

## NEUROMUSKULÁRNE OCHORENIA A BIOPTICKÉ VYŠETRENIE KOSTROVÉHO SVALU

František Ondriaš, Peter Špalek, Miroslav Orság

Svalová biopsia je procedúra, ktorá vedie k potvrdeniu diagnózy pri určitých typoch neuromuskulárnych ochorení, najmä pri niektorých hereditárnych a získaných myopatiách. Komplexná a precízna diagnostika vyžaduje kompaktnú tímovú spoluprácu neurológa (myológa), chirurga, patológa a v poslednom období aj molekulárneho genetika. Výber vhodného svalu na biopsiu má pre diagnostiku kritický význam. Výrazne postihnuté svaly nemajú byť určené na bioptický odber, lebo sa z nich získavajú nálezy „end-stage“ (konečných štádií) svalových ochorení, ktoré nemajú žiadnu diagnostickú výpovednosť. Vzorky svalového tkaniva sa vyšetrujú histologickými, histochemickými, biochemickými, elektrón-mikroskopickými alebo molekulárno-genetickými technikami. Vo väčšine prípadov sú na určenie patomorfologickej diagnózy postačujúce vyšetrenia zmrazených svalových rezov vo svetelnom mikroskope. Pre bežné histologické vyšetrenie sa používa hematoxylínovo-eozínové farbenie, prípadne farbenie modifikovaným Gomoriho trichrómom. Rôzne histochemické reakcie nám umožňujú získať ďalšie informácie. Napr. PAS farbenie umožňuje identifikovať poruchy metabolizmu s nadmerným ukladaním glykogénu, olejová červeň umožňuje detekovať metabolické poruchy s patologickým ukladaním tukov, farbenie oxidatívnych enzýmov pomáha identifikovať myofibrilárne a mitochondriálne abnormality. Kvalitatívne biochemické enzymatické farbenie sa vykonáva pri dokazovaní deficitu svalovej fosforylázy, fosfofruktokinázy a myoadenylátdeaminázy. Imunohistochemické techniky sa používajú na znázorňovanie určitých proteínov, ktoré sú deficientné pri niektorých svalových dystrofiách (napr. dystrofin pri Duchenneovej a Beckerovej svalovej dystrofii) alebo produktoch, ktoré sú zvýšené pri určitých formách myozitíd (napr. membránový útočný komplex pri dermatomyozitíde alebo amyloid pri myozitíde s inkluzívnymi telieskami). Elektrón-mikroskopické vyšetrenie môže mať diagnostický význam pri niektorých kongenitálnych myopatiách a mitochondriálnych poruchách. Pri viacerých hereditárnych neuromuskulárnych ochoreniach je známy špecifický molekulárne genetický defekt a príslušná génová mutácia môže byť diagnostikovaná z lymfocytov periférnej krvi. Komerčné molekulárne genetické testy sú (v zahraničí) už bežne dostupné a znižujú počet indikácií na svalovú biopsiu.

**Kľúčové slová:** neuromuskulárne ochorenia, svalová biopsia, farbenie a histochemické reakcie, imunohistochemické techniky, elektrónová mikroskopia, molekulárne genetické testy

### NEUROMUSCULAR DISEASES AND BIOPTIC EXAMINATION OF SKELETAL MUSCLE

Muscle biopsy may be an appropriate test to confirm the diagnosis in certain neuromuscular diseases, especially in some hereditary and acquired myopathies. Complex and precise diagnostics requires compact team cooperation involving neurologist (myologist), surgeon, pathologist and recently also molecular geneticist. Selection of appropriate muscle to biopsy is critical. Muscles that are severely weak should not be biopsied because the results are likely to show only evidence of „end-stage“ muscle disease. Muscle biopsy specimens can be studied through histological, histochemical, biochemical, electron microscopic or genetic techniques. In most instances, light microscopic observations of frozen muscle tissue specimens are sufficient to make a pathological diagnosis. For general histology the hematoxylin-eosin stain and modified Gomori trichrom stain are most useful. Other histochemical reactions can be used to gain additional information, e.g. PAS stain can be helpful in identifying glycogen storage diseases, oil red stains may assist with diagnosis of lipid storage disease, amyloid deposition can be assayed with Congo red, oxidative enzyme stains are useful for identifying myofibrillar and mitochondrial abnormalities. Qualitative biochemical enzymes stains can be performed for myophosphorylase, phosphofructokinase and myoadenylate deaminase deficiency. Finally, immunohistochemical techniques can stain for muscle proteins which are deficient in some muscular dystrophies (e.g., dystrophin in Duchenne and Becker dystrophy) or for products that are increased in certain inflammatory myopathies such as membrane attack complex in dermatomyositis or amyloid in inclusion body myositis. Electron microscopy plays a role in diagnosis of some congenital myopathies and mitochondrial disorders. The specific molecular genetic defect is now known for many of hereditary neuromuscular diseases, and mutations can be identified by peripheral blood DNA analysis. Molecular genetic studies are commercially available and they decrease the need for muscle biopsy.

