



Indikation und Qualifikationskriterien für die Biopsie und präparative Aufarbeitung von Muskel- und Nervengewebeproben

Konsensuspapier der Deutschen Gesellschaft für Muskelkranke (DGM)

H. H. Goebel, R. Kiefer, D. Pongratz, J. M. Schröder, A. von Moers

Schlüsselwörter

Muskelbiopsien, Nervenbiopsien, Indikation, Entnahmetechnik, präparative Verfahren

Zusammenfassung

Biopsien von Skelettmuskeln und peripheren Nerven stellen wichtige Verfahren in der diagnostischen Sicherung einer neuromuskulären Krankheit dar. Da sie jedoch invasiv, das heißt nicht kurativ und auf diagnostische Ziele beschränkt sind, bedürfen sie im Rahmen der Gesamtdiagnostik besonders strenger Indikationskriterien, vor allem wenn andere nicht-invasive Methoden zu einem gleichen diagnostischen Ergebnis führen können. In dem Konsensuspapier werden die Wertigkeit der Muskel- und Nervenbiopsien bei entsprechenden neuromuskulären Krankheiten aufgezeigt, Hinweise zur chirurgischen Entnahmetechnik gegeben und die präparativen Verfahren kurz dargestellt, die den heutigen myopathologischen und neuropathologischen Standards in der Aufarbeitung biopsierter entnommener Muskel- oder Nervengewebeproben aufzeigen. Ein wichtiger Grundsatz ist, dass nur von Erfahrenen Biopsien durchgeführt und die entnommenen Gewebe adäquat präparativ bearbeitet werden, um für die Patienten eine optimale diagnostische Auswertung des biopsierten Gewebes zu gewährleisten.

Keywords

Muscle biopsy, nerve biopsy, selective criteria, techniques of biopsy, preparative procedures

Summary

Biopsies of skeletal muscles and nerves are important diagnostic procedures in recognising a neuromuscular disease. As biopsies are invasive procedures, they deserve special attention and should not necessarily be performed, for instance, when non-invasive procedures will yield the same diagnostic results, because these biopsies aim at purely diagnostic not curative results. This paper describes the diagnostic significance of muscle and nerve biopsies concerning different forms of neuromuscular disorders, provides advice for surgical removal and subsequent preparative methods according to modern diagnostic myopathological and neuropathological standards. It is of utmost importance that performing a biopsy and preparing the tissues is only in the hands of well-experienced physicians to guarantee optimal diagnostic benefit to the patient.

Indication and qualification criteria of biopsy and preparative procedures of muscle and nerve tissues

Nervenheilkunde 2005; 24: 933–5

artifizielle Schädigung des entnommenen Gewebes gewährleistet sind. Dies ist umso wichtiger, wenn das biopsierte Gewebe an ein Labor verschickt werden muss. Beim extramuralem Transport muss es im tiefgefrorenen sowie insbesondere separat fixiertem Zustand in Paraformaldehyd und Glutaraldehyd der entsprechenden Gewebeproben geschehen.

Muskelbiopsie

Die sinnvolle Bearbeitung einer Muskelbiopsiegewebeprobe setzt voraus, dass nach klinischer und nicht-invasiv diagnostischer Evaluation der betroffenen Person durch einen einschlägig erfahrenen Arzt eine Hypothese zur Differenzialdiagnose erstellt und konkrete Fragen an den Pathologen generiert wurden. Hypothese und Fragen müssen die Richtungen definieren, in die die Gewebeprobe zusätzlich zu den Standarduntersuchungen untersucht werden soll. Wenn die Diagnosestellung mittels genetischer Untersuchungen möglich ist, sollte die Indikation zur Muskelbiopsie besonders gründlich überdacht werden. Beispiele sind die meisten myotonen Syndrome, die fazioskapulohumerale Muskeldystrophie oder die okulopharyngeale Muskeldystrophie. Bei Männern mit Gliedergürtelsyndromen und der Differenzialdiagnose einer Dystrophinopathie soll vor der Muskelbiopsie ein Deletionscreening des Dystrophingens veranlasst werden. Ebenso sollten vor einer Biopsie alle nicht-invasiven biochemischen Methoden z.B. an Leukozyten ausgenutzt werden, die eine begründete klinische Verdachtsdiagnose belegen oder verwerfen können. Eine Muskelbiopsie ist nicht indiziert, wenn klinische und neurophysiologische Untersuchungen eine neurogene Muskelatrophie belegen und keine weitergehenden Fragestellungen bestehen. Letzteres könnte allerdings durchaus bei Verdacht auf

Neuromuskuläre Erkrankungen umfassen hereditäre und erworbene Krankheiten der quergestreiften Muskulatur, der motorischen Endplatte, der peripheren Nerven und deren Neurone. Muskel- und Nervenbiopsien dienen in erster Linie der morphologischen Diagnostik, in besonderen Fällen auch der biochemischen und molekularbiologischen Diagnostik, wobei sich zunehmend molekularanalytische Verfahren an die morphologische Untersuchung anschließen oder, nach Verfügbarkeit und wirtschaftlicher Berücksichtigung, vielfach Nerven- und zum geringeren Teil auch Muskelbiopsien ersetzen können.

