Část jmenovaných dotazníků (Bennett, 2001, Bennett et al., 2005, Krause a Backonja, 2003, Backonja a Krause, 2003, Bouhassira et al., 2004, 2005, Portenoy, 2006, Freynhagen et al., 2006) byla v posledních letech cíleně vyvinuta jako screeningové testy za účelem rychlé a objektivní identifikace neuropatické bolesti na podkladě přítomnosti jejích typických deskriptorů (v některých případech v kombinaci s jednoduchým klinickým testováním) a vykazují vysokou a vzájemně srovnatelnou validitu v diskriminaci neuropatické a nociceptivní bolesti (Bennett et al., 2007). Tyto dotazníky pak mají vysokou senzitivitu i v diagnostice neuropatie tenkých vláken (což např. pro MNSI I potvrzují i výsledky našich studií – Vlčková-Moravcová et al., 2008a). Žádný z těchto testů však nebyl validován v českém jazyce.

Některé z těchto dotazníků (např. „Neuropathic Pain Questionnaire“, „Neuropathic Pain Scale“, „Pain Quality Assessment Scale“, „Neuropathic Pain Symptom Inventory“, „Brief Pain Inventory“ či jeho zkrácená verze, „PainDetect“) využívá některé z výše zmíněných jednoduchých kvantitativních škál (např. vizuální analogovou škálu, numerické škály) jako součást dotazníku, umožňující posouzení intenzity jednotlivých charakteristik bolesti či dalších hodnocených symptomů. Tyto škály tak kombinují výhodu obou přístupů – tedy jak popis přítomnosti různých typů symptomů (zprostředkovaný většinou komplexnějších dotazníků), tak také možnost kvantifikace jejich intenzity (poskytovanou jednoduchými kvantitativními škálami).

Další skupina užívaných dotazníků obsahuje kromě hodnocení senzitivních symptomů také zhodnocení dalších subjektivních obtíží pacienta, např. se zaměřením na svalovou slabost v různých svalových skupinách či známky autonomní dysfunkce. Jedná se např. o „Neuropathy Symptom Score“ (Dyck et al., 1980), užívaný původně i v našich studiích, či „Neuropathy Symptom Profile“ (Dyck et al., 1986). Tyto dotazníky jsou však více zaměřeny na detekci příznaků postižení silných nervových vláken a v diagnostice neuropatie tenkých vláken tak nejsou dostatečně senzitivní (Vlčková-Moravcová et al., 2008a).

Některé dotazníky, zaměřených na detekci neuropatické bolesti (např. DN4, MNSI) obsahují doplňkovou část, zařazující do diagnostiky jednoduché prvky klinického vyšetření (např. reflex achilovy šlachy, vibrační cití nebo trofické změny na akrech DKK v případě MNSI či klinickým vyšetřením detekovatelný výskyt hypestezie nebo naopak alodynies v distribuci popisovaných spontánních bolestí u DN4), které zpřesňují diagnostický výstup anamnestické části dotazníku a zvyšují jeho validitu v diagnostice periferní neuropatie, resp. v diskriminaci neuropatické a nociceptivní bolesti (i když v případě MNSI je toto zpřesnění zaměřeno spíše na detekci postižení silných nervových vláken, takže pro diagnostiku neuropatie tenkých vláken není v případě MNSI tato druhá část dotazníku přínosná (Vlčková-Moravcová et al., 2008)).

Tyto dotazníky tak představují určitý přechod k poslední skupině užívaných škál, které jsou zaměřeny na klinický neurologický nálezu u testovaného jedince a umožňují tak kvantifikovaně vyjádřit míru objektivního klinického postižení (přičemž jejich výstupem je často nejen sumární výsledek, skorující kompletní neurologický nálezu, ale i určitá sub-skóre, hodnotící např. zvláště deficit v senzitivní oblasti a v oblasti motorické). Nejčastěji

používanou komplexní klasifikací klinických nálezů je „Total Neuropathy Score“ (Cornblath et al., 1999) nebo „Neuropathy Disability Score“ (Dyck et al., 1980). Druhý z jmenovaných dotazníků byl použit i v naší studii. Oba dotazníky však nejsou vyvinuty primárně pro diagnostiku bolestivých neuropatií, jsou zaměřeny především na známky motorické dysfunkce a senzitivního deficitu, zprostředkovaného silnými nervovými vlákny, a naopak nereflektují podstatě dysfunkci tenkých nervových vláken, takže jejich využitelnost v diagnostice bolestivých neuropatií je velmi limitovaná a senzitivita nízká (jak potvrzují i nálezy našich studií – Vlčková-Moravcová et al., 2008a).

Nejvyšší validitu v diagnostice převážně senzitivních neuropatií tak z klinicky zaměřených škál vykazuje pro tento účel cíleně vyvinutá „Utah Early Neuropathy Scale“ (UENS) (Singleton et al., 2008), v rámci které jsou hodnoceny reflexy Achilovy šlachy, extenze palce nohy, vibrace a propiocepce na palci nohy, přítomnost alodynies a hyperalgezie a vyšetření algického čítí pomocí špendlíku v různých oblastech DKK. Jednotlivé zmíněné položky mají různou váhu a na výsledném skóre se nejvýznamněji podílí poslední z nich (tedy vyšetření algického čítí špendlíkem), která představuje více než polovinu bodů z možného maximálního skóre 42 bodů, přičemž platí, že čím je toto skóre vyšší, tím je vyšší počet abnormit klinického nálezu u daného pacienta. Hodnota UENS u zcela zdravého jedince s normálním klinickým neurologickým nálezem tak bude 0, pacient s izolovaným postižením tenkých nervových vláken může dosáhnout až hodnoty 26 bodů a 16 bodů, zbývajících do maximálního možného skóre pak odráží míru postižení silných vláken (s tím, že polovinu z tohoto počtu představuje hodnocení senzitivních modalit, tj. vibračního čítí a propiocepce, zatímco alterace reflexu Achilovy šlachy a oslabení svalové síly palce při dorzální flexi jako jediný svalový test celé škály se na celkovém výsledku podílejí dohromady pouze osmi body).

Právě skutečnost, že většina klinicky zaměřených škál nezohledňuje míru postižení tenkých nervových vláken pak zřejmě vede některé autory zaměřené na tuto problematiku k vytváření vlastních kvantifikačních škál, umožňujících alespoň orientační rozdělení pacientů s neuropatií predilekčně postihující tenká nervová vlákna do podskupin podle závažnosti objektivního klinického postižení. Např. Holland et al. (1997) tak užívají vlastní čtyřstupňovou klasifikaci neuropatie tenkých vláken („small-fiber sensory neuropathy grade“), založenou na anatomické distribuci abnormálního čítí pro teplo a bolest vyvolanou píchnutím špendlíkem. Stupeň 0 odpovídá zdravým kontrolám s intaktním termickým i algickým čítím. Pacienti u nichž je porucha vnímání uvedených modalit omezena pouze na

oblast nohou jsou zařazeni do stupně 1. U pacientů na stupni 2 se senzitivní abnormalita vyskytuje i v proximálnějších oblastech DKK při intaktní termické a algické citivosti na HKK. Pokud senzitivní deficit postihuje horní i dolní končetiny, je jedinec zařazen do stupně 3.

6.2. KVANTITATIVNÍ TESTOVÁNÍ SENZITIVITY

Počítačem asistované kvantitativní testování senzitivity („quantitative sensory testing“ – QST) je skupina psychofyzikálních metod, umožňujících kvantitativní hodnocení percepce řady senzitivních modalit (Yarnitsky a Sprecher, 1994, Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005).

V rámci diagnostického algoritmu neuropatie tenkých vláken je nejčastěji testována citivost pro teplo a chlad (tento test bývá samostatně označován jako testování termického prahu – „thermal threshold testing“ – TTT) (Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005), případně bolest vyvolaná obvykle termickými podněty. Testovat však lze samozřejmě i řadu dalších senzitivních modalit (např. vibrace, lehký dotyk, vnímání elektrického proudu, jejichž percepce je ale zprostředkována silnými a nikoli tenkými nervovými vlákny, případně bolest, evokovanou jinými než tepelnými modalitami).

Nejčastěji hodnoceným parametrem je práh citivosti (Yarnitsky a Sprecher, 1994, Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005), tj. nejnižší intenzita podnětu testované modality, kterou je vyšetřovaný subjekt již schopen percipovat. Dále lze testovat práh pro bolest, vyvolanou danou senzitivní modalitou (tj. nejnižší intenzita podnětu, kterou již vyšetřovaný subjekt vnímá jako bolestivou). V rámci nadprahového testování je také možné hodnotit vnímání intenzity podnětu (kterou testovaný subjekt označuje pomocí vizuální analogové, verbální algické či Likertovy škály, kdy nejnižší hodnota znamená absenci podnětu a nejvyšší označuje nejintenzivnější představitelný podnět), případně nejmenší rozdíl mezi dvěma podněty stejné modality, při němž jsou již tyto podněty vnímány jako odlišné (tzv. „just noticeable differences“) (Yarnitsky a Sprecher, 1994, Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005). Většina zmíněných nadprahových metod včetně hodnocení algických prahů je však zatížena větší variabilitou – a tedy horší reprodukovatelností – než testování prahu citivosti a je užívána méně často a spíše v oblasti výzkumu než v běžné klinické praxi.

Pro stanovení senzitivního prahu lze použít řadu různých algoritmů (Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005, Moravcová a Bednařík, 2003), které se odlišují způsobem, jakým je práh stanoven. Protože výška prahu, stanoveného různými algoritmy, se u konkrétního jedince může do určité míry lišit, je při hodnocení nálezů QST nutné zohlednit typ použitého algoritmu a výsledky srovnat s příslušnými věkově stratifikovanými normativními daty (Moravcová a Bednařík, 2003, Yarnitsky a Sprecher, 1994).

Kvantitativní testování senzitivity (včetně TTT) je neinvazivní, senzitivní a reprodukovatelný test (Yarnitsky a Sprecher, 1994, Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005, Moravcová a Bednařík, 2005), který je standardní součástí diagnostického algoritmu periferních neuropatií a zejména neuropatie tenkých vláken. Vzhledem ke skutečnosti, že jde o test psychofyzikální, mohou být

výsledky negativně ovlivněny únavou, stresem a dalšími psychickými faktory (a při klinickém podezření na takové potenciální zkreslení nálezu je vhodné výsledky nezohledňovat a test s odstupem zopakovat). Test vyžaduje soustředění a spolupráci pacienta, které jsou během vyšetřování testovány (Yarnitsky, 1997, Dyck et al., 2005, Moravcová a Bednařík, 2003), a nelze jej proto provádět u nespolupracujících subjektů, u pacientů s poruchou vědomí, pozornosti či výrazným kognitivním deficitem. Při interpretaci je také nutno zohlednit skutečnost, že test nemá přesnou topizační hodnotu, odráží činnost celé aferentní senzitivní dráhy a může tak být ovlivněn postižením kdekoli v jejím průběhu v oblasti periferního i centrálního nervového systému.

Počítačem asistované stanovení termického prahu bylo na v rámci České republiky jako diagnostická metodika zavedeno poprvé na Neurologické klinice LF MU a FN Brno v průběhu let 1990-2000 a naše pracoviště je dosud jediným z mála pracovišť v ČR, kde se tato metodika rutinně provádí v oblasti výzkumných projektů i v klinické praxi. Detailní popis způsobu testování i použitých algoritmů, stejně jako doporučení pro jejich výběr a příslušná normativní data i hodnocení reprodukovatelnosti jednotlivých typů algoritmů byly opakovaně prezentovány a publikovány (Moravcová a Bednařík, 2003, Moravcová et al., 2005).

Podle většiny publikovaných studií koreluje uspokojivě přítomnost QST (resp. TTT) abnormality s přítomností bolestivé neuropatie (Holland et al., 1997, Novak et al., 2001, Periquet et al., 1999, Vlčková-Moravcová et al., 2008, 2008a), senzitivita metodiky v diagnostice neuropatie tenkých vláken je považována za uspokojivou (Lacomis, 2002, Dyck et al., 2005) a QST je obligátní součástí diagnostického algoritmu bolestivých neuropatií (Lacomis, 2002, Dyck et al., 2005).

Většina autorů se naopak shoduje na chybějící korelaci mezi tíží QST abnormality (zejména výškou senzitivního prahu) a průměrnou hustotou intraepidermálních nervových vláken („intraepidermal nerve fiber“ – IENFs) v oblasti lýtky či klinicky detekovatelným rozsahem senzitivního deficitu pro teplo a algické podněty (Holland et al., 1997, Levy et al., 1992). Možným vysvětlením absence korelace mezi QST a IENFD je skutečnost, že zatímco kožní biopsie odráží změny morfologické, QST hodnotí změny funkční, přičemž oba typy změn nemusejí vzájemně korelovat (a změna funkce nervových vláken může předcházet rozvoji morfologicky detekovatelných změn). Na diskrepanci nálezů TTT a kožních biopsií se dále může podílet odlišná anatomická lokalizace obou vyšetření. Testování termického prahu se provádí distálněji, tj. na noze v oblasti nártu, zatímco vzorek kůže k vyšetření denzity IENFs

je odebírán podstatně proximálněji, nejčastěji v oblasti 10 cm nad zevním kotníkem (viz níže). Distálnější odběr kožní biopsie není doporučován vzhledem k pravděpodobné traumatizaci takového místa odběru obuví a možným poruchám hojení u pacientů s distální polyneuropatií, zejména diabetickou. V souhrnu je tedy pravděpodobné, že TTT zachytí i lehčí abnormality u pacientů s predilekčně distálním či prozatím pouze funkčním postižením tenkých nervových vláken, u nichž je v kožní biopsii nález normální či je zde pouze minimální patologie. Zmíněné diagnostické metody jsou však v každém případě komplementární a je velmi vhodné zařadit do vyšetřovacího algoritmu neuropatie tenkých vláken oba testy, protože u části jedinců s bolestivou neuropatií je možné prokázat abnormalitu pouze jednou z nich, což nezpochybňuje diagnózu neuropatie tenkých vláken (Lacomis, 2002, Holland et al., 1997, Vlčková-Moravcová et al., 2008, 2008a). Rozdíl mezi klinickým rozsahem senzitivního deficitu a tíží QST abnormality pak také není překvapivý, protože anatomický rozsah postižení nemusí v obecné rovině korelovat s jeho tíží.

6.3. KVANTITATIVNÍ TESTOVÁNÍ AUTONOMNÍCH FUNKCÍ

6.3.1. KARDIOVASKULÁRNÍ AUTONOMNÍ TESTY (HODNOCENÍ VARIABILITY SRDEČNÍ FREKVENCE)

Nejvýznamnějším, resp. nejčastěji hodnoceným parametrem, odrážejícím vliv autonomních nervových funkcí na kardiovaskulární systém, je variabilita srdeční frekvence (Ewing a Clarke, 1986, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). Pro její testování byly klasicky využívány metody, hodnotící variabilitu pomocí tzv. časové analýzy (Ewingovy testy – Ewing a Clarke, 1986), nověji lze tento parametr analyzovat i takzvanou analýzou frekvenční (v rámci spektrální analýzy variability srdeční frekvence („spectral analysis of heart rate variability“ – SAHRV) (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996)). Podkladem metodiky - bez ohledu na typ analýzy, použitý k jejímu hodnocení - je skutečnost, že srdeční frekvence (obdobně jako další biologické parametry - např. krevní tlak) vykazuje při hodnocení v delších časových úsecích fyziologickou variabilitu, která se mění při dysfunkci autonomního nervového systému. Testování lze provádět v klidových podmínkách (vleže, při spontánním dýchání) nebo při aktivaci s použitím standardizovaných zkoušek se známým vlivem na aktivitu autonomního nervového systému, jako jsou např. hluboké dýchání, Valsalvův manévr, statický zátěžový test („handgrip“) a zejména aktivní vertikalizace (tzv. ortostatická zkouška), resp. ortoklinostatický test (zkouška leh-stoj-leh) (Ewing a Clarke, 1982, 1986, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996, Consensus committee, 1996)

Nevýhodou metodiky je skutečnost, že variabilita srdeční frekvence je významně ovlivněna řadou patologických stavů, farmakologických vlivů i fyziologických proměnných a nálezy tak mohou být zkresleny např. medikací některého z řady běžně užívaných interních či kardiologických preparátů s chronotropním efektem (např. dioxin, betablokátory apod.), stejně jako výraznější aktuální psychickou zátěží a dalšími fyziologickými i patologickými proměnnými.

6.3.1.1. Časová analýza variability srdeční frekvence (Ewingovy testy)

Hodnocení variability srdeční frekvence časovou analýzou je široce dostupný, relativně nenáročný test, jehož provedení umožňuje i většina běžně dostupných EMG přístrojů. Hodnocena bývá řada parametrů (Ewing a Clarke, 1986, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996), jako např. směrodatná odchylka hodnot srdeční frekvence (tj. odmocnina z rozptylu hodnot srdeční frekvence, zaznamenávané v určitém časovém úseku – např. 5 minut) nebo koeficient její variability (vypočtený jako směrodatná odchylka dělená

hodnotou průměrného R-R intervalu – tento parametr je považován za vhodnější, protože minimalizuje vliv srdeční frekvence na hodnotu směrodatné odchylky). Zřejmě nejvalidnější z užívaných parametrů je označován jako „root-mean-square of successive differences“ (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996) a vypočítává se jako odmocnina průměru čtverců rozdílů mezi jednotlivými RR intervaly. Tento parametr není závislý na srdeční frekvenci a odráží zejména parasympatické autonomní funkce (i když v obecné rovině se na modulaci srdeční frekvence a tedy i na nálezech většiny zmíněných parametrů podílí jak složka parasympatická, tak i složka sympatická).

Z aktivačních manévrů jsou pak nejčastěji užívány Valsalvův manévr, hluboké dýchání a reakce na aktivní postavení (Ewing a Clarke, 1982, Consensus Committee, 1996), přičemž k hodnocení každého ze zmíněných zátěžových testů jsou užívány specifické parametry, odrážející dynamiku fyziologické reakce kardiovaskulárního systému na daný typ aktivace. V naší laboratoři jsme pomocí metod časové analýzy variability srdeční frekvence v klidu a s užitím baterie výše zmíněných zátěžových testů našli dysfunkci autonomního nervového systému u 43 % diabetiků s bolestivou neuropatií (Vlčková-Moravcová et al., 2008). V další studii jsme ve skupině 99 pacientů s bolestivou senzitivní neuropatií prokázali signifikantně nižší hodnoty variability srdeční frekvence ve všech použitých testech v porovnání s kontrolami, přičemž výsledky byly obdobné u pacientů s izolovaným postižením tenkých nervových vláken i s kombinací postižení vláken tenkých a silných a nekorelovaly s nálezy QST ani s hodnotami IENFD (Vlčková-Moravcová et al., 2008).

6.3.1.2. Frekvenční (=spektrální) analýza variability srdeční frekvence

Alternativou předchozí metodiky je testování variability srdeční frekvence pomocí spektrální analýzy (Opavský, 2002, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). Na rozdíl od analýzy časové umožňuje tato metoda validnější odlišení aktivity sympatické a parasympatické složky autonomního nervového systému a tedy hodnocení balance vagu a sympatiku (Opavský, 2002, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). Podstatou metodiky je skutečnost, že kolísání srdeční frekvence probíhá současně v různých rytmech, které mají z fyziologického hlediska odlišný význam. Jednotlivé frekvence, na nichž ke zmíněné oscilaci dochází, lze pomocí spektrální analýzy vzájemně odlišit a rozdělit do několika (obvykle čtyř) pásem (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996), která reflektují dominantně funkce různých složek autonomního nervového systému (Opavský 2002, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996, Vlčková et al., 2010). Obdobně jako při využití metod časové analýzy lze variabilitu srdeční frekvence testovanou

pomocí spektrální analýzy hodnotit v klidovém stavu (při spontánním dýchání) a/nebo za standardizovaných zkoušek. Nejčastějším aktivačním manévrem je zde ortoklinostatický test (zkouška leh-stoj-leh) (Opavský 2002, Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). Vyšetření má některé limity shodné se standardními metodikami testování variability srdeční frekvence časovou analýzou. Jde zejména o ovlivnitelnost řadou patologických stavů, farmakologických vlivů i fyziologických proměnných a z ní vyplývající nutnost maximální standardizace vyšetřovacích podmínek a nemožnost provedení – resp. nízká až nulová validita výsledků - např. u pacientů s implantovaným kardiostimulátorem (a stimulovaným rytmem) či užívajících některý s chronotropně působících preparátů. Přes tato omezení představuje SAHRV – zejména s ohledem na zmíněnou lepší možnost odlišení podílu sympatické a vagové aktivity – vylepšení dříve užívaných metodik a je široce využívána v oblasti funkčního a pracovního lékařství i na řadě neurologických i interních pracovišť v České i Slovenské republice (m.j. i v oblasti diagnostiky autonomní dysfunkce u periferních neuropatií – např. Opavský, 2002). V dostupné literatuře však existuje jen minimum studií, poskytujících validní, věkově stratifikovaná normativní data a zejména údaje o reprodukovatelnosti metodiky (jako klíčovém faktoru při posuzování event. změn nálezu, daných vývojem základního onemocnění či jeho terapeutickým ovlivněním). Tato problematika pro proto řešena v naší studii, popisující nálezy SAHRV a jejich reprodukovatelnost u skupiny zdravých dobrovolníků (Vlčková et al., 2010).

6.3.2. SUDOMOTORICKÉ TESTY

6.3.2.1. Sympatická kožní odpověď

Sympatická kožní odpověď („sympathetic skin response“ – SSR) je definována jako přechodná změna elektrického potenciálu kůže, která může být reflexně vyvolaná řadou vnitřních či zevních stimulů (Shahani et al., 1984). Vyvolávajícím podnětem může být např. nadprahová elektrická či magnetická stimulace, neočekávaný sluchový podnět, prudké inspirium, úleková reakce, ale i emoce: alternativa metody, při níž je místo změny kožního potenciálu měřena změna kožního odporu (tzv. galvanická kožní odpověď – „galvanic skin response“ (Wang, 1957)), byla m.j. široce testována jako „detektor lži“. Podkladem změny kožního potenciálu je pohyb iontů zejména přes membránu buněk ekrinních potních žláz (Wang, 1957). Proto je SSR obvykle řazena mezi testy sudomotorických funkcí, i když na rozdíl od dalších níže uvedených metod ve skutečnosti netestuje vlastní potivost. Podkladem odpovědi je polysynaptický reflex s variabilní aferentací a společnou eferentní částí sestávající se z míšních autonomních neuronů, pre- a postganglionárních sympatických

nervových vláken a potní žlázy jako efektoru. Reflex je modifikován suprasegmentálními strukturami, především hypothalamem a retikulární formací horního kmene. Experimentální práce prokazují, že 95 % doby potřebné k vyvolání odpovědi představuje vedení C vlákny s rychlostí 1-2 m/s.

SSR je nejčastěji využívána pro testování sudomotorických cholinergních funkcí, přičemž iniciální a nadále dominantní využití metodiky je v testování eferentních nemyelinizovaných sympatických nervových vláken (Shahani et al., 1984), přestože ji lze využít i v testování autonomních změn vyvolaných dysfunkcí centrálních struktur zapojených do regulace odpovědi.

Jedná se o velmi jednoduchý a v současnosti široce dostupný test, proveditelný pomocí jakéhokoli standardního EMG přístroje a běžně používaných elektrod s aktivní elektrodou umístěnou na ventrální a referenční elektrodou na dorzální straně ruky/předloktí/bérce/nohy apod. (nejčastěji je užívána dlaň/dorzum ruky nebo ploska/dorzum nohy). Odpověď je vyvolána nadprahovou elektrickou stimulací s intenzitou dostatečnou k vyvolání bolestivého vjemu (stimulován bývá nejčastěji n. medianus, ulnaris nebo tibialis), případně magnetickou stimulací, neočekávaným sluchovým podnětem, prudkým inspirem či naopak silným výdechem (např. kašlem) nebo úlekovou reakcí. Reprodukovatelnost odpovědi je nutno ověřit opakovanou stimulací (obvykle je doporučováno 5-10 opakování), kterou je však nutno provádět s maximální frekvencí 2/minutu, protože odpověď jeví tendenci k habituaci (tj. snížení či vymizení odpovědi při opakované stimulaci, zejména s vyšší frekvencí). Hodnocena bývá výbavnost odpovědi a její reprodukovatelnost, latence, amplituda, event. vybavitelnost různými typy užívané stimulace. V odborné literatuře však dosud neexistuje shoda v definici abnormality SSR. Problémem hodnocení amplitud (a méně i latencí) odpovědi je m.j. jejich velmi vysoká intraindividuální variabilita, detekovatelná i přes dodržení doporučeného odstupu mezi jednotlivými stimulacemi a navzdory užití postupně vzrůstající intenzity stimulace jako další prevence habituace odpovědi. Hoeldtke et al. (1992) našli při opakovaném vyšetření zdravých jedinců během téhož dne průměrnou intraindividuální variabilitu amplitud kolem 35 %, zatímco variabilita latencí byla pouze 8 %. Při hodnocení inter-day intraindividuální variability byly průměrné odpovědi u jednotlivých testovaných jedinců dokonce významně nižší ve druhém vyšetřovacím dni oproti dni prvnímu, zatímco latence byly v obou dnech obdobné (možným vysvětlením je výraznější stres při prvním vyšetření, kdy pacient ještě není s metodikou obeznámen a naopak menší psychická zátěž při opakování vyšetření v následujícím dni). Dalším problémem při hodnocení amplitud a latencí je skutečnost, že řada studií neprokazuje významné rozdíly hodnot těchto parametrů mezi

zdravými jedinci a pacienty s autonomní dysfunkcí či periferní neuropatií (Shahani et al., 1984) a je pravděpodobné, že existuje široký překryv hodnot obou parametrů mezi oběma skupinami.

Publikované studie shodně potvrzují, že SSR je výbavná u všech zdravých jedinců (Knezevic a Bajada, 1985, Baba et al., 1988, Arunodaya a Taly, 1995), což potvrzují i naše výsledky (viz níže). Za nejspolehlivější indikátor abnormality je proto považována nevýbavnost odpovědi (Knezevic a Bajada, 1985, Baba et al., 1988, Arunodaya a Taly, 1995, Shahani et al., 1984) (pokud není způsobena habituací či technickou chybou, např. nedostatečnou stimulací).

Naopak názory na význam hodnocení amplitud odpovědí a jejich latencí se různí. Někteří autoři nedoporučují hodnocení těchto parametrů a jako jedinou známku abnormality připouštějí absenci odpovědi (Shahani et al., 1984), jiní zohledňují snížení amplitudy (příčemž je vzhledem k variabilitě odpovědi a jejich habituaci obvykle doporučováno hodnotit spíše nejlepší odpověď z 5-10 stimulací než odpověď průměrnou) (Knezevic a Bajada, 1985, Baba et al. 1988, Hoeldtke et al., 1992) a další práce připouštějí jako známku abnormality SSR i prolongaci průměrné latence odpovědi (Knezevic a Bajada, 1985, Baba et al., 1988).

V naší laboratoři jsme v rámci projektu zavádění komplexní diagnostiky neuropatie tenkých vláken provedli tento test v pilotní studii u 49 zdravých dobrovolníků (24 mužů, 25 žen, průměrný věk $54,2 \pm 13,8$ let, rozmezí 21 – 80 let) a skupiny 69 pacientů s bolestivou distální polyneuropatií s postižením tenkých nervových vláken, dle Lacomisovy definice (viz výše) jistým nebo pravděpodobným (38 mužů, 31 žen, průměrný věk $56,8 \pm 12,6$ let, rozmezí 23-83 let, z toho 33 jedinců mělo izolovanou lézi tenkých nervových vláken a 36 pacientů mělo převážně senzitivní polyneuropatii s kombinovaným postižením vláken silných a tenkých). Test byl proveden v klidném prostředí a před jeho započítím byli vyšetřovaní jedinci detailně obeznámeni s jeho průběhem. U všech pacientů byla odpověď vyšetřena na horních a následně i na dolních končetinách. Při vyšetření HKK byly aktivní elektrody umístěny na dlaních a referenční na hřbetech obou rukou a stimulován byl n. ulnaris (jednostranně, obvykle vpravo), na DKK byly aktivní elektrody na ploskách a referenční na dorzech obou nohou a odpověď byla vyvolána stimulací n. tibialis (opět jednostranně, obvykle vpravo). Před započítím vlastní stimulace byl u vyšetřovaného jedince stanoven práh citivosti pro stimulaci elektrickým proudem ve vyšetřované lokalizaci (tedy na zápěstí nad průběhem n. ulnaris při vyšetření HKK a za vnitřním kotníkem nad průběhem n. tibialis při vyšetření DKK). Vlastní stimulace pak probíhala ve zmíněných lokalizacích iniciální intenzitou rovnou trojnásobku takto stanoveného senzitivního prahu. Stimulace byla provedena vždy alespoň 5x v každé lokalizaci, intenzita stimulace postupně narůstala, zejména pokud nebyla při úvodních

stimulech odpověď vybavena. Pokud se při tomto způsobu stimulace nepodařilo vybavit odpověď i přes dosažení maximální stimulační intenzity (t.j. 100 mA při délce trvání podnětu 0,3 ms), byla opět po předchozí instruktaži testována ještě výbavnost prudkým inspiřiem. Hodnocena byla výbavnost odpovědí (počet vybavených odpovědí/počet stimulů), počet stimulů nutných k vybavení 2 odpovědí, průměrná (i nejkratší) latence vybavených odpovědí a maximální (i průměrná) amplituda.

Sumarizace výsledků je uvedena v Tabulce 3. Alespoň 2 reprodukovatelné odpovědi byly na HKK vybaveny u všech zdravých jedinců a s jedinou výjimkou i u všech pacientů s periferní neuropatií. Ve všech případech (vyjma jednoho výše uvedeného) bylo odpověď možno vybavit elektrickou stimulací, výbavnost jinými typy stimulace proto nebyla na HKK testována, resp. byla provedena pouze u zmíněného jedince s nevýbavnou odpovědí při stimulaci elektrickým proudem, u kterého však nebyla odpověď vybavena ani při stimulaci prudkým inspiřiem.

Na DKK byla odpověď při stimulaci elektrickým proudem vybavena u všech zdravých jedinců a u 50 z 69 testovaných pacientů s neuropatií, 4 další měli pak odpověď výbavnou po stimulaci prudkým inspiřiem. Celkem se tak SSR nezdařilo vybavit žádným z použitých typů stimulace u 15 z 69 pacientů (22 %), přičemž nevýbavnost odpovědi (ať už elektrickou stimulací nebo obecně některou z použitých stimulačních metod) byla statisticky významně častější ve skupině pacientů s kombinovaným postižením silných a tenkých vláken než mezi jedinci s izolovanou lézí vláken tenkých. Pro vybavení alespoň dvou reprodukovatelných odpovědí byl u zdravých jedinců také nutný významně nižší počet stimulačních podnětů než u pacientů s neuropatií (bez ohledu na typ postižených nervových vláken).

Amplitudy SSR byly obecně vyšší a latence kratší na HKK oproti DKK a to jak u zdravých jedinců, tak u pacientů s neuropatií.

Při hodnocení latencí odpovědí nebyl prokázán významný rozdíl mezi vyšetřovanými skupinami na HKK ani na DKK (i když zejména na HKK byl naznačen trend k mírně vyšším latencím odpovědí u pacientů neuropatií a to především s kombinovaným typem postižení silných a tenkých vláken, nicméně bez statistické významnosti a s malými absolutními hodnotami rozdílů).

Amplitudy odpovědí byly naopak v obou vyšetřovaných lokalizacích hraničně statisticky nižší u pacientů s neuropatií a zde opět výrazněji u pacientů se smíšeným postižením silných a tenkých nervových vláken. Tento trend byl výraznější při hodnocení průměrných amplitud než při zohlednění amplitud maximálních. Statistická významnost uvedených rozdílů byla v našem souboru vyšší na HKK, což je ale zřejmě dáno poměrně malým počtem jedinců

s neuropatií a hodnotitelnou odpovědí SSR na DKK, zařazeným do statistického zpracování, protože z analýzy byly vyřazeni jedinci s nevybavnou odpovědí i pacienti, u nichž byla odpověď vybavena pouze po stimulaci prudkým inspiřiem. Důvodem pro vyřazení posledně jmenované skupiny je rozdílnost amplitud i latencí odpovědí po obou typech stimulace, prokazovaná řadou studií. Např. Shahani et al. (1984) našli u zdravých jedinců statisticky významně vyšší amplitudu odpovědí po stimulaci prudkým inspiřiem než po stimulaci elektrické. Méně spolehlivé je při stimulaci prudkým inspiřiem i hodnocení latencí a očekávat lze i vyšší intra- a interindividuální variabilitu obou parametrů, protože stimulační podnět nelze validně kvantifikovat ani standardizovat.

Intraindividuální variabilita SSR (vyjádřená jako intraindividuální variační koeficient – „coefficient of variation“: $CV = x/SD * 100$) byla významně vyšší pro amplitudy odpovědí, než pro jejich latence (Tabulka 3). Zjištěné hodnoty CV jsou plně srovnatelné s nálezy, publikovanými Hoeltkem et al. (1992) (viz výše) a je nutno je zohlednit při interpretaci nálezů a zejména při longitudinálním sledování pacientů, resp. při hodnocení ev. změn jednotlivých parametrů SSR (ať už v souvislosti s přirozeným vývojem onemocnění nebo v souvislosti s terapeutickou intervencí). Variabilita amplitud i latencí je obdobná na HKK i DKK a s výjimkou hraničně vyšší variability amplitud odpovědí na HKK u pacientů s neuropatií se významně neliší ani mezi zdravými jedinci a pacienty s periferně neurogení lézí.

V souhrnu naše nálezy potvrzují, že nejspolehlivější známkou abnormality SSR je nevybavnost odpovědi. Je sporné, zda lze za abnormalitu považovat i nevybavnost SSR elektrickou stimulací (v případě vybavnosti prudkým inspiřiem): protože takovýto vzorec byl v našem souboru prokázán pouze u pacientů s periferní neuropatií ale nikoli u zdravých jedinců, domnívají se autoři, že jej lze pravděpodobně považovat za známku abnormality, která je však v tomto případě lokalizována v aferentní části reflexního oblouku, ale nikoli v části eferentní (na kterou je test především zaměřen). Hodnocení latencí SSR se v diagnostice dysfunkce tenkých nervových vláken u pacientů s bolestivou senzitivní neuropatií nejeví jako přínosné. Význam hodnocení amplitud je nadále nejednoznačný. Před prokázáním statisticky hraničně významný pokles amplitud odpovědí u pacientů s neuropatií ve srovnání se zdravými kontrolami v našem souboru je z vlastních hodnot patrné, že rozdíly nejsou velké a existuje široký překryv hodnot mezi oběma skupinami, což významně komplikuje možnost nastavení validních normativních dat pro tento parametr. Významnou redukci amplitudy SSR tak lze považovat za možnou známku abnormality, ale s nízkou diagnostickou validitou. Hodnocení amplitud, stejně jako jejich případných změn při opakování testu, navíc limituje jejich nezanedbatelná intraindividuální variabilita, kterou je třeba zohlednit při interpretaci nálezů.

TABULKA 3: PARAMETRY SYMPATICKÉ KOŽNÍ ODPOVĚDI u zdravých jedinců a pacientů s bolestivou neuropatií s postižením tenkých nervových vláken („pure small fiber neuropathy“ - pSFN) a/nebo smíšeným postižením vláken silných a tenkých („mixed fiber neuropathy“ - MFN).

Srovnání kontinuálních dat bylo provedeno t-testem, kategoriální data byla statisticky vyhodnocena pomocí testu chí-kvadrát a to vždy jak mezi zdravými jedinci a pacienty s neuropatií jako celkem (p_1), tak také mezi pacienty s pSFN a MFN (p_2). K vyjádření intraindividuální variability latency a amplitud byl použit intraindividuální variační koeficient („coefficient of variation“ - $CV = SD/x \cdot 100$). Výbavnost/nevýbavnost odpovědí je uvedena jako počet jedinců s odpovědí, evokovatelnou daným typem stimulace. Vstatní parametry jsou uvedeny jako průměr \pm SD.

Hodnocený parametr	Zdravé	Pacienti s neuropatií		p ₁	p ₂
	kontroly	pSFN	MFN	(t-test/ χ^2)	(t-test/ χ^2)
HKK: Nevýbavnost SSR	0	1	0	NS	NS
Výbavnost el. stimulací	49/49	32/33	35/36	NS	NS
Výbavnost jen inspiřiem	0	0	1	NS	NS
Počet stim. pro 2 odp.	2,51 ± 0,81	2,72 ± 0,94	2,94 ± 1,22	0,08	NS
Průměrná latence (ms)	1,47 ± 0,14	1,49 ± 0,12	1,53 ± 0,18	NS	NS
Minimální latence (ms)	1,38 ± 0,14	1,39 ± 0,12	1,45 ± 0,14	NS	NS
Prům. amplituda (mV)	1,48 ± 1,00	1,33 ± 0,93	0,97 ± 0,47	0,02	0,05
Max. amplituda (mV)	2,20 ± 1,28	2,07 ± 1,39	1,59 ± 0,83	0,09	0,09
CV intraindiv. (lat)	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,04	0,06 ± 0,09	NS	NS
CV intraindiv. (amp)	0,31 ± 0,12	0,34 ± 0,13	0,37 ± 0,11	0,04	NS
DKK: Nevýbavnost SSR	0	3	12	<0,001	0,01
Výbavnost el. stimulací	49/49	29/33	21/36	<0,001	0,006
Výbavnost jen inspiřiem	0	1	3	0,08	NS
Počet stim.pro 2 odp.	2,73 ± 0,96	3,20 ± 1,08	3,29 ± 1,72	0,04	NS
Průměrná latence*	2,12 ± 0,21	2,16 ± 0,19	2,18 ± 0,27	NS	NS
Minimální latence*	1,98 ± 0,20	2,02 ± 0,21	1,97 ± 0,45	NS	NS
Průměrná amplituda*	0,86 ± 0,64	0,75 ± 0,49	0,52 ± 0,28	0,07	0,08
Maximální amplituda*	1,36 ± 0,89	1,30 ± 0,93	0,87 ± 0,46	NS	0,06
CV intraindiv. (lat)*	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,09	NS	NS
CV intraindiv. (amp)*	0,36 ± 0,13	0,39 ± 0,20	0,37 ± 0,11	NS	NS

NS = statisticky nevýznamný („non significant“)

U parametrů označených * byly statisticky zpracovány pouze odpovědi, získané elektrickou stimulací (tzn. že z analýzy byly vyloučeni pacienti s odpovědí nevýbavnou oběma typy stimulace i jedinci s odpovědí evokovatelnou pouze prudkým inspiřiem). Důvodem pro vyloučení odpovědí stimulovatelných prudkým inspiřiem je skutečnost, že se amplituda odpovědi po obou typech stimulace liší (např. Shahani et al. (1984) uvádí u zdravých jedinců statisticky významně vyšší amplitudu odpovědi po stimulaci prudkým inspiřiem než po stimulaci elektrické). Také hodnocení latencí je při stimulaci prudkým inspiřiem méně spolehlivé a stejně tak lze při tomto typu stimulace očekávat vyšší intra- i interindividuální variabilitu obou parametrů, protože stimulační podnět nelze validně kvantifikovat ani standardizovat.

6.3.2.2. Další metody testování sudomotorických funkcí

V zahraničí je pravděpodobně nejužívanějším testem sudomotorických funkcí **kvantitativní sudomotorický test** („**quantitative sudomotor axon reflex test**“ – **QSART**) (Low et al., 1983). Jedná se o metodu hodnocení funkce postgangliových sympatických cholinergních nervových vláken s prokázanou dobrou diagnostickou validitou u pacientů s neuropatií tenkých vláken (senzitivita cca 75 % - Low et al., 2006), při níž jsou potní žlázy stimulovány pomocí iontoforézy cholinergní látkou a produkce potu je měřena jako nárůst vlhkosti pomocí hygrometru. Nevýhodou metodiky je zejména nutnost specializovaného vybavení (QSART kapsule, box pro iontoforézu, hygrometr, tepelný výměník, ...) a tedy velká finanční náročnost, která je zřejmě důvodem, proč je test i v zahraničí používán zejména ve výzkumných centrech.

Dalším užívaným testem je **termoregulační testování potivosti** („**thermoregulatory sweat testing**“), hodnotící funkci kompletní sudomotorické dráhy od příslušných struktur centrálního nervového systému až ke kožním potním žlázám (Fealey et al., 1989). Při této metodě je vyvolána maximální celotělová potivost v důsledku zvýšení povrchové teploty těla, vyvolané infračerveným zářením. Míra a distribuce produkce potu je pak vizualizována pomocí změny barevnosti indikačního barviva, aplikovaného na celý povrch těla před začátkem testování. U pacientů s neuropatií tenkých vláken je tato metoda obdobně senzitivní jako QSART a výsledky odpovídají obvykle vzorci postižení závislého na délce s redukcí potivosti v distálních oblastech DKK, ev. HKK (Low et al., 2006).

Změna barevnosti indikátorů, aplikovaných na kůži pouze v testované oblasti je využívána i v dalších testech sudomotorických funkcí, jako je **test acetylcholinové potní skvrny** („**acetylcholine sweat-spot test**“) (Ryder et al., 1988), kdy je změna potivosti vyvolána intradermální injekcí acetylcholinu a odpověď je hodnocena jako počet skvrnek se změněnou barvou indikátoru, odpovídajících kapičkám potu v příslušné oblasti v okolí místa aplikace, nebo **kvantitativní přímé a nepřímé testování axon-reflexu** („**quantitative direct and indirect axon reflex testing**“) (Gibbons et al., 2008), kdy je obdobné odpovědi dosaženo iontoforézou acetylcholinu či jiné cholinergní látky do kůže.

6.4. HODNOCENÍ INTRAEPIDERMÁLNÍ HUSTOTY TENKÝCH NERVOVÝCH VLÁKEN Z KOŽNÍ BIOPSIE

Hodnocení intraepidermální případně dermální inervace z kožní biopsie je další skupinou diagnostických metod neuropatie tenkých vláken, které (na rozdíl od všech výše popsaných klinických, elektrofyziologických i psychofyzikálních metod, objektivizujících funkční změny) umožňují hodnocení morfologického korelátu SFN (Kennedy et al., 2005). Jedná se o jednoduchou, robustní, dobře reprodukovatelnou a pro pacienty bezpečnou, nebolestivou a minimálně invazivní metodu spojenou s velmi nízkým počtem komplikací (Kennedy et al., 2005, Lauria et al., 2005). Ve srovnání s biopsií n. suralis je významnou výhodou kožní biopsie nejen menší invazivita odběru, ale zejména vyhodnocování nálezů bez nutnosti použití elektronové mikroskopie a dále možnost vyšetření prakticky kterékoli oblasti kožního povrchu.

Změny intraepidermální inervace při poškození neuronálních struktur byly opakovaně prokázány jak u experimentálních zvířecích modelů, tak v humánní medicíně u pacientů s různými typy periferně neurogenních lézí. U krys bylo po přetěti ischiadiku (Hsieh et al., 1996, Li et al., 1997) či po odstranění ganglia zadního kořene (Li et al., 1997) prokázáno vymizení intraepidermální inervace v příslušné distribuci a významná redukce inervace subepidermální. Studie intraepidermální inervace u pacientů s bolestivou neuropatií (Holland et al., 1997, Kennedy et al., 1996, McCarthy et al., 1995) prokázaly, že redukce počtu IENFs koreluje jak s přítomností, tak do určité míry i s klinickou tíží postižení tenkých nervových vláken u těchto pacientů. Kožní biopsii lze tedy využít v diagnostice bolestivých neuropatií, stejně jako v hodnocení tíže postižení (tzv. stagingu neuropatií) a vzhledem k možnosti opakování i ve sledování progresu či regrese onemocnění a to jak spontánní, tak i v reakci na terapii.

V České republice byla tato metodika zavedena do praxe na Neurologické klinice LF MU a FN Brno v průběhu let 2002-2004 jako součást projektu komplexní diagnostiky neuropatie tenkých vláken ve spolupráci s Neurologickou klinikou Univerzitní nemocnice ve Würzburgu. V rámci zmíněného projektu byla řešena i problematika diagnostické validity metodiky a normativních dat (Vlčková-Moravcová et al., 2008a, Moravcová et al., 2005), stejně jako nálezy kožních biopsií u pacientů s diabetickou polyneuropatií (Vlčková-Moravcová et al., 2008) i s bolestivou neuropatií obecně (Vlčková-Moravcová et al., 2008a, Moravcová et al., 2005).

Naše klinika je také dosud jedním z mála pracovišť v ČR, kde se tato metodika v celém rozsahu provádí a to jak v rámci výzkumných projektů, tak také jako součást diagnostického algoritmu neuropatie tenkých vláken v klinické praxi.

6.4.1. *INERVACE EPIDERMIS*

Kůže je orgánem s poměrně bohatým nervovým zásobením, které lze při užití vhodných histologických technik spolehlivě vizualizovat. Největší hustota nervových vláken je v retikulární a subpapilární dermis, kde tvoří husté nervové pleteně, a dále v epidermis (McCarthy et al., 1995). Vlákná v subpapilární vrstvě dermis leží většinou paralelně s povrchem kůže ve svazcích (bundles) a inervují specializované orgány v dermis a jejích papilách (Meissnerova tělíska, Merkelovy disky a vlasové folikly). Část těchto vláken zatáčí směrem k povrchu kůže, proráží dermo-epidermální junkci a vstupuje do epidermis. Nejpozději v místě průchodu přes bazální membránu epidermis ztrácejí nervová vlákna myelinový obal, takže v oblasti epidermis jsou již všechna vlákna nemyelinizovaná (McCarthy et al., 1995). Největší počet nervových vláken proráží do epidermis v oblasti papil koria, kde tvoří hustou perivaskulární nervovou pleteně. V epidermis vlákna prorůstají mezi keratinocyty k povrchu kůže ve směru kolmém k dermo-epidermální junkci. V oblasti mezi stratum corneum a hlubšími vrstvami pokožky část vláken opět změni směr a dále probíhají paralelně s povrchem kůže pod její rohovou vrstvou. Řada vláken dosahuje až ke stratum - corneum (Kennedy a Wendelschafer-Crabb, 1993), resp. krátce probíhá i v této vrstvě kde obvykle končí volným, cibulovitě rozšířeným zakončením. V průběhu celou epidermis dokonce až k terminálním zakončením vláken dochází k jejich častému větvení (McCarthy et al., 1995).

Vlákná inervující epidermis jsou zřejmě prakticky čistě senzitivní, v dermis jsou přítomna také vlákna autonomní (především sympatická cholinergní inervující kožní potní žlázy) a motorická (zásobující mm. arrectores pili). Původ intraepidermálních vláken v senzitivních gangliích zadních kořenů je potvrzován výsledky experimentálních studií na zvířecích modelech i nálezy kožní inervace u pacientů s klinicky detekovatelným poškozením senzitivních ganglií. Li a spol. (Li et al., 1997) prokázali u krys signifikantní redukci, resp. úplné vymizení intraepidermálních nervových vláken po odstranění ganglií zadních kořenů, zatímco po dorzální či ventrální rhizotomii a sympatektomii se počet IENF významně nezměnil. Lauria (Lauria et al., 2001) našel redukci intraepidermální inervace u pacientů s poškozením senzitivních ganglií zadních kořenů. Obdobně jsou změny počtu IENFs

prokazovány u pacientů s postherpetickou neuralgií, jejímž předpokládaným mechanismem je opět poškození neuronů v senzitivních gangliích během reaktivace latentní infekce varicella zoster viru (Oaklander, 2001).

Původ intraepidermálních nervových vláken v senzitivních gangliích zadních kořenů je potvrzován i typem exprimovaných neurotransmiterů (CGRP, substance P). Populace vláken exprimujících různé neurotransmitery jsou v epidermis nestejně zastoupeny a vykazují některé charakteristiky, které jsou pro danou populaci zřejmě typické. Např. substance P-imunoreaktivní vlákna (SP) jsou poměrně řídká a vyrůstají z nemyelinizovaných vláken dermálního subpapilárního plexu obvykle jako izolované vlákno bez větvení, vlákna exprimující CGRP jsou četnější než SP-pozitivní, jejich tvar a frekvence větvení jsou více variabilní a v epidermis jsou často přítomna v malých skupinkách (McCarthy et al., 1995).

Herrmann a spol. (Herrmann et al., 1999) prokázali velmi dobrou korelaci počtu intraepidermálních tenkých nervových vláken s počtem málo myelinizovaných tenkých nervových vláken v biopsii n. suralis. Počet IENF však koreloval i s počtem silných myelinizovaných vláken. O něco hůře koreloval počet IENF s počtem nemyelinizovaných nervových vláken v n. suralis, což zřejmě souvisí jednak s omezenými možnostmi evaluace nemyelinizovaných tenkých nervových vláken v nervových biopsiích pomocí elektronové mikroskopie a také s faktem, že část nemyelinizovaných nervových vláken v senzitivních nervech představují postgangliová sympatická vlákna.

U části pacientů pak Herrmann et al. (1999) prokázali signifikantní redukci počtu IENF přes normální počet myelinizovaných i nemyelinizovaných vláken v biopsie n. suralis. Tento náález může odrážet skutečnost, že degenerativní změny mohou být omezeny jen na terminální či preterminální úseky tenkých vláken. Takoví pacienti by pak mohli optimálními jedinci pro lékové studie preparátů potenciálně podporujících reinervaci, protože hodnotitelná reinervace může být vzhledem ke krátké vzdálenosti zachycena relativně velmi brzy.

Přesné přiřazení IENFs ke konkrétním senzitivním modalitám je pouze spekulativní, lze však předpokládat vztah mezi redukcí jejich počtu a sníženou senzitivitou pro tepelné podněty a bolest, ev. mírný dotek u pacientů se senzitivní neuropatií (Kennedy et al., 1996). V korelaci s tímto předpokladem se podle současných poznatků na inervaci epidermis podílejí především tenká málo myelinizovaná a nemyelinizovaná nervová vlákna typu A-delta a C (Griffin et al., 2001, Herrmann et al., 1999, Li et al., 1997).

6.4.2. HISTORIE DIAGNOSTICKÉHO VYUŽITÍ KOŽNÍ BIOPSIE V NEUROLOGII

O existenci nervových vláken v epidermis se zmiňuje již Langerhans před více než 130 lety. Arthur a Shelley později publikovali ilustrace intraepidermálních nervových vláken obarvených pomocí methylenové modři a popsali jejich bohaté větvení při průběhu epidermis (Arthur a Shelley, 1959). Přesto byla při užívání klasických histologických technik epidermální nervová vlákna jen velmi obtížně vizualizovatelná a inervace epidermis byla považována za velmi řídkou či neexistující a nebyl jí přikládán funkční význam (Winkelman, 1988). Přechodně byl výzkum kožní inervace a jejich možných změn při periferně neurogenních lézích zaměřen především na specifické kožní orgány, např. Meissnerova tělíska. Dyck et al. (1966) s použitím cholinesterázy stejně jako Ridley (1968, 1969) pomocí barvení sloučeninami stříbra verifikovali možnost kvantifikace těchto struktur a redukci jejich denzity u periferních neuropatií. Tyto práce prokázaly určitý pokles hustoty Meissnerových tělísek s věkem, nicméně interindividuální variabilita stejně jako variabilita mezi jednotlivými hodnocenými místy byla vysoká. Navíc tato metoda vzhledem k výskytu Meissnerových tělísek (limitovaném pouze na dlaně rukou a plochy dolních končetin) neumožňovala optimální hodnocení prostorové distribuce postižení ani rutinní odběr vzorků a nebyla tedy dobře využitelná v klinické praxi. Meissnerova tělíska jsou navíc inervována silnými nervovými vlákny a jejich detekce neposkytovala žádnou informaci o ev. postižení vláken tenkých. Tradiční představa kožní inervace tak zahrnovala především dvě nervové pleteně v oblasti dermis a to ve stratum reticulare a povrchověji lokalizovaném stratum papillare.

Zásadní změnu uvedené představy znamenal až rozvoj imunohistologických technik s možností vizualizace řady neuronálních markerů. Pomocí těchto metod bylo umožněno zobrazení velkého počtu nervových vláken, penetrujících přes bazální membránu až do povrchových vrstev epidermis a to jak u zvířecích modelů, tak v bioptických vzorcích lidské kůže (Kennedy a Wendelschafer-Crabb, 1993) (Wang et al., 1990).

Iniciálně byly k barvení epidermálních nervových vláken využívány protilátky proti známým antigenům nervových buněk, jako např. substanci P (Kruger et al., 1985, Dalsgaard et al., 1983, Lindberger et al., 1989, Levy et al., 1989, Karanth et al., 1989), neurofilamentům (Karanth et al., 1989), CGRP („calcitonin-gene related peptide“) (Levy et al., 1989, Karanth et al., 1989, Properzi et al., 1993, Lindberger et al., 1989), vasoaktivnímu intestinálnímu peptidu (Levy et al., 1989, 1992, Karanth et al., 1989, Properzi et al., 1993) či neurospecifické enoláze (Karanth et al., 1989). Studie hodnotící intraepidermální či intradermální nervová vlákna imunoreaktivní s protilátkami proti uvedeným markerům opakovaně prokázaly redukci

jejich počtu u pacientů s periferně neurogenním postižením, především s diabetickou polyneuropatií či méně výrazně i u diabetiků bez klinicky detekovatelné polyneuropatie (Lindberger et al., 1989, Levy et al., 1992, Properzi et al., 1993). Uvedené neuronální markery však nejsou ubikvitární a umožňují zobrazení pouze určitých populací nervových vláken. Významným přínosem pro možnosti klinického i experimentálního využití kožních biopsií byl proto objev panneuronálního markeru označovaného jako „protein gene product 9.5“ (PGP 9.5) (Thompson et al., 1983, Wilson et al., 1988). Jedná se o cytoplazmatický protein, enzym karboxy-hydrolázu, nacházející se ubikvitárně ve všech neuronech a neuroendokrinních buňkách (Wilson et al., 1988, Thompson et al., 1983). Ve srovnání s dříve užívanými markery jako jsou neurofilamenta nebo neuronspecifická enoláza lze prostřednictvím protilátek proti PGP 9.5 lze vizualizovat daleko více nervových vláken (Karanth et al., 1989). McCarthy (McCarthy et al., 1995) prokázal, že protilátky proti CGRP či substanci P umožňují zobrazení jen cca 10-30 % intraepidermálních PGP 9.5 pozitivních nervových vláken. PGP 9.5 je tak v současnosti nejužívanějším antigenem, využívaným pro imunofluorescenční či imunohistochemickou vizualizaci kožní inervace (Levy et al., 1989, 1992, Gorson a Ropper, 1995, Holland et al., 1997, Periquet et al., 1999, Polydefkis et al., 2000, 2002, Lauria et al., 2001, 2005, Kennedy et al., 1996, 1999, 2005, McArthur et al., 1998, McCarthy et al., 1995, Pan et al., 2001, 2003, Herrmann et al., 1999, Chien et al., 2001, Johansson et al., 1999, Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a)

V posledním desetiletí pak došlo k rozvoji technik umožňujících hodnocení intraepidermální inervace, byly prokázány významné změny denzity epidermálních ev. dermálních nervových vláken u celé škály periferních neuropatií (Gorson a Ropper, 1995, Holland et al., 1997, Periquet et al., 1999, Polydefkis et al., 2000, Lauria et al., 2001, 2005, Kennedy et al., 1996, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a) a metoda byla řadě světových centrech zavedena do klinické či experimentální praxe. Současně nadále přetrvává snaha o nalezení nových neuronálních markerů jejichž exprimace (resp. její změny) odráží ještě lépe přítomnost neuropatické bolesti a/nebo reflektuje funkční změny nervových vláken, které potenciálně předcházejí změnám morfologickým - nadějně se jeví především vanilloinový receptor TPRV1 (viz níže) (Stander et al., 2004).

V České Republice byla tato metodika hodnocení intraepidermálních poprvé zavedena do praxe na Neurologické klinice FN Brno v průběhu let 2002-2004 v rámci spolupráce s Neurologickou klinikou Univerzitní nemocnice ve Würzburgu (viz výše).

6.4.3. METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKU

6.4.3.1. Způsoby odběru kožního vzorku

V současnosti jsou používány 2 metody odběru vzorků kůže. Klasickým způsobem, užívaným dlouhodobě i v rámci vyšetření kůže pro dermatologické účely, je odběr pomocí průbojníku (Lauria et al., 2005, Kennedy et al., 2005). Je-li průměr vzorku menší než 3 mm není nutné provádět suturu kůže, při použití průbojníků o větším průměru jsou okraje rány obvykle adaptovány jedním stehem. Místo odběru se rychle vyplní granulační tkání a po několika týdnech zůstává pouze drobná jizva. Studie, provedené na našem pracovišti (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a) potvrzují, že vyšetření kožní biopsie průbojníkem je nebolestivá a pro pacienty bezpečná metoda. Výkon byl ve všech případech velmi dobře tolerován a pacienty hodnocen jako zcela nebolestivý. Přes poměrně velký počet vyšetřených pacientů jsme nezaznamenali žádné komplikace ani během vlastního odběru vzorku ani v následném období a hojení proběhlo ve všech případech uspokojivě (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a).

