

# Die Bestimmung der intraepidermalen Nervenfaserdichte in der Hautbiopsie

Eine valide Methode zur Diagnostik von isolierten Small-Fiber-Neuropathien.  
Erste Erfahrungen an der neurologischen Universitätsklinik Basel

Kathrin Doppler<sup>a</sup>, Anne-Kathrin Peyer<sup>a</sup>, Claudio Gobbi<sup>b</sup>, Peter Fuhr<sup>a</sup>, Andreas Arnold<sup>d</sup>, Ludwig Kappos<sup>a</sup>,  
Andreas J. Steck<sup>a</sup>, Markus Tolnay<sup>c</sup>, Stephan Frank<sup>c</sup>, Susanne Renaud<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Neurologische Universitätsklinik, Basel, Switzerland

<sup>b</sup> Ospedale cantonale, Lugano, Switzerland

<sup>c</sup> Abteilung für Neuropathologie, Universitätsspital, Basel, Switzerland

<sup>d</sup> Dermatologische Universitätsklinik, Basel, Switzerland

Funding/potential conflict of interest: No funding. No conflict of interest.

## Summary

*Evaluation of intra-epidermal nerve fibre density in skin biopsy*

**Background:** Small fibre neuropathy is a sensory neuropathy affecting small, thinly myelinated A $\delta$ -fibres and unmyelinated C-fibres. It clinically presents with burning pain and sensory symptoms. As nerve conduction studies mainly detect large fibre function, they often show normal values. Skin biopsy is a new, minimally invasive and painless tool for the diagnosis of small fibre neuropathy.

**Objective:** Evaluation of the newly established method of skin biopsies for the diagnosis of small fibre neuropathy at the University Hospital Basel.

**Material/Methods:** Between 2007 and 2009, a total of 50 patients presenting with neuropathic symptoms were examined clinically, electrophysiologically and by skin biopsies at the University Hospital Basel. Biopsies were taken under local anaesthesia, using a 3-mm punch. Three sections of each specimen were stained immunohistochemically with anti-protein-gene-product 9.5 antibody. The intra-epidermal nerve fibres were counted and assessed according to published normative values.

**Results:** Out of the 50 patients presenting with neuropathic symptoms, 35 had normal nerve conduction studies. In 28 of these patients, a reduced intra-epidermal nerve fibre density was found, suggesting a pure small fibre neuropathy. A total of 7 patients had neuropathic symptoms without reduction of intra-epidermal nerve fibres. In addition, skin biopsies of 15 patients with clinically and electrophysiologically diagnosed polyneuropathy were analysed. In all of these patients an involvement of small fibres was detected. Aetiological work-up for each patient resulted in findings consistent with previously published data: pure small fibre neuropathy was associated with impaired glucose tolerance in 7.1% (2 patients), diabetes in 7.1% (2 patients), MGUS in 7.1% (2 patients) and with polyarthritis, alcohol-toxicity, hepatitis B, hepatitis C, Sjögren's syndrome and sarcoidosis in 3.5% (1 patient). In 57.1% (16 patients), the neuropathy was classified as idiopathic small fibre neuropathy.

**Conclusions:** Skin biopsy proves to be an effective and sensitive method for the diagnosis of small fibre neuropathy. It is especially helpful in patients with an isolated lesion of small fibres where nerve conduction studies show normal values. Our results are consistent with the published data and applicable in a tertiary referral centre.

**Key words:** small fibre neuropathy; skin biopsy; polyneuropathy; intra-epidermal nerve fibre density

## Einleitung

Die Hautbiopsie ist eine neue Methode in der Diagnostik von Neuropathien. Mehrere Studien konnten eine Verminderung der intraepidermalen Nervenfaserdichte und der epidermalen Nervenfaserbündel bei Patienten mit Neuropathie nachweisen [1–3]. Neben der quantitativen Abnahme der Nervenfasern in der Haut konnten auch morphologische Veränderungen wie axonale Schwellung, Aussprossungen an den Nervenfasernenden und Ausbildung von parallel zur Basalmembran verlaufenden Fasern festgestellt werden, die der Minderung der Nervenfaserdichte vorausgehen können [4–7]. Eine wichtige Rolle spielt die Hautbiopsie in der Diagnostik der Small-Fiber-Neuropathie. Hierunter versteht man eine isolierte Schädigung der kleinen dünn-myelinisierten A $\delta$ - und unmyelinisierten C-Fasern, die sich klinisch typischerweise mit brennenden Schmerzen und Temperaturmissempfindungen äussert [8]. Da die gängigen elektro-neurographischen Untersuchungsmethoden nur die grossen Nervenfasern erfassen, kann eine Small-Fiber-Neuropathie damit nicht nachgewiesen werden. Die Hautbiopsie stellt hier eine geeignete Methode der Diagnostik mit guter Reliabilität, hoher Sensitivität (45–89% je nach Studie) und hoher Spezifität (88–97%) dar [9–12]. Andere Möglichkeiten zur Diagnostik der Small-Fiber-Neuropathie sind die quantitative sensorische Testung mit Bestimmung der Kalt- und Warmschwelle, die sympathische Hautantwort, Laser-evozierte Potentiale, die kutane Silent-Period, Kontakt-Hitze-evozierte Potentiale, die kardiale autonome Nervenfunktion sowie die klinisch-neurologische Untersuchung [8, 13–15], die jedoch in einigen Studien eine niedrigere Sensitivität aufweisen [8, 12]. So konnten Devigili et al. in einer Studie mit 150 Patienten für die klinisch-neurologische Untersuchung zur Diagnostik einer Small-Fiber-Neuropathie eine Sensitivität von 62,6% bei einer Spezifität von 46% ermitteln, für die quantitative sensori-

Korrespondenz:

PD Dr. Susanne Renaud  
Service de neurologie  
Hôpital Neuchâtelois  
Maladière 45  
CH-2000 Neuchâtel

sche Testung eine Sensitivität von 56,7% bei einer Spezifität von 36,5%. Im Vergleich dazu lag die Sensitivität der Hautbiopsie bei 88%, die Spezifität bei 88,8% [12].

Die Ursache der Small-Fiber-Neuropathie kann idiopathisch, autoimmun, metabolisch, toxisch, infektiös oder hereditär sein [16]. Schon bei prädiabetischer Stoffwechsellage können neuropathische Symptome und eine verminderte intraepidermale Nervenfaserdichte auftreten [17]. Umgekehrt kann auch bei Diabetikern ohne neuropathische Symptomatik eine Reduktion der Nervenfaserdichte vorliegen [18]. Auch bei isolierten neuropathischen Schmerzen wie «burning-mouth syndrome» oder «burning feet» ohne weitere sensorische Symptome kann eine Hautbiopsie (ggf. der Zunge) diagnostisch hilfreich sein und zeigt oftmals eine reduzierte intraepidermale Nervenfaserdichte [19, 20].

Mehrere Studien in den letzten Jahren haben gezeigt, dass die Hautbiopsie eine sensitive und effiziente Methode zur Diagnostik der Small-Fiber-Neuropathie darstellt [9–12]. Zur Weiterentwicklung dieser neuen Methode und zur Sicherung der Validität und Sensitivität ist die Analyse erhobener Befunde und deren Vergleich mit Werten in der Literatur von grosser Wichtigkeit. Am Universitätsspital Basel werden seit 2007 Hautbiopsien durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit haben wir die Ergebnisse der ersten 50 Hautbiopsien evaluiert und mit Werten aus der Literatur verglichen.

## Material und Methoden

### Patienten

Ausgewertet wurden zwischen 2007 und 2009 am Universitätsspital Basel untersuchte Hautbiopsien, die unter der Verdachtsdiagnose einer Small-Fiber-Neuropathie und bei Patienten mit bekannter Polyneuropathie entnommen wurden. Die Verteilung von Alter und Geschlecht ist in der

Tabelle angegeben (Tab. 1). Bei allen Patienten ging der Biopsientnahme eine elektrophysiologische Diagnostik voraus. Bei 35 der untersuchten Patienten bestand anhand von Anamnese, klinisch-neurologischer Untersuchung und unauffälligem Neurographiebefund der Verdacht auf eine isolierte Small-Fiber-Neuropathie. Bei 15 Patienten konnte elektrophysiologisch ein Befall der Large Fibers nachgewiesen werden.

### Biopsientnahme und Immunhistochemie

Die Biopsientnahme erfolgte unter Lokalanästhesie mit einem Einmal-Punch von 3 mm Durchmesser. Es wurde in den meisten Fällen jeweils eine Biopsie des Oberschenkels 20 cm unterhalb der Spina iliaca und des Unterschenkels 10 cm oberhalb des Malleolus lateralis entnommen. In Einzelfällen wurden Biopsien an der Hand entnommen. Bei allen Patienten verlief sowohl die Biopsientnahme als auch die Wundheilung komplikationslos. Die Biopsien wurden sofort nach Entnahme in 2%ige Paraformaldehyd-Lysinperiodat-Lösung gegeben und gekühlt ins Labor transportiert.

Dort verblieben sie für 24 Stunden bei 4 °C, wurden über Nacht kryoprotectiert und seriell in 50-µm-Schichten geschnitten. Pro Biopsie wurden drei Schnitte immunhistochemisch mit Anti-protein-gene-product-9.5-Antikörper (AbD Serotec, Martinsried, Germany, 1:1000) gefärbt (Abb. 1 und 2) [1].

An jedem Schnitt wurde die intraepidermale Nervenfaserdichte gemäss den Richtlinien der European Federation of Neurological Societies bestimmt [11]. Als Grenzwerte wurden die von Devigili et al. ermittelten Normwerte von am Oberschenkel >12,8 intraepidermalen Nervenfasern/mm Hautoberfläche und am Unterschenkel >7,6/mm zugrundegelegt [12].

**Tabelle 1**

Anzahl der Biopsien mit den Diagnosen isolierte Small-Fiber-Neuropathien, Neuropathie der grossen und kleinen Fasern und normale Nervenfaserdichte sowie Verteilung von Geschlecht, Alter, Symptomen und Ätiologie.

	Anzahl	Patientendaten	Symptome	Ätiologie
<b>Gesamt</b>	50	23 f, 27 m Mittleres Alter: 56,1 Jahre (Range 12–77)		
<b>Isolierte Small-Fiber-Neuropathie</b>	28	13 f, 15 m Mittleres Alter: 57,8 Jahre (Range 30–77)	Brennende Schmerzen / schmerzhaftes Dysästhesien / verändertes Temperaturempfinden (25)	Idiopathisch (14), Prädiabetes (2), MGUS (2), Diabetes (2), Hepatitis B (1), Hepatitis C (1), Sjögren-Syndrom (1), Sarkoidose (1), Arthritis (1)
			Parästhesien + Hypästhesie (1), Hypästhesie (1), Restless legs + Hypästhesie + Parästhesien (1)	Idiopathisch (2), Alkohol (1)
<b>Normale intraepidermale Nervenfaserdichte</b>	7	4 f, 3 m Mittleres Alter: 46,3 Jahre (Range 12–67)	Brennende Füsse (5)	Idiopathisch (3), Spondylarthritis (1), ANA erhöht (1)
			Parästhesien (2)	Churg-Strauss-Syndrom (1), SLE (1)
<b>Grosse und kleine Fasern betroffen</b>	15	6 f, 9 m Mittleres Alter: 57,5 Jahre (Range 20–74)	Brennende Schmerzen (7), brennende Schmerzen + Hypästhesie (3), Hypästhesie + Parästhesien (4), Schwäche + Hypästhesie (1)	Idiopathisch (3), Diabetes (2), Prädiabetes (2), POEMS (1), Arthritis (1), Anti-MAG (1), CIDP (1), Vaskulitis (1), Meningopolyradikulitis (1), paraneoplastisch (1), HNPP (1)
<b>Axonal: 6</b> <b>Demyelinisierend: 5</b> <b>Gemischt: 4</b>				

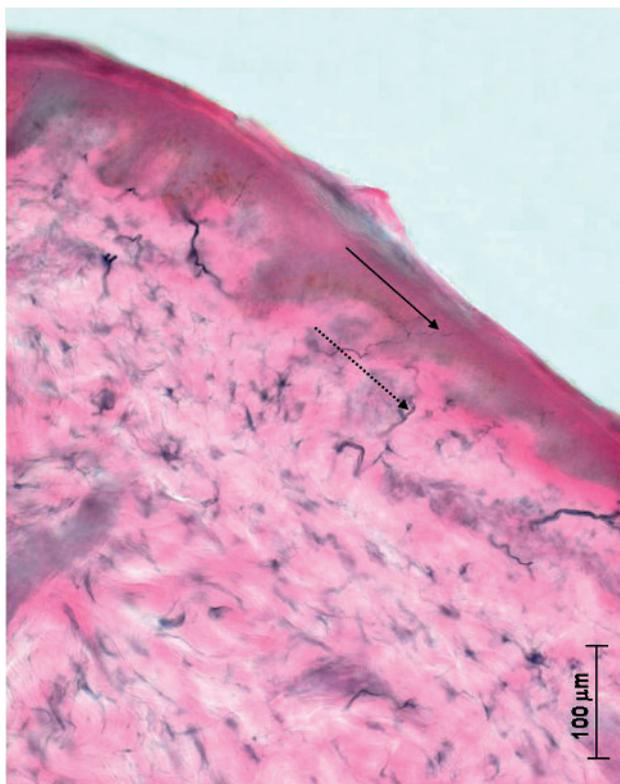
f = weiblich; m = männlich.

## Auswertung

Von allen 50 seit 2007 am Universitätsspital Basel untersuchten Hautbiopsien wurden Biopsiebefunde, elektrophysiologische Befunde und die Ergebnisse der ätiologischen Abklärungen gesammelt. Die Patienten wurden nach normaler/pathologischer Neurographie und normaler/reduzierter intraepidermaler Nervenfaserdichte kategorisiert (Tab. 1).

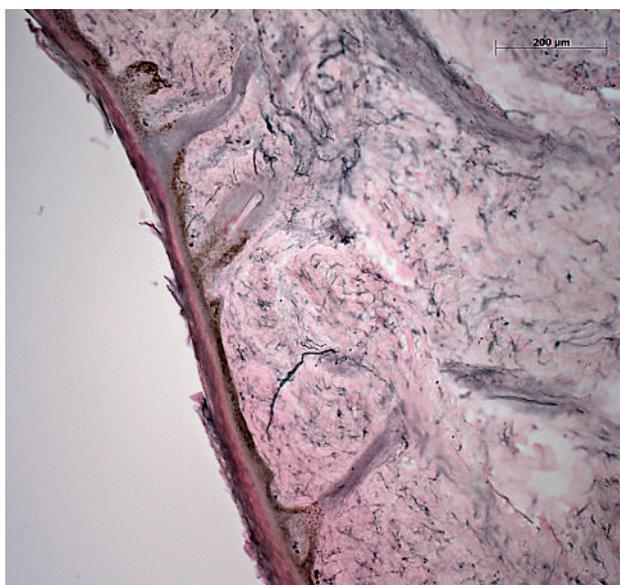
**Abbildung 1**

Hautbiopsie vom linken Unterschenkel einer gesunden Kontrollperson. Der Pfeil markiert intraepidermale Nervenfasern, der gestrichelte Pfeil dermale Nervenbündel.



**Abbildung 2**

Hautbiopsie eines Patienten mit Sarkoidose und isolierter Small-Fiber-Neuropathie. Die intraepidermalen Nervenfasern sind nicht mehr vorhanden.



siert (Tab. 1). Patienten mit normalem Neurographiebefund wurden aufgrund der Dokumentation in den Krankenunterlagen weiterhin in solche mit typischen Symptomen einer Small-Fiber-Neuropathie (neuropathische Schmerzen nach der Definition von Treede et al. [21], veränderte Temperaturempfindung) und solche mit atypischen Symptomen (z.B. im Vordergrund stehende Hypästhesie oder motorische Ausfälle) unterteilt. Ausserdem wurden anhand der bei Diagnosestellung durchgeführten ätiologischen Untersuchungen Spektrum und Verteilung der Ursachen der Neuropathien aller biopsierten Patienten ermittelt (Tab. 1).

## Resultate

35 der insgesamt 50 biopsierten Patienten zeigten normale Werte in der elektrophysiologischen Diagnostik (Neuro- und Myographie). Davon klagten 30 über die typischen Symptome einer Small-Fiber-Neuropathie wie brennende Schmerzen und veränderte Temperaturempfindung. Bei 25 dieser Patienten konnte in der Hautbiopsie eine verminderte intraepidermale Nervenfaserdichte nachgewiesen werden (Abb. 2), bei 23 hiervon am Ober- und Unterschenkel, bei einem Patienten nur am Oberschenkel bei grenzwertiger intraepidermaler Nervenfaserdichte am Unterschenkel, bei einem Patienten nur am Unterschenkel. Bei 5 Patienten mit unauffälliger elektrophysiologischer Diagnostik und Symptomen einer Small-Fiber-Neuropathie zeigte sich keine Reduktion der Nervenfasern (Abb. 1).

Sechs Patienten klagten über für einen isolierten Befall der kleinen Fasern atypische sensible Symptome, davon wiesen drei in der Hautbiopsie eine reduzierte intraepidermale Nervenfaserdichte auf. Bei zweien lag die Anzahl der Nervenfasern im Normbereich (Tab. 1).

Zusätzlich wurden Hautbiopsien von 15 Patienten mit bekannter klinisch und elektrophysiologisch diagnostizierter Polyneuropathie verschiedener Genese untersucht. In allen Fällen konnte eine reduzierte Nervenfaserdichte festgestellt werden.

Die ätiologische Diagnostik konnte bei 12 der 28 Patienten (42,9%) mit reduzierter Nervenfaserdichte mögliche Ursachen aufdecken: zweimal Diabetes mellitus, zweimal pathologische Glukosetoleranz, zweimal monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS), einmal Arthritis, einmal Sarkoidose, einmal Hepatitis B, einmal Hepatitis C, einmal Sjögren-Syndrom, einmal äthyltoxisch.

## Diskussion

Von 30 Patienten mit dem typischen klinischen Bild einer Small-Fiber-Neuropathie zeigten 25 in der Hautbiopsie eine verminderte intraepidermale Nervenfaserdichte. Von fünf Patienten mit klinisch nicht isoliertem Befall der kleinen Fasern, aber unauffälliger Neurographie zeigten drei eine Reduktion der intraepidermalen Nervenfasern.

Dies entspricht weitgehend den aus der Literatur bekannten Werten: Devigili et al. konnten bei 88% aller Patienten mit isolierter Small-Fiber-Neuropathie eine verminderte Nervenfaserdichte in der Hautbiopsie feststellen

[12], die Sensitivität wird je nach Studie mit 45–89% angegeben [11]. Bei einigen Patienten liess sich eine verminderte Nervenfaserdichte bei normalem Neurographiebefund und für einen isolierten Befall der kleinen Fasern untypischen Symptomen feststellen. Dies lässt sich zum einen dadurch erklären, dass die Abnahme der Nervenfaserdichte schon früh im Verlauf einer Neuropathie nachweisbar ist und einem pathologischen Befund in der Neurographie vorausgehen kann [12]. Zum anderen kann sich eine Small-Fiber-Neuropathie auch mit negativen sensiblen Symptomen präsentieren [8, 22].

Bis auf zwei Fälle zeigten alle Patienten mit reduzierter intraepidermaler Nervenfaserdichte diese sowohl im Oberals auch im Unterschenkel. Die Beurteilung einer Längenabhängigkeit der Neuropathie und die Abgrenzung von einem lokalen Nervenfaserverlust sprechen jedoch für die Biopsieentnahme an Ober- und Unterschenkel.

Von den 15 Patienten mit elektrophysiologisch nachgewiesener Polyneuropathie zeigten alle eine reduzierte intraepidermale Nervenfaserdichte, was für eine Beteiligung der kleinen Fasern spricht, und dies nicht nur bei Neuropathien, die eine Beteiligung der kleinen sensiblen Fasern erwarten lassen (z.B. diabetische Neuropathie), sondern auch bei Neuropathien, bei denen motorische Ausfälle im Vordergrund stehen, wie z.B. hereditäre Neuropathie mit Neigung zu Druckpareisen (HNPP). Auch andere Studien der letzten Jahre konnten in Fällen von Large-Fiber-Neuropathien und bei spinobulbärer Muskelatrophie eine Verminderung der intraepidermalen Nervenfaserdichte zeigen [23, 24].

Bei 12 von 28 Patienten (42,9%) mit isolierter Small-Fiber-Neuropathie war eine Ursache nachweisbar, bei 16 (57,1%) ist von einer idiopathischen Small-Fiber-Neuropathie auszugehen. Das Spektrum und die Verteilung unseres Patientenkollektivs decken sich weitgehend mit den bisher bekannten Werten. Eine Studie von DeSousa et al. konnte bei 50% der untersuchten Patienten eine Ursache eruieren, davon 19% Diabetes mellitus/pathologische Glukosetoleranz und 8% MGUS [22]. Bei Devigili et al. erwiesen sich 42% als idiopathisch, 37% durch Diabetes mellitus/pathologische Glukosetoleranz und 6% durch MGUS bedingt [12].

Verschiedene Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Methode der Hautbiopsie eine zuverlässige und sensitive Methode zur Diagnostik der Small-Fiber-Neuropathie darstellt [9–12]. Bei typischen neuropathischen Symptomen und unauffälliger Elektrophysiologie stellt die Hautbiopsie eine Möglichkeit dar, die Diagnose einer Small-Fiber-Neuropathie objektiv zu beurteilen. Da die Methode wenig invasiv ist, kann die Indikation zur Hautbiopsie allein zur Diagnosesicherung v.a. bei Small-Fiber-Neuropathie gestellt werden, auch wenn sich bei idiopathischer Small-Fiber-Neuropathie aus dem Resultat, abgesehen von der symptomatischen Therapie, keine therapeutische Konsequenz ergibt.