Anwendungsbereich

Unter den Untersuchungsverfahren zur Diagnostik einer neuromuskulären Krankheit werden Muskel- und/oder Nervenbiopsien wegen der invasiven Natur generell am Ende der differenzialdiagnostischen Maßnahmen durchgeführt, wenn eine hinreichende Klärung der Differenzialdiagnose mit nicht-invasiven Methoden nicht möglich ist.

Wenn ein Mitarbeiter des weiter aufarbeitenden Labors bei der Biopsie nicht selbst anwesend ist, liegt es beim biopsierenden Chirurgen, die entnommenen einzelnen Gewebeproben adäquat so zu asservieren, dass alle sich anschließenden präparativen Verfahren ohne

Vaskulitis oder bei bestimmten Multisystemerkrankungen mit Befall des Nervensystems und der Muskulatur der Fall sein.

Als Biopsieort sollte, wenn möglich, ein „Standard“-Muskel gewählt werden, dessen Normalstruktur einschließlich der Verteilung von Fasertypen bekannt ist, z.B. an der oberen Extremität der M. biceps brachii, an der unteren Extremität der M. quadriceps femoris, weniger geeignet der M. deltoideus, der M. gastrocnemius und besonders der M. tibialis anterior. Der zu biopsierende Muskel soll klinisch, aber nicht zu sehr betroffen sein, idealerweise mit einer Parese vom MRC-Kraftgrad 4. Klinische elektromyographische, sonographische und kernspintomographische Vorbefunde können die Wahl des Biopsieortes beeinflussen. Der zu biopsierende Muskel sollte allerdings vorher nicht durch Elektromyographie, Injektionen oder Impfungen verletzt worden sein. Bildgebende Verfahren zur Auswahl des Biopsieortes sind sinnvoll bei fokal betonten entzündlichen Myopathien zur Identifizierung von Muskelgewebe mit entzündlichem Ödem und bei weit fortgeschrittenen Myopathien mit fettig-bindegewebigem Umbau zur Identifizierung von potenziell noch aussagefähigem Muskelrestgewebe.

Bei Erwachsenen empfiehlt sich eine offene Biopsie in Lokalanästhesie. Eine Nadelbiopsie sollte nur für ausschließlich biochemische oder molekulare Untersuchungen (etwa der mitochondrialen DNS) oder bei sehr ungünstigen Biopsiebedingungen, etwa auf der Intensivstation durchgeführt werden. Da Nadelbiopsien in Lokal- oder Vollnarkose bei Kindern von vielen Neuropädiatern angestrebt werden, sollte man sich hierbei bewusst sein, dass die morphologische Interpretation nadelbiopsisch entnommenen Muskelgewebes unzureichend bleiben kann, selbst wenn eine adäquate Biopsie- und Nadeltechnik (z.B. Bergström-Nadel) angewandt wird. Die Auswahl des Muskels zur Nadelbiopsie ist weitgehend auf den M. quadriceps beschränkt. Da bei der Biopsie eine artifizielle Schädigung des Muskelgewebes (durch Injektion des Anästhetikums in den Muskel, durch Quetsch- und Reißartefakte oder durch Blutungen) vermieden und eine optimale Längs- und Querorientierung gewährleistet werden muss, sollte die Biopsie generell von einem in der Entnahme Erfahrenen durchgeführt werden.