Druhou možností odběru vzorku je tzv. metoda kožního puchýře, při níž pomocí podtlaku aplikovaného na kůži dojde k oddělení epidermis v místě dermo-epidermální junctce (Kennedy et al., 1999). Zmnožení tekutiny v místě separace obou vrstev vede ke vzniku makroskopicky patrného puchýře, jehož kryt je odebrán a dále histologicky zpracováván. Protože krevní kapiláry dosahují pouze do papil koria, rána nekrváčí, proto může být tento přístup výhodnější zejména u diabetiků či pacientů s poruchami koagulace. Způsob odběru metodou kožního puchýře je zcela nebolestivý a získaný vzorek může být hodnocen nejen z řezů kolmých k povrchu epidermis (tedy analogicky jako při klasickém způsobu), ale také jako celá odebraná plocha zobrazená z „ptačí perspektivy“, což umožňuje validizovat plošnou distribuci vláken, hodnotitelnou při klasickém způsobu odběru průbojníkem jen ve velmi omezeném rozsahu. Metoda je však časově náročnější (vytvoření puchýře trvá cca 30-90 minut) a především narozdíl od klasického přístupu neumožňuje hodnocení inervace hlubších vrstev kůže, tedy dermis včetně příslušných kožních orgánů (potních žláz, vlasových folikulů).

6.4.3.2. Lokalizace odběru

Nejčastějším místem odběru je zevní plocha distálního lýtka, cca 10 cm nad malleolus lateralis (McArthur et al., 1998, McCarthy et al., 1995, Holland et al., 1997, Kennedy et al., 1996, 2005, Pan et al., 2001, Lauria et al., 2001, 2005, Herrmann et al., 1999, Polydefkis et al., 2002, Chien et al., 2001), případně z proximálního stehna (McArthur et al., 1998,

McCarthy et al., 1995, Holland et al., 1997, Lauria et al., 2001, Polydefkis et al., 2002). Méně často je odběr prováděn z laterální strany paty (McCarthy et al., 1995), proximální paže (Johansson et al., 1999, Lauria et al., 2001), předloktí (Pan et al., 2001, Chien et al., 2001), ruky (Lauria et al., 2001), konečků prstů, dlaně, axily, tváře, zad, hrudníku, areoly mammae, ramene či plosek nohou (Johansson et al., 1999).

Možnost vyšetření kůže v prakticky jakékoli lokalizaci je významnou výhodou metodiky, která tak umožňuje např. hodnocení změn kožní inervace v oblasti přetrvávající bolesti po poranění periferních nervů či po erupci herpes zoster. U polyneuropatií závislých na délce pak prostorová distribuce postižení odráží do jisté míry tíži neuropatie (kdy u lehčích forem onemocnění jsou změny limitovány na distální oblasti končetin a postupně dochází k šíření postižení do oblastí proximálnějších). Možnost hodnocení intraepidermální inervace v různých lokalizacích je však limitována skutečností, že hustota IENFs u zdravých jedinců významně závisí na místě odběru vzorku (Lauria et al., 1999, Holland et al., 1998, McArthur et al., 1998). Nejvyšší je v oblasti trupu a proximálně na končetinách a signifikantně klesá směrem distálním (Lauria et al., 1999, Holland et al., 1998). Pro hodnocení případných změn kožní inervace je tak vždy nutno srovnat aktuální nálezy s normativními daty pro IENFD v dané lokalizaci. Alternativní možností je např. u jednostranných postižení srovnání s vzorkem z identické druhostranné oblasti (které však vyžaduje odběr dalšího vzorku a tedy výraznější zátěž pro pacienta).

Validní nálezy dostatečných souborů zdravých jedinců, umožňující nastavení normativních dat a následné exaktní hodnocení intraepidermální inervace v příslušné oblasti, jsou však známa pouze pro nejčastěji užívaná místa odběru (tj. pro distální lýtko a částečně pro oblast proximálního stehna). Oblast distálního lýtko je pro účely hodnocení kožní inervace nejčastěji využívána především proto, že zde lze ještě s vysokou pravděpodobností očekávat změny hustoty nervových vláken u neuropatií se vzorcem postižení závislým na délce (které nemusejí být přítomny při vyšetření proximálnějších oblastí), a na druhou stranu toto místo již obvykle není traumatizováno obuví, takže je výkon pacienty lépe tolerován a zejména zde lze očekávat lepší hojení než při distálnějších místě odběru vzorku a to zejména u rizikových skupin pacientů (např. diabetici). Z těchto důvodů je odběr kožní biopsie prováděn z oblasti distálního lýtko i v rámci našich studií a pro tuto oblast je také řešena problematika nastavení normativních dat (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a). Oblast proximálního stehna je pak nejčastěji využívána právě za účelem výše zmíněného hodnocení prostorové distribuce postižení u bolestivých neuropatií.

6.4.3.3. *Histologické zpracování a barvení vzorku*

Vzorek je bezprostředně po odběru fixován (obvykle ve formaldehydu či paraformaldehydu) a následně jsou vytvořeny zmrazené řezy kolmé k povrchu epidermis. Nervová vlákna jsou pak vizualizována pomocí imunohistologických metod s využitím protilátek proti některému z neuronálních markerů (viz výše). Nejčastěji je využívána nepřímá imunofluorescence či imunohistochemie s primární protilátkou zaměřenou proti ubikvitárně se vyskytujícímu panneuronálnímu markeru PGP 9.5, umožňujícímu zobrazení všech IENF (Lauria et al., 2005, Kennedy et al., 2005). Detailní popis metodiky histologického zpracování vzorků, užívaného v rámci našich studií, byl opakovaně publikován (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a).

Obecně je třeba zdůraznit, že histologické zpracování vzorků je klíčovou částí jejich zpracování, která může velmi výrazně ovlivnit diagnostický přínos metodiky. Pro dosažení validních výsledků je nutné přesné dodržení technologického postupu zpracování preparátu, zejména dostatečná a šetrná fixace tkáně, správná orientace vzorku při vytváření jednotlivých tkáňových řezů, dodržení doby inkubace vzorku s protilátkou a dostatečná vazebná kapacita použitých protilátek.

6.4.3.4. *Hodnocení preparátů: volba konvenční nebo konfokální mikroskopie, rozsah vyšetření*

V takto histologicky zpracovaných vzorcích může pak být kožní inervace hodnocena buďto tzv. lineární metodou v klasickém či fluorescenčním mikroskopu (podle toho, zda je zpracování provedeno protilátkami značenými imunohistochemickými či imunofluorescenčními barvivy) (McArthur et al., 1998, Lauria et al., 2005, Kennedy et al., 2005, Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a) nebo metodou prostorovou s využitím mikroskopu konfokálního („laser scanning confocal microscope“) (Kennedy et al., 1996, Periquet et al., 1999). Výhodou konfokální mikroskopie je možnost sekvenčního snímání preparátu s nastavitelným intervalem mezi jednotlivými snímky (obvykle 2 μm). Výsledkem je série snímků umožňující prostorovou rekonstrukci celé tloušťky preparátu (tzv. Z-série), v níž lze dobře detekovat jednotlivá větví se nervová vlákna včetně míst jejich průchodu přes dermo-epidermální junkci. Při užití specializovaného softwaru umožňuje tento způsob snímání exaktní měření sumární délky všech IENFs, počtu jejich větvení a průměrné délky jednotlivého nervového vlákna. Konfokální mikroskopie také snižuje pravděpodobnost započtení více větví identického nervového vlákna jako vláken izolovaných a zvyšuje tedy zřejmě přesnost hodnocení. Jedná se však o metodu významně

náročnější jak časově, tak zejména z hlediska nutného přístrojového vybavení, které není dostupná ve většině center, zaměřených na diagnostiku periferně neurogenních onemocnění, a podle současných doporučení je validita metodiky v diagnostice periferních neuropatií dostatečně validní i při užití konvenční mikroskopie (Kennedy et al., 2005, Lauria et al., 2005, Lauria et al., 2010).

Při použití kterékoli ze zmíněných mikroskopických technik jsou pak jednotlivé diagnostické parametry jsou obvykle hodnoceny v jednom či více preparátech vytvořených z odebraného vzorku kůže a to buďto v celé délce epidermis, zachycené na daném řezu, nebo pouze v některých zorných polích během prohlížení vzorku. Takto vyhodnoceny pak bývají obvykle 2-3 řezy, navzájem k sobě nepřiléhající (aby byla vyhodnocena inervace v různých oblastech odebraného vzorku). Většinou tedy není zhodnocen celý odebraný vzorek epidermis, což však nesnižuje diagnostickou validitu metodiky, protože nálezy v různých preparátech vytvořených z jednoho bioptického vzorku, stejně jako v různých vzorcích odebraných identickému jedinci ze stejné lokalizace, vykazují velmi vysokou korelaci (McArthur et al., 1998, McCarthy et al., 1995).

6.4.4. DIAGNOSTICKÉ PARAMETRY KOŽNÍ BIOPSIE

6.4.4.1. Intraepidermální hustota tenkých nervových vláken

Nejčastěji hodnoceným parametrem je počet nervových vláken procházejících přes dermo-epidermální junkci na milimetr délky epidermis – tzv. intraepidermální hustota tenkých nervových vláken („intraepidermal nerve fiber density“ – IENFD) (McArthur et al., 1998, Holland et al., 1997, McCarthy et al., 1995, Lauria et al., 1999, 2005, Kennedy et al., 1996, 2005, Herrmann et al., 1999, Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a). Protože se nervová vlákna při průběhu dermis i epidermis opakovaně větví, byla nastavena exaktní pravidla pro jejich počítání za účelem standardizace metodiky a srovnatelnosti hodnot intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken, poskytovaných různými laboratořemi (Lauria et al., 2005, Kennedy et al., 2005). Základním kritériem je vztah místa dělení daného vlákna k bazální membráně epidermis (dermo-epidermální junkci). Jednotlivé větve vláken, dělicího se pod a/nebo přesně v místě dermo-epidermální junkce (tedy v oblasti dermis či na bazální membráně epidermis) jsou tak počítány jako samostatná vlákna, zatímco pokud dělení probíhá až v epidermis (nad dermo-epidermální junkcí), jsou všechny větve započteny pouze jako jedno vlákno (Lauria et al., 2005, Kennedy et al., 2005). Pro usnadnění exaktní detekce dermo-epidermální junkce využívají proto některé studie

paralelní barvení daného preparátu pomocí protilátek proti kolagenu typu IV, obsaženém v bazální membráně epidermis (Kennedy et al., 1996). Detailní popis metodiky hodnocení IENFD, užívaný na naší laboratoři, stejně jako nálezy tohoto parametru u našich pacientů, byly opakovaně publikovány (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a).

6.4.4.1.1. Nálezy kožní biopsie ve vztahu k vyšetřované lokalitě

Hustota intraepidermální inervace významně závisí na lokalizaci. Počet IENF je u zdravých jedinců nejvyšší v oblasti trupu a proximálně na končetinách a signifikantně klesá směrem distálním (Lauria et al., 1999, Holland et al., 1998). Např. McArthur et al. (1998) našli ve skupině 98 zdravých osob cca o 60 % vyšší hustotu intraepidermálních nervových vláken v oblasti stehna než na distálním lýtku, přičemž mezi nálezy z obou oblastí byla prokázána signifikantní korelace. Není bez zajímavosti, že vyšší hustota epidermálních nervových vláken byla tedy prokázána v oblastech s horší prostorovou diskriminací. Tento nález však není překvapivý, neboť percepce taktilního čítí není zprostředkována tenkými nervovými vlákny a její korelaci s denzitou intraepidermální inervace tedy nelze očekávat.

Nálezy kožních biopsií u pacientů s neuropatií tenkých vláken, resp. bolestivou neuropatií obecně pak korelují s anatomickou distribucí a do určité míry i s tíží klinických symptomů: Intraepidermální inervace je však významně redukována i v oblastech lokalizovaných proximálněji od míst s klinicky detekovatelným senzitivním deficitem (Holland et al., 1997, 1998, McArthur et al., 1998). Holland et al. (1997) našli v oblasti distálního lýtka největší redukci denzity IENFs ve skupině pacientů s klinicky detekovatelnou poruchou termického i algického čítí na HKK i DKK, méně pak u pacientů bez postižení HKK, ale s jasnou senzitivní abnormitou v proximálních i distálních oblastech DKK. Signifikantně abnormální nález v kožní biopsii z uvedené oblasti měli i pacienti, nichž byl klinicky patrný senzitivní deficit omezen pouze na oblast nohy (tedy bez poruchy čítí v místě odběru bioptického vzorku), i když ve srovnání s předešlými dvěma skupinami byla u nich redukce počtu IENF méně výrazná. Pouze pacienti z prvních dvou jmenovaných skupin (tedy nikoli ze skupiny poslední) měli významně abnormální nález kožní biopsie též v oblasti stehna.

6.4.4.1.2. Vliv fyziologických proměnných na hodnoty IENFD

Počet IENF pravděpodobně mírně klesá s věkem vyšetřovaných jedinců (Bakkers et al., 2009, Umapathi et al., 2006, Kennedy et al., 2005, Lauria et al., 2005, Moravcová et al., 2005), i když tento trend bývá obvykle popisován pouze u studií provedených na větším počtu

kontrolních jedinců, zatímco u studií s menším počtem zdravých kontrol není často signifikantní vliv věku na počet IENF prokázán (vyjma např. vyjma vyšší hustoty intraepidermální inervace u nejmladších jedinců (10-19 let) (Lauria et al., 1999, McArthur et al., 1998), nebo je zde – obdobně jako v naší studii (Vlckova-Moravcova et al., 2008a) – zachycen pouze trend k poklesu IENFD s věkem, bez statistické významnosti. Příčinou uvedeného rozporu je pravděpodobně poměrně velká interindividuální variabilita hodnot IENFD a také skutečnost, že pokles počtu IENFs s věkem je pouze mírný (Bakkers et al., 2009, Umaphathi et al., 2006), takže na menších souborech nebývají rozdíly často významné. Pokles hodnot IENFD s věkem nicméně není překvapivý a je analogický věkem podmíněné degeneraci řady souvisejících neuronálních i non-neuronálních struktur, která byla opakovaně prokázána. Ve vyšším věku dochází k vyhlazení dermo-epidermální junkce, snížení inervace potních žlaz (Abdel-Rahman et al., 1992), snížení počtu Meissnerových tělísek (Dyck et al., 1966), redukci počtu tenkých málo myelinizovaných a nemyelinizovaných vláken v biopsiích n. suralis (Ochoa a Mair, 1969, Jacobs a Love, 1985) a k dystrofickým změnám neuronů v gangliích zadních kořenů (Schmidt et al., 1997).

Někteří autoři popisují i určitý vliv pohlaví na nálezy kožní biopsie s mírně nižšími hodnotami počtu IENFs u mužů v porovnání se ženami (Bakkers et al., 2009), jiné práce však takový vliv neprokazují (McArthur et al., 1998, Umaphathi et al., 2006, Vlckova-Moravcova et al., 2008) a reálné rozdíly IENFD mezi věkově srovnatelnými skupinami mužů a žen jsou poměrně malé (Bakkers et al., 2009), takže vliv pohlaví na hodnoty IENFD není pravděpodobně nutné zohledňovat. Většina studií se shoduje v absenci vlivu váhy a výšky na intraepidermální inervaci.

6.4.4.1.3. Normativní data intraepidermální inervace

Pro získání validních výsledků kožní biopsie je nutné srovnání zjištěných hodnot IENFD u daného pacienta s exaktně nastavenými normálními limity, získanými v souboru zdravých kontrol. Vzhledem k výše uvedenému fyziologickému poklesu hodnot počtu IENFs s věkem se jako optimální jeví použití věkově stratifikovaných normativních dat (Umaphathi et al., 2006, Bakkers et al., 2009).

Prosté přejímání normativních dat z jiných studií je však do určité míry problematické, protože výsledky publikovaných souborů zdravých kontrol se navzájem významně liší (McArthur et al., 1998, Kennedy et al., 1996, Umaphathi et al., 2006). Důvodem je zřejmě do jisté míry variabilní postup při zpracování vzorků stejně jako ne zcela identický způsob jejich hodnocení. Jednotlivé studie se liší silou preparátů (která kolísá mezi 30 a 100 μm),

konkretním postupem barvení či fixací. Např. McArthur et al. (1998) fixovali vzorky formolem, přičemž pozdější studie prokázaly, že tento způsob zpracování vzorků může vést k destrukci části vláken a preparáty je lépe fixovat v paraformaldehydu, který užíváme i v naší studii. Odlišný způsob fixace je zřejmě důvodem nižšího průměrného počtu IENFs stejně jako z něj odvozených normálních limitů v McArthurově studii ve srovnání s jinými publikovanými soubory. Dalším důležitým prvkem histologického zpracování vzorku je zvolená metodika vizualizace nervových vláken. Studie, využívající imunofluorescenční barvení (včetně studií, prováděných v naší laboratoři), vykazují obecně poněkud vyšší hodnoty IENFD ve srovnání s barvením imunohistochemickým (Lauria et al., 2005, 2010). Obdobně se mohou lišit detaily pravidel hodnocení vzorků. Někteří autoři např. započítávají pouze vlákna, u nichž je spolehlivě detekovatelný průchod přes dermoepidermální junkci, zatímco jiné studie zahrnují do hodnocení i vlákna jasně izolovaná, u nichž nelze předpokládat, že by byly intraepidermální větvi jiného vlákna, avšak průchod přes dermoepidermální junkci není u nich jednoznačně patrný (Lauria et al., 2005). Vzhledem ke zmíněným metodickým rozdílům mezi jednotlivými studii je proto při záměru převzetí publikovaných normativních dat kromě striktního dodržení metodického postupu histologického zpracování a způsobu hodnocení preparátu identického s publikovanou studií vhodné také ověření shodnosti užívané metodiky vyšetřením alespoň menšího vzorku zdravých kontrol (s verifikací skutečnosti, že jsou nálezy u této skupiny obdobné jako v referovaném větším normativním souboru).

Pro účely našich studií (prováděných před publikací výše uvedených prací s rozsáhlejšími soubory věkově stratifikovaných normativních dat) jsme také vytvořili vlastní soubor normativních dat (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008a) a ze získaných výsledků jsme odvodili normální limit intra- i subepidermální inervace. Naše limitní hodnoty jsou mírně vyšší než data recentních publikovaných souborů, což zřejmě souvisí s imunofluorescenční metodou barvení a hodnocení preparátů, užívanou v naší laboratoři (viz výše).

Přes exaktní nastavení normativních dat vykazují kožní biopsie u části pacientů s charakteristickými klinickými symptomy a jasně abnormálním termickým cití verifikovaným QST přesvědčivě normální nálezy intraepidermální inervace (Moravcová et al., 2005, Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a, McArthur et al., 1998, Kennedy et al., 1996). Nejpravděpodobnějším vysvětlením uvedené diskrepance je možnost, že za vznik symptomů je zodpovědná již alterace funkce tenkých nervových vláken (prokazovaná m.j. postižením termického cití dle klinického vyšetření a QST), která nemusí mít signifikantní

morfológický korelát ve smyslu redukce jejich počtu v oblasti epidermis. Kvantitativní testování senzitivity (resp. testování termického prahu) by tak mohlo být zřejmě senzitivnější metodikou v diagnostice neuropatie tenkých vláken než kožní biopsie a to zejména v časných stádiích rozvoje neuropatie či u lehčích forem postižení. Tuto hypotézu je však nutno ověřit validními klinickou studií, zaměřenou na pacienty s incipientním postižením tenkých nervových vláken.

Perspektivně bude také pravděpodobně lepším histologickým korelátem subjektivních obtíží u pacientů se senzitivní neuropatií možnost vizualizace markerů zúčastněných v patofyziologii neuropatické bolesti, tedy např. vanilloinového receptoru (podrobněji viz níže). Studium nových neuronálních markerů, potenciálně lépe reflektujících intenzitu neuropatické bolesti je tak zřejmě jednou z nejslibnějších oblastí pro další výzkum v oblasti významu kožní biopsie v diagnostice periferních bolestivých neuropatií.

6.4.4.1.4. Diagnostická validita metodiky

Senzitivita a specificita metodiky se v publikovaných studiích poněkud liší v závislosti na způsobu stanovení normativních dat. Většina publikovaných studií využívá pro tento účel průměry a směrodatné odchylky. Při tomto způsobu derivace normativních dat je pak specificita automaticky nastavena na 95 či 97,5 % a senzitivita se ve většině studií pohybuje mezi 69 a 82 % (Lauria et al., 2005). Koskinen et al. (2005) dokonce při specificitě 95 % udávají senzitivitu v diagnostice neuropatie tenkých vláken 90 %. Naopak McArthur et al. (1998) našli u pacientů se senzitivní neuropatií při 97 % specificitě senzitivitu pouze 45 %. V naší studii (Moravcová et al., 2005) jsme při derivaci dat percentilovou metodou prokázali při specificitě 95 % senzitivitu 69 %, tedy plně srovnatelnou s výše uvedenými studiemi. Z metodologického hlediska výhodnějším způsobem je derivace normativních dat pomocí tzv. ROC analýzy („receiver-operating characteristic curve“) umožňující nalezení limitní hodnoty („cutt-off“) s optimální kombinací senzitivity a specificity metodiky (Vlckova-Moravcova et al., 2008a). Obdobné nálezy později publikovala Devigli (Devigli et al., 2008).

Potenciální limitací metodiky je závislost na subjektivním úsudku a přesnosti hodnotitelů. Při jejich kvalitní edukaci a dostatečné praxi v evaluaci kožních biopsií však metoda vykazuje minimální intra- i interindividuální variabilitu výsledků mezi jednotlivými hodnotiteli. McArthur et al. (1998) našli vysoký stupeň korelace nálezů při opakovaném posouzení identickým hodnotitelem (intraobserver reliability, korelační koeficient 0,74 - 0,86, $p < 0,001$), stejně jako mezi nálezy 3 různých hodnotitelů („interobserver reliability“, korelační koeficient 0,86-0,94, $p < 0,001$). Vysoký stupeň shody mezi nálezy při opakovaném posouzením preparátů stejným hodnotitelem prokazují i další autoři (McCarthy et al., 1995, Smith et al., 2005, Bakkers et al., 2009).

6.4.4.2. Méně obvyklé parametry kožní biopsie

Kromě vlastního počtu intraepidermálních nervových vláken mohou být v kožních biopsiích vyhodnocovány další parametry. Mezi nejčastější patří délka IENF (Stocks et al., 1996, Kennedy et al., 1996, McCarthy et al., 1995), prostorová distribuce vláken (Kennedy et al., 1996), inervace kožních potních žláz (McCarthy et al., 1995, Levy et al., 1992, Properzi et al., 1993), počet větvících se intraepidermálních vláken a z něj odvozené parametry (např. poměr počtu IENF k počtu míst, kde dochází k jejich větvení – tzv. „branching ratio“) (Lauria et al., 1999, Kennedy et al., 1996), hustota subepidermální inervace, event. sekundární změny, detekovatelné v kůži po její denervaci, např. změny tloušťky epidermis.

Řada popsaných parametrů vykazuje vzájemnou souvislost a většina z nich koreluje se základním hodnoceným markerem, t.j. s počtem IENFs (Kennedy et al., 1996).

6.4.4.2.1. Predegenerativní změny

Podle některých autorů (Holland et al., 1998, Lauria et al., 1998, 2003, Gibbons et al., 2006) mohou být i v oblastech s normální hustotou intraepidermálních nervových vláken zachytitelné určité patologické změny, označované jako „predegenerativní“. Jedná se o ztluštění (doslova „swelling“) axonů v epidermis (Holland et al., 1998, Gibbons et al., 2006, Lauria et al., 2003), tvorbu shluků nervových vláken („clumping“), kontrastujících s neinervovanými vymezenými oblastmi (Lauria et al., 1998), zvýšené větvení intraepidermálních vláken nebo abnormální typ inervace, kdy dochází k horizontálnímu růstu axonů uvnitř stratum corneum epidermis či v oblasti dermo-epidermální junkce (Lauria et al., 1998). Uvedené změny jsou jen obtížně kvantifikovatelné, ale jejich přítomnost podporuje diagnózu neuropatických změn a podle některých studií mají dokonce prediktivní hodnotu v rozvoji či progresi neuropatie (Lauria et al., 2003, Gibbons et al., 2006).

Obdobné změny bývají popisovány i v oblasti dermis, především v oblasti stratum papillare korie, kde může kromě výše zmíněné redukce denzity subepidermálního nervového plexu docházet i k morfologickým abnormitám typu varikozit či segmentace nervových vláken odpovídajícím zřejmě jejich degenerativním změnám.

Všechny uvedené „predegenerativní“ změny v dermis i epidermis jsou však hodnoceny pouze kvalitativně, nejsou jednoduše kvantifikovatelné a jejich případný záchyt je velmi závislý na kvalitě histologického zpracování vzorku a zejména na zkušenostech a subjektivním úsudku příslušného hodnotitele. Navíc – vzhledem k nemožnosti jejich kvantifikace – není nastavena žádná hranice, kdy již jejich záchyt představuje přesvědčivou známku abnormity a kdy jsou naopak ještě v rámci normální variability nálezů v daném preparátu. Jejich popis je tak sice zajímavý a pravděpodobně dále zvyšuje senzitivitu metodiky, ale pro účely rutinní diagnostiky a zejména pro potřeby rozsáhlejších studií není prozatím validně využitelný. Tyto změny nejsou proto zohledňovány ani v našich studiích (Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a, Moravcová et al., 2005).

6.4.4.2.2. Hustota subepidermálního nervového plexu

Zatímco metodika hodnocení intraepidermální inervace je široce využívána a exaktně propracována a unifikována, subepidermální inervace bývá hodnocena spíše výjimečně (McCarthy et al., 1995, Kennedy et al., 1996) a to většinou pouze orientačně (s příslušným

slovním popisem event. odchylek, ale bez pokusu o případnou kvantifikaci) (McCarthy et al., 1995). Kvantitativní hodnocení hustoty subepidermálního nervového plexu bylo dosud publikováno jen při použití vysoce specializovaného a náročného vybavení jakým je konfokální mikroskopie, tedy prakticky bez možnosti využití v rutinní diagnostice (Kennedy et al., 1996). V rámci naší studie jsme proto zavedli novou metodiku kvantifikace denzity subepidermálního nervového plexu s jejíž pomocí jsme prokázali, že u pacientů s bolestivou neuropatií dochází nejen k redukci IENFD, ale i ke změnám hustoty subepidermálního nervového plexu a oba parametry navzájem úzce korelují. Nově zavedená metodika kvantifikace subepidermálního nervového plexu tak prokázala velmi dobrou diagnostickou validitu v hodnocení neuropatických změn pacientů s bolestivou neuropatií, srovnatelnou s validitou hodnocení inervace intrapeidermální (Vlckova-Moravcova et al., 2008, 2008a, Moravcová et al., 2006, Bednařík et al. 2006, 2006a, Vlčková et al., 2009).

Řada studií popisuje také redukci inervace kožních potních žláz a vlasových folikulů u pacientů s periferní neuropatií (Karanth et al., 1989, McCarthy et al., 1995, Kennedy et al., 1996, Nolano et al., 2000). Hodnocení těchto změn je však ve většině publikovaných studií pouze kvalitativní a zavedení univerzálně akceptované metodiky kvantifikující inervační změny výše uvedených kožních orgánů je tak jedním z úkolů dalšího výzkum kožních biopsií u periferních neuropatií.

6.4.4.2.3. Změny tloušťky epidermis

Dalším parametrem, který odráží trofické změny probíhající v epidermis při její denervaci, resp. výrazných změnách jejího nervového zásobení, je tloušťka epidermis. Přestože existuje řada studií, popisujících u experimentálních zvířat signifikantní ztenčení epidermis po její denervaci (Hsieh et al., 1996, Li et al., 1997), nebývá tento parametr v humánních vzorcích kožních biopsií hodnocen a není známa ani žádná doporučená metodika jeho stanovení.

V našich vzorcích kožních biopsií pacientů s bolestivou neuropatií s izolovaným postižením tenkých nervových vláken a/nebo s kombinovaným postižením vláken tenkých a silných jsme se proto pokusili vyhodnotit tloušťku epidermis a srovnat tyto výsledky s nálezy v kontrolní skupině zdravých dobrovolníků. Tloušťka epidermis byla pro účely této studie definována jako vzdálenost mezi dermo-epidermální junkcí a zevním okrajem stratum lucidum epidermis (tedy bez započtení vysoce variabilní zevní rohové vrstvy – stratum corneum). Takto definovaná tloušťka epidermis byla měřena v pravidelných intervalech po celé délce epidermis (vždy 5x v každém prohlíženém zorném poli) a pro další statistické zpracování byl vyhodnocen průměr a směrodatná odchylka těchto měření u daného jedince (z nichž byla

následně vypočtena variabilita tloušťky epidermis daného pacienta podle vzorce $CV = \frac{SD}{x} \cdot 100$). Výsledky této studie prokázaly signifikantní ztenčení epidermis v pacientů s oběma typy neuropatie oproti zdravým kontrolám ($57,6 \pm 10,1$ vs. $52,7 \pm 9,6$; $p=0,04$), i když rozdíly mezi oběma skupinami nebyly velké a byl zachycen velmi významný překryv hodnot tloušťky epidermis mezi oběma skupinami. Rozdíl v tloušťce epidermis mezi pacienty s izolovaným postižením tenkých vláken a s kombinovaným postižením obou typů nervových vláken nebyl významný ($52,3 \pm 9,9$ vs. $52,9 \pm 9,4$, $p > 0,05$). Variabilita tloušťky epidermis (reflektující nepravidelnost dermálních papil, která po denervaci u experimentálních zvířat klesá) se mezi pacienty neuropatií a zdravými kontrolami významně nelišila ($18,2$ vs. $17,8$ %, $p > 0,05$) a nebyla prokázána ani korelace vlastní tloušťky epidermis ani její variability s hodnotami IENFD (Moravcová et al., 2006, Vlčková et al., 2009). Naše nálezy tak naznačují, že při redukci kožní inervace zřejmě dochází k určitým trofickým změnám, které se projeví m.j. ztenčením epidermis v příslušné oblasti, nicméně tyto změny nejsou u pacientů s bolestivou neuropatií příliš výrazné (zřejmě proto, že ani denervace epidermis nebývá u těchto pacientů úplná) a v rámci diagnostiky neuropatie tenkých vláken (resp. bolestivých neuropatií obecně) lze tloušťku epidermis využít pouze jako přídatný parametr, podporující v případě průkazu výraznějšího ztenčení přítomnost neuropatických změn, ale samostatně nediskriminující pacienty s periferní neuropatií a zdravé kontroly.

6.4.5. NÁLEZY KOŽNÍ BIOPSIE U RŮZNÝCH DIAGNOSTICKÝCH JEDNOTEK:

6.4.5.1. Diabetická neuropatie

Největší počet publikovaných studií se zabývá hodnocením intraepidermální inervace u pacientů s diabetickou neuropatií. Nálezy kožních biopsií u těchto pacientů u potvrzují signifikantní snížení počtu intraepidermálních nervových vláken oproti zdravým kontrolám, resp. jejich úplné vymizení (Lindberger et al., 1989, Levy et al., 1992, Kennedy et al., 1996, Lauria et al., 1998, Sumner et al., 2003, Shun et al., 2004, Quattrini et al., 2004, Vlčková-Moravcová et al., 2008, Loseth et al., 2008). Kromě vlastní redukce počtu IENFs je u diabetické neuropatie popisována řada dalších abnormálních nálezů, jako je redukce hustoty subepidermálních nerových pletení (Kennedy et al., 1996, Vlčková-Moravcová et al., 2008), výrazně nerovnoměrná prostorová distribuce IENFs (Kennedy et al., 1996), výskyt vláken končících náhle těsně pod dermo-epidermální juncí (která se prakticky nevyskytují u zdravých jedinců) (Kennedy et al., 1996), redukce sumární délky nervových vláken a počtu jejich větví (Kennedy et al., 1996). Klinická tíže neuropatie a stupeň histologických změn obvykle dobře korelují. U pacientů s lehkou polyneuropatií tak bývá přítomna obvykle jen

mírná redukce počtu IENFs, resp. jsou nálezy ještě na dolní hranici normálního rozmezí, zatímco u pacientů s těžkou neuropatií často v epidermis nervová vlákna zcela chybí (Kennedy et al., 1996). Nálezy kožních biopsií také potvrdily, že k alteraci epidermální inervace může u pacientů s diabetem mellitem docházet relativně časně a redukce počtu IENFs je přítomna dokonce i u diabetiků bez klinicky detekovatelné polyneuropatie, i když je méně výrazná ve srovnání s pacienty s klinickými známkami periferně neurogenního postižení (Lindberger et al., 1898, Levy et al., 1992, Sumner et al., 2003, Vlčková-Moravcová et al., 2008, Loseth et al., 2008). Opakovaně bylo též prokázáno, že změny kožní inervace jsou prokazatelné i u pacientů s pouhou poruchou glukozové tolerance (Sumner et al., 2003, Vlčková-Moravcová et al., 2008).

Hodnocení kožních biopsií z různých oblastí verifikovalo nejvýraznější postižení distálních oblastí končetin (Kennedy et al., 1996, Sumner et al., 2003), což potvrzuje obvyklý vzorec postižení u diabetické neuropatie, tedy symetrickou polyneuropatii v závislosti na délce („length-dependent“). Výjimkou z tohoto pravidla je diabetická trunkální neuropatie, u níž lze také prokázat signifikantní redukci intraepidermální inervace (Lauria et al., 1998).

6.4.5.2. Idiopatická neuropatie tenkých vláken

Velké množství studií je zaměřeno také na průkaz změn intraepidermální inervace u pacientů s idiopatickou bolestivou senzitivní neuropatií a normálními nálezy klinickými (při hodnocení šlachookosticových reflexů a funkce silných nervových vláken) i elektromyografickými – tedy na tzv. idiopatickou neuropatii tenkých vláken (Holland et al., 1998, Periquet et al., 1999, Gorson a Ropper, 1995, Gibbons et al., 2006, Moravcová et al., 2005, Vlčková-Moravcová et al., 2008a, Devigili et al., 2008, Koskinen et al., 2005, Lauria et al., 2010). Popisované změny intra- i subepidermální inervace jsou u těchto pacientů analogické jako u diabetické neuropatie, resp. u neuropatie tenkých vláken obecně (viz výše) (Holland et al., 1998, Periquet et al., 1999, Gorson a Ropper, 1995, Gibbons et al., 2006, Vlčková-Moravcová et al., 2008a). Vysokou diagnostickou validitu metodiky v diagnostice neuropatie tenkých vláken potvrzuje i recentní metaanalýza s doporučením EFNS/PNS (Lauria et al., 2010).

6.4.5.3. Méně obvyklé diagnostické jednotky

Lepra

Vůbec první rozsáhlejší studie intraepidermální inervace z kožních biopsií byla provedena u pacientů s leprou (Karanth et al., 1989). U všech forem lepry dochází v postižených oblastech

k významné redukci inervace, obvykle postihující jak epidermis, tak i dermis (Karanth et al., 1989).

Senzitivní neuropatie při AIDS či HIV

Polydefkis prokázal u pacientů se senzitivní polyneuropatií asociovanou s infekcí HIV („human immunodeficiency virus“ - virus lidské imunodeficiency) signifikantní redukci tenkých nervových vláken v kožních biopsiích. Podobné nálezy jsou zachyceny i u senzitivní neuropatie s výraznými pozitivními senzitivními symptomy při AIDS („acquired immune deficiency syndrome“ – syndrom získané imunodeficiency), kde byla dále prokázána přibližně stejně výrazná redukce tenkých i silných nervových vláken v biopsiích periferních nervů (Cornblath a McArthur, 1988). Počet IENFs je často snížen i u HIV pozitivních pacientů bez klinických známek neuropatie (McCarthy et al., 1995). U těchto jedinců jsou často nalézány i další změny korelující s degenerací nervových vláken, např. jejich segmentace (McCarthy et al., 1995).

Fabryho choroba

Scott a spolupracovníci (1999) prokázali významnou redukci intraepidermální inervace (na úroveň cca 27 % normálních hodnot) u 20 mužů s Fabryho chorobou a intaktními renálními funkcemi. Biopsie n. suralis u těchto pacientů prokázala izolované snížení počtu tenkých nervových vláken a to jak málo myelinizovaných i nemyelinizovaných (A-delta i C). Přes uvedený nález byla kvantitativním testováním termického prahu prokázána disproporcionální alterace percepce pouze chladných podnětů (Scott et al., 1999).

Přestože jsou ženy-přenašečky většinou považovány za asymptomatické, byl u nadpoloviční většiny z nich při detailním testování také prokázán výskyt bolesti a relevantních senzitivních symptomů periferních neuropatií a současně vysoce signifikantní redukce intraepidermální inervace ve srovnání se zdravými kontrolami (Torvin Moller et al., 2009).

Sarkoidóza

Studie hodnotící kožní biopsie u pacientů s prokázanou sarkoidózou (Hoitsma et al., 2002, Bakkers et al., 2009) prokázaly signifikantní redukci IENFD u většiny neurologicky symptomatických i některých asymptomatických jedinců.

Amyloidóza

Yang a spolupracovníci (2010) publikovali nálezy kožní biopsie u pacientů s familiární amyloidní polyneuropatií na podkladě prokázané bodové mutace proteinu transthyretinu, jehož změněná forma vytváří amyloidová depozita především v periferních nervech, což je provázeno spektrem motorických, autonomních a také senzitivních symptomů, především alterací senzitivity pro teplo a bolest. Kožní biopsie u těchto pacientů prokázala vysoce signifikantní redukci intraepidermální inervace ve srovnání se zdravými kontrolami, přičemž míra této redukce korelovala s tíží klinických symptomů.

Autoimunitní systémová onemocnění

Významná redukce počtu IENFs byla prokázána u pacientů se systémovým lupus erythematoses a Sjögrenovým syndromem, zatímco intraepidermální inervace u pacientů s revmatoidní artritidou se významně nelišila od nálezů kožních biopsií u zdravých kontrol (Goransson et al., 2006). Přesvědčivá je také redukce počtu intraepidermálních tenkých nervových vláken u pacientů s akutní idiopatickou demyelinizační polyneuropatií (Pan et al., 2003, Martinez et al., 2010), zejména v případě rozvoje neuropatické bolesti a korelujících symptomů v klinickém obraze (Martinez et al., 2010).

Hypothyreóza

Redukce IENFD byla prokázána u významné části pacientů s hypothyreozou a objektivními klinickými známkami (a/nebo symptomy) polyneuropatie (Nebuchennykh et al., 2010). Deficit tenkých nervových vláken byl u těchto pacientů většinou kombinován s postižením vláken silných (analogicky s výskytem klinických známek dysfunkce tenkých i silných nervových vláken u většiny zařazených pacientů). Překvapivě však byla signifikantní redukce intraepidermální inervace prokázána i u nadpoloviční většiny z neurologického hlediska asymptomatických pacientů s klinicky manifestní hypothyreózou a dokonce u čtvrtiny asymptomatických jedinců s hypothyreózou subklinickou (Magri et al., 2010).

Toxické neuropatie

Studie na experimentálních zvířatech prokazují signifikantní redukci intraepidermální inervace u bolestivé neuropatie vyvolané aplikací řady běžně užívaných protinádorových léčiv, např. vincristinu (Siau et al., 2006, Meyer et al., 2010), paclitaxelu (Siau et al., 2006), cisplatinu (Bianchi et al., 2006) či bortezomibu (Bruna et al., 2010). Humánní studie, prezentující nálezy kožních biopsií u pacientů po terapii zmíněnými preparáty, však dosud

nebyla publikována, i když vzhledem k častému rozvoji klinických známek bolestivé neuropatie je u těchto pacientů alterace kožní inervace vysoce pravděpodobná. Kazuistické publikace z oblasti humánní medicíny pak prokazují významné změny kožní inervace u pacientů s tzv. syndromem ruka – noha po aplikaci capecitabinu (Xeloda) (Stubblefield et al., 2006).

Kongenitální insenzitivita pro bolest s anhidrózou

Nolano se spolupracovníky (2000) prokázala u pacientů s kongenitální insenzitivitou pro bolest s anhidrózou výrazné denervační změny kožní struktur včetně potních žláz, mm.arrectores pilli a epidermis a také absenci tenkých málo myelinizovaných a velmi výraznou redukci tenkých nemyelinizovaných vláken v n. suralis.

Posttraumatické bolestivé periferní neuropatie

Signifikantní redukce intraepidermální inervace při srovnání s protilehlou nepostíženou stranou byla prokázána u pacientů s přetrvávající bolestí v inervační oblasti po poranění některého z periferních nervů na DKK (n. peroneus communis či superficialis, n. suralis, n. cutaneus femoris lateralis) (Shúning et al., 2009).

Postherpetická neuralgie

Většina studií kožní inervace u pacientů s postherpetickou neuralgií (Rowbotham et al., 1996, Oaklander, 2001, Petersen et al., 2010) popisuje signifikantní redukci počtu intraepidermálních nervových vláken, pozitivně korelující s alterací termického cití, prokazovanou QST. Rowbotham a spolupracovníci (1996) popsali inverzní korelaci míry redukce kožní inervace s alodynii, což vysvětlují zvýšenou spontánní aktivitou zbývajících intaktních periferních nociceptorů a/nebo jejich senzitivací v patofyziologii bolesti u postherpetické neuralgie. Většina pozdějších studií však prokazuje opačný vztah mezi bolestí a IENFD. Oaklander (2001) našel signifikantně nižší hodnoty intraepidermální inervace u pacientů s postherpetickou neuralgií ve srovnání s nálezy IENFD v dermatomech po proběhlé erupci herpes zoster u pacientů bez neuropatické bolesti v postižené oblasti. Petersen a spolupracovníci (2010) pak popisují výraznější redukci IENFD u pacientů vyšší intenzitou průměrné denní bolesti i výraznější alodynii, což podporuje roli centrální senzitivace v patofyziologii alodynii, resp. bolesti u postherpetické neuralgie obecně.

6.4.6. DALŠÍ PERSPEKTIVY KOŽNÍ BIOPSIE V DIAGNOSTICE BOLESTIVÝCH NEUROPATIÍ

Možné perspektivy dalšího výzkumu v oblasti kožních biopsií u bolestivých neuropatií byly částečně nastíněny v předchozím textu. Obzvláště perspektivně se pak (vedle výzkumu imunitních mechanismů v rozvoji neuropatické bolesti) jeví zejména možnost vizualizace markerů, zúčastněných v patofyziologii neuropatické bolesti (např. vanilloinového receptoru) a také možnost hodnocení regenerace intra- a subepidermálních nervových struktur.

6.4.6.1. Vanilloinový receptor

Většina nociceptivních tenkých nervových vláken exprimuje receptor pro capsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamid), lipofilní alkaloid obsažený v chilli paprice (Griffin et al., 2001). Tento receptor, označovaný jako vanilloinový receptor typu 1 (VR1), resp. TRPV1 („transient receptor potential V1“) je neselektivní ligand-vázající kationtový kanál, endogenně aktivovaný prostřednictvím tepla a zvýšené koncentrace protonů (tzn. kyselých podnětů). Po lokální aplikaci capsaicinu dochází k iniciální k aktivaci TRPV1 receptorů, asociované s provokací pálivé bolesti (Caterina et al., 1997) a doprovodných senzitivních symptomů a poté k destrukci TRPV1-pozitivních vláken a následné ztrátě senzitivity pro bolest vyvolanou teplem (Simone et al., 1998, Nolano et al., 1999). Po přerušení aplikace vlákna rychle regenerují (Nolano et al., 1999).

TRPV1 pravděpodobně přispívá k indukci a modulaci nocicepce a neurogenního zánětu (Caterina et al., 1997) a hraje zřejmě zásadní roli v patofyziologii pozitivních senzitivních symptomů typu parestezií, pálivých bolestí a dysestezií (Caterina et al., 1997). Změny hustoty TRPV1 imunoreaktivních tenkých nervových vláken by tak mohly být v hodnocení změn kožní inervace u pacientů se SFN potenciálně validnějším markerem než celkový počet intraepidermálních nervových vláken zjištěný pomocí PGP 9.5. Existuje řada studií, užívajících imunohistochemické metody pro vizualizaci TRPV1 nervových vláken v různých orgánech (střevo, urogenitální trakt...) a to jak na animálních modelech, tak i v humánní medicíně, zatímco studie, poskytující nálezy imunohistochemicky či imunofluorescenčně vizualizovaného VR1 receptoru v lidské kůži, jsou velmi ojedinělé a objevují se až zcela recentně (Axelsson et al., 2009, Wilder-Smith et al., 2007). Většinou jde navíc o malé soubory zdravých dobrovolníků (Bodó et al., 2004, Axelsson et al., 2009) či pacientů s často se specifickými klinickými jednotkami (např. kongenitální insenzitivita pro bolest (Axelsson et al., 2009), prurigo nodularis či generalizovaný pruritus (Ständer et al., 2004)), jejichž nálezy nelze jednoduše extrapolovat na situaci u pacientů s neuropatií tenkých vláken, nebo je

vyšetřována kůže v lokalizacích méně standardních pro hodnocení distálních polyneuropatií, např. předloktí (Axelsson et al., 2009), záda nebo trup (Bodó et al., 2004). Naprostá většina studií (Wilder-Smith et al., 2007, Bodó et al., 2004, Ständer et al., 2004) navíc prokazuje VR1 –imunoreaktivní nervová vlákna zejména v hlubších oblastech dermis a méně subepidermálně, zatímco intraepidermální vlákna jsou popisována jako VR1-pozitivní pouze ojediněle (Ständer et al., 2004) či nejsou VR1 pozitivní struktury nervové v oblasti epidermis detekovány vůbec (Wilder-Smith et al., 2007, Bodó et al., 2004). Obdobné zkušenosti máme i na našem pracovišti, kde jsme se ve spolupráci s Neurologickou klinikou ve Würzburgu pokusili v průběhu roku 2005 vizualizovat VR1-imunoreaktivní struktury v našich vzorcích kožních biopsií zdravých dobrovolníků i pacientů s bolestivou neuropatií pomocí všech v té době komerčně dostupných antiTRPV1 protilátek. Ve všech hodnocených vzorcích (s použitím kterékoli testované protilátky) jsme prokázali VR1 imunoreaktivitu pouze na keratinocytech (viz níže), v žádném vzorku jsme naopak nezachytili VR1-imunoreaktivní nervová vlákna v oblasti epidermis (nepublikováno).

Pouze dvě z dosud publikovaných humánních studií (Lauria et al., 2006, Axelsson et al., 2009) tak popisují vizualizaci řady jasně detekovatelných VR1 imunoreaktivních nervových vláken v oblasti epidermis, vzhledem k nálezům ostatních publikovaných prací je však otázkou, zda se nejedná spíše o chybnou interpretaci nálezů danou např. zkříženou reaktivitou použitých protilátek s jiným typem antigenních epitopů, exprimovaných na intraepidermálních nervových vláknech. Většina studií naopak v epidermis prokazuje VR1-imunoreaktivitu řady buněčných typů, např. Langerhansových buněk, mastocytů a zejména suprabazálních keratinocytů (Wilder-Smith et al., 2007, Bodó et al., 2004, Ständer et al., 2004), jejichž imunoreaktivita je u pacientů s neuropatií tenkých vláken či diabetickou neuropatií dokonce pravděpodobně vyšší než u zdravých jedinců (Wilder-Smith et al., 2007). Tato skutečnost však dále zhoršuje technické možnosti vizualizace případných VR1-pozitivních nervových struktur v oblasti epidermis a může limitovat využitelnost hodnocení VR1-imunoreaktivních nervových vláken v rutinní diagnostice periferních neuropatií. Validní zhodnocení významu této metodiky u pacientů s bolestivou polyneuropatií tak prozatím není k dispozici a metodu nelze doporučit pro rutinní diagnostiku u pacientů s neuropatií tenkých vláken.

6.4.6.2. Hodnocení regenerace nervových vláken

Zajímavou otázkou je potenciální regenerace nervových vláken u pacientů s neuropatií. Na experimentálních modelech u myši bylo prokázáno, že po přetěti či zhmoždění ischiadiku

penetrují některá regenerující nervová vlákna přes bazální laminu do epidermis, ale pouze část z nich prorůstá do povrchovějších vrstev kůže až ke stratum corneum (Navarro et al., 1997). Kennedy a spol. (Kennedy et al., 1996) nalez v kůži diabetiků mnoho nervových vláken končících bezprostředně pod dermo-epidermální junkcí. Pokud by tato vlákna odpovídala degenerujícím axonům v rámci tzv. „dying back“ degenerace, bylo by obdobná slepě zakončená vlákna možné detekovat i v hlubších vrstvách epidermis, což však autoři neprokázali. Předpokládají tedy, že by se mohlo jednat o regenerující nervová vlákna, která se neúspěšně pokoušejí prorůstat zpět do epidermis. Je-li tomu tak, je otázkou, zda je růstu regenerujících vláken intraepidermálně zabráněno normálně fungující bazální membránou epidermis (což je vzhledem k výše uvedeným experimentálním nálezům méně pravděpodobné) nebo naopak membránou alterovanou v rámci základního onemocnění. V kůži diabetiků obdobně jako v jiných orgánech (např. v ledvinách, oku apod.) pravděpodobně dochází ke glykaci proteinů bazální membrány. Odlišné glykoproteinové složení pak může vést ke změnám náboje bazální membrány, její tloušťky či velikosti jejích pórů a v souvislosti s tím k alteraci membránových funkcí. Takto změněná bazální lamina pak může představovat překážku regenerujícím nervovým vláknům v prorůstání zpět do epidermis. Autoři nicméně neprokázali změnu tloušťky bazální membrány epidermis u pacientů s neuropatií ve srovnání se zdravými kontrolami a význam event. změněné bazální membrány pro průběh reinervace u pacientů s diabetem nebyl v další studii, zaměřené na regeneraci kožní inervace u diabetiků, prokázán.

Polydefkis a spolupracovníci (2002) pak studovali kožní reinervaci po aplikaci capsaicinu, po níž došlo během 48 hodin k prakticky úplnému vymizení intraepidermálních nervových vláken a výrazné redukci subepidermálního nervového plexu, paralelně s QST verifikovanou signifikantní elevací algického prahu pro teplé podněty, ale beze změn prahů pro podněty mechanické. Následná reinervace (dokumentovaná pomocí opakovaných biopsií z postižené oblasti) pak probíhala několik měsíců, přičemž morfologicky se reinervovaná nervová vlákna ani svazky v oblasti dermis a epidermis nelišila od struktur, zachycených před denervací a nebyla zachycena alterace prorůstání nervových struktur přes oblast dermo-epidermální junkce. U většiny zdravých kontrol bylo sledování ukončeno v intervalu cca 100 dní po aplikaci capsaicinu, přičemž počty IENFD v tomto intervalu nedosáhly výchozích hodnot. U 4 jedinců byla biopsie provedena ještě 165 a 350 dní od aplikace, kdy byl zachycen další nárůst počtu regenerovaných vláken. Paralelně se zmíněnými reinervačními změnami docházelo k opětovné úpravě algického prahu pro teplo až k výchozím hodnotám. Přesvědčivá reinervace byla ve zmiňované studii zachycena i u pacientů s diabetem mellitem,

byla však výrazně pomalejší než u zdravých kontrol (a tedy v době ukončení studie hodnoty IENFD ani zdaleka nedosáhly hodnot výchozích). Přestože již přítomnost diabetu jako takového vedla k významnému zpomalení reinervačních procesů, rychlost regenerace dále negativně korelovala se vstupním počtem IENFD a byla významně pomalejší u pacientů s klinickými a anamnestickými známkami neuropatie. Přesvědčivé zpomalení reinervace bylo však zachyceno i u diabetiků bez známek neuropatie a to i po zohlednění lehce vyššího věku pacientů s diabetem oproti zdravým jedincům v prezentované studii (která navíc neprokázala vliv věku na regeneraci nervových vláken ve skupině zdravých kontrol).

Přestože nálezy zmíněné studie prokazují poruchy reinervace po lokální aplikaci capsaicinu u pacientů s diabetem mellitem, resp. periferními neuropatiemi obecně, jedná se o model, který plně neodráží přirozené změny, k nimž dochází v průběhu rozvoje neuropatie. Změny reinervace v průběhu rozvoje polyneuropatie a možnosti jejich potenciálního ovlivnění, ať již kompenzací základního onemocnění, vedoucího k rozvoji neuropatie (například diabetu) nebo lékově v rámci farmakologických studií (např. s nervovými růstovými faktory) tak představují perspektivní oblast pro další výzkum.

7. ETIOLOGIE NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN

Neuropatie tenkých vláken bývá považována za izolovanou diagnostickou jednotku, vydělující se ze spektra dalších periferních neuropatií i po stránce potenciálních etiologických faktorů. Mezi nejčastější etiologické faktory neuropatie tenkých vláken patří jednoznačně diabetes mellitus (Bednařík et al., 2009, Vlčková-Moravcová et al., 2008, 2008a, Pittenger et al., 2004, Polydefkis et al., 2004, Kennedy et al., 1996, Levy et al., 1989, 1992, Loseth et al., 2008, Properzi et al., 1993, Quattrini et al., 2004, Shun et al., 2004, Sorensen et al., 2006, Sumner et al., 2003, Smith et al., 2001, 2008, Hughes et al., 2004) a porucha glukózové tolerance (Bednařík et al., 2009, Sumner et al., 2003, Smith et al., 2001). Vedle poruch glukózového metabolismu bývají mezi onemocněními, vedoucími potenciálně k rozvoji SFN, uváděny zejména dědičné neuropatie (např. hereditární senzitivní a autonomní neuropatie, kongenitální insenzitivita pro bolest bez anhidrozy apod.) (Neuromuscular Home Page, Pareyson, 2003, Lacomis, 2002) a další poměrně vzácné, geneticky podmíněné klinické jednotky. Do této skupiny patří např. Fabryho choroba (Scott et al., 1999, Torvin Moller et al., 2009), Tangierova choroba (Pareyson, 2003) či familiární amyloidóza (Wang et al., 2008, Kissel a Mendell, 1996). Mezi onemocnění bez jasné genetické vazby, která prokazatelně mohou vést k postižení tenkých nervových vláken, bývají uváděny amyloidóza systémová (Wang et al., 2008, Kissel a Mendell, 1996), monoklonální gamapatie (Barbieri et al., 1995, Kissel a Mendell, 1996), Sjögrenův syndrom (Mellgren et al., 1989, Grant et al., 1997, Gemignani et al., 1994), syndrom získané imunodeficiencie (AIDS) (McArthur et al., 2000), hyperlipidémie (McManis et al., 1994, Teunissen et al., 2002) a dále toxické příčiny, zahrnující toxiny lékové (např. některé protinádorové léky či metronidazol) i environmentální včetně alkoholu (Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

U významné části pacientů není žádný etiologický faktor prokázán. Podíl idiopatických případů závisí pochopitelně na rozsahu vyšetření, provedených za účelem detekce potenciálních etiologických faktorů. Většinou je uváděn jako dominující, ale jeho význam ve spektru potenciálních etiologických faktorů podle různých pramenů významně kolísá, často bývá nadpoloviční a v některých studiích je etiologie hodnocena jako idiopatická dokonce až u 93 % zařazených pacientů (Periquet et al., 1999). Obecně se předpokládá, že podíl idiopatických případů je u SFN signifikantně vyšší než u jiných typů polyneuropatií.

Spektrum uváděných etiologických faktorů však ve většině případů není založeno detailním etiologickým screeningu jasně definovaného souboru pacientů s neuropatií tenkých vláken,

ale spíše na případových studiích výskytu neuropatie tenkých vláken na určitém (většinou ne velkém) souboru pacientů s některým z výše zmíněných onemocnění, zvažovaných jako potenciální etiologický faktor postižení. Tento způsob však může vést k opomenutí některých významných etiologických faktorů, stejně jako ke zkreslení proporcionálního výskytu jednotlivých příčin a zejména k akcentaci některých raritních onemocnění, jejichž význam jako rizikových faktorů neuropatie tenkých vláken je z populačního hlediska pouze okrajový. V recentně publikované studii (Bednařík et al., 2009) jsme se proto pokusili pomocí detailního screeningu vyhodnotit výskyt potenciálních etiologických faktorů periferně neurogenního postižení v našem exaktně definovaném souboru pacientů s postižením tenkých nervových vláken (a to jak izolovaným, tak kombinovaným s postižením vláken silných) a srovnat tyto nálezy se souborem zdravých dobrovolníků obdobného věku. Pomocí multivariantní analýzy byly v této studii jako jediné etiologické faktory, signifikantně nezávisle asociované s postižením tenkých nervových vláken, vyhodnoceny diabetes mellitus, chronický abusus alkoholu a hypercholesterolemie. Výskyt zmíněných faktorů ani jejich proporciální zastoupení se nelišily mezi pacienty s izolovaným postižením tenkých nervových vláken a s kombinovaným postižením vláken tenkých a silných a stejně jako proporciální zastoupení pacientů idiopatickou etiologií (necelých 23 %) byly obdobné jako nálezy, popisované u souborů pacientů s polyneuropatií silných vláken. U žádného z pacientů našeho souboru naopak nebyla pozitivní rodinná anamnéza onemocnění, což svědčí proti hereditárním neuropatiím či dalším geneticky podmíněným onemocněním jako pravděpodobným etiologickým faktorům postižení v našem souboru (a také obecně podporuje hypotézu o spíše okrajovém významu zmíněných faktorů v kohortě pacientů s neuropatií tenkých vláken, i když tyto nálezy pochopitelně nezpochybňují fakt že tato a další onemocnění, nevyhodnocená v našem souboru pacientů jako významná, jsou prokázanými etiologickými faktory neuropatie tenkých vláken). Některé z nejčastěji zmiňovaných etiologických faktorů budou dále zmíněny podrobněji.