**Key words:** neuromuscular disorders, muscle biopsy, stains and histochemical reactions, immunohistochemical techniques, electron microscopy, molecular genetic studies

Neurológia 2009; 4 (1): 35-39

#### Úvod

Počet neuromuskulárnych ochorení dosahuje v súčasnosti niekoľko stoviek, pričom výskyt jednotlivých ochorení je obvykle vzácny<sup>(1,2,3,4)</sup>. Kvalitná diagnostika neuromuskulárnych ochorení vyžaduje špeciálne teoretické vedomosti,

praktické schopnosti a zručnosti. Detailná analýza klinických a genetických údajov, podrobné klinické neurologicko-myologické vyšetrenie vrátane funkčných svalových testov sú základom pre indikácie ďalších vyšetrení, ku ktorým patria elektrofyziologické metodiky, neuroimunologické,

biochemické a metabolické vyšetrenia, znázorňovacie metodiky, nové metódy molekulárnej biológie a genetiky a svalová biopsia. *Neuromuskulárne ochorenia postihujúce periférny motoneurón alebo nervosvalové spojenie bývajú len zriedka indikáciou svalovej biopsie.* Možno ich diagnostikovať pomocou elektrodiagnostických metód, špecifických neuroimunologických testov alebo molekulárno-biologickými vyšetreniami<sup>(5,6)</sup>.

**Hlavné indikácie svalovej biopsie predstavujú primárne myogénne ochorenia**, pri ktorých morfológická diagnostika signifikantne prispieva k určeniu správnej diagnózy. Najčastejšie ide o pacientov so zápalovými myopatiami (imunogénnymi myozitídami), svalovými dystrofiami, s kongenitálnymi/štrukturálnymi myopatiami a mitochondriálnymi poruchami<sup>(1,2,3,4,7,8,9,10,11,12)</sup>. Treba však poznamenať, že viaceré hereditárne myopatie sú v súčasnosti definitívne diagnostikovateľné metodikami molekulárnej genetiky, preto sa svalová biopsia u týchto pacientov už neindikuje<sup>(1,4,10)</sup>.

Biopická diagnostika svalu prekonala v posledných dvoch desaťročiach zásadné kvalitatívne zmeny. Pôvodne jednoduché základné hematoxylinovo-eozínové vyšetrenie biologických vzoriek sa v priebehu rýchleho vývoja zmenilo na širokú škálu variabilných technologických postupov a analytických možností.

Cieľom tejto práce je:

1. Poukázať na všetky aspekty, ktoré musia byť splnené, aby mohla byť biopická svalová diagnostika kvalitná a precízna
2. Oboznámiť neurologickú verejnosť so základnými biopickými laboratórnymi postupmi a so základnými princípmi biopickej mikroskopickej diagnostiky svalových ochorení

#### Základné podmienky biopického vyšetrenia kostrového svalu

Pri definovaní podmienok, ktoré treba dodržať na kvalitné spracovanie svalových preparátov a na úspešnú diagnostiku kostrového svalu, je nevyhnutné vychádzať z dvoch významných aspektov:

1. Komplexná a precízna diagnostika neuromuskulárnych ochorení vyžaduje mimoriadne úzku interdisciplinárnu spoluprácu, ktorá musí zahŕňať kooperáciu špecializovaného neurológa/klinického myológa, chirurga, patológa a v poslednom období aj molekulárneho genetika
2. Druhým významným faktorom je variabilná škála štrukturálnych morfológických zmien, ktoré môže morfológ v dodanom svalovom tkanive mikroskopicky analyzovať. Preto je pochopiteľné, že na detailnú diagnostiku svalových ochorení nestačia bežne používané morfológické diagnostické metódy