Die Daten der seit 2007 in Basel erhobenen Hautbiopsiebefunde entsprechen den an anderen Einrichtungen ermittelten Ergebnissen sowohl in Bezug auf Verteilung von positiven und negativen Befunden als auch hinsichtlich des ätiologischen Spektrums.

## Literatur

- McCarthy BG, Hsieh ST, Stocks A, Hauer P, Macko C, Cornblath DR, et al. Cutaneous innervations in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy. *Neurology*. 1995;45:1848–55.
- Holland NR, Stocks A, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Intraepidermal nerve fiber density in patients with painful sensory neuropathy. *Neurology*. 1997;48:708–11.
- 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.
- Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A, et al. Axonal swellings predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. *Neurology*. 2003;61:631–6.
- Gibbons CH, Griffin JW, Polydefkis M, Bonyhay I, Brown A, Hauer PE, et al. The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. *Neurology*. 2006;66:256–8.
- Wendelschafer-Grabb G, Kennedy WR, Walk D. Morphological features of nerves in skin biopsies. *J Neurol Sci*. 2006;242:15–21.
- Ebenezer GJ, McArthur JC, Thomas D, Murinson B, Hauer P, Polydefkis M, et al. Denervation of skin in neuropathies: the sequence of axonal and Schwann cell changes in skin biopsies. *Brain*. 2007;130:2703–14.
- Lacomis D. Small-Fiber Neuropathy. *Muscle Nerve*. 2002;26:173–88.
- McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol*. 1998;55:1513–20.
- Smith AG, Howard JR, Kroll R, Ramachandran P, Hauer P, Singleton JR, et al. The reliability of skin biopsy with measurement of intraepidermal nerve fiber density. *J Neurol Sci*. 2005;228:65–9.
- Lauria G, Cornblath DR, Johansson O, McArthur JC, Mellgren SI, Nolano M, et al. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *Eur J Neurol*. 2005;12:747–58.
- Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G, et al. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain*. 2008;131:1912–25.
- Truini A, Romaniello A, Galeotti F, Iannetti GD, Cruccu G. Laser evoked potentials for assessing sensory neuropathy in human patients. *Neurosci Lett*. 2004;361:25–8.
- Leis AA, Kofler M, Ross MA. The silent period in pure sensory neuropathy. *Muscle Nerve*. 1992;15:1345–8.
- Atherton DD, Facer P, Roberts MK, Misra VP, Chizh BA, Bountra C, et al. Use of the novel contact heat evoked potential stimulator (CHEPS) for the assessment of small fibre neuropathy: correlations with skin flare responses and intra-epidermal nerve fibre counts. *BMC Neurology*. 2007;7:21.
- Lauria G. Small fibre neuropathies. *Curr Opin Neurol*. 2005;18:591–7.
- Smith AG, Ramachandran P, Tripp S, Singleton JR. Epidermal nerve innervations in impaired glucose tolerance and diabetes-associated neuropathy. *Neurology*. 2001;57:1701–4.
- Loseth S, Stalberg E, Jorde R, Mellgren SI. Early diabetic neuropathy: thermal thresholds and intraepidermal nerve fiber density in patients with normal nerve conduction studies. *J Neurol*. 2008;255:1197–202.
- Lauria G, Majorana A, Borgna M, Lombardi R, Penza P, Padovani A, et al. Trigeminal small-fiber sensory neuropathy causes burning mouth syndrome. *Pain*. 2005;115:332–7.
- Periquet MI, Novak V, Collins MP, Nagaraja HN, Erdem S, Nash SM, et al. Painful sensory neuropathy: Prospective evaluation using skin biopsy. *Neurology*. 1999;53:1641–7.
- Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Dostrovsky JO, Griffin JW, et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*. 2008;70:1630–5.
- DeSousa EA, Hays AP, Chin RL, Sander HW, Brannagan III TH. Characteristics of patients with sensory neuropathy diagnosed with abnormal small nerve fibres on skin biopsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006;77:983–5.
- Sommer C. Skin biopsy as a diagnostic tool. *Curr Opin Neurol*. 2008;21:563–8.
- Manganelli F, Iodice V, Provitera V, Pisciotta C, Nolano M, Perretti A, et al. Small-Fiber involvement in spinobulbar muscular atrophy (Kennedy's disease). *Muscle Nerve*. 2007;36:816–20.