Nervenbiopsie

Auch die sinnvolle Bearbeitung einer Nervenbiopsieprobe setzt voraus, dass nach klinischer und nicht-invasiv diagnostischer Evaluation der betroffenen Person durch einen erfahrenen Arzt eine Hypothese zur Differenzialdiagnose erstellt wurde, die durch die Analyse des biopsierten Gewebes auch tatsächlich weiter konkretisiert werden kann. Da die pathologischen Reaktionsmöglichkeiten peripherer Nerven bei den verschiedenen Krankheiten beschränkt und häufig nicht krankheitsspezifisch sind, ist auch die diagnostische Aussagekraft peripherer Nervenbiopsien oft begrenzt. Eine Nervenbiopsie ist indiziert, wenn Klinik, Labor- und Liquordiagnostik sowie Neurophysiologie keine Ursache der Neuropathie mit ausreichender Sicherheit identifizieren konnten. Eine weitere Voraussetzung ist, dass die Neuropathie hinreichend schwer ausgeprägt oder progredient ist, um die potenziellen und nicht unbeträchtlichen Nebenwirkungen der Biopsie zu rechtfertigen. Die klinisch wesentlichen Indikationen für die biopsische Entnahme einer Nervengewebeprobe sind der Verdacht auf pathologische Ablagerungsprodukte (z.B. Amyloid-Neuropathie), der Verdacht auf eine Vaskulitis, der Verdacht auf eine andere immun-vermittelte Neuropathie ohne eindeutige nicht-invasive Untersuchungsbefunde vor Einleitung einer aggressiven Immunsuppression, sowie eine rasch progrediente, schwere Polyneuropathie ungeklärter Ätiologie, dies ebenfalls überwiegend wegen der Frage nach einer anders nicht erkennbaren immunvermittelten Krankheitsursache. Keine Indikation zur Biopsie besteht, wenn eine Diagnose mit nicht-invasiven Methoden bereits sehr wahrscheinlich oder gesichert ist (z.B. GBS, typische Fälle einer CIDP oder paraproteinämischen Neuropathie, genetisch sicher hereditäre Neuropathien, Neuropathien bei bekannten Stoffwechselstörungen, sofern diese die Art und Ausprägung der Neuropathie ausreichend erklären).

Eine kombinierte Nerv-Muskelbiopsie ist bei Verdacht auf Vaskulitis sowie bei bestimmten Multisystemerkrankungen mit Befall des Nervensystems und der Muskulatur indiziert. Für den Nachweis einer vermuteten reinen C-Faser-Neuropathie ist die

Entnahme einer distalen Hautprobe als weniger invasives Verfahren die Methode der Wahl, wozu allerdings alters- und ortsrelevante Kontrollbefunde vorliegen müssen.

Biopsiert wird bei längenabhängigen Polyneuropathien der N. suralis einer Seite. Bei Neuropathien vom Multiplextyp wird ebenfalls der N. suralis biopsiert, wenn dieser betroffen ist, andernfalls in Ausnahmefällen auch ein anderer sensibler Nerv, z.B. sensible Endäste an den Armen. Da bei der Biopsie eine artifizielle Schädigung des Nervengewebes durch Quetsch-, Zug- und Reißartefakte sowie Blutungen vermieden werden muss, sollte die Biopsie generell von einem in der Entnahme Erfahrenen durchgeführt werden.

Einteilung der morphologischen Befunde

- A. krankheitsspezifische obligate, pathognostische morphologische Befunde
- B. krankheitsgruppenspezifische („charakteristische“) Befunde
- C. krankheitsunspezifische oder wenig krankheitsspezifische Befunde
- D. Normalbefunde trotz pathologischer anderer Untersuchungsbefunde

Im Einzelnen ergeben sich folgende Möglichkeiten zur Differenzierung.

Muskelbiopsien

Ad A

- kongenitale Myopathien
- Muskeldystrophien, z.B. Dystrophinopathien, Sarkoglykanopathien, andere Gliedergürteldystrophien, Merosinopathie, okulopharyngeale Muskeldystrophie, kongenitale Muskeldystrophien
- entzündliche Prozesse
- Enzymdefekte, z.B. Phosphorylase-, Phosphofruktokinase-, Zytocrom-C-Oxidase-, Myoadenylatdeaminase-, Laktat-Dehydrogenase-Mangel
- Amyloidosen

**Ad B**

- weitere Muskeldystrophien, auch weitere kongenitale Muskeldystrophien, distale Myopathien, dystrophische Myotonien (DM 1 + 2)
- bestimmte metabolische Myopathien, z.B. Lipidspeicherungsmyopathien, mitochondriale Myopathien, periodische Paralyse, das heißt bestimmte Kanal-krankheiten
- neurogene Atrophien
- Gefäßbindegewebskrankheiten ("Kollagenosen")

Ad C

- Myasthenia gravis
- kongenitale Myotonien, andere Kanal-krankheiten
- weitere metabolische Myopathien, z.B. Carnitin-Palmitoyl-Transferase-Mangel
- maligne Hyperthermie, Rhabdomyolyse
- Missbildungen und komplexe Syndrome

Nervenbiopsien**Ad A**

- Amyloid-Neuropathien
- Polyglukosan-Körper-Krankheiten
- Riesenaxonneuropathie
- neuroaxonale Dystrophie
- hereditäre motorisch-sensorische Neuropathien I-IV, (Charcot-Marie-Tooth 1-4)
- tomakulöse Neuropathie
- hereditäre sensorisch-autonome Neuropathien II, IV, V
- Vaskulitiden
- Neuritiden (GBS, CIDP, Lepa)
- lysosomale und peroxisomale Neuropathien (z.B. metachromatische Leukodystrophie; Adrenoleukodystrophie)
- Entwicklungsstörungen
- Tumore