#### Význam klinickej a laboratórnej neurologickej diagnostiky

Nevyhnutným predpokladom úspešnej biopickkej diagnostiky svalových ochorení je kvalitná a precízna práca neurológa, ktorý je nezastupiteľný v 3 smeroch:

1. Špecializovaný neurológ, resp. klinický myológ, musí po zhodnotení všetkých anamnestických údajov, klinic-

kého nálezu a výsledkov všetkých diagnostických vyšetrení (biochemické parametre – CK, myoglobín, pokojo- vý a pozáťažový laktát, TSH atď.; EMG; autoprotilátky; molekulárno-genetické vyšetrenia a iné) podať patológovi *komplexnú písomnú informáciu s konkrétnym diagnostickým záverom a diferenciálno-diagnostickou úvahou.* V iných medicínskych odboroch, pri iných typoch biopických vyšetrení sa stáva, že na biopické vyšetrenie sa dodá materiál často s minimálnou, resp. takmer žiadnou, sprievodnou informáciou. Táto prax je pri svalovej biopsii neakceptovateľná. Neurológ musí konkretizovať diagnostický záver aj preto, lebo pri rôznych svalových ochoreniach sa používajú rozdielne histochemické reakcie a ich výber závisí práve od záveru neurológa.

2. *Správny výber vhodného svalu pre biopsiu má kritický význam pre kvalitnú diagnostiku.*

V myopatológii je nevyhnutné, a oveľa viac ako v iných medicínskych odboroch, aby odber svalu na diagnostické biopické vyšetrenie indikoval skúsený špecialista. Klinický myológ (neurológ) *určuje výber svalu a miesto odberu* podľa najvyššej pravdepodobnosti výskytu diagnosticky signifikantných myopatologických zmien.

Ak sa zvolí sval, ktorý je výrazne postihnutý patologickým procesom, obvykle sa zistia len prejavy konečného štádia svalového ochorenia (napr. väzivová, tuková prestavba svalu) a nálezy nemajú žiadnu diagnostickú výpovednosť. Mnohé myopatie majú určitú a rozdielnu predilekčnú distribúciu postihnutia jednotlivých svalov, čo musí klinický myológ dobre ovládať a zohľadňovať. V opačnom prípade nesprávny výber svalu s minimálnou, resp. žiadnou, aktivitou patologického procesu, môže viesť k falošne negatívnej biopickkej diagnostike. Ďalej sa biopsie nesmú indikovať zo svalov, ktoré boli vyšetrené ihlovou EMG, pre možnosť výskytu histopatologických artefaktov po vpichoch ihlou.

Na horných končatinách sa svalová biopsia najčastejšie realizuje z m. biceps brachii alebo m. deltoideus, na dolných končatinách z m. vastus lateralis alebo m. rectus femoris<sup>(1,3,4,7,8,9)</sup>. Nevhodným svalom je m. gastrocnemius, lebo jeho šlachová inzercia sa šíri celým svalom, čo môže spôsobovať interpretačné problémy. Príležitostne môžu pri výbere svalu na biopsiu pomôcť znázorňovacie techniky (CT a najmä MR), napr. pri fokálnych, ale aj generalizovaných formách myozitíd<sup>(1,4,8,9,11,12)</sup>.

3. *Výsledky svalovej biopsie musí neurológ interpretovať so zohľadnením klinickej symptomatológie a vývojových charakteristík ochorenia, výsledkov elektrofyziológických štúdií a celého radu laboratórných vyšetrení a až po podrobnej analýze môže stanoviť diagnostický záver.* Napr. je potrebné uvedomiť si, že patologické zmeny vo svaloch môžu byť fokálne, disperzné a nemusia sa pri svalovej biopsii zachytiť. Normálny biopický nález sa relatívne často zisťuje u pacientov s rôznymi formami myozitíd, hoci majú zreteľnú klinickú symptomatológiu, jednoznačné EMG a ďalšie laboratórne prejavy primárneho svalového ochorenia<sup>(3,4,9,11,12)</sup>.

### Odber svalu na bioptické vyšetrenie

Neurológ určuje výber svalu a miesto odberu pre svalovú biopsiu. Od skúseného chirurga sa očakáva splnenie iného významného aspektu pri svalovej biopsii – **získanie diagnosticky reprezentatívnej vzorky svalu**. Táto zdanlivo jednoduchá požiadavka môže významnou mierou ovplyvňovať diagnostické možnosti patológa. Chirurg pri dodržaní topografie odberu musí zhodnotiť stav svalu, ktorý resekuje, a snažiť sa odobrať objemovo dostatočnú vzorku bez nadbytočného objemu tukového alebo fibrózneho tkaniva. Ďalšou dôležitou podmienkou je čo najmenšia mechanická traumatizácia odobratého svalového tkaniva. Z uvedeného vyplýva, že chirurg, podobne ako ostatní spomínaní špecialisti, môže významnou mierou ovplyvniť (v oboch smeroch) precíznosť konečnej diagnózy.

*Otvorená biopsia* je najčastejším spôsobom odberu svalu, používame ju aj v našom centre.

Zriedkavo sa používa *punkčná biopsia (polootvorená biopsia)*, ktorej výhodou je menšia invazívnosť, ale nevýhodou menší objem získaného svalového tkaniva na ďalšie spracovanie<sup>(1,2,3,7,8)</sup>.

### Základné bioptické laboratórne postupy

Vzorka kostrového svalu sa spracováva dvomi rôznymi technológiami – technikou parafínových a technikou zmrazených rezov<sup>(1,3,7,8)</sup>:

- 1. Štandardné spracovanie odobratého svalu v parafínových rezoch** si okrem snahy udržať tkanivo v nezdeformovanom stave nevyžaduje splnenie žiadnych iných mimoriadnych požiadaviek. Parafínové bloky sú určené na zhotovenie základných, t.j. prehľadných hematoxylinovo-eozínových rezov v oboch priestorových rovinách. Parafínový rez umožňuje vykonať aj širokú škálu tzv. špeciálnych farbiacich metodík.
- 2. Odber svalu na spracovanie technikou zmrazených rezov** je podstatne zložitejší. Základnou nevyhnutnou podmienkou je čo najrýchlejšie hlboké zmrazenie svalového snopca pomocou suchého ľadu, ktorý chladí fixačnú tekutinu. Predtým je nutné vytvoriť fragmenty orientované v pozdĺžnom i priečnom smere. Rýchlosť a kvalita primárneho spracovania kostrového svalu priamo ovplyvňuje následný vzhľad vzorky (napr. výskyt mrazových artefaktov), ale aj precíznosť enzymatických

reakcií. Táto úvodná fáza spracovania svalového materiálu vyžaduje precíznu časovú koordináciu a tiež odbornú a manuálnu zručnosť bioptickej laborantky. V zmrazovacom mikrotóme sa spracováva vzorka svalu pre histochemické a enzymatické analýzy.

V súčasnosti sú už bežne dostupné imunohistochemické metodiky, ktoré významne rozšírili možnosti myopatologickej diagnostiky. Tento typ reakcií vykonávame na oboch typoch svalových vzoriek. Napr. v zmrazených rezoch stanovujeme prítomnosť dystrofínovej reakcie na povrchu svalového vlákna a na parafínových rezoch možno vykonať všetky bežne dostupné imunohistochemické reakcie.

### Základné princípy bioptickej diagnostiky svalu

Neuromuskulárne ochorenia majú v oblasti bioptickej diagnostiky svoje typické špecifiká. Pri ochoreniach iných orgánov, resp. iných tkanív, býva výrazne prevažujúca časť diagnózy definovaná už zo základného hematoxylinovo-eozínového farbenia. Pri neuromuskulárnych ochoreniach je systém práce značne odlišný. V bežnej rutinej diagnostike sa nevyhnutne využíva široká škála laboratórných farbiacich metodík, tak na zmrazených, ako aj na parafínových rezoch. V snahe priblížiť komplexnosť diagnostiky uvádzame ich základný prehľad:

#### A. Hematoxylinovo-eozínové farbenie na parafínových rezoch

Ide o prehľadné farbenie, ktoré poskytuje všeobecný histologický pohľad na štrukturálne zmeny vyskytujúce sa v hodnotenom svalovom vlákne<sup>(1,3,4,7,8)</sup>. Umožňuje sledovať veľkosť a tvar vlákien a ak je to nutné, tak aj použiť štatistické metodiky na kvantitatívne hodnotenie priemernej veľkosti svalových vlákien. Okrem kvantitatívnych architektonických svalových zmien umožňuje aj kvalitatívne hodnotenie výskytu regresívnych, zápalových, ale aj reparačných zmien vo svalovom tkanive. Umožňuje tiež posúdiť stav perimýzia, prípadne aj výskyt iných patologických zmien, napr. zmnoženie väziva a tuku.

#### B. Základné histochemické metodiky na parafínových rezoch

Viacere histochemické reakcie umožňujú získať dodatočné histologicko-diagnostické informácie (**tabuľka 1**). Slúžia na detekciu niektorých bunkových organel a ďalších štruktúr a na identifikáciu metabolitov uložených vo svalových vláknach<sup>(1,2,3,4,6,7,8)</sup>. Modifikovaný Gomoriho trichróm, ktorý patrí aj k prehľadným farbeniam, umožňuje znázorniť určité diagnosticky cenné štruktúry – napr. tzv. ragged red fibers (mitochondriálne poruchy), inkluzívne telieska pri tzv. inclusion body myositis alebo myofibrily obsahujúce „central cores“<sup>(2,11,13)</sup>. PAS (periodic acid-Schiff) farbenie je diagnosticky dôležité pre dôkaz depozít glykogénu vo svalových vláknach. Farbenie olejovou červeňou je významné pri dokazovaní uskladňovania lipidov vo svalových vláknach. Depozitá amyloidu sa znázorňujú pri farbení červeňou kongo alebo kryštalickou violeťou. Použiť sa môžu aj farbenia na dôkaz prítomnosti pigmentov.

**Tabuľka 1.** Svalová biopsia – farbenie, histochemické reakcie a ich klinické využitie

Histochemické reakcie a farbenia	Klinické využitie
Hematoxylin a eozín	Všeobecná histológia
Gomoriho trichróm	Všeobecná histológia a mitochondriálne och
Adenozín-trifosfatáza	Distribúcia typov svalových vlákien
NADH, SDH, cytochróm oxidáza	Myofibrilárne a mitochondriálne abnormality
Periodic acid – Schiff (PAS)	Ochorenia hromadením glykogénu
Olejová červeň	Ochorenia s hromadením lipidov
Kongo červeň, kryštalická violet	Ochorenia s depozitami amyloidu
Svalová fosforyláza	McArdleho choroba
Fosfofruktokináza	Taruhiho choroba (deficit fosfofruktokinázy)
Myoadenylát deamináza	Deficit myoadenylát deaminázy
Dystrofin – imunohistochemická reakcia	Duchennova a Beckerova svalová dystrofia
Dysferlin – imunohistochemická reakcia	Pletencová svalová dystrofia 2B
Membránový útočný komplex – IHC reakcia	Dermatomyozitída

### C. Základné enzymatické vyšetrenia na zmrazených rezoch

1. V rutinej praxi sa enzymatické reakcie používajú na diferencovanie typov svalových vlákien (I a II). Ako základ pre typovú klasifikáciu svalových vlákien slúži myofibrilárna (myozínová) kalciumdependntná adenozíntrifosfatáza v troch variabilných pH verziách<sup>(3,7,8)</sup>. Reakcie na imunohistochemickú detekciu oxidatívnych enzýmov – dehydrogenáz (najčastejšie NADH-tetrazoliumreduktáza alebo sukcinátdehydrogenéza) tiež umožňujú typovú diferenciáciu svalových vlákien I a II. Dehydrogenázy bývajú nápomocné aj pri identifikácii myofibrilárnych a mitochondriálnych zmien<sup>(1,7,13)</sup>.
2. Kvalitatívne biochemické enzymatické farbenia sa uplatňujú aj v detekcii enzymatických porúch (**tabuľka 2**) – napr. pri dôkaze deficitu myofosforylázy u pacientov s Mc Ardleho chorobou (glykogenóza V), pri dôkaze deficitu fosfofruktokinázy u pacientov s Taruiho chorobou (glykogenéza VII) a pri dôkaze deficitu myoadenylát deaminázy<sup>(1,2,4,8)</sup>.

### D. Imunohistochemická analýza v kostrovom svalu

Imunohistochemická (IHC) analýza v kostrovom svalu pokrýva dve samostatné diagnostické oblasti<sup>(4,7,10,14,15)</sup>:

1. V prvom rade je excelentnou metodikou na dôkaz prítomnosti, resp. deficitu, dystrofinu, dôležitého proteínu cytoskeletu svalového vlákna. Objav génu pre dystrofin na Xp21 a jeho proteínového produktu znamenal prelom v diagnostike svalových dystrofií. Mutácie v dystrofinovom géne sú základom dystrofinopatií, patria sem Duchennova a Beckerova svalová dystrofia. Počet identifikovaných membránových proteínov označovaných ako dystrofin-glykoproteínový komplex (DGC) je značný. Patria sem napr. alfa-2-laminin (merosin), alfa- a beta-dystroglykán, calpain a alfa-, beta-, gama- a delta-sarcoglykány. Uvedené a ďalšie svalové dystrofie možno diagnostikovať imunohistochemickou analýzou uvedených proteínov DGC, ale aj proteínov (napr. emerín, desmin), ktoré nepatria k DGC<sup>(1,4,14,15,16)</sup>.

**Tabuľka 2.** Svalové ochorenia diagnostikovateľné komerčnými molekulárne genetickými metodikami (dôkazom príslušnej gémovej mutácie v lymfocytoch periférnej krvi)

Kongenitálne svalové dystrofie
Duchennova a Beckerova svalová dystrofia (dystrofin)
Facioskapulohumerálna svalová dystrofia
Kearns Sayre syndróm/chronická progresívna externá oftalmoplégia
Pletencové svalové dystrofie:
- 1B (Lamin A/C), 1C (Caveolin), 2A (CAPN 3)
- 2B (Dysferlin), 2C-F (Sarcoglykan), 2I (Fukutin-related protein)
MELAS – mitochondriálna myopatia, encefalopatia, laktátová acidóza a stroke
Myotubulárna myopatia
MERRF – myoklonická epilepsia a ragged red fibers (mitochondriálna encefalomyopatia)
Myotonická dystrofia – typ 1 a 2
Kongenitálna myotónia
Nemalínová myopatia
Myopatia Nonaka/myopatia s inkluzívnymi telieskami typ 2
Okulofaryngeálna svalová dystrofia

2. Zvyšná škála IHC reakcií je veľmi široká. IHC techniky sa používajú na dôkaz určitých produktov, ktoré sú zvýšené pri určitých zápalových myopatiách, resp. imunogénnych myozitidách, napr. u pacientov s dermatomyozitídou proti membránovému útočnému komplexu<sup>(1,2,11,12,14)</sup>. U pacientov s polymyozitídou je dôležité testovanie reaktivity na MHC I. triedy. Na našom pracovisku bežne využívame pri myozitidách typizáciu T-helperov a markerov CD4, CD8 na dôkaz prítomnosti zápalových bunkových elementov. U pacientov s podozrením na inclusion body myositis využívame imunohistochemicky protilátku proti amyloidu.

### E. Elektrón-mikroskopické vyšetrenia kostrového svalu

Vo významných diagnostických centrách patrí elektrón-mikroskopické (EM) vyšetrenie svalových vzoriek k metódam druhého sledu a len zriedkavo je potrebné na potvrdenie diagnostického záveru. EM vyšetrenie umožňuje hodnotenie ultraštruktúrnych komponentov svalových vlákien a môže mať diagnostický význam pri niektorých kongenitálnych myopatiách a mitochondriálnych poruchách<sup>(4,7,13,16)</sup>. EM vyšetrenie môže byť indikované na základe histochemického nálezu, ktorý signalizuje zmeny v oblasti myofibril (myo-ATPáza), lysozómov (kyslá fosfatáza), mitochondrií (NADH-TR), lipidov (olejová červeň) a glykogénu (PAS).

### F. Molekulárne genetické diagnostické metodiky

Ich zavedenie znamenalo veľký pokrok pre genetiky viazané neuromuskulárne ochorenia. V súčasnosti je pri mnohých hereditárnych neuromuskulárnych ochoreniach známy špecifický molekulárno-genetický defekt a príslušnú génovú mutáciu možno identifikovať z lymfocytov periférnej krvi pacientov<sup>(1,4,7,8,16,17)</sup>. V zahraničí sú komerčné molekulárne genetické testy už bežne dostupné a znižujú počet indikácií pre svalovú biopsiu (**tabuľka 2**). Testy sú veľmi dôležité aj pri určovaní prenášateľnosti a v prenatalnej diagnostike.

### Záver

Z predložených informácií zreteľne vyplýva komplikovanosť a nevyhnutná komplexnosť využitia mnohých diagnostických postupov v histomorfologickej diagnostike svalových ochorení. Výsledok, oveľa viac ako v iných oblastiach morfolologickej diagnostiky, závisí od kvality práce úzko špecializovaného laboratória. Precízna diagnostika je výrazne závislá od odbornej úrovne jednotlivých členov multidisciplinárneho tímu (špecializovaný neurológ, plastický chirurg, patológ, molekulárny genetik) a od kvality ich osobných kontaktov. Veľmi dôležitá je profesionálna skúsenosť patológa. Nielen jeho všeobecná a špeciálna teoretická odborná úroveň, ale najmä dostatočný prísun materiálu sú základnými podmienkami diagnostickej kvality. Splnenie týchto komplexných požiadaviek možno dosiahnuť len centralizáciou vyšetrení v špecializovaných referenčných centrách pre neuromuskulárne ochorenia. Včasné stanovenie správnej diagnózy je veľmi dôležité,

lebo počet liečiteľných a vyliečiteľných neuromuskulárnych ochorení sa stále zvyšuje. Správna diagnóza je potrebná aj na určenie prognózy a pre genetické poradenstvo.

**Adresa pre korešpondenciu:**

doc. MUDr. František Ondriaš, CSc.  
 Diagnostické centrum Ružinov, Alpha medical patológia  
 Neurologická klinika SZU, FNsP Bratislava–Ružinov  
 Ružinovská 6, 826 06 Bratislava  
 e-mail: fondrias@hotmail.com

**Literatúra**

1. Amato AA, Darras BT, Greenberg SA, et al. Muscle diseases. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2006: 261 s.
2. Karpati G, et al. Structural and molecular basis of skeletal muscle diseases. Basel; ISN Neuropath Press 2002: 311 s.
3. Karpati G, Hilton-Jones D, Griggs RC. Disorders of voluntary muscles. Cambridge; University Press 2001: 790 s.
4. Jackson CE. A clinical approach to muscle diseases. Sem Neurol 2008; 28: 228-240.
5. Lerner AJ. Diagnostic criteria in neurology. Totowa, New Jersey; Humana Press Inc 2006: 227 s.
6. Bertorini T. Neuromuscular case studies. Philadelphia; Butterworth-Heinemann, Elsevier 2008; 646 s.
7. Lukáš Z. Svalová biopsie. V: Bednařík J, et al. Nemoci kosterního svalstva. Praha: Triton 2001: 58-78.
8. Dubowitz V, Sewry CA. Muscle biopsy: a practical approach. Amsterdam; Elsevier Health Sciences 2007: 626 s.
9. Špalek P, Ondriaš F, Cibulčík F, et al. Idiopatické dyzímúne myozitídy–diagnostické kritéria. Ces Slov Neurol N 2008; 71/104 (5): 626-627.
10. Cardamone M, Darras BT, Ryan MM. Inherited myopathies and muscular dystrophies. Sem Neurol 2008; 28: 250-259.
11. Špalek P. Myozitída s inkluzívnymi telieskami–patogenéza, klinický obraz, diagnostické kritéria a liečba. Neurológia 2008; 3: 75-81.
12. Špalek P. Zánětlivé myopatie–patogeneze, diagnostika a léčba. Postgrad Med 2008; 10: 952-962.
13. Taylor RW, Schaefer AM, Barron MJ, et al. The diagnosis of mitochondrial muscle disease. Neuromusc Dis 2004; 14: 237-245.
14. Vogel H, Zamecnik J. Diagnostic immunohistology of muscle diseases. J Neuropathol Exp Neurol 2005; 64: 181-193.
15. Klinge L, Dekomien G, Aboumoussa A, et al. Sarcoglycanopathies: can muscle immunoenalysis predict the genotype? Neuromusc Dis 2008; 18: 934-941.
16. Goebel HH, Fardeau M, Olivé M, et al. 156<sup>th</sup> ENMC International Workshop. Desmin and protein aggregate myopathies, 9-11 November 2007, Naarden, The Netherlands. Neuromusc Dis 2008; 18: 583-592.
17. Baethmann M, Straub V, Reuser AJJ. Pompe disease. Bremen: Uni-Med 2008: 104 s.