7.1. ONEMOCNĚNÍ BEZ JEDNOZNAČNÉ GENETICKÉ VAZBY

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus patří k dobře známým a jednoznačně prokázaným etiologickým faktorům neuropatie tenkých vláken, resp. periferních neuropatií obecně (Bednařík et al., 2009, Vlčková-Moravcová et al., 2008, Deviligi et al., 2008, Pittenger et al., 2004, Sumner et al., 2003, Hughes et al., 2004, Smith et al., 2001, 2008). Diabetická neuropatie je pak frekventní komplikací častého a jasně definovaného onemocnění, jehož diagnostika je součástí základního screeningu pacientů již od úrovně praktických lékařů. Z těchto důvodů patří diabetická neuropatie k nejlépe prozkoumaným diagnostickým jednotkám v rámci spektra periferních neuropatií a je často využívána i jako model periferní neuropatie pro účely klinických i experimentálních studií (kde je diabetes u testovaných zvířat indukován nejčastěji injekcí streptozocinu). Její klinický obraz stejně jako nálezy různých paraklinických metod byly opakovaně publikovány a jsou frekventně zmiňovány v předchozím textu (Bednařík et al., 2009, Vlčková-Moravcová et al., 2008, Pittenger et al., 2004, Polydefkis et al., 2004, Kennedy et al., 1996, Levy et al., 1989, 1992, Loseth et al., 2008, Properzi et al., 1993, Quattrini et al., 2004, Shun et al., 2004, Sorensen et al., 2006, Sumner et al., 2003, Deviligi et al., 2008).

Toxická etiologie

Jedním z nejvýznamnějších etiologických faktorů neuropatie s izolovaným postižením tenkých vláken i neuropatie s kombinovaným postižením vláken tenkých a silných je pravděpodobně chronický abusus alkoholu (Bednařík et al., 2009). Senzitivní neuropatie, často bolestivá, je prokazována u významné části pacientů s chronickým abusem alkoholu (Zambelis et al., 2006) a cílené studie prokazují signifikantní redukci tenkých nervových vláken u těchto pacientů (Koike et al., 2001, Zambelis et al., 2006), dominující zejména v časných fázích rozvoje onemocnění a později často kombinovanou s postižením vláken silných (Koike et al., 2001). Tento typ neuropatie přitom není podmíněn případným nutričním deficitem u postižených pacientů a nekoreluje s hladinou thiaminu, což podporuje dominující roli přímého toxického efektu alkoholu na periferní nervový systém, zvažovanou některými autory jako pravděpodobný parofyziologický mechanismus neuropatie tenkých vláken u pacientů s jeho abusem (Koike et al., 2001).

Význam tohoto faktoru však bývá v rámci etiologického spektra neuropatie tenkých vláken často podhodnocen, pravděpodobně především z důvodu obvyklého zkreslení anamnestických

dat příslušnými pacienty a nízké specificitě většiny běžně užívaných relevantních laboratorních markerů. V rámci subprojektu zaměřeného na detailní etiologický screening neuropatie tenkých vláken jsme proto na našem pracovišti nově zavedli vyšetřování karbohydrát deficientního transferrinu jako méně užívaného laboratorního markeru chronického abusu alkoholu. Zmíněný marker pak v naší pilotní studii pomocí unikátní metody ROC křivek prokázal významný přínos v laboratorní diagnostice chronického abusu alkoholu především díky navýšení kumulativní senzitivity souboru laboratorních markerů alkoholismu a velmi uspokojivé diagnostické validitě zejména u mužů (Moravcová et al. 2004).

Z dalších látek, selektivně či predominantně působících na tenká nervová vlákna, bývají zmiňovány některé léky (např. metronidazol (Zivkovic et al., 2001)), pesticidy (např. chlordekon) (Neuromuscular Home Page) či ciguatoxin (jed, pocházející z mikroskopických řas *Obrněnky* (*Gambierdiscus toxicus*), který následně prošel trávicím traktem ryb. Jejich požití pak vyvolává otravu rybím masem, jejíž součástí je kromě nevolnosti, zvracení a dalších známek otravy také častý výskyt neurologických symptomů včetně příznaků bolestivé neuropatie s dominantním postižením tenkých nervových vláken (Neuromuscular Home Page)).

Signifikantní postižení tenkých nervových vláken bylo prokázáno také u neuropatie vyvolané řadou běžně užívaných protinádorových léčiv, např. vincristinu (Siau et al., 2006, Meyer et al., 2010), paclitaxelu (Siau et al., 2006), cisplatiny (Bianchi et al., 2006), bortezomibu (Bruna et al., 2010, Chaudhry et al., 2008) či thalidomidu (Chaudhry et al., 2008). Průkaz postižení tenkých nervových vláken těmito preparáty je však založen pouze na nálezech toxického postižení u experimentálních zvířat, zatímco humánní studie v této oblasti nebyly prozatím publikovány (i když je u lidí m.j. vzhledem k častému rozvoji bolesti a dalších senzitivních symptomů u pacientů s neuropatií indukovanou antiproliferativními preparáty postižení tenkých nervových vláken vysoce pravděpodobné).

Stubblefield a spolupracovníci (2006) publikovali formou kasuistiky nálezy kožní biopsie u pacientky se syndromem ruka – noha („hand-foot syndrom“, palmární erytrodysestezie), nově popisované diagnostické jednotky, prezentující se charakteristicky bolestivým zarudnutím dlaní a plosek nohou, provázeným paresteziemi a dysesteziemi, případně až zvýšeným olupováním kůže, vznikající po aplikaci capecitabinu (Xelody)). Nálezy kožní biopsie u této pacientky prokazují signifikantní redukci IENFD a naznačují tak, že pravděpodobným podkladem tohoto syndromu může být toxicky indukovaná neuropatie tenkých vláken.

Hyperlipidémie

Méně obvyklým etiologickým faktorem periferních neuropatií, často zmiňovaným v souvislosti s neuropatií tenkých vláken, je hyperlipidémie. Mc Manis a spolupracovníci (1994) publikovali nálezy šesti pacientů s bolestivou distální polyneuropatií s výhradním či dominujícím postižením tenkých nervových vláken a výraznou hypertriglyceridémií (a mírnou hypercholesterolémií), bez průkazu ev. jiných rizikových faktorů polyneuropatií. Hughes a kolegové (2004) následně prokázali signifikantně vyšší hladiny triglyceridů u pacientů s chronickou idiopatickou axonální neuropatií ve srovnání s kontrolním souborem, přičemž zmíněná elevace byla ještě významnější u pacientů s neuropatií bolestivou. Podobné nálezy zvýšených hladin cholesterolu u pacientů s neuropatií publikoval Teunissen a spolupracovníci (2002). Naše výsledky (Bednařík et al., 2009) pak prokázaly hypercholesterolémii jako jeden významných nezávislých rizikových faktorů vzniku bolestivé neuropatie, zatímco zvýšení hladiny triglyceridů (také vysoce signifikantně zvýšené u pacientů s neuropatií oproti souboru kontrolnímu) bylo asociováno s DM (resp. metabolickým syndromem obecně).

HIV infekce a syndrom získané imunodeficiency (AIDS)

Senzitivní neuropatie s výraznými pozitivními senzitivními symptomy postihuje cca 30 % pacientů s AIDS (Cornblath a McArthur, 1988). Na rozdíl od HIV-demenci nedošlo po objevení vysoce účinných antiretrovirových preparátů k poklesu její incidence. Důvodem je pravděpodobně fakt, že obdobný typ neuropatie může být jedním z nežádoucích účinků řady antiretrovirových léčiv (zejména jejich dideoxy- složek). Bioptické nálezy u pacientů s touto diagnostickou jednotkou prokázaly přibližně stejnou redukci počtu silných i tenkých nervových vláken v periferních senzitivních nervech a signifikantní snížení hustoty inervace epidermis. Polydefkis a spolupracovníci (2002) prokázali na souboru 62 pacientů s HIV asociovanou senzitivní neuropatií signifikantní inverzní korelaci mezi počtem IENF a intenzitou neuropatické bolesti. Redukce intraepidermální inervace byla dále asociována s nižším počtem CD4+ lymfocytů, s vyššími plazmatickými hladinami HIV RNA a také s výsledky kvantitativního testování termického a vibračního prahu (Polydefkis et al., 2002). V rámci hledání nových terapeutických možností HIV asociované senzitivní neuropatie byl testován vliv nervového růstového faktoru („nerve growth factor“ - NGF) (McArthur et al., 2000). Studie však neprokázala elevaci počtu IENF během léčby NGF a to i přes určité zlepšení bolesti hodnocené pomocí vizuální analogové škály.

Zánětlivá autoimunitní etiologie

Významná část pacientů se zánětlivými autoimunitními chorobami pojiiva vykazuje v rámci multiorgánového postižení také známky dysfunkce periferního nervového systému, často se symptomy charakteristickými pro neuropatii tenkých vláken. Frekvence výskytu a míra periferně neurogenního postižení se však u jednotlivých diagnostických jednotek v zařazených do této skupiny onemocnění významně liší. Goransson a spolupracovníci (2006) prokázali signifikantní redukci počtu IENFs u pacientů se systémovým lupus erythematoses a Sjögrenovým syndromem (viz dále), zatímco intraepidermální inervace u pacientů s revmatoidní artritidou se významně nelišila od nálezů kožních biopsií u zdravých kontrol. Nálezy kožní inervace u pacientů s neuropatií při vaskulitidě prokazují signifikantní redukci kožní inervace u pacientů s kombinovaným postižením tenkých a silných vláken (Lee et al., 2005). Obdobně byly u některých pacientů s neuropatií s izolovaným postižením vláken tenkých zachyceny nálezy biopsie n. suralis typické pro vaskulitidu (Lacomis et al., 1997). Výrazná redukce tenkých nervových vláken byla prokázána i v kožních biopsiích pacientů s akutní idiopatickou demyelinizační polyneuropatií (sy. Guillain-Barré) (Pan et al., 2003, Martinez et al., 2010), kde rozvoj postižení tenkých vláken predikuje vznik neuropatické bolesti (Martinez et al., 2010).

Sjögrenův syndrom

Sjögrenův syndrom (SS) je chronické zánětlivé onemocnění postihující především exokrinní žlázy, u kterého se však běžně objevují i četná extraglandulární postižení. Pro toto onemocnění je typická tvorba specifických protilátek anti-SS-A (Ro) a anti-SS-B (La) a lymfocytární infiltrace exokrinních žláz. Rozeznává se primární a sekundární SS. Sekundární forma SS je spjata s přítomností jiného autoimunitního onemocnění (revmatoidní artritidy, systémový lupus erythematoses), která mohou sama o sobě vést k postižení tenkých nervových vláken (viz výše). Klinicky se SS projevuje zejména sníženou funkcí slzných a slinných žláz (s pocitem sucha v ústech a suchého oka s pálením a řezáním očí či pocitem suchého oka), ev. příznaky postižení žláz gastrointestinálního traktu či dýchacích cest. Častý je také Raynaudův fenomén, polyartralgie a myalgie. Z neurologických příznaků se nejčastěji vyskytují distální axonální senzitivní či senzitivně-motorická polyneuropatie, neuralgie trigeminu, senzitivní neuronopatie, ev. příznaky postižení centrálního nervového systému. Dysfunkce tenkých nervových vláken je pravděpodobně obvyklým podkladem senzitivních symptomů i případné autonomní dysfunkce u polyneuropatií při Sjögrenově syndromu (Mellgren et al., 1989, Gemignani et al., 1994, Grant et al., 1997).

Hypothyreóza

Změny funkce tenkých nervových vláken i korelující morfologické nálezy kožních biopsií byly prokázány u pacientů s polyneuropatií při hypothyreóze (Nebuchennykh et al., 2010), ale i u neurologicky asymptomatických jedinců s klinicky manifestní hypothyózou i hypothyreózou subklinickou (Magri et al., 2010).

Lepra

U všech forem lepry dochází v postižených oblastech k významné redukci inervace, obvykle postihující jak epidermis, tak i dermis (Karanth et al., 1989). V našem geografickém regionu však nejde o běžnou etiologii postižení tenkých nervových vláken.

Amyloidóza

Amyloidóza představuje heterogenní skupinu onemocnění s multiorgánovým postižením, pro která je charakteristické extracelulární tkáňové ukládání speciálních proteinů většinou vláknité struktury. Podle rozsahu postižení se odlišuje systémová (generalizovaná) a lokalizovaná forma. Systémových amyloidóz je několik typů s rozdílným složením deponovaných fibril. Hlavní proteinová komponenta je známa u většiny forem systémových amyloidóz a do dnešní doby bylo identifikováno nejméně 21 různých proteinů, které mohou vznik amyloidózy způsobit.

Z patogenetického hlediska se běžně odlišuje amyloidóza získaná a hereditární. Získaná amyloidóza se dále dělí na primární (samostatné onemocnění, při němž jsou prekurzorem amyloidu kompletní imunoglobulinové lehké řetězce nebo jejich NH₂ koncové fragmenty) a sekundární (kde ukládání amyloidu vzniká důsledkem dlouhodobého působení chronického zánětlivého procesu různé povahy v organismu, tedy nejčastěji následkem různých forem revmatických onemocnění, případně tuberkulózy, nespecifických střevních zánětů, osteomyelitidy a dalších klinických jednotek, jejichž součástí, resp. patofyziologickým podkladem je chronický zánět). Samostatnou formu představuje amyloidóza dializační, kde jsou patologické změny podmíněné akumulací β 2-mikroglobulin u chronicky dializovaných pacientů a amyliod je ukládám zejména do synoviálních tkání a kostně-kloubních struktur. Periferní neuropatie se z této skupiny amyloidóz vyskytují zejména u amyliodózy primární. Tato skupina onemocnění se významně překrývá s monoklonálními gamapatiemi. Postižení pacienti mají většinou axonální polyneuropatie s predominantním postižením tenkých senzitivních nervových vláken, i když se u nich může vyskytovat i alterace dalších

senzitivních modalit a postižení motorické. Časté je také postižení vláken autonomních (Kissel a Mendell, 1996, Wang et al., 2008).

Monoklonální gamapatie

Přibližně 10 % pacientů s idiopatickou periferní neuropatií (včetně neuropatie tenkých vláken) má prokázaný záchyt některého z monoklonálních imunoglobulinů v séru (ať již v rámci monoklonální gamapatie nejasného významu nebo při mnohočetném myelomu), což představuje přibližně šestinásobek výskytu monoklonálních proteinů v běžné populaci a opravňuje tak spekulace o potenciálním etiologickém významu monoklonálních gamapatií na vznik neuropatie tenkých vláken (i když tato souvislost nebyla dosud jednoznačně verifikována) (Kissel a Mendell, 1996). Barbieri a spolupracovníci (1995) prokázali pomocí QST dysfunkci tenkých nervových vláken A-delta i C u všech vyšetřených pacientů s neuropatií při IgG a IgA monoklonální gamapatii, zatímco u pacientů s IgM monoklonálním imunoglobulinem a pozitivitou anti MAG protilátek byla prokázána pouze dysfunkce A-delta vláken a u anti-MAG negativního pacienta naopak pouze dysfunkce vláken typu C.

Sarkoidóza

Sarkoidóza je disseminované granulomatozní onemocnění prozatím ne zcela jasného původu s vysoce variabilním, obvykle chronicko-progresivním klinickým průběhem, které může postihovat prakticky jakýkoli orgán. Vedle nejčastějších plicních příznaků udává přibližně polovina z pacientů s tímto onemocněním bolest a další senzitivní symptomy, typické pro postižení tenkých nervových vláken (Hoitsma et al., 2002, Bakkers et al., 2009) a publikované studie prokazují signifikantní redukci IENFD u většiny symptomatických i některých asymptomatických jedinců s touto diagnostickou jednotkou (Hoitsma et al., 2002, Bakkers et al., 2009).

7.2. HEREDITÁRNÍ NEUROPATIE

Mezi hereditární polyneuropatie s prokázaným významným či dominujícím postižením tenkých nervových vláken patří zejména následující typy hereditárních senzitivních (nebo senzitivních a autonomních) neuropatií (HSAN, HSN):

Hereditární senzitivní neuropatie, typ I (HSAN I, HSN I), resp. její subtypy IA (s genetickou mutací lokalizovanou na dlouhém raménku 9. chromozomu v lokusu 9q22.1-q22.3 a postihující gen pro podjednotku 1 dlouhého řetězce sérové palmitoyltransferázy, t.j. enzymu zapojeného do syntézy sfingolipidů) a IC (s genetickou mutací lokalizovanou na dlouhém raménku 14. chromozomu v lokusu 14q24.3 a postihující gen pro podjednotku 2 dlouhého řetězce enzymu sérové palmitoyltransferázy).

Jedná se o poměrně vzácné, autozomálně dominantní onemocnění se začátkem v časně dospělosti (průměr 25 let). Vzhledem k dominantně senzitivnímu postižení nemusí někteří pacienti být informováni o obtížích u příbuzných, část mutací navíc vzniká de novo a tito pacienti pochopitelně také nemají pozitivní rodinnou anamnézu. Klinicky vykazují postižení jedinci především pomalu progredující ztrátu termické a algické citivosti distálně zejména na dolních končetinách, vedoucí ke vzniku nebolestivých poranění, ulcerací a kloubních deformit (Charcotovy klouby). Současně mohou být alterovány i další senzitivní modalities, zatímco motorické postižení a známky autonomní dysfunkce jsou méně časté. Typický je vysoký nárt a kladívkové prsty. Primárně jsou tedy postižena tenká, nemyelinizovaná vlákna C, méně výrazné je postižení vláken A-delta a A-beta, ev. A-alfa. Pomocné vyšetřovací metody prokazují abnormální nález QST a kožní biopsie, zatímco rychlosti vedení periferními nervy při EMG jsou často normální nebo jen lehce snížené (Pareyson, 2003, Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

Hereditární senzitivní a autonomní neuropatie, typ II je závažnější, autozomálně recesivní forma s mutací v lokusu 12q13, s časným počátkem (klinická manifestace je v časném dětství nebo jde dokonce o kongenitální postižení), méně vyjádřenou (i když také jednoznačně přítomnou) poruchou funkce nemyelinizovaných vláken a naopak výraznější alterací taktilní citivosti a velmi častými až mutilujícími ulceracemi DKK. Oproti předchozí formě je navíc elektrofyziologicky patrná absence SNAPs (Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

Hereditární senzitivní a autonomní neuropatie, typ III (Riley-Dayův syndrom) je autozomálně recesivní forma s mutací v lokusu 9q31 a kongenitální manifestací, postihující především

židovskou populaci. HSAN III je asociována s posturální hypotenzí, snížením produkce slz až jejich absencí (vedoucí společně s korneální hypestezií k častým ulceracím rohovky), alterací termického a algického cití při relativně zachovalém cití taktilním a zachovalou, resp. naopak zvýšenou potivostí. Současně mohou být přítomny poruchy motility trávicího traktu, plicní a renální postižení (Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

Hereditární senzitivní a autonomní neuropatie, typ IV (označovaná také jako Kongenitální senzitivní neuropatie s anhidrózou nebo Kongenitální insenzitivita pro bolest s anhidrózou) je také autozomálně recesivní formou s mutací v genu, kódujícím TrkA receptor pro nervový růstový faktor (NGF) na krátkém raménku 1. chromozómu (1q21-q22). Mutace má vysokou prevalenci v izraelské arabské populaci. Manifestace je kongenitální, ev. ve velmi ranném dětství, kdy dochází k opoždování psychomotorického vývoje. Klinický obraz zahrnuje obvykle anhidrózu, hypertermii, insenzitivitu pro bolest, dominantní postižení nemyelinizovaných C vláken a tedy výraznou alterací termického cití až úplnou insenzitivitu pro teplo. Oproti předchozí formě je zde naopak normální kontrola krevního tlaku, motility trávicího traktu i produkce slz. Pomocné vyšetřovací metody prokazují redukci kožní inervace, absenci inervace ekrinních potních žlaz a jejich hypotrofii (resp. úplnou absenci v oblasti dermis), redukci počtu až úplné vymizení tenkých nemyelinizovaných a málo myelinizovaných nervových vláken v biopsiích n. suralis při pouze mírné redukci počtu vláken silných (Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

Hereditární senzitivní a autonomní neuropatie, typ V (jinak nazývaná Hereditární senzitivní neuropatie se ztrátou algického cití) je autosomálně recesivní forma s mutací v genu pro nervový růstový faktor β (NGF β). Vyskytuje se zejména v arabské populaci a dále v oblasti severního Švédska. Fenotypově se jedná o velmi variabilní onemocnění s manifestací v rozpětí od velmi časného dětství po dospělost. Klinicky je snížena percepce termických podnětů a bolesti, často se vyskytují kloubní deformity (Charcotovy klouby) zejména na DKK a fraktury, potivost je normální nebo spíše jen mírně snižena. Elektrofyzilogické vyšetření prokazuje normální rychlost vedení vyšetřenými periferními nervy, normální variabilitu srdeční frekvence a alterací termického (a méně ev. i vibračního) cití. Histologické metody prokazují ztrátu či výraznou redukci málo myelinizovaných a nemyelinizovaných tenkých nervových vláken (Lacomis, 2002, Neuromuscular Home Page).

Kongenitální insenzitivita pro bolest bez anhidrózy je vzácné onemocnění s dosud nedetekovaným genetickým defektem a zřejmě autozomálně recesivním typem dědičnosti. Charakteristická je výhradním postižením tenkých myelinizovaných A-delta vláken, která v biopsii n. suralis zcela chybějí, zatímco počet nemyelinizovaných vláken typu C není výrazněji alterován. Klinickému obrazu dominuje senzitivní deficit pro termické modality (zejména chlad) a bolest lokalizovaný distálně na končetinách a to při intaktních autonomních funkcích, svalové síle, šlachokosticových reflexech a senzitivě, zprostředkované silnými myelinizovanými vlákny (Neuromuscular Home Page)

Hereditární senzitivní neuropatie se spastickou paraparézou (Cavanaghova varianta) je autozomálně recesivní onemocnění s mutací na krátkém raménku 5. chromozomu v oblasti 5p15.2. Klinicky je onemocnění charakterizované progredující spastickou paraparézou a senzitivní neuropatií s postižením všech senzitivních modalit, ale s dominující ztrátou citivosti pro bolest a termické cití a výraznými mutilujícími ulceracemi akrálně na končetinách. Začátek příznaků je obvykle v časném dětství. Histologicky je výraznější redukce počtu tenkých než silných nervových vláken (Neuromuscular Home Page).

Postižení tenkých vláken je bylo prokázáno také u dalších raritně se vyskytujících geneticky podmíněných jednotek (většinou s již detekovanými mutacemi), zařazovaných do skupiny hereditárních neuropatií, které jsou však aktuálně popsány u malého počtu jedinců či postižených rodin (většinou nepřesahujícího 10) a nejsou zde tedy dále podrobně zmiňovány. Jedná se např. o hereditární ataxii s termoanalgezií a ztrátou houbovitých papil jazyka, syndrom potivosti indukované chladem, senzitivní a autonomní neuropatii s chronickým průjmem či navažskou senzitivně-autonomní neuropatií s artropatií (Neuromuscular Home Page).

7.3. DALŠÍ GENETICKY PODMÍNĚNÁ ONEMOCNĚNÍ, MANIFESTUJÍCÍ SE VEDLE DALŠÍCH PŘÍZNAKŮ CHARAKTERISTICKY TAKÉ POLYNEUROPATIÍ

Tangierova choroba

Tangierova choroba je velmi vzácné, geneticky podmíněné onemocnění s autozomálně-recesivní dědičností, charakteristické velmi nízkými hladinami HDL-cholesterolu (dědičná hypo- α -lipoproteinémie), způsobenými mutací v genu pro ATP-vázající podjednotku transporteru 1. Především u homozygotních pacientů dochází k akumulaci cholesterolu v makrofázích a následně ke hepatomegalii, splenomegalii, zvětšení lymfatických uzlin a tonzil. Zejména v případě tonzil je zvětšení velmi výrazné a současně s jejich oranžovým zabarvením je často klíčem k diagnóze. Onemocnění může vést k různým typům periferní neuropatie, nejčastější je klinický obraz, imitující syringomyelii a dále pomalu progredující, senzitivně-motorická polyneuropatie DKK. Biopsie n. suralis u těchto pacientů odhalí cholesterolová depozita ve Schwanových a intersticiálních buňkách a dominující ztrátu málo myelinizovaných a nemyelinizovaných tenkých nervových vláken (Pareyson 2003, Neuromuscular Home Page).

Fabryho choroba

Fabryho choroba je gonozomálně recesivní onemocnění způsobené deficitem enzymu α -glukosidázy A s následnou kumulací ceramidu trihexosidu. Vedle vaskulárních komplikací vedoucích k renální insuficienci a případně alteraci myokardiální či cerebrální perfuze je u pacientů s tímto onemocněním častá bolestivá polyneuropatie, klinicky se projevující dysesteziemi a pálivými bolestmi, zejména distálně na končetinách s dominujícím postižením chodidel a dlaní, ev. bolestmi viscerálními a poruchami potivosti. Obtíže jsou často spouštěny zvýšením tělesné teploty následkem horečky či fyzické aktivity. Podkladem zmíněných obtíží je dysfunkce tenkých málo myelinizovaných a nemyelinizovaných nervových vláken, jejíž predominantní ztráta byla opakovaně prokázána nejen u mužů, trpících tímto onemocněním (Scott et al., 1999), ale i u žen – přenašeček, u nichž byl detailním screeningem také prokázán výskyt řady symptomů periferní neuropatie (Torvin Moller et al., 2009).

Familiární amyloidóza

Obdobně jako amyloidózy získané, lze i hereditární amyloidózy rozdělit do dvou skupin, z nichž první skupina je spojená s mutací v genech pro proteiny, které hrají roli v regulaci zánětlivé odpovědi organismu. Alterací funkce daného proteinu dojde k vystupňování

zánětlivé reakce v organismu a v této souvislosti k ukládání amyloidu obdobně jako při výše zmíněné získané amyloidóze sekundární. Druhou skupinu hereditárních amyloidóz představují onemocnění, u nichž jsou prekurzorem amyloidu vlastní genetickou mutací změněné proteiny, které pak hůře podléhají proteolýze a snadněji tvoří depozita amyloidu. Nejznámějším a nejčastějším zástupcem této skupiny amyloidóz je familiární amyloidová polyneuropatie typ I (také označovaný jako portugalský). Jedná se o autosomálně dominantně dědičné onemocnění, u kterého bodová mutace (nejznámější je Val30Met) v genu pro transthyretin vede k syntéze tohoto proteinu s následnou tvorbou amyloidových depozit. Amyloidová depozita se nacházejí především v periferních nervech, významně bývá postižen myokard a postupně také ledviny. Dysfunkce tenkých nervových vláken senzitivních a autonomních představuje dominantní klinickou manifestaci polyneuropatie u těchto pacientů, detailní testování však často odhalí i (obvykle subklinické) postižení vláken silných (Kim et al., 2009, Wang et al., 2008, Yang et al., 2010).

9. LITERATURA:

1. Abdel-Rahman TA, Collins KJ, Cowen T, Rustin M. Immunohistochemical, morphological and functional changes in the peripheral sudomotor neuro-effector system in elderly people. *J Auton Nerv Syst* 1992;37:187-197.
2. Arthur RP, Shelley WB. The innervation of human epidermis. *J Invest Dermatol* 1959;32:397-411.
3. Arunodaya GR, Taly AB. Sympathetic skin response: a decade later. *J Neurol Sci* 1995;129:81-9.
4. Axelsson HE, Minde JK, Sonesson A, Toolanen G, Högestätt ED, Zygmunt PM. Transient receptor potential vanilloid 1, vanilloid 2 and melastatin 8 immunoreactive nerve fibers in human skin from individuals with and without Norrbottnian congenital insensitivity to pain. *Neuroscience* 2009;162:1322-1332.
5. Baba M, Watahiki Y, Matsunaga M, Takebe K. Sympathetic skin response in healthy man. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1988;28:277-283.
6. Backonja MM, Krause SJ. Neuropathic pain questionnaire--short form. *Clin J Pain* 2003;19:315-316.
7. Bakkers M, Merkies IS, Lauria G, Devigili G, Penza P, Lombardi R, Hermans MC, van Nes SI, De Baets M, Faber CG. Intraepidermal nerve fiber density and its application in sarcoidosis. *Neurology* 2009;73:1142-1148.
8. Barbieri S, Sandroni P, Nobile-Orazio E, Cappellari A, Cavestro C, Baldini L, Scarlato G. Small fibre involvement in neuropathy associated with IgG, IgA and IgM monoclonal gammopathy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1995;35:39-44.
9. Bednařík J. Senzitivní systém. In: Ambler Z, Bednařík J, Růžička E. *Klinická neurologie. I. Část obecná*. Praha: Triton, 2004:167-198.
10. Bednařík J, Moravcová E, Dušek L, Sommer C. Validita kožní biopsie u bolestivé senzitivní polyneuropatie při využití intraepidermální a subepidermální denzity kožních nervových vláken. *Cesk Slov Neurol N* 2006; 69/102: 396.
11. Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Bursova S, Belobradkova J, Dusek L, Sommer C. Etiology of small-fiber neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2009;14:177-183.
12. Bednařík J, Vlčková-Moravcová E, Dušek L, Sommer C. Diagnostic validity of skin biopsy in painful sensory neuropathy utilising intra- and subepidermal nerve fiber densities. *Eur J Neurol* 2006a; 13 (Suppl 2): 222.
13. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.

14. Bennett M. The LANSS Pain Scale: the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs. *Pain* 2001;92:147-157.
15. Bennett MI, Attal N, Backonja MM, Baron R, Bouhassira D, Freynhagen R, Scholz J, Tölle TR, Wittchen HU, Jensen TS. Using screening tools to identify neuropathic pain. *Pain* 2007;127:199-203.
16. Bennett MI, Smith BH, Torrance N, Potter J. The S-LANSS score for identifying pain of predominantly neuropathic origin: validation for use in clinical and postal research. *J Pain* 2005;6:149-158.
17. Bian D, Ossipov MH, Zhong C, Malan TP Jr, Porreca F. Tactile allodynia, but not thermal hyperalgesia, of the hindlimbs is blocked by spinal transection in rats with nerve injury. *Neurosci Lett* 1998;241:79-82.
18. Bianchi R, Brines M, Lauria G, Savino C, Gilardini A, Nicolini G, Rodriguez-Menendez V, Oggioni N, Canta A, Penza P, Lombardi R, Minoia C, Ronchi A, Cerami A, Ghezzi P, Cavaletti G. Protective effect of erythropoietin and its carbamylated derivative in experimental Cisplatin peripheral neurotoxicity. *Clin Cancer Res* 2006;12:2607-2012.
19. Bodó E, Kovács I, Telek A, Varga A, Paus R, Kovács L, Bíró T. Vanilloid receptor-1 (VR1) is widely expressed on various epithelial and mesenchymal cell types of human skin. *J Invest Dermatol* 2004;123:410-413.
20. Boivie J, Leijon G, Johansson I. Central post-stroke pain--a study of the mechanisms through analyses of the sensory abnormalities. *Pain* 1989;37:173-185.
21. Boucher TJ, McMahon SB. Neurotrophic factors and neuropathic pain. *Curr Opin Pharmacol* 2001;1:66-72.
22. Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, Boureau F, Brochet B, Bruxelle J, Cunin G, Fermanian J, Ginies P, Grun-Overdyking A, Jafari-Schluep H, Lantéri-Minet M, Laurent B, Mick G, Serrie A, Valade D, Vicaud E. Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4). *Pain* 2005;114:29-36.
23. Bouhassira D, Attal N, Fermanian J, Alchaar H, Gautron M, Masquelier E, Rostaing S, Lanteri-Minet M, Collin E, Grisart J, Boureau F. Development and validation of the Neuropathic Pain Symptom Inventory. *Pain* 2004;108:248-257.
24. Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain* 2008; 136: 380–387.

25. Bruna J, Udina E, Alé A, Vilches JJ, Vynckier A, Monbaliu J, Silverman L, Navarro X. Neurophysiological, histological and immunohistochemical characterization of bortezomib-induced neuropathy in mice. *Exp Neurol* 2010;223:599-608.
26. Burgess SE, Gardell LR, Ossipov MH, Malan TP Jr, Vanderah TW, Lai J, Porreca F. Time-dependent descending facilitation from the rostral ventromedial medulla maintains, but does not initiate, neuropathic pain. *J Neurosci* 2002;22:5129-5136.
27. Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 2006;52:77-92.
28. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997;389:816-824.
29. Chaudhry V, Cornblath DR, Polydefkis M, Ferguson A, Borrello I. Characteristics of bortezomib- and thalidomide-induced peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2008;13:275-282.
30. Chen AC, Niddam DM, Arendt-Nielsen L. Contact heat evoked potentials as a valid means to study nociceptive pathways in human subjects. *Neurosci Lett* 2001;316:79-82.
31. Chien HF, Tseng TJ, Lin WM, Yang CC, Chang YC, Chen RC, Hsieh ST. Quantitative pathology of cutaneous nerve terminal degeneration in the human skin. *Acta Neuropathol* 2001;102:455-461.
32. Cleeland CS. Pain assessment in cancer. In: Osoba D, ed. *Effect of Cancer on Quality of Life*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.; 1991:293–305.
33. Consensus Committee of the American Autonomic Society and the American Academy of Neurology. Consensus statement on the definition of orthostatic hypotension, pure autonomic failure, and multiple system atrophy. *Neurology* 1996;46:1470.
34. Cornblath DR, Chaudhry V, Carter K, Lee D, Seysedadr M, Miernicki M, Joh T. Total neuropathy score: validation and reliability study. *Neurology* 1999;53:1660-1664.
35. Cornblath DR, McArthur JC. Predominantly sensory neuropathy in patients with AIDS and AIDS-related complex. *Neurology* 1988;38:794-796.
36. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993;53:81-88.
37. Cruccu G, Sommer C, Anand P, Attal N, Baron R, Garcia-Larrea L, Haanpaa M, Jensen TS, Serra J, Treede RD. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. *Eur J Neurol* 2010;17:1010-1018.
38. Dalsgaard CJ, Jonsson CE, Hökfelt T, Cuello AC. Localization of substance P-immunoreactive nerve fibers in the human digital skin. *Experientia* 1983;39:1018-1020.

39. Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G, Broglio L, Granieri E, Lauria G. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain* 2008;131:1912-1925.
40. Devor M. Response of nerves to injury in relation to neuropathic pain. In: McMahon SB and Koltzenburg, editors. *Wall and Melzack's Textbook of Pain*. London: Elsevier. P 905-927.
41. Djouhri L, Lawson SN. Abeta-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals. *Brain Res Brain Res Rev* 2004;46:131-145.
42. Dogrul A, Ossipov MH, Lai J, Malan TP Jr, Porreca F. Peripheral and spinal antihyperalgesic activity of SIB-1757, a metabotropic glutamate receptor (mGLUR(5)) antagonist, in experimental neuropathic pain in rats. *Neurosci Lett* 2000;292:115-118.
43. Dogrul A, Gardell LR, Ossipov MH, Tulunay FC, Lai J, Porreca F. Reversal of experimental neuropathic pain by T-type calcium channel blockers. *Pain* 2003;105:159-168.
44. Dyck PJ, Karnes J, O'Brien PC, Swanson CJ. Neuropathy Symptom Profile in health, motor neuron disease, diabetic neuropathy, and amyloidosis. *Neurology* 1986;36:1300-1308.
45. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, Wilson DM, O'Brien PC, Melton LJ 3rd, Service FJ. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology* 1993;43:817-824.
46. Dyck PJ, O'Brien PC, Johnson DM, Klein CJ, Dyck PJB. Quantitative sensation testing. . In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral neuropathy*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. P 1063-1093.
47. Dyck PJ, Sherman WR, Hallcher LM, Service FJ, O'Brien PC, Grina LA, Palumbo PJ, Swanson CJ. Human diabetic endoneurial sorbitol, fructose, and myo-inositol related to sural nerve morphometry. *Ann Neurol* 1980;8:590-596.
48. Dyck PJ, Winkelmann RK, Bolton CF. Quantitation of Meissner's corpuscles in hereditary neurologic disorders. Charcot-Marie-Tooth disease, Roussy-Levy syndrome, Dejerine-Sottas disease, hereditary sensory neuropathy, spinocerebellar degenerations, and hereditary spastic paraplegia. *Neurology* 1966;16:10-17.
49. Eschenfelder S, Häbler HJ, Jänig W. Dorsal root section elicits signs of neuropathic pain rather than reversing them in rats with L5 spinal nerve injury. *Pain* 2000;87:213-219.

50. Ewing DJ, Clarke BF. Autonomic neuropathy: its diagnosis and prognosis. *Clin Endocrinol Metab* 1986;15:855-888.
51. Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 1982;285:916-918.
52. Fealey RD, Low PA, Thomas JE. Thermoregulatory sweating abnormalities in diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 1989;64:617-628.
53. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1994;17:1281-1289.
54. Freynhagen R, Baron R, Gockel U, Tölle TR. painDETECT: a new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. *Curr Med Res Opin* 2006;22:1911-1120.
55. Freynhagen R, Strojek K, Griesing T, Whalen E, Balkenohl M. Efficacy of pregabalin in neuropathic pain evaluated in a 12-week, randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled trial of flexible- and fixed-dose regimens. *Pain* 2005;115:254-263.
56. Fukuoka T, Tokunaga A, Kondo E, Miki K, Tachibana T, Noguchi K. Change in mRNAs for neuropeptides and the GABA(A) receptor in dorsal root ganglion neurons in a rat experimental neuropathic pain model. *Pain* 1998;78:13-26.
57. Galer BS, Jensen MP. Development and preliminary validation of a pain measure specific to neuropathic pain: the Neuropathic Pain Scale. *Neurology* 1997;48:332-338.
58. Gemignani F, Marbini A, Pavesi G, Di Vittorio S, Manganelli P, Cenacchi G, Mancina D. Peripheral neuropathy associated with primary Sjögren's syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:983-986.
59. Gibbons CH, Griffin JW, Polydefkis M, Bonyhay I, Brown A, Hauer PE, McArthur JC. The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. *Neurology* 2006;66:256-258.
60. Gibbons CH, Illigens BM, Centi J, Freeman R. QDIRT: quantitative direct and indirect test of sudomotor function. *Neurology* 2008;70:2299-2304.
61. Gørransson LG, Brun JG, Harboe E, Mellgren SI, Omdal R. Intraepidermal nerve fiber densities in chronic inflammatory autoimmune diseases. *Arch Neurol* 2006;63:1410-1413.
62. Gorson KC, Ropper AH. Idiopathic distal small fiber neuropathy. *Acta Neurol Scand*. 1995 Nov;92:376-82.
63. Gracely RH, Dubner R, McGrath P, Heft H. New methods of pain measurement and their application to pain control. *Int Dent J* 1978;28:52-65.

64. Grant IA, Hunder GG, Homburger HA, Dyck PJ. Peripheral neuropathy associated with sicca complex. *Neurology* 1997;48:855-862.
65. Griffin JW, McArthur JC, Polydefkis M. Assessment of cutaneous innervation by skin biopsies. *Curr Opin Neurol* 2001;14:655-659.
66. Gu JG, Albuquerque C, Lee CJ, MacDermott AB. Synaptic strengthening through activation of Ca²⁺-permeable AMPA receptors. *Nature* 1996;381:793-796.
67. Harris JA, Corsi M, Quartaroli M, Arban R, Bentivoglio M. Upregulation of spinal glutamate receptors in chronic pain. *Neuroscience* 1996;74:7-12.
68. Herrmann DN, Griffin JW, Hauer P, Cornblath DR, McArthur JC. Epidermal nerve fiber density and sural nerve morphometry in peripheral neuropathies. *Neurology* 1999;53:1634-1640.
69. Hoeldtke RD, Davis KM, Hsieh PB, Gaspar SR, Dworkin GE. Autonomic surface potential analysis: assessment of reproducibility and sensitivity. *Muscle Nerve* 1992;15:926-931.
70. Hoitsma E, Marziniak M, Faber CG, Reulen JP, Sommer C, De Baets M, Drent M. Small fibre neuropathy in sarcoidosis. *Lancet* 2002;359:2085-2086.
71. Holland NR, Crawford TO, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Small-fiber sensory neuropathies: clinical course and neuropathology of idiopathic cases. *Ann Neurol* 1998;44:47-59.
72. Holland NR, Stocks A, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Intraepidermal nerve fiber density in patients with painful sensory neuropathy. *Neurology* 1997; 48:708-711.
73. Hsieh ST, Choi S, Lin WM, Chang YC, McArthur JC, Griffin JW. Epidermal denervation and its effects on keratinocytes and Langerhans cells. *J Neurocytol* 1996;25:513-524.
74. Hudson LJ, Bevan S, Wotherspoon G, Gentry C, Fox A, Winter J. VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury. *Eur J Neurosci* 2001;13:2105-2114.
75. Hughes RA, Umapathi T, Gray IA, Gregson NA, Noori M, Pannala AS, Proteggente A, Swan AV. A controlled investigation of the cause of chronic idiopathic axonal polyneuropathy. *Brain* 2004;127:1723-1730.
76. Ibrahim MM, Deng H, Zvonok A, Cockayne DA, Kwan J, Mata HP, Vanderah TW, Lai J, Porreca F, Makriyannis A, Malan TP Jr. Activation of CB2 cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: pain inhibition by receptors not present in the CNS. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:10529-10533.

77. Jacobs JM, Love S. Qualitative and quantitative morphology of human sural nerve at different ages. *Brain* 1985;108:897-924.
78. Jamal GA, Hansen S, Weir AI, Ballantyne JP. The neurophysiologic investigation of small fiber neuropathies. *Muscle Nerve* 1987;10:537-545.
79. Jensen MP, Gammaitoni AR, Olaleye DO, Oleka N, Nalamachu SR, Galer BS. The pain quality assessment scale: assessment of pain quality in carpal tunnel syndrome. *J Pain* 2006;7:823-832.
80. Ji RR, Woolf CJ. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. *Neurobiol Dis* 2001;8:1-10.
81. Johansson O, Wang L, Hilliges M, Liang Y. Intraepidermal nerves in human skin: PGP 9.5 immunohistochemistry with special reference to the nerve density in skin from different body regions. *J Peripher Nerv Syst* 1999;4:43-52.
82. Kakigi R, Shibasaki H, Ikeda A. Pain-related somatosensory evoked potentials following CO₂ laser stimulation in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989;74:139-146.
83. Karanth SS, Springall DR, Lucas S, Levy D, Ashby P, Levene MM, Polak JM. Changes in nerves and neuropeptides in skin from 100 leprosy patients investigated by immunocytochemistry. *J Pathol* 1989;157:15-26.
84. Kennedy WR, Nolano M, Wendelschafer-Crabb G, Johnson TL, Tamura E. A skin blister method to study epidermal nerves in peripheral nerve disease. *Muscle Nerve* 1999;22:360-371.
85. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G. The innervation of human epidermis. *J Neurol Sci* 1993;115:184-190.
86. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Johnson T. Quantitation of epidermal nerves in diabetic neuropathy. *Neurology* 1996;47:1042-1048.
87. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Polydefkis M, McArthur JC. Pathology and quantitation of cutaneous innervation. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral neuropathy*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. P 869-895.
88. Kim DH, Zeldenrust SR, Low PA, Dyck PJ. Quantitative sensation and autonomic test abnormalities in transthyretin amyloidosis polyneuropathy. *Muscle Nerve*. 2009;40:363-370.
89. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50:355-363.

90. Kissel JT, Mendell JR. Neuropathies associated with monoclonal gammopathies. *Neuromuscul Disord* 1996;6:3-18.
91. Knezevic W, Bajada S. Peripheral autonomic surface potential. A quantitative technique for recording sympathetic conduction in man. *J Neurol Sci* 1985;67:239-251.
92. Kohno T, Ji RR, Ito N, Allchorne AJ, Befort K, Karchewski LA, Woolf CJ. Peripheral axonal injury results in reduced mu opioid receptor pre- and post-synaptic action in the spinal cord. *Pain* 2005;117:77-87.
93. Koike H, Mori K, Misu K, Hattori N, Ito H, Hirayama M, Sobue G. Painful alcoholic polyneuropathy with predominant small-fiber loss and normal thiamine status. *Neurology* 2001;56:1727-1732.
94. Koskinen M, Hietaharju A, Kyläniemi M, Peltola J, Rantala I, Udd B, Haapasalo H. A quantitative method for the assessment of intraepidermal nerve fibers in small-fiber neuropathy. *J Neurol* 2005;252:789-794.
95. Krause SJ, Backonja MM. Development of a neuropathic pain questionnaire. *Clin J Pain* 2003;19:306-314.
96. Kruger L, Sampogna SL, Rodin BE, Clague J, Brecha N, Yeh Y. Thin-fiber cutaneous innervation and its intraepidermal contribution studied by labeling methods and neurotoxin treatment in rats. *Somatosens Res* 1985;2:335-356.
97. Lacomis D. Small-fiber neuropathy. *Muscle Nerve* 2002; 26:173-188.
98. Lacomis D, Giuliani MJ, Steen V, Powell HC. Small fiber neuropathy and vasculitis. *Arthritis Rheum* 1997;40:1173-1177.
99. LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, Tsai EF. Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol* 1991;66:190-211.
100. Lauria G, Cornblath DR, Johansson O, McArthur JC, Mellgren SI, Nolano M, Rosenberg N, Sommer C; European Federation of Neurological Societies. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *Eur J Neurol* 2005;12:747-758.
101. Lauria G, Holland N, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Epidermal innervation: changes with aging, topographic location, and in sensory neuropathy. *J Neurol Sci* 1999;164:172-178.
102. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, Kennedy WR, Leger JM, Mellgren SI, Nolano M, Merkies IS, Polydefkis M, Smith AG, Sommer C, Valls-Solé J. 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;17:903-912, e44-49.
103. Lauria G, McArthur JC, Hauer PE, Griffin JW, Cornblath DR. Neuropathological alterations in diabetic truncal neuropathy: evaluation by skin biopsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:762-766.
 104. Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A, Pareyson D. Axonal swellings predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. *Neurology* 2003;61:631-636.
 105. Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Capobianco R, Camozzi F, Pareyson D, Manconi M, Geppetti P. Expression of capsaicin receptor immunoreactivity in human peripheral nervous system and in painful neuropathies. *J Peripher Nerv Syst* 2006;11:262-271.
 106. Lauria G, Sghirlanzoni A, Lombardi R, Pareyson D. Epidermal nerve fiber density in sensory ganglionopathies: clinical and neurophysiologic correlations. *Muscle Nerve* 2001;24:1034-1039.
 107. Lawson SN. The peripheral sensory nervous system: dorsal root ganglion neurons. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral neuropathy*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. P 163-202.
 108. Lee JE, Shun CT, Hsieh SC, Hsieh ST. Skin denervation in vasculitic neuropathy. *Arch Neurol* 2005;62:1570-1573.
 109. Levy DM, Karanth SS, Springall DR, Polak JM. Depletion of cutaneous nerves and neuropeptides in diabetes mellitus: an immunocytochemical study. *Diabetologia* 1989;32:427-433.
 110. Levy DM, Terenghi G, Gu XH, Abraham RR, Springall DR, Polak JM. Immunohistochemical measurements of nerves and neuropeptides in diabetic skin: relationship to tests of neurological function. *Diabetologia* 1992;35:889-897.
 111. Li CY, Song YH, Higuera ES, Luo ZD. Spinal dorsal horn calcium channel $\alpha 2\delta$ -1 subunit upregulation contributes to peripheral nerve injury-induced tactile allodynia. *J Neurosci* 2004;24:8494-8499.
 112. Li Y, Dorsi MJ, Meyer RA, Belzberg AJ. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers. *Pain* 2000;85:493-502.
 113. Li Y, Hsieh ST, Chien HF, Zhang X, McArthur JC, Griffin JW. Sensory and motor denervation influence epidermal thickness in rat foot glabrous skin. *Exp Neurol* 1997;147:452-462.

114. Lindberger M, Schröder HD, Schultzberg M, Kristensson K, Persson A, Ostman J, Link H. Nerve fibre studies in skin biopsies in peripheral neuropathies. I. Immunohistochemical analysis of neuropeptides in diabetes mellitus. *J Neurol Sci* 1989;93:289-296.
115. Løseth S, Stålberg E, Jorde R, Mellgren SI. Early diabetic neuropathy: thermal thresholds and intraepidermal nerve fibre density in patients with normal nerve conduction studies. *J Neurol* 2008;255:1197-1202.
116. Low PA, Caskey PE, Tuck RR, Fealey RD, Dyck PJ. Quantitative sudomotor axon reflex test in normal and neuropathic subjects. *Ann Neurol* 1983;14:573-580.
117. Low VA, Sandroni P, Fealey RD, Low PA. Detection of small-fiber neuropathy by sudomotor testing. *Muscle Nerve* 2006;34:57-61.
118. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001;38:750-760.
119. Magri F, Buonocore M, Oliviero A, Rotondi M, Gatti A, Accornero S, Camera A, Chiovato L. Intraepidermal nerve fiber density reduction as a marker of preclinical asymptomatic small-fiber sensory neuropathy in hypothyroid patients. *Eur J Endocrinol* 2010;163:279-284.
120. Maihöfner C, Handwerker HO, Birklein F. Functional imaging of allodynia in complex regional pain syndrome. *Neurology* 2006;66:711-717.
121. Maihöfner C, Schmelz M, Forster C, Neundörfer B, Handwerker HO. Neural activation during experimental allodynia: a functional magnetic resonance imaging study. *Eur J Neurosci* 2004;19:3211-3218.
122. Marchand F, Perretti M, McMahon SB. Role of the immune system in chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:521-532.
123. Martinez V, Fletcher D, Martin F, Orlikowski D, Sharshar T, Chauvin M, Bouhassira D, Attal N. Small fibre impairment predicts neuropathic pain in Guillain-Barré syndrome. *Pain* 2010;151:53-60.
124. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998;55:1513-1520.
125. McArthur JC, Yiannoutsos C, Simpson DM, Adornato BT, Singer EJ, Hollander H, Marra C, Rubin M, Cohen BA, Tucker T, Navia BA, Schifitto G, Katzenstein D, Rask C, Zaborski L, Smith ME, Shriver S, Millar L, Clifford DB, Karalnik IJ. A phase II trial of

- nerve growth factor for sensory neuropathy associated with HIV infection. AIDS Clinical Trials Group Team 291. *Neurology* 2000;54:1080-1088.
126. McCarthy BG, Hsieh ST, Stocks A, Hauer P, Macko C, Cornblath DR, et al. Cutaneous innervation in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy. *Neurology* 1995; 45:1848-1855.
127. McManis PG, Windebank AJ, Kiziltan M. Neuropathy associated with hyperlipidemia. *Neurology* 1994;44:2185-2186.
128. Mellgren SI, Conn DL, Stevens JC, Dyck PJ. Peripheral neuropathy in primary Sjögren's syndrome. *Neurology* 1989;39:390-394.
129. Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring. *Pain* 1975;1:277-299.
130. Merskey H., Bogduk N. Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. 2nd ed. Seattle: IASP Press 1994: 207-213.
131. Meyer L, Patte-Mensah C, Taleb O, Mensah-Nyagan AG. Cellular and functional evidence for a protective action of neurosteroids against vincristine chemotherapy-induced painful neuropathy. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:3017-3034.
132. Milligan E, Zapata V, Schoeniger D, Chacur M, Green P, Poole S, Martin D, Maier SF, Watkins LR. An initial investigation of spinal mechanisms underlying pain enhancement induced by fractalkine, a neuronally released chemokine. *Eur J Neurosci* 2005;22:2775-2782.
133. Moalem G, Xu K, Yu L. T lymphocytes play a role in neuropathic pain following peripheral nerve injury in rats. *Neuroscience* 2004;129:767-777.
134. Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H, Woolf CJ. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J Neurosci* 2002;22:6724-6731.
135. Moravcová E, Bednařík J. Počítačem asistované stanovení termického prahu. *Cesk Slov Neurol N* 2003;66/99:263-269.
136. Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Srovnání diagnostické výtěžnosti karbohydrát deficientního transferinu a dalších laboratorních markerů chronického abusu etanolu. *Čas Lék Čes* 2004; 143:39-43.
137. Moravcová E, Bednařík J, Dušek L, Toyka KV, Sommer C. Diagnostic validity of skin biopsy, utilizing intra- and subepidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. *J Neurol* 2006;253 (Suppl 2): II/190 (P430).

138. Moravcová E, Bednařík J, Svobodník A, Dušek L. Reproducibility of thermal threshold assessment in small-fibre neuropathy patients. *Scripta Medica (Brno)* 2005;78:177-184.
139. 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;68/101:219-226.
140. Navarro X, Verdú E, Wendelschafer-Crabb G, Kennedy WR. Immunohistochemical study of skin reinnervation by regenerative axons. *J Comp Neurol* 1997;380:164-174.
141. Nebuchennykh M, Løseth S, Mellgren SI. Aspects of peripheral nerve involvement in patients with treated hypothyroidism. *Eur J Neurol* 2010;17:67-72.
142. Neuromuscular Home Page, Washington University, St. Louis, USA (<http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular>).
143. Noguchi K, Dubner R, De Leon M, Senba E, Ruda MA. Axotomy induces preprotachykinin gene expression in a subpopulation of dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci Res* 1994;37:596-603.
144. Nolano M, Crisci C, Santoro L, Barbieri F, Casale R, Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Provitera V, Di Lorenzo N, Caruso G. Absent innervation of skin and sweat glands in congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1596-1601.
145. Nolano M, Simone DA, Wendelschafer-Crabb G, Johnson T, Hazen E, Kennedy WR. Topical capsaicin in humans: parallel loss of epidermal nerve fibers and pain sensation. *Pain* 1999;81:135-145.
146. Novak V, Freimer ML, Kissel JT, Sahenk Z, Periquet IM, Nash SM, Collins MP, Mendell JR. Autonomic impairment in painful neuropathy. *Neurology* 2001;56(7):861-868.
147. Oaklander AL. The density of remaining nerve endings in human skin with and without postherpetic neuralgia after shingles. *Pain* 2001;92:139-145.
148. Ochoa J. Recognition of unmyelinated fiber disease: morphologic criteria. *Muscle Nerve* 1978;1:375-387.
149. Ochoa J, Mair WG. The normal sural nerve in man. II. Changes in the axons and Schwann cells due to ageing. *Acta Neuropathol* 1969;13:217-239.
150. Opavský J. Autonomní nervový system a diabetická autonomní neuropatie. Praha: Galén 2002.

151. Pan CL, Lin YH, Lin WM, Tai TY, Hsieh ST. Degeneration of nociceptive nerve terminals in human peripheral neuropathy. *Neuroreport* 2001;12:787-792.
152. Pan CL, Tseng TJ, Lin YH, Chiang MC, Lin WM, Hsieh ST. Cutaneous innervation in Guillain-Barré syndrome: pathology and clinical correlations. *Brain* 2003;126:386-397.
153. Pareyson D. Diagnosis of hereditary neuropathies in adult patients. *J Neurol* 2003;250:148-60.
154. Periquet MI, Novak V, Collins MP, Nagaraja HN, Erdem S, Nash SM, et al. Painful sensory neuropathy: prospective evaluation using skin biopsy. *Neurology* 1999; 53:1641-1647.
155. Petersen KL, Rice FL, Farhadi M, Reda H, Rowbotham MC. Natural history of cutaneous innervation following herpes zoster. *Pain* 2010;150:75-82.
156. 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;27:1974-1979.
157. Polydefkis M, Allen RP, Hauer P, Earley CJ, Griffin JW, McArthur JC. Subclinical sensory neuropathy in late-onset restless legs syndrome. *Neurology* 2000;55:1115-1121.
158. Polydefkis M, Hauer P, Sheth S, Sirdofsky M, Griffin JW, McArthur JC. The time course of epidermal nerve fibre regeneration: studies in normal controls and in people with diabetes, with and without neuropathy. *Brain* 2004;127:1606-1615.
159. Polydefkis M, Yiannoutsos CT, Cohen BA, Hollander H, Schifitto G, Clifford DB, Simpson DM, Katzenstein D, Shriver S, Hauer P, Brown A, Haidich AB, Moo L, McArthur JC. Reduced intraepidermal nerve fiber density in HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology* 2002;58:115-119.
160. Porreca F, Lai J, Bian D, Wegert S, Ossipov MH, Eglén RM, Kassotakis L, Novakovic S, Rabert DK, Sangameswaran L, Hunter JC. A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels, PN3/SNS and NaN/SNS2, in rat models of chronic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7640-7644.
161. Portenoy R. Development and testing of a neuropathic pain screening questionnaire: ID Pain. *Curr Med Res Opin* 2006;22:1555-1565.
162. Properzi G, Francavilla S, Poccia G, Aloisi P, Gu XH, Terenghi G, Polak JM. Early increase precedes a depletion of VIP and PGP-9.5 in the skin of insulin-dependent diabetics--correlation between quantitative immunohistochemistry and clinical assessment of peripheral neuropathy. *J Pathol* 1993;169:269-277.

163. Quattrini C, Jeziorska M, Malik RA. Small fiber neuropathy in diabetes: clinical consequence and assessment. *Int J Low Extrem Wounds* 2004;3:16-21.
164. Raghavendra V, Tanga F, Rutkowski MD, DeLeo JA. Anti-hyperalgesic and morphine-sparing actions of propentofylline following peripheral nerve injury in rats: mechanistic implications of spinal glia and proinflammatory cytokines. *Pain* 2003;104:655-664.
165. Ridley A. Silver staining of nerve endings in human digital glabrous skin. *J Anat* 1969;104:41-48.
166. Ridley A. Silver staining of the innervation of Meissner corpuscles in peripheral neuropathy. *Brain* 1968;91:539-552.
167. Rowbotham MC, Yosipovitch G, Connolly MK, Finlay D, Forde G, Fields HL. Cutaneous innervation density in the allodynic form of postherpetic neuralgia. *Neurobiol Dis* 1996;3:205-214.
168. Ryder RE, Marshall R, Johnson K, Ryder AP, Owens DR, Hayes TM. Acetylcholine sweatspot test for autonomic denervation. *Lancet* 1988;1:1303-1305.
169. Said GG, Slama G, Selva J. Progressive centripetal degeneration of axons in small fibre diabetic polyneuropathy. *Brain* 1983;106:791-807.
170. Schäfers M, Brinkhoff J, Neukirchen S, Marziniak M, Sommer C. Combined epineurial therapy with neutralizing antibodies to tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 receptor has an additive effect in reducing neuropathic pain in mice. *Neurosci Lett* 2001;310:113-116.
171. Scherens A, Maier C, Haussleiter IS, Schwenkreis P, Vlckova-Moravcova E, Baron R, Sommer C. Painful or painless lower limb dysesthesias are highly predictive of peripheral neuropathy: comparison of different diagnostic modalities. *Eur J Pain* 2009;13:711-718.
172. Schmidt RE, Dorsey D, Parvin CA, Beaudet LN, Plurad SB, Roth KA. Dystrophic axonal swellings develop as a function of age and diabetes in human dorsal root ganglia. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997;56:1028-1043.
173. Schüning J, Scherens A, Haussleiter IS, Schwenkreis P, Krumova EK, Richter H, Maier C. Sensory changes and loss of intraepidermal nerve fibers in painful unilateral nerve injury. *Clin J Pain* 2009;25:683-690.
174. Scott LJ, Griffin JW, Luciano C, Barton NW, Banerjee T, Crawford T, McArthur JC, Tournay A, Schiffmann R. Quantitative analysis of epidermal innervation in Fabry disease. *Neurology* 1999;52:1249-1254.

175. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990;43:205-218.
176. Shahani BT, Halperin JJ, Boulu P, Cohen J. Sympathetic skin response - a method of assessing unmyelinated axon dysfunction in peripheral neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47:536-542.
177. Shun CT, Chang YC, Wu HP, Hsieh SC, Lin WM, Lin YH, Tai TY, Hsieh ST. Skin denervation in type 2 diabetes: correlations with diabetic duration and functional impairments. *Brain* 2004;127:1593-1605.
178. Siau C, Xiao W, Bennett GJ. Paclitaxel- and vincristine-evoked painful peripheral neuropathies: loss of epidermal innervation and activation of Langerhans cells. *Exp Neurol* 2006;201:507-514.
179. Simone DA, Nolano M, Johnson T, Wendelschafer-Crabb G, Kennedy WR. Intradermal injection of capsaicin in humans produces degeneration and subsequent reinnervation of epidermal nerve fibers: correlation with sensory function. *J Neurosci* 1998;18:8947-8859.
180. Singleton JR, Bixby B, Russell JW, Feldman EL, Peltier A, Goldstein J, Howard J, Smith AG. The Utah Early Neuropathy Scale: a sensitive clinical scale for early sensory predominant neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2008;13:218-227.
181. Smith AG, Howard JR, Kroll R, Ramachandran P, Hauer P, Singleton JR, McArthur J. The reliability of skin biopsy with measurement of intraepidermal nerve fiber density. *J Neurol Sci* 2005;228:65-69.
182. Smith AG, Ramachandran P, Tripp S, Singleton JR. Epidermal nerve innervation in impaired glucose tolerance and diabetes-associated neuropathy. *Neurology* 2001;57:1701-1704.
183. Smith AG, Rose K, Singleton JR. Idiopathic neuropathy patients are in increased risk for metabolic syndrome. *J Neurol Sci* 2008;273:25-28.
184. Sommer C, Schäfers M, Marziniak M, Toyka KV. Etanercept reduces hyperalgesia in experimental painful neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2001;6:67-72.
185. Sorensen L, Molyneaux L, Yue DK. The relationship among pain, sensory loss, and small nerve fibers in diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:883-887.
186. South SM, Kohno T, Kaspar BK, Hegarty D, Vissel B, Drake CT, Ohata M, Jenab S, Sailer AW, Malkmus S, Masuyama T, Horner P, Bogulavsky J, Gage FH, Yaksh TL, Woolf CJ, Heinemann SF, Inturrisi CE. A conditional deletion of the NR1 subunit of the

- NMDA receptor in adult spinal cord dorsal horn reduces NMDA currents and injury-induced pain. *J Neurosci* 2003;23:5031-5040.
187. Ständer S, Moormann C, Schumacher M, Buddenkotte J, Artuc M, Shpacovitch V, Brzoska T, Lippert U, Henz BM, Luger TA, Metze D, Steinhoff M. Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells, and epithelial cells of appendage structures. *Exp Dermatol* 2004;13:129-139.
188. Stewart JD, Low PA, Fealey RD. Distal small fiber neuropathy: results of tests of sweating and autonomic cardiovascular reflexes. *Muscle Nerve* 1992; 15:661-665.
189. Stocks EA, McArthur JC, Griffin JW, Mouton PR. An unbiased method for estimation of total epidermal nerve fibre length. *J Neurocytol* 1996;25:637-644.
190. Stubblefield MD, Custodio CM, Kaufmann P, Dickler MN. Small-Fiber Neuropathy Associated with Capecitabine (Xeloda)-induced Hand-foot Syndrome: A Case Report. *J Clin Neuromuscul Dis* 2006;7:128-132.
191. Sukhotinsky I, Ben-Dor E, Raber P, Devor M. Key role of the dorsal root ganglion in neuropathic tactile hypersensitivity. *Eur J Pain* 2004;8:135-143.
192. Sumner CJ, Sheth S, Griffin JW, Cornblath DR, Polydefkis M. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology* 2003;60:108-111.
193. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043-1065.
194. Teunissen LL, Franssen H, Wokke JH, van der Graaf Y, Linssen WH, Banga JD, Laman DM, Notermans NC. Is cardiovascular disease a risk factor in the development of axonal polyneuropathy? *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2002;72:590–595.
195. Thompson RJ, Doran JF, Jackson P, Dhillon AP, Rode J. PGP 9.5--a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. *Brain Res* 1983;278:224-228.
196. Torrance N, Smith BH, Bennett MI, Lee AJ. The epidemiology of chronic pain of predominantly neuropathic origin. Results from a general population survey. *J Pain* 2006; 7: 281–289.
197. Torvin Møller A, Winther Bach F, Feldt-Rasmussen U, Rasmussen A, Hasholt L, Lan H, Sommer C, Kølvråa S, Ballegaard M, Staehelin Jensen T. Functional and structural nerve fiber findings in heterozygote patients with Fabry disease. *Pain* 2009;145:237-245.
198. Treede R-D, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Ostrovsky JO, Griffin JW, Hansson P, Hughes R, Nurmikko T, Serra J. Neuropathic pain. Redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Brain* 2008; 70: 1630-1635.

199. Umapathi T, Tan WL, Tan NC, Chan YH. Determinants of epidermal nerve fiber density in normal individuals. *Muscle Nerve* 2006;33:742-746.
200. Vlčková-Moravcová E, Bednařík J. Painful sensory neuropathies in the elderly. *Scripta Medica (Brno)* 2009;82:16-24.
201. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Belobradkova J, Sommer C. Small-fibre involvement in diabetic patients with neuropathic foot pain. *Diabet Med* 2008;25:692-699.
202. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Dusek L, Toyka K, Sommer C. Diagnostic validity of epidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. *Muscle Nerve* 2008a; 37: 50-60.
203. Vlčková E, Bednařík J, Buršová Š, Sommer C. Subepidermální nervový plexus a tloušťka epidermis – méně obvyklé parametry kožní biopsie. *Cesk Slov Neurol N* 2009; 72/105 (Suppl 2): S31.
204. Vlčková E, Bednařík J, Buršová E, Šajgalíková K, Mlčáková L. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106(6): 663-672.
205. Wang AK, Fealey RD, Gehrking TL, Low PA. Patterns of neuropathy and autonomic failure in patients with amyloidosis. *Mayo Clin Proc* 2008;83:1226-1230.
206. Wang GH. The galvanic skin reflex; a review of old and recent works from a physiologic point of view. *Am J Phys Med* 1957;36:295-320.
207. Wang L, Hilliges M, Jernberg T, Wiegleb-Edström D, Johansson O. Protein gene product 9.5-immunoreactive nerve fibres and cells in human skin. *Cell Tissue Res* 1990;261:25-33.
208. Wang LX, Wang ZJ. Animal and cellular models of chronic pain. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:949-965.
209. Wilder-Smith EP, Ong WY, Guo Y, Chow AW. Epidermal transient receptor potential vanilloid 1 in idiopathic small nerve fibre disease, diabetic neuropathy and healthy human subjects. *Histopathology* 2007;51:674-680.
210. Wilson PO, Barber PC, Hamid QA, Power BF, Dhillon AP, Rode J, Day IN, Thompson RJ, Polak JM. The immunolocalization of protein gene product 9.5 using rabbit polyclonal and mouse monoclonal antibodies. *Br J Exp Pathol* 1988;69:91-104.
211. Winkelmann RK. Cutaneous sensory nerves. *Semin Dermatol* 1988;7:236-268.
212. Wolf G, Gabay E, Tal M, Yirmiya R, Shavit Y. Genetic impairment of interleukin-1 signaling attenuates neuropathic pain, autotomy, and spontaneous ectopic neuronal activity, following nerve injury in mice. *Pain* 2006;120::315-324.

213. Wu G, Ringkamp M, Hartke TV, Murinson BB, Campbell JN, Griffin JW, Meyer RA. Early onset of spontaneous activity in uninjured C-fiber nociceptors after injury to neighboring nerve fibers. *J Neurosci* 2001;21:RC140.
214. Yang NC, Lee MJ, Chao CC, Chuang YT, Lin WM, Chang MF, Hsieh PC, Kan HW, Lin YH, Yang CC, Chiu MJ, Liou HH, Hsieh ST. Clinical presentations and skin denervation in amyloid neuropathy due to transthyretin Ala97Ser. *Neurology* 2010;75:532-538.
215. Yarnitsky D. Quantitative sensory testing. *Muscle Nerve* 1997; 20:198-204.
216. Yarnitsky D, Sprecher E. Thermal testing: normative data and repeatability for various test algorithms. *J Neurol Sci* 1994; 125:39-45.
217. Yoshimura M, Yonehara N. Alteration in sensitivity of ionotropic glutamate receptors and tachykinin receptors in spinal cord contribute to development and maintenance of nerve injury-evoked neuropathic pain. *Neurosci Res* 2006;56:21-28.
218. Zambelis T, Karandreas N, Tzavellas E, Kokotis P, Liappas J. Large and small fiber neuropathy in chronic alcohol-dependent subjects. *J Peripher Nerv Syst* 2006;10:375–381.
219. Zivkovic SA, Lacomis D, Giuliani MJ. Sensory neuropathy associated with metronidazole: report of four cases and review of the literature. *J Clin Neuromuscul Dis* 2001;3:8-12.

II. KOMENTOVANÝ SOUBOR VLASTNÍCH PRACÍ

1. SEZNAM KOMENTOVANÝCH PRACÍ

1. Moravcová E, Bednařík J. Počítačem asistované stanovení termického prahu. *Cesk Slov Neurol N* 2003;66/99:263-269. *(Příloha 1)*
2. Moravcová E, Bednařík J, Svobodník A, Dušek L. Reproducibility of thermal threshold assessment in small-fibre neuropathy patients. *Scripta Medica (Brno)* 2005;78:177-184. *(Příloha 2)*
3. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Dusek L, Toyka K, Sommer C. Diagnostic validity of epidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. *Muscle Nerve* 2008; 37: 50-60. *(Příloha 3)*
4. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Belobradkova J, Sommer C. Small-fibre involvement in diabetic patients with neuropathic foot pain. *Diabet Med* 2008;25:692-699. *(Příloha 4)*
5. Vlčková E, Bednařík J, Buršová E, Šajgalíková K, Mlčáková L. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106(6): 663-672. *(Příloha 5)*
6. Vlčková-Moravcová E, Bednařík J. Painful sensory neuropathies in the elderly. *Scripta Medica (Brno)* 2009;82:16-24. *(Příloha 6)*
7. Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Srovnání diagnostické výtěžnosti karbohydrát deficientního transferinu a dalších laboratorních markerů chronického abusu etanolu. *Čas Lék Čes* 2004; 143:39-43. *(Příloha 7)*
8. Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Bursova S, Belobradkova J, Dusek L, Sommer C. Etiology of small-fiber neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2009;14:177-183. *(Příloha 8)*

2. VLASTNÍ KOMENTOVANÉ PRÁCE

Příloha 1: : Moravcová E, Bednařík J. Počítačem asistované stanovení termického prahu. Cesk Slov Neurol N 2003;66/99:263-269.

Příloha 2: Moravcová E, Bednařík J, Svobodník A, Dušek L. Reproducibility of thermal threshold assessment in small-fibre neuropathy patients. Scripta Medica (Brno) 2005;78:177-184.

Práce jsou zaměřeny na počítačem asistované stanovení termického prahu (TTT) jako součást kvantitativního testování senzitivity (QST) a jednu z nejužívanějších metod diagnostického algoritmu neuropatie tenkých vláken. Přestože je TTT široce rozšířená a akceptovaná metoda, užívaná v klinické praxi i v rámci experimentálních studií, existuje jen velmi málo prací, poskytujících srovnání aktuálně komerčně dostupných algoritmů (protože většina publikovaných prací v této oblasti srovnává dnes již méně užívané algoritmy, které nejsou součástí aktuálního software) ani normativní data pro tyto algoritmy či údaje o reprodukovatelnosti jednotlivých testů. Komentované studie jsou proto zaměřeny na tuto problematiku.

První práce poskytuje normativní data pro jednotlivé aktuálně užívané algoritmy a jejich srovnání z hlediska časové náročnosti, výšky zjištěného termického prahu a vlivu fyziologických proměnných na výsledky testování a poskytuje tak podklady pro optimální volbu algoritmu, přizpůsobenou potřebám jednotlivých klinických studií či rutinní diagnostiky.

Druhá z jmenovaných studií prokazuje inverzní vztah mezi reprodukovatelností vyšetření a výškou termického prahu a poskytuje tak jako první publikovaná práce klinickými daty dokumentované doporučení pro volbu nejlépe reprodukovatelných parametrů QST (testy konstantního stimulu pro teplo a to optimálně na HKK), optimálně využitelných pro účely longitudinálních studií. Navíc prioritně poskytuje průkaz horší reprodukovatelnosti TTT u pacientů s neuropatií tenkých vláken (oproti zdravým kontrolám), což je klíčová informace pro hodnocení případných změn nálezu v rámci dlouhodobého sledování pacientů.

Příloha 3: Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Dusek L, Toyka K, Sommer C. Diagnostic validity of epidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. Muscle Nerve 2008; 37: 50-60.

Jedná se o velkou prospektivní studii, hodnotící nálezy kožních biopsií u pacientů s neuropatií s postižením tenkých nervových vláken (izolovanou a/nebo kombinovanou s postižením vláken silných) a jejich korelaci s řadou dalších klinických a elektrofyziologických parametrů. Práce prioritně zavádí metodu hodnocení hustoty subepidermálního nervového plexu (SENPD) jako nový diagnostický marker kožní biopsie u pacientů s bolestivou neuropatií a přináší průkaz vysoké senzitivity i specifity tohoto parametru (stejně jako standardně užívaného hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken (IENFD)) v diagnostice bolestivých neuropatií. Hodnocení diagnostické validity zmíněných markerů, stejně jako nastavení doporučených normativních dat pro oba parametry, je provedeno pomocí unikátní, do té doby tyto účely v oblasti diagnostických metod periferních neuropatií neužívané statistické metody – ROC analýzy.

Pomocí zmíněné analýzy pak studie prokazuje, že oba hodnocené parametry (IENFD a SENPD) jsou komplementární jak vzájemně, tak také s kvantitativním testováním senzitivity a užití jejich kombinace zvyšuje diagnostickou validitu hodnocení postižení tenkých nervových vláken, která je obdobná u všech pacientů se SFN, tedy bez ohledu na přítomnost či nepřítomnost současného postižení vláken silných.

Příloha 4: Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Belobradkova J, Sommer C. Small-fibre involvement in diabetic patients with neuropathic foot pain. Diabet Med 2008;25:692-699.

Studie hodnotící postižení tenkých nervových vláken u pacientů s bolestivou senzitivní neuropatií při diabetu mellitu.

Klíčovým výstupem práce je průkaz redukce kožní inervace prakticky u všech pacientů s bolestivou diabetickou neuropatií. Komentovaná publikace tak (jako jedna z prvních studií) podporuje význam postižení tenkých nervových vláken v patofyziologii bolesti u diabetické neuropatie. Postižení tenkých vláken bylo v prezentovaném souboru diabetiků s neuropatickou bolestí na DKK prokázáno jak u pacientů se současným postižením vláken tenkých a silných, tak u pacientů s izolovanou abnormitou termického a algického čítí při klinickém neurologickém vyšetření (a tedy s výhradním postižením tenkých nervových vláken) a dokonce i u jedinců s absencí klinických známek SFN (u nichž byla diagnóza SFN podpořena pouze nálezy laboratorních metod, t.j. kožní biopsie a QST). Tyto nálezy podporují význam postižení tenkých nervových vláken v patofyziologii neuropatické bolesti u různých typů diabetické distální polyneuropatie a současně zpochybňují koncept neuropatie tenkých vláken jako izolované diagnostické jednotky vydělené ze spektra ostatních polyneuropatií. Komentovaná studie tak jedna z prvních prací nastiňuje spíše prezentovanými daty podpořený koncept plynulého kontinua postižení různých typů nervových vláken u diabetické periferní neuropatie (kdy postižení tenkých vláken je pravděpodobně iniciální abnormitou, často následovanou rozvojem postižení vláken silných). Míra postižení tenkých nervových vláken přitom klesá v pořadí výše jmenovaných skupin, ale je obdobná u pacientů s diabetem mellitem i poruchou glukózové tolerance, což spolu s absencí korelace mezi tíží postižení tenkých nervových vláken a trváním onemocnění naznačuje, že postižení tenkých nervových vláken (resp. redukce kožní inervace) je velmi časnou abnormitou v průběhu rozvoje bolestivé neuropatie u pacientů s diabetem mellitem či poruchou glukózové tolerance a prokazuje, že oba typy poruchy glukózového metabolismu mohou vést k obdobnému rozsahu postižení tenkých vláken.

Příloha 5: Vlčková E, Bednařík J, Buršová E, Šajgalíková K, Mlčáková L. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data. Cesk Slov Neurol N 2010; 73/106(6): 663-672.

Práce hodnotí nálezy spektrální analýzy variability srdeční frekvence na rozsáhlém souboru zdravých dobrovolníků. Jako jedna z minima publikovaných studií tak přes prokázanou velmi vysokou interindividuální variabilitu nálezů poskytuje validní věkově stratifikovaná normativní data pro všechny fáze uvedeného vyšetření, derivovaná pomocí různých statistických metod. Studie současně jako jedna z prvních prokazuje i vysokou intraindividuální variabilitu vyšetření, přičemž námi zvolený způsob jejího hodnocení poskytuje (na rozdíl od dalších ojedinělých prací na toto téma) mimo jiné i informaci o běžné procentuální změně nálezu při opakovaném vyšetření, klíčovou při hodnocení významnosti případných změn výsledků při longitudinálním sledování pacientů. V neposlední řadě studie potvrzuje i významný vliv denní doby vyšetření na hodnoty spektrálního výkonu, což podporuje metodická doporučení o standardizaci denní doby pro provádění vyšetření SAHRV.

Příloha 6: Vlčková-Moravcová E, Bednařík J. Painful sensory neuropathies in the elderly. Scripta Medica (Brno) 2009;82:16-24.

Přes prokazatelně narůstající prevalenci bolestivé neuropatie ve vyšších věkových skupinách existuje jen minimum prací, selektivně zaměřených na různé klinické a paraklinické aspekty bolestivé neuropatie u starších pacientů, které jsou hodnoceny v prezentované studii. Prakticky u všech pacientů popisovaného souboru jedinců vyššího věku s bolestivou neuropatií bylo prokázáno postižení tenkých nervových vláken. Oproti mladším věkovým skupinám však byla u starších pacientů významně častější a těžší současná léze vláken silných, což v relaci s nálezy experimentálních studií zřejmě podporuje roli věkově podmíněných neurodegenerativních změn v rozvoji neuropatie u pacientů vyššího věku. Tyto nálezy tak podporují vzrůstající význam klinického vyšetření a kondukčních studií periferních nervů v diagnostice bolestivých neuropatií u starších pacientů, i když (vzhledem k průkazu izolovaného postižení tenkých nervových vláken u cca 1/3 hodnoceného souboru pacientů) nelze v diagnostickém algoritmu opomenout ani metody hodnotící postižení tenkých nervových vláken (tedy kožní biopsie a kvantitativního testování termické a algické senzitivity). Nálezy prezentované studie navíc prokazují použitelnost obou zmíněných metod u pacientů vyššího věku i jejich diagnostickou validitu obdobnou jako u mladších jedinců, i když současně zdůrazňují nutnost využití věkově stratifikovaných normativních dat pro většinu užívaných diagnostických metod.

Příloha 7: Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Srovnání diagnostické výtěžnosti karbohydrát deficientního transferinu a dalších laboratorních markerů chronického abusu etanolu. Čas Lék Čes 2004;143:39-43.

Společně s druhou prací identického kolektivu autorů (Dastych J, Bednařík J, Pokora J, Friedecký B, Novotná H, Moravcová E, Vávrová. Diagnostická výtěžnost karbohydrát deficientního transferinu, gama-glutamyltransferázy a středního objemu erytrocytů jako laboratorních markerů chronického abusu alkoholu. Vnitřní lékařství 2003; 49: 115-120) jde v české odborné literatuře o prioritní práce zaměřené na méně užívaný diagnostický marker chronického abusu alkoholu – karbohydrát deficientní transferin („carbohydrate deficient transferrin“ – CDT). Práce poskytuje srovnání diagnostické výtěžnosti tohoto markeru s dalšími laboratorními parametry, běžně užívanými k verifikaci zvýšeného příjmu etanolu, a potvrzuje vysokou specifitu tohoto parametru (a to výrazněji u mužů, kde – narozdíl od žen – má marker i poměrně vysokou senzitivitu) a současně zdůrazňuje význam zařazení vyšetření CDT do laboratorního screeningu chronického alkoholismu zejména s ohledem na navýšení kumulativní senzitivity baterie užívaných laboratorních markerů (kdy je elevace hladin CDT u 10-15% pacientů s chronickým abusem alkoholu jedinou laboratorní abnormitou). Vyhodnocení diagnostické výtěžnosti CDT je přitom v komentované studii provedeno unikátní metodou ROC křivek a práce tak poskytuje nový klíčový pohled na diagnostickou validitu tohoto markeru, protože předchozí publikované studie na toto téma poskytují velmi různorodé a nejednoznačné výsledky.

Příloha 8: Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Bursova S, Belobradkova J, Dusek L, Sommer C. Etiology of small-fiber neuropathy. J Peripher Nerv Syst 2009;14:177-183.

Jedná se o prioritní publikovanou prospektivní studii hodnotící prevalenci velkého množství etiologických faktorů neuropatie tenkých vláken v souboru pacientů s klinicky a paraklinicky přesvědčivě prokázanou SFN a poskytující srovnání výskytu těchto faktorů s také prospektivně hodnocenou skupinou kontrolních asymptomatických jedinců obdobného věku a pohlaví. Jako nejvýznamnější etiologické faktory SFN práce prokazuje diabetes mellitus a chronický abusus alkoholu, nejasná zůstává role hyperlipidémie, zatímco výskyt dalších zachycených faktorů nebyl u pacientů se SFN významně častější než ve skupině kontrolní. Výsledky práce dále naznačují, že spektrum a proporcionální zastoupení zjištěných etiologických faktorů SFN ani podíl idiopatických případů (cca ¼) se významně neliší od nálezů popisovaných u pacientů s neuropatií silných vláken. Obdobné nálezy navíc studie prokazuje i u skupiny pacientů s kombinovaným postižením tenkých a silných nervových vláken, což spolu s výše uvedenými nálezy opět svědčí proti konceptu neuropatie tenkých vláken jako izolovaného postižení a naopak podporuje její začlenění do kontinuálního spektra polyneuropatií,

III. SEZNAM VLASTNÍ LITERATURY

A. Publikace in extenso

1. Adamová B, Bednařík J, Šmardová L, Moravcová E, Chvátalová N, Prokeš B, Kadaňka Z: Asociace mezi cervikální a lumbální stenózou páteřního kanálu. *Cesk Slov Neurol N* 2000; 63/96: 261-267. IF: 0,059.
2. Moravcová E, Bednařík J. Počítačem asistované stanovení termického prahu. *Cesk Slov Neurol N* 2003; 66/99: 263-269. IF: 0,047. *Počet citací v Science Citation Index: 2.*
3. Dastych J, Bednařík J, Pokora J, Friedecký B, Novotná H, Moravcová E, Vávrová. Diagnostická výtěžnost karbohydrát deficientního transferinu, gama-glutamyltransferázy a středního objemu erytrocytů jako laboratorních markerů chronického abusu alkoholu. *Vnitřní lékařství* 2003; 49: 115-120.
4. Bednařík J, Vondráček P, Lukáš Z, Dvořák K, Moravcová E, Adamová B, Čundrle I. Polyneuromyopatie kritického stavu I. Diagnostika. *Cesk Slov Neurol N* 2002; 65/98, 386-394. IF: 0,052.
5. Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Srovnání diagnostické výtěžnosti karbohydrát deficientního transferinu a dalších laboratorních markerů chronického abusu etanolu. *Čas Lék Čes* 2004; 143:39-43.
6. 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: 219-226. IF: 0,070.
7. Bednarik J, Vondráček P, Dusek L, Moravcova E, Cundrle I. Risk factors for critical illness polyneuromyopathy. *J Neurol* 2005; 252: 343-351. IF: 2,844. *Počet citací v Science Citation Index: 33.*
8. Moravcova E, Bednařík J, Svobodník A, Dušek L. Reproducibility of thermal threshold assessment in small-fibre neuropathy patients. *Scripta medica (Brno)* 2005; 78(3): 177-184.
9. Moravcová E, Bednařík J. Diabetická neuropatie. *Neurol. pro praxi* 2006; 2: 99-103.
10. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Dušek L, Toyka KV, Sommer C. Diagnostic validity of epidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. *Muscle and Nerve* 2008; 37: 50-60. IF: 2,6. *Počet citací v Science Citation Index: 24. Oceněno Hennerovou cenou České neurologické společnosti pro mladé autory do 35 let za vynikající originální práci roku 2008.*

11. Vlckova-Moravcova E, Bednarik J, Belobradkova J, Sommer C. Small-fibre involvement in diabetic patients with neuropathic foot pain. *Diabet Med* 2008;25(6):692-699. IF: 3,2. *Počet citací v Science Citation Index: 9.*
12. Vlčková E, Švecová E, Štouřač P, Štroblová H, Bednařík J. PCR Diagnostika herpetických virů u pacientů s akutní "idiopatickou" parézou lícního nervu. *Cesk Slov Neurol N* 2008;71/104(2):201-205. IF: 0,319.
13. Švecová E, Vlčková E, Štouřač P, Bednařík J. Akutní paréza lícního nervu – srovnání klinických a laboratorních parametrů u pacientů s boreliovou a idiopatickou etiologií. *Prakt Lék* 2008; 88(8): 457-462.
14. Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Bursova S, Belobradkova J, Dusek L, Sommer C. Etiology of small-fiber neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2009;14(3):177-183. IF:3,623. *Počet citací v Science Citation Index: 1. Oceněno cenou České neurologické společnosti za vynikající originální práci roku 2009.*
15. Vlčková-Moravcová E, Bednařík J. Painful sensory neuropathies in the elderly. *Scripta medica (Brno)* 2009;82(1):16-24.
16. Scherens A, Maier C, Haussleiter IS, Schwenkreis P, Vlckova-Moravcova E, Baron R, Sommer C. Painful or painless lower limb dysesthesias are highly predictive of peripheral neuropathy: comparison of different diagnostic modalities. *Eur J Pain* 2009;13(7):711-8. IF:3,612. *Počet citací v Science Citation Index: 7.*
17. Vlčková E, Bednařík J, Buršová E, Šajgalíková K, Mlčáková L. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106(6): 663-672. IF: 0,246.

B. Abstrakta

I. V mezinárodních impaktovaných časopisech:

1. Moravcova E, Bednarik J. Normative values and intra-individual variability of thermal threshold testing. *Eur J Neurol* 2002; 9 (Suppl 2): 146. IF: 1,565.
2. Dastyh M, Bednarik J, Pokora J, Friedecky B, Moravcova E, Novotna H. Diagnostic utility of carbohydrate-deficient transferin, Gamma-glutamyltransferase and mean corpuscular volume as laboratory markers of chronic alcohol abuse. *Clin Chem Lab Med* 2002; Suppl.:S171. IF: 1,407.
3. Bednarik J, Vondracek P, Dusek L, Moravcova E, Cundrle I. Risk factors and prediction of critical illness polyneuromyopathy. *J Neurol* 2003;250 (Suppl.2): II/76. IF: 2,778.
4. Moravcova E, Bednarik J. Aetiology of small fibre neuropathy. *J Neurol* 2003;250 (Suppl.2): II/151. IF: 2,778.
5. Moravcova E, Bednarik J. Intra-individual variability of thermal threshold assessment. *J Neurol* 2003;250 (Suppl.2): II/151. IF: 2,778.
6. Moravcova E, Bednarik J. Sympathetic skin response in polyneuropathy patients. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 1950. IF: 2,538.
7. Moravcova E, Bednarik J. The reproducibility of thermal threshold testing. *Clin Neurophysiol* 2004;115:1961. IF: 2,538.
8. Moravcová E, Bednařík J, Sommer C. Intraepidermal nerve fiber density in patients with small fiber polyneuropathy with and without simultaneous large fiber affection. *J Peripher Nerv Syst* 2005;10 (Suppl 1):63-64. IF: 1,698. *Počet citací v Science Citation Index: 1.*
9. Moravcová E, Bednařík J, Sommer C. Intra-epidermal nerve fibre density in patients with small fibre polyneuropathy with and without simultaneous large fibre involvement. *Eur J Neurol* 2005; 12 (Suppl 2): 219. IF: 2,244.
10. Bednařík J, Moravcová E. Correlation between abnormal thermal threshold and intra-epidermal nerve fibre density in small fibre neuropathy. *Eur J Neurol* 2005; 12 (Suppl 2): 219. IF: 2,244.
11. Moravcová E, Bednařík J, Dušek L, Toyka KV, Sommer C. Diagnostic validity of skin biopsy, utilizing intra- and subepidermal nerve fiber densities in painful sensory

neuropathies. J Neurol 2006;253 [Suppl.2]: II/109 (P430). IF: 2,984. *Počet citací v Science Citation Index: 1.*

12. Vlčková E, Bednařík J, Dušek L, Toyka KV, Sommer C. Aetiology of small- and mixed-fiber neuropathy. Eur J Neurol 2006;13 (Suppl.2):222. IF: 2,437.
13. Bednařík J, Vlčková E, Dušek L, Sommer C. Diagnostic validity of skin biopsy in painful sensory neuropathy utilising intra- and subepidermal nerve fiber densities. Eur J Neurol 2006;13 (Suppl.2):222. IF: 2,437.
14. Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Mlcakova L, Belobradkova J, Sommer C. Diabetic painful distal sensory polyneuropathy is predominantly of small-fiber type. Eur J Neurol 2007; 14 (Suppl 1): 249. IF: 2,580.
15. Vlckova E, Sommer C, Bednarik J. Aetiology of small- and mixed-fiber neuropathy. J Neurol 2008; 255 (Suppl): 12-13. IF: 2,536.
16. Bednarik J, Vlckova-Moravcova E, Mlcakova L, Buršová S. Effect on age and sex on power spectral analysis of heart rate variability in healthy subjects and sources of variability. J Peripher Nerv Syst 2009; 14 (Suppl.2): 14-15. IF: 3,623.
17. Bursova S, Vlckova-Moravcova E, Bednarik J. Painful sensory neuropathy in elderly patients. J Peripher Nerv Syst 2009; 14 (Suppl.2): 24. IF: 3,623.
18. Bednarik J, Vlckova E, Bursova S, Belobradkova J, Dusek L. Aetiology of sensory small-fibre neuropathy. Eur J Neurol 2009; 16 (Suppl 3): 209. IF: 2,510.

II. V český s lovenských časopisech nebo v cizině v neimpaktovaném časopise nebo ve sborníku abstrakt:

1. Bednařík J, Moravcová E, Vondráček P. Počítačem asistované stanovení termického prahu jako nová metoda detekce neuropatie tenkých vláken. Cesk Slov Neurol N 2000; Suppl.: 21. IF: 0,059.
2. Moravcová E: Počítačem asistované stanovení termického prahu jako nová metoda detekce neuropatie tenkých vláken. Scripta Medica 2000; 73: 328.
3. Moravcová E, Bednařík J, Vondráček P. Počítačem asistované stanovení termického prahu jako nová metoda detekce neuropatie tenkých vláken. Bolest 2001; Suppl. 1:28.
4. Moravcová E, Bednařík J, Vondráček P. The quantitative sensory testing – a new method for the detection of small fibre neuropathy. Sborník abstrakt: Neuro-ski 2001: 25.

5. Moravcová E, Bednařík J. Počítačem asistované kvantitativní stanovení termického prahu: normativní data a zdroje variability. Sborník abstrakt ze 48. Společného sjezdu slovenské a české společnosti pro klinickou neurofyzilogii, Nové Zámky 2001: 22.
6. Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol consumption. Sborník abstrakt: Neuro-ski 2002: 28.
7. Moravcová E, Bednařík J, Dastych M, Novotná H, Pokora J. Srovnání diagnostické validity CDT a dalších laboratorních markerů chronického abusu ethanolu. Sborník abstrakt XVIII. českého a slovenského neurologického sjezdu, Praha 2002: 18.
8. Moravcová E, Bednařík J: Aetiology of small fiber neuropathy. Sborník abstrakt: Neuro-ski 2003: 17.
9. Moravcová E, Bednařík J, Feit J: Hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken z kožní biopsie u pacientů s polyneuropatií. Sborník abstrakt XIX. českého a slovenského neurologického sjezdu, Brno 2004: 13.
10. Moravcová E, Bednařík J. Hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken z kožní biopsie. *Cesk Slov Neurol N* 2005; 68/101: 277. IF: 0,070.
11. Moravcová E, Bednařík J. Testování termického prahu. *Cesk Slov Neurol N* 2005; 68/101: 274. IF: 0,070.
12. Bednařík J, Moravcová E. Korelace mezi abnormálním termickým prahem a denzitou intraepidermálních nervových vláken u neuropatie tenkých vláken. *Cesk Slov Neurol N* 2005; 68/101: 274. IF: 0,070.
13. Moravcová E, Bednařík J. Etiologické faktory bolestivých neuropatií. *Cesk Slov Neurol N* 2006;69/102 (5):400-401. IF: 0,045
14. Bednařík J, Moravcová E, Dušek L, Sommer C. Validita kožní biopsie u bolestivé senzitivní polyneuropatie při využití intraepidermální a subepidermální denzity kožních nervových vláken. *Cesk Slov Neurol N*: 2006;69/102 (5):396-397. IF: 0,045.
15. Bednařík J, Vlčková-Moravcová E, Mlčáková L, Bělobrádková E, Sommer C. Bolestivá diabetická neuropatie. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103: 458. IF: 0,037
16. Bednařík J, Vlčková-Moravcová E. Kožní biopsie v diagnostice bolestivých neuropatií. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103: 461. IF: 0,037.
17. Bednařík J, Vlčková E, Mlčáková L, Bělobrádková E, Sommer C. Bolestivá diabetická neuropatie. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103: Suppl 1: S47. IF: 0,037.

18. Vlčková E, Švecová E, Štourač P, Bednařík J. Akutní faciální paréza boreliová idiopatické etiologie: srovnání klinických a laboratorních nálezů. *Cesk Slov Neurol N* 2007; Suppl 1: S44 - 45. IF: 0,037.
19. Švecová E, Vlčková E, Štourač P, Štroblová H, Bednařík J. PCR diagnostika herpetických virů u pacientů s idiopatickou parézou lícního nervu. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103: Suppl 1: S 45. IF: 0,037.
20. Vlčková, E., Bednařík, J., Sommer, C. Bolestivá neuropatie u pacientů s rizikovým pitím alkoholu. In *Sborník ze Společného sjezdu české a slovenské společnosti klinické neurofyzologie*. Brno 2007: s. 25-26.
21. Bednařík J, Vlčková-Moravcová E. Kožní biopsie v diagnostice neuropatie tenkých vláken. *Neurológia* 2007; 1 (suppl.): S9.
22. Bednařík J, Vlčková E, Mlčáková L. Neuropatie tenkých vláken. *Neurológia pre prax* 2008; 9 (Suppl): 13.
23. Vlčková E, Bednařík J. Dotazník „Michigan Neuropathy Screening Instrument“ (MNSI) a jeho význam u bolestivé neuropatie. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104: 629-630. IF: 0,319
24. Vlčková-Moravcová E, Buršová Š, Bednařík J. Bolestiva senzitivni polyneuropatie u pacientů vyššího věku. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104 (Suppl.3): S:30. IF: 0,319.
25. Vlčková-Moravcová E., Mlčáková L., Bednařík J. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data a zdroje variability. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104 (Suppl.3): S:19. IF: 0,319.
26. Bednařík J, Vlčková-Moravcová E, Buršová Š, Bělobrádková , Dušek L, Sommer C. Etiologie neuropatie tenkých vláken. *Cesk Slov Neurol N* 2009; 72/105 (Suppl 2): S29-30. IF: 0,246.
27. Vlčková E, Bednařík J, Buršová Š, Sommer C. Subepidermální nervový plexus a tloušťka epidermis – méně obvyklé parametry kožní biopsie. *Cesk Slov Neurol N* 2009; 72/105 (Suppl 2): S31. IF: 0,246.
28. Buršová Š, Vlčková-Moravcová E, Bednařík J, Bělobrádková J, Dubový P, Sommer C, Ueceyler N. Výskyt bolestivé polyneuropatie u pacientů s recentním diabetem melitem II. typu. *Cesk Slov Neurol N* 2009; 72/105 (Suppl 2): S124. IF: 0,246.
29. Vlčková-Moravcová E, Buršová Š, Bednařík J. Bolestivá senzitivní neuropatie u pacientů vyššího věku. *Neurol pre prax* 2009; 10: 31.

30. Vlčková E, Bednařík J, Buršová Š, Sajgalíková K, Mlčáková L. Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data a variabilita metodiky. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106 (4): S469-470. IF:0,246
31. Vlčková E, Bednařík J, Buršová Š. A-vlna . klinický význam a reprodukovatelnost. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106 (Suppl 2): S90-91 IF:0,246.
32. Buršová Š, Vlčková E, Hnojčíková M, Dubový P, Klusáková I, Bělobrádková J, Bednařík J, Nové potenciální markery v diagnostice neuropatie tenkých vláken. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106 (Suppl 2): S90. IF:0,246
33. Buršová Š, Vlčková-Moravcová E, Němec M, Bělobrádková J, Dubový P, Klusáková I, Bednařík J. Výskyt bolestivé polyneuropatie u pacientů s recentním diabetes mellitus II.typu. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106 (4): S454. IF:0,246
34. Buršová Š, Vlčková E, Němec M, Bělobrádková J, Dubový P, Klusáková I, Bednařík J. Diabetic peripheral neuropathic pain in recent type 2 diabetes mellitus. *Acta Myol* 2010; 29: 170. ISSN 1128-2460.

SOUHRNNÝ POČET CITACÍ V SCIENCE CITATION INDEX K 23.12.2010: 78
HIRSHŮV INDEX: 4

IV. SOUHRN

Prezentovaný soubor prací poskytuje komplexní podklady pro využití jednotlivých diagnostických metod neuropatie tenkých vláken (t.j. kožní biopsie, testování termického prahu a testování autonomního nervového systému včetně spektrální variability srdeční frekvence) a to včetně normativních dat pro jednotlivé metody (obvykle věkově stratifikovaných), metodických doporučení pro vlastní realizaci vyšetření včetně výběru testovaných parametrů, doporučení pro hodnocení nálezů a údajů o diagnostické validitě a reprodukovatelnosti jednotlivých metod. Práce dále poskytují informace o nálezech používaných metod v dobře definovaných souborech pacientů s neuropatií tenkých vláken (SFN) a v neposlední řadě také detailní prospektivní kontrolované vyhodnocení relevantních etiologických faktorů u těchto pacientů.

Nejvyšší (a vzájemně srovnatelnou) senzitivitu a specifitu z metod, užívaných v diagnostice SFN, prokázaly v našich studiích kožní biopsie a testování termického prahu. U většiny pacientů je abnormalita prokazatelná současně pomocí obou zmíněných metod, což potvrzuje správnost užívané metodiky obou diagnostických testů včetně nastavení normativních dat. U části pacientů je naopak abnormalita prokazatelná pouze jedním z uvedených vyšetření, což naopak podtrhuje jejich komplementární charakter a vhodnost zařazení obou metod do diagnostického algoritmu SFN.

Kožní biopsie vykazuje dle našich nálezů velmi dobrou diagnostickou validitu v hodnocení pacientů s SFN, což platí jak pro standardně užívané hodnocení intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken, tak i pro nově definovaný parametr, tedy hodnocení hustoty subepidermálního nervového plexu. Uspokojivá senzitivita i specifita byla při použití validních normativních dat prokázána jak u jedinců s bolestivou diabetickou neuropatií, tak u souboru pacientů s neuropatií tenkých vláken různé etiologie, a to izolovanou i kombinovanou s postižením vláken silných. Vzhledem k absenci komplikací zmíněného vyšetření v poměrně rozsáhlém souboru pacientů naše nálezy opravňují doporučení této metody jako bezpečné, pacienty dobře tolerované a spolehlivé metody vyšetření tenkých nervových vláken. Jde navíc o vyšetření morfologické, tedy dobře reprodukovatelné a méně zatížené řadou fyziologických či psychologických faktorů, potenciálně ovlivňujících funkční metody vyšetřování, tedy kvantitativní testování senzitivity či testování autonomního nervového systému. Z uvedených důvodů je kožní biopsie s vyhodnocením výše zmíněných parametrů klíčovou diagnostickou metodou neuropatie tenkých vláken. Nevýhodou vyšetření je poměrně značná časová

náročnost hodnocení nálezů (pokud je provedeno kvantitativně a nikoli pouze jako semikvantitativní orientační nález), nutnost histologického zpracování vzorků a potřebná dostupnost příslušného vybavení včetně kvalitního fluorescenčního (ev. standardního světelného) mikroskopu a také určitý časový odstup mezi vyšetřením a získáním jeho výsledků nutný k histologickému zpracování vzorků a jejich vyhodnocení.

Testování termického prahu v našich studiích také prokázalo velmi uspokojivou diagnostickou validitu u bolestivé diabetické neuropatie či neuropatie s postižením tenkých vláken obecně, zejména pokud je současně hodnoceno více testovaných parametrů (např. termické prahy pro teplo i chlad, ev. i diskriminace tepelných modalit). Vzhledem k psychofyzikálnímu charakteru vyšetření a jeho ovlivnitelnosti řadou fyziologických proměnných i aktuálním psychologickým stavem pacienta (výrazně ovlivnitelným i faktory prostředí) je reprodukovatelnost vyšetření problematická. Z tohoto hlediska je pro longitudinální sledování vhodné vybírat parametry lépe reprodukovatelné (např. testy konstantního stimulu pro teplo) a přistupovat obezřetně k hodnocení ev. změn nálezů. Vyšetření je nicméně nebolestivé, pacienti dobře tolerované, neinvazivní a s okamžitě dostupnými výsledky a metodu lze proto jednoznačně doporučit jako součást diagnostického algoritmu neuropatie tenkých vláken. Nevýhodou je nutnost specializovaného přístrojového vybavení a nezbytná aktivní spolupráce pacienta, která limituje možnosti vyšetření např. u pacientů s kvalitativní či kvantitativní poruchou vědomí, nespolupracujících či simulujících, agravujících nebo naopak disimulujících postižení (i když metoda umožňuje do určité míry spolehlivé odlišení takových jedinců) a dále určitá časová náročnost vyšetření (kdy vyšetření v rozsahu potřebném pro validní a spolehlivé posouzení všech složek termické percepce trvá dle míry alterace tepelného čítí cca 30-90 minut).

Testy autonomních nervových funkcí jsou také často využívány v diagnostice neuropatie tenkých vláken, i když jejich senzitivita je dle našich studií významně nižší ve srovnání s předchozími zmiňovanými metodami. Pravděpodobným důvodem nižší senzitivity těchto testů je možnost ušetření autonomních nervových vláken u některých pacientů s SFN (kde pak autonomní testy samozřejmě neprokáží abnormální nález i přes signifikantní abnormity detekovatelné ostatními diagnostickými testy). Dalším důvodem, limitujícím senzitivitu především u testování kardiovaskulárních funkcí, je omezení využitelnosti těchto testů např. se vzrůstajícím věkem pacientů, kde narůstá podíl jedinců, u nichž nemůže být vyšetření provedeno nebo hodnoceno nebo jsou jeho výsledky významně ovlivněny jinými faktory než

vlastní autonomní neuropatií (např. aktuální užívanou chronotropní medikací nebo základním srdečním onemocněním, obvykle poruchou srdečního rytmu, ev. rytmem stimulovaným). S výjimkou pacientů se zmíněnými non-neurogenními interferujícími faktory je spektrální analýza variability srdeční frekvence vyšetření jednoduché, neinvazivní, časově nenáročné, pacienti obzvlášť dobře tolerované a lze jej doporučit jako součást diagnostického algoritmu zejména u pacientů s klinickými známkami autonomní dysfunkce. Testování je vždy nutno provádět za standardizovaných podmínek, zejména v období denní dobu, a pro jeho hodnocení používat validní, věkově stratifikovaná normativní data. Nevýhodou vyšetření je (kromě výše zmíněných okolností) také nutnost specializovaného vybavení, které je však finančně poměrně nenáročné a komerčně dobře dostupné. Metodu lze využít i pro longitudinální sledování pacientů, ev. změny nálezu je však nutno hodnotit v relaci s prokázanou významnou intraindividuální variabilitou jednotlivých testovaných parametrů a tedy vždy po zohlednění běžné procentuální změny výsledků vyšetření.

Vedle komplexního posouzení jednotlivých diagnostických metod neuropatie tenkých vláken bylo cílem prezentovaného projektu také zhodnocení relevantních etiologických faktorů této klinické jednotky. Výsledky publikované prospektivní kontrolované studie na toto téma prokázaly jako nejvýznamnější příčiny vzniku SFN diabetes mellitus a chronický abusus alkoholu. Posledním ze statistického hlediska relevantním etiologickým faktorem neuropatie je zřejmě hyperlipidémie, jejíž role v patofyziologii bolestivé polyneuropatie však vyžaduje další výzkum a ověření publikovaných výsledků. Z dalších potenciálně relevantních etiologických faktorů periferní neuropatie byly v naší studii zachyceny monoklonální gamapatiie, maligní onemocnění, toxická etiologie při aktuální či v časové souvislosti se vznikem obtíží v minulosti užívané chemoterapii, hypothyreóza, systémová autoimunitní onemocnění a neuroborelióza. Výskyt žádného z uvedených faktorů však nebyl u našich pacientů s bolestivou neuropatií statisticky významně častější než ve srovnatelné kontrolní skupině jedinců obdobného věku a pohlaví, což do určité míry zpochybňuje jejich etiologickou relevanci (přinejmenším ze statistického hlediska) – naše závěry tak v tomto smyslu relativizují i obecně přijímaný koncept, kdy je u konkrétního pacienta průkaz potenciálně relevantního etiologického faktoru periferní neuropatie často automaticky vnímán jako nalezení příčiny zmíněné neuropatie, i když tato souvislost nemusí být ve všech případech skutečně etiologicky relevantní.

V obecné rovině je dle našich výsledků výskyt i proporcionální zastoupení jednotlivých zachycených faktorů ve spektru pravděpodobných příčin periferně neurogenního postižení

stejně jako podíl idiopatických případů (cca ¼) obdobný u pacientů s neuropatií s izolovaným postižením tenkých nervových vláken i s kombinovaným postižením vláken tenkých a silných a neliší se od dříve publikovaných souborů pacientů s postižením silných nervových vláken. Naše nálezy naopak neprokazují významný podíl hereditárních neuropatií či dalších geneticky podmíněných onemocnění ve spektru příčinných faktorů SFN, i když tyto nálezy pochopitelně nezpochybňují fakt že tato a další onemocnění, nevyhodnocená v našem souboru pacientů jako významná, jsou prokázány etiologickými faktory neuropatie tenkých vláken.

Výše zmíněné nálezy jednotlivých diagnostických metod u souborů pacientů s bolestivou neuropatií i relevantních etiologických faktorů v souhrnu svědčí proti konceptu neuropatie tenkých vláken jako izolované diagnostické jednotky a naopak podporují hypotézu plynulého spektra polyneuropatií s různou mírou postižení jednotlivých typů nervových vláken, v němž je léze tenkých vláken často iniciální abnormitou, následovanou rozvojem postižení vláken silných.

Tento koncept však samozřejmě nezpochybňuje nutnost využití speciálních metodik v diagnostice postižení tenkých nervových vláken ani možnost určitého podílu SFN-specifických etiologických faktorů (jako jsou např. některé typy hereditárních neuropatií, postihující obvykle pouze některý z typů tenkých nervových vláken).

V. POUŽITÉ ZKRATKY

- AIDS – syndrom získané imunodeficiency (acquired immune deficiency syndrome)
- AMPA - α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazol-propionát (selektivní ligand jednoho typu glutamátových receptorů)
- ATP – adenosin trifosfát
- CDT- karbohydrát deficientní transferin (carbohydrate deficient transferrin)
- CGRP – calcitonine gene related peptide
- CHEPs – evokované potenciály, vyvolané kontaktním teplem (contact-heat evoked potentials)
- CV – variační koeficient (coefficient of variation)
- GABA – kyselina gama-aminomáselná (γ -aminobutyric acid)
- HSAN - hereditární senzitivní a autonomní neuropatie (hereditary sensory and autonomic neuropathy)
- HSN- hereditární senzitivní neuropatie (hereditary sensory neuropathy)
- HIV – virus lidské imunodeficiency (human immunodeficiency virus)
- IENF – intraepidermální nervové vlákno (intraepidermal nerve fiber)
- IENFD – intraepidermální hustota nervových vláken (intraepidermal nerve fiber density)
- IL – interleukin (interleukine)
- LANSS – the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs
- LEPs - laserem evokované potenciály (laser-evoked potentials)
- MFN – neuropatie se smíšeným postižením tenkých a silných nervových vláken (mixed fiber neuropathy)
- MNSI –Michigan neuropathy screening instrument
- NGF – nervový růstový faktor (nerve growth factor)
- NMDA - N-methyl D-aspartát (selektivní ligand jednoho typu glutamátových receptorů)
- NS = statisticky nevýznamný rozdíl (non significant)
- QSART - kvantitativní sudomotorický test (quantitative sudomotor axon reflex test)
- QST – kvantitativní testování senzitivity (quantitative sensory testing)
- PGP 9.5 – protein gene product 9.5
- pSFN – polyneuropatie s izolovaným postižením tenkých nervových vláken (pure small fiber neuropathy)
- ROC - receiver-operating characteristic curve
- SAHRV - spektrální analýza variability srdeční frekvence (spectral analysis of heart rate variability)

SFN – neuropatie tenkých vláken (small fiber neuropathy)
SNAP – akční potenciál senzitivního nervu (sensory nerve action potencial)
SS - Sjögrenův syndrom (Sjogren´s syndrome)
SSR – sympatická kožní odpověď (sympathetic skin response)
SP – substance P
TNF – tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor)
TRPA - transient receptor potential cation channel, subfamily A
TRPV1 - transient receptor potential V1
TTT – testování termického prahu (thermal threshold testing)
UENS – Utah early neuropathy scale
VR 1 - vaniloinový receptor typu 1 (vanilloin receptor 1)

VI. PODĚKOVÁNÍ

Autorka práce děkuje školiteli prof. MUDr. Josefu Bednaříkovi, CSc. za vysoce nadstandardní a mimořádně kvalitní vedení vědecké práce, vedoucím pracovníkům Neurologické kliniky LF MU a FN Brno (prof. MUDr. Zdeňku Kadaňkovi, CSc. (2000-2007), prof. MUDr. Josefu Bednaříkovi, CSc. (2007 – dosud) a prim. MUDr. Stanislavu Voháňkovi, CSc., MBA) za vytvoření vynikajících podmínek pro vědeckou činnost i podnětnou diskuzi k jejím výsledkům, podporu a cenné profesionální rady, prof. Claudii Sommerové, MD z Neurologické kliniky Univerzitní nemocnice ve Würzburgu (Německo) za zaučení v metodice odběru vzorků kožní biopsie a jejich zpracování i za následnou vyjimečně vstřícnou spolupráci a pomoc při navazujících vědeckých projektech, spolupracujícím kolegům z Neurologické kliniky LF MU a FN Brno (zejm. MUDr. Blance Adamové, PhD., MUDr. Šárce Buršové a MUDr. Lence Mlčákové) za spolupráci při přípravě projektů a náborech a vyšetřování pacientů, zdravotním sestřím a laborantkám Neurologické kliniky FN Brno a především její elektrofyziologické laboratoře (zejm. paní Marii Voborné, Taťaně Tachtadzisové, Marii Šestákové, Pavlíně Jůzlové a Jaroslavě Smejkalové) za spolupráci při vyšetřeních pacientů a zavádění nových diagnostických metod, laborantkám Ústavu patologie FN Brno (paní Haně Rychtecké a Janě Zaorálkové) i imunohistochemické laboratoře Neurologické kliniky Univerzitní nemocnice ve Würzburgu (Německo) (paní Barbaře Gado, Barbaře Broll, Barbaře Dekant a Hiltrude Klüpfel) za cenné rady a pomoc při zpracování vzorků kožních biopsií, všem pacientům a zdravým dobrovolníkům, participujícím na jednotlivých projektech a v neposlední řadě rodině za trpělivost a podporu vědecké práce a dále institucím, poskytujícím grantovou podporu pro jednotlivé fáze projektu, tedy: Interní grantové agentuře Fakultní nemocnici Brno (grant Neuropatie tenkých vláken č. 15/2000), Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy a Lékařské fakultě Masarykovy univerzity (Výzkumný záměr MSMT 0021622404), Evropské neurologické společnosti (výzkumný grant European Neurological Society pro účely půlroční zahraniční stáže na Neurologické klinice Univerzitní nemocnice ve Würzburgu (Německo) a Interní grantové agentuře Ministerstva zdravotnictví ČR (grantový projekt č. NS 9667-4).