Ad B

- toxische Neuropathien
- weitere hereditäre motorisch-sensorische Neuropathien (HMSN I-IV – Charcot-Marie-Tooth 1-4, X)
- metabolische Neuropathien Ataxien (z.B. Friedreichsche Ataxie)

Ad C

- Neuropathien vom neuronalen Typ
- Neuropathien vom rein motorischen Typ
- sekundäre Degenerationen bei Radikulopathien und Plexus-Neuropathien

Morphologische Methodik**A. Muskelbiopsien**

Generell ist zu bemerken, dass für die adäquate Aufarbeitung biopsisch entnommenen Muskelgewebes sowohl unfixiertes, frisches als auch adäquat fixiertes Gewebe notwendig ist. Details zur Herstellung solcher Gewebeproben und deren Transport müssen in Absprache mit einem Speziallabor geschehen.

- **Essenziell**
 - a) Enzymhistochemische und immunhistochemische Verfahren an zuvor tiefgefrorenen unfixierten Muskelgewebeschnitten
 - b) Elektronenmikroskopische Untersuchung am Glutaraldehyd-fixierten und in Epon eingebetteten Gewebe nach Herstellung von Semidünnschnitten bei lichtmikroskopisch unklaren oder nur elektronenmikroskopisch nachweisbaren myopathologischen Prozessen
 - c) Formalin-fixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe zum Nachweis von Amyloid und vaskulitischen Prozessen, Tumoren und anderem
 - d) separates unfixiertes tiefgefrorenes Gewebe für eventuelle biochemische, Immunoblot-Analyse und molekulare Untersuchungen
 - e) separates in Nährmedium asserviertes Muskelgewebe für Myoblastenkultur

B. Nervenbiopsien

- **Essenziell**
 - a) Fixierung in gepuffertem Glutaraldehyd für: Semidünnschnitte (histologische und morphometrische Untersuchungen), Elektronenmikroskopie (krankheitsspezifische ultrastrukturelle Befunde, speziell auch an den primär marklosen Axonen).

● **Fakultativ**

- a) Zupfverfahren („fiber teasing“ nach Glutaraldehyd-Fixation)
- b) immunhistochemische Verfahren: Immun-assoziierte Parameter (z.B. Periaxin-Neuropathie)
- c) Eine adäquate Asservierung von unfixiertem frischem Gewebe für eventuelle nachfolgende biochemische und molekulargenetische Untersuchungen ist empfehlenswert

Eingegangen in dieses Konsensuspapier ist die Leitlinie „Muskel- und Nervenbiopsien bei neuromuskulären Krankheiten“ der Deutschen Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie e.V.

Literatur

1. Anderson JR. Recommendations for the biopsy procedure and assessment of skeletal muscle biopsies. *Virchows Arch* 1997; 431: 227–33.
2. Engel AG, Franzini-Armstrong C. *Myology I + II* New York: McGraw Hill 3rd Edition 2004.
3. Goebel HH, Schmalbruch H, Schröder JM. Die diagnostische Muskelbiopsie. Planung und Durchführung. *Akt Neurol* 1983; 10: 104–5.
4. Goebel HH et al. Muskelbiopsische Diagnostik: Das morphologische Spektrum. *Mta* 1998; 13: 6.
5. Goebel HH et al. Nervenbiopsische Diagnostik. Das morphologische Spektrum. *Mta* 1998; 13: 709.
6. Karpati G. *Pathology and Genetics: Structural and Molecular Basis of Skeletal Muscle Diseases*. Basel: ISN Neuropath Press 2002.
7. Loughlin M. *Muscle Biopsy. A Laboratory Investigation*, Butterworth Heinemann 1993.
8. Pongratz D, Zierz S. *Neuromuskuläre Erkrankungen*. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag 2002.
9. Spuler S, von Moers A. *Muskelkrankheiten. Grundlagen, Diagnostik und Therapie*. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag 2004.
10. Zierz S, Jerusalem F. *Muskelerkrankungen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2003, 3. Auflage.
11. King R. *An Atlas of peripheral nerve pathology*. Abingdon, U.K.: Book Point 1999.
12. Midroni G et al. *Biopsy diagnosis of peripheral neuropathy*. Boston: Butterworth-Heinemann 1995.
13. Ouvrier RA et al. *Peripheral neuropathy in childhood*. London: Mac Keith Press 1999, 2nd Edition.
14. Schröder JM. Recommendations for the examination of peripheral nerve biopsies. *Virchows Arch* 1998; 432: 199–205.
15. Schröder JM. *Pathologie peripherer Nerven*. Berlin: Springer 1999.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. H. H. Goebel
Neuropathologie
Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz