

Muskelbiopsien mit der Biopsiestanze : Entnahmetechnik, Versand und Beurteilungsfähigkeit

Autor(en): **Bley, T. / Bilzer, T. / Neumann, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **143 (2001)**

Heft 8

PDF erstellt am: **26.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592419>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Muskelbiopsien mit der Biopsiestanze – Entnahmetechnik, Versand und Beurteilungsfähigkeit

T. Bley¹, T. Bilzer², J. Neumann², A. Jaggy¹

¹ Abteilung für Neurologie, Departement für klinische Veterinärmedizin der Universität Bern

² Neuropathologisches Institut der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland

Zusammenfassung

In der Diagnostik von neuromuskulären Erkrankungen ist die Gewinnung der Muskelbiopsie und ihre histopathologische Begutachtung die sensitivste der speziellen Untersuchungen. Trotzdem wird sie in der Privatpraxis eher selten genutzt. Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten, eine Skelettmuskelprobe zu gewinnen. Die Technik mit Hilfe der Biopsiestanze hat sich in vielen Punkten als vorteilhaft erwiesen. Das wenig invasive und rasche Prozedere verspricht eine Probenmenge, die im Labor gut histologisch zu verarbeiten und zu beurteilen ist. Dieser Artikel geht auf die praktische Vorgehensweise ein und soll dazu anregen, diese spezielle Untersuchung häufiger zu wählen und sicher durchzuführen. Besonders bei Serienbiopsien zur Untersuchung ganzer Würfe auf eventuelle Erbschäden sollten die Vorteile der Stanze deutlich werden.

Schlüsselwörter: Muskelbiopsietechniken – Biopsiestanze – Histopathologie – Probengrösse – Artefakte

Striated muscle punch biopsy technique – dispatch and judgement ability

Histopathological striated muscle examination is one of the most important and sensitive tests in diagnosis of muscle and/or nerve diseases. Although muscle biopsy is a relatively easy procedure, it is not frequently performed in small animal practice conditions. Different biopsy techniques have been described in veterinary literature. Punch biopsy of striated muscle appears to be a less invasive and quicker method in comparison with traditional surgical excision technique. Additionally, punch biopsy provide good quality and adequate amount of muscle tissue for diagnostic histopathological evaluation. The aim of this study is to describe striated muscle punch biopsy technique and to encourage use of it under the conditions of small animal practice. The described biopsy method can be specially advantageous in screening of inherited muscle diseases in affected litters or even wider animal population.

Key words: muscle biopsy techniques – biopsy punch – histopathology – sample size – artefacts

Einleitung

Es gibt beim Hund eine Fülle an muskulären Erkrankungen unterschiedlicher Genese, die sich häufig mit ähnlichem Krankheitsbild präsentieren. Sie können entzündlich (Polymyositis, eosinophile Myositis, Toxoplasmose, Neosporose, Clostridiose) degenerativ (vererbt, metabolisch, endokrin, vaskulär, nutritiv) oder neurogen sein. Therapie und Prognose sind von Erkrankung zu Erkrankung sehr verschieden. Daher ist es notwendig, nach klinisch-neurologischer Untersuchung, durch zusätzliche spezielle Untersuchungen die Diagnose abzusichern.

Eine wichtige Technik, die in Verbindung mit anderen diagnostischen Hilfsmitteln wie Blutuntersuchung oder Elektrodiagnostik genutzt wird, ist die Muskelbiopsie. Die chirurgische Probenentnahme von Skelettmuskelgewebe und der Versand an ein Labor, das die histologische und histochemische Aufarbeitung und Begutachtung der Proben übernimmt, ist inzwischen ein häufig beschrittener Diagnoseweg und gut etabliert.

Wir beschreiben eine Biopsietechnik mit Hilfe des «biopsy punch» (Biopsiestanze) als Alternative zu den bereits bekannten und allgemein akzeptierten Techniken und diskutieren Vor- und Nachteile.

Etablierte Techniken der Skelettmuskelbiopsie

Die am häufigsten gewählte invasivchirurgische Methode, eine Muskelprobe zu gewinnen, ist ausführlich beschrieben (Bojrab, 1990; Wheeler, 1995). Es handelt sich hierbei um die sogenannte «offene Biopsie». Benötigt wird eine Grundausrüstung an chirurgischem Besteck; die Prozedur lässt sich wie folgt kurz zusammenfassen:

Die für den chirurgischen Eingriff vorbereitete äussere Haut wird mit dem Skalpell auf einer Länge von ca. 4 cm eröffnet. Corium und Subcutis werden eingeschnitten und die Muskelfaszie wird durch Abpräparieren des Unterhautfettgewebes sichtbar. Das Muskelgewebe wird nach Durchtrennen der Faszie auf einer Länge von 3 cm freipräpariert, und Haltefäden werden im Abstand von 1–2 cm in den Muskel gesetzt. Sie dienen zur vorsichtigen Manipulation am Biopsiestück, das als Zylinder von 1 cm Durchmesser in Faserlängsrichtung herauspräpariert werden soll. Nach der Biopsienahme empfiehlt sich eine Faszien-Unterhautnaht. Zum Schliessen der äusseren Haut werden 4–5 Einzelhäfte benötigt.

Eine andere, seltener praktizierte Methode ist die perkutane Nadelbiopsie, bei der eine modifizierte 11- (Reynolds et al., 1995) bzw. 14-gauge Nadel (Magistris et al., 1998) Verwendung findet. Die Muskelprobengewinnung unter Lokalanästhesie mit subkutaner Lidocain 2% – und Epinephrin-Injektion ist bekannt (Reynolds et al., 1995). Die äussere Haut und die Muskelfaszie werden auf ca. 0,5 cm mit dem Skalpell eingeschnitten und die Biopsienadel soweit in das Muskelgewebe eingestochen, dass das seitliche schneidende «Fenster» der Nadel in einer Tiefe von 0,5–0,75 cm in der gewählten Muskulatur positioniert ist. Durch erzeugten Unterdruck wird Muskelgewebe seitlich in das Lumen angesaugt, und das Aspirat wird durch ein nach vorne gestossenes Stilet vom übrigen Gewebe abgetrennt.

Nach der Rotation der Nadel um 90° wird diese Prozedur wiederholt. Man erhält so zwei Proben mit einem jeweiligen Gewicht von ca. 24 mg.

Biopsie mit Hilfe des «punch»

Das wesentliche Element des steril verpackten, zum einmaligen Gebrauch bestimmten, «punch» ist sein schneidender metallener Hohlzylinder, der sich am Ende eines Plastikstiftes befindet.

Wir haben «biopsy punches» mit 0,8 cm Durchmesser, die für Hautbiopsien genutzt werden, zur Gewinnung von Muskelgewebeproben am Oberschenkel mittelgrosser Hunde verwendet und die

gute histopathologische Beurteilungsfähigkeit belegen können. Auf die Durchführung soll im Folgenden ausführlicher eingegangen werden:

Der Eingriff wird in Kurzzeitvollnarkose durchgeführt. Die Anästhesie kann mit Diazepam (0,05–1 mg/kg IV) eingeleitet und mit Propofol (3–7 mg/kg IV) aufrecht erhalten werden. Die äussere Haut wird mit Rasur, Waschen und Desinfektion vorbereitet. Die rasierte Fläche muss nicht mehr als 5×5 cm betragen, denn die longitudinal geführte Inzision mit dem Skalpell durch die Hautschichten wird mit ca. 1,5 cm klein ausfallen. Nach dem Hautschnitt werden kleine Blutungen durch kurze Kompression mit Gaze-Tupfern gestillt, dann wird bis zur Muskelfaszie freipräpariert und diese dem Skalpell eingeschnitten (etwa 1 cm). Durch zur Seite hin geführte Züge der Faszienränder mit Arterienklemmen wird der direkte Zugang zur Muskulatur offengehalten (Abb. 1). Der biopsy punch

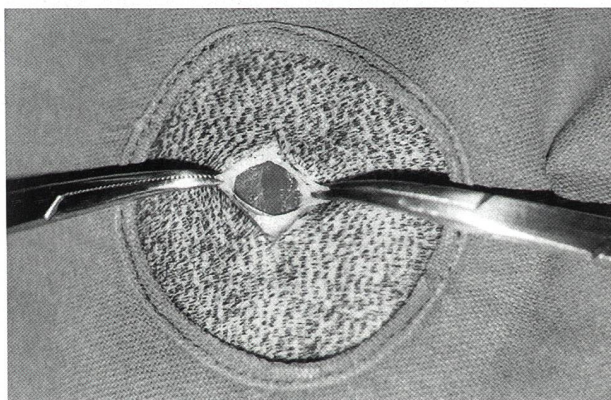


Abbildung 1: Direkter Zugang zur Muskulatur durch seitwärts gerichteten Zug der Faszienränder mit Arterienklemmen.

wird zwischen Daumen, Zeige- und Mittelfinger einer Hand mit dem schneidenden Hohlzylinder nach unten gehalten und senkrecht zum Muskelbauch aufgesetzt. Mit einer fließenden Drehbewegung in nur eine Richtung um ungefähr 360° wird die metallene Schneide unter entsprechendem Druck um 0,8 cm in das Gewebe vorgestossen bis der weisse Plastikschafte gerade Muskelkontakt hat (Abb. 2). Die zirkulär ausgeschnittene Probe muss

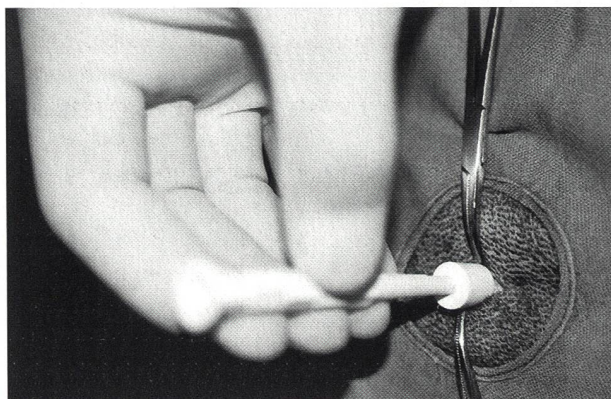


Abbildung 2: Der biopsy punch wird mit fließender Drehbewegung in das Gewebe vorgestossen.

danach nahe der Basis von der übrigen Muskulatur schneidend abgetrennt werden. Um zu verhindern, dass der kleine Gewebezylinder nach Entfernen des punches vorerst im Blut und dem ihn noch einschliessenden Gewebe verloren geht und blutstillende Massnahmen diesen negativ beeinflussen, wird er sofort nach Abheben der Stanze mit Hilfe der Pinzette an seinem äusseren Ende gehalten und unter leichtem Zug vorgelagert. Mit dem Skalpell wird die Biopsieprobe vollständig vom übrigen Gewebe getrennt. Ihr ungefähres Gewicht beträgt 160 mg, die Grösse ungefähr 1 auf 0,5 cm (Abb. 3).

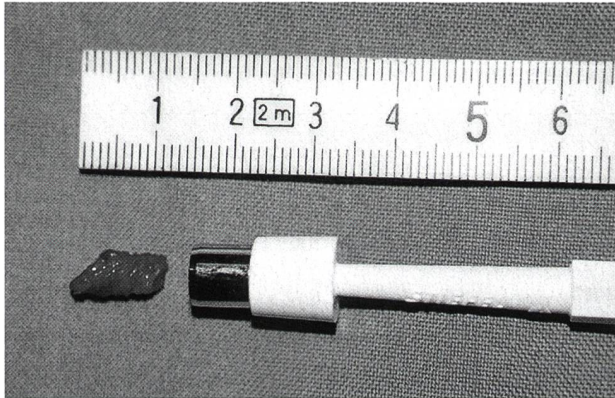


Abbildung 3: Biopsy punch und Muskelbiopsiat im Grössenvergleich.

Nach einer Faszien-Unterhautnaht wird die äussere Haut mit bis zu drei Einzelheften von resorbierbarem Faden (z.B. Vicryl 2-0 metric) geschlossen.

Aufbereiten und Versand des Probenmaterials

Generell sollte die Muskelprobe nativ verschickt werden (Bilzer, 2001). Um das Eintrocknen der Probe zu verhindern, sollte das Gewebestück sofort in ein luftdicht verschlossenes steriles Plastikbehältnis von höchstens Reagenzglas-Grösse verbracht und verschickt werden. Die Probe wird weder befeuchtet noch aufgespannt oder anderweitig manipuliert. Der Versand per Express-Service innerhalb von 24 Stunden ist bei nicht fixiertem Material zwingend, da rasch einsetzende autolytische Vorgänge und Gewebeeintrocknung zu Artefakten führen. Eine Transporttemperatur von 4 °C wäre ideal. Gerade bei schwül-warmen Wetterverhältnissen ist die Verpackung im Styroporbehältnis und Beigabe von Kühlaggregaten erforderlich. Allerdings kann es durch tiefgefrorene Akkus zu unkontrolliertem Einfrieren der Muskelprobe während des Transportes kommen, was wiederum zu Einfrierartefakten führt.

Die Untersuchung von formalinfixiertem, paraf-

fineingebettetem Muskel ist nicht *lege artis*, da die für die diagnostischen unumgänglichen histochemischen Verfahren nicht durchgeführt werden können. Nativ eingegangenes Material wird im histopathologischen Labor auf ein Trägermedium (z.B. Tragant) gebettet, in Isopentan bei -135 °C eingefroren und bei -70 °C gelagert. Anschliessend werden für histochemische und immunhistochemische Untersuchungen Kryostatschnitte hergestellt (Bilzer, 2001).

Histopathologische Beurteilungsfähigkeit

Im mikroskopischen Bild sollen die Muskelfasern nebeneinander liegend im Quer- und Längsschnitt zu erkennen sein. Es ist wichtig, dass ein repräsentativ grosses Spektrum an miteinander vergleichbaren Fasern dargestellt wird. Durch Fixation (s.o.), unkontrolliertes Frieren oder Autolyse entstehen Artefakte, welche die Beurteilbarkeit der Muskelprobe einschränken oder unmöglich machen. Schon durch Entnahmefehler können Quetschartefakte entstehen. So hat das Durchtrennen des Gewebes mit einer scharfen Klinge kaum Auswirkung auf die angrenzenden Zellen, eine Schere hingegen quetscht. Starker Zug oder Kompression können die Beurteilbarkeit von Zellen und Bindegewebe beeinträchtigen. Daher sollte die Probe mit grosser Sorgfalt gehandhabt werden.

Die beschriebene Stanzbiopsie erweist sich als gut beurteilbare Muskelgewebeprobe. Sie ist für die histologische Aufarbeitung mit Anfertigung des erforderlichen Schnittquantums genügend gross und gut beurteilbar. Die Stanze trifft die Faserzellen immer quer, der Neuropathologe sollte über die Technik informiert werden.

Diskussion

Auf der Suche nach einer wenig invasiven Muskelbiopsiemethode haben wir die Biopsiestanze mit 0,8 cm an der Oberschenkelmuskulatur von Hunden unterschiedlicher Rassen verwendet. Unser Ziel war, über ein klein ausrasiertes Hautfeld und eine minimale Hautinzision eine beurteilbare Muskelgewebeprobe zu gewinnen. Diese Vorgehensweise bietet viele Vorteile. Zum einen ist die Arbeitszeit und somit die Narkosezeit verkürzt; der eigentliche Eingriff dauert etwa 5 Minuten, es werden gegenüber anderen Methoden Handgriffe eingespart und die Wundnaht fällt kleiner aus. Eine kleine chirurgische Wunde bedeutet gute Adaptation der Wundränder und reduziertes Risiko von Heilungsstörungen wie Serom oder Infektion mit

eventueller Narbenbildung. Dies birgt nicht zuletzt, wie auch die reduzierte Rasur an der Eingriffstelle, kosmetische Vorteile, z.B. bei Schauhunden oder «sensiblen» Patientenbesitzern. Eine präventiv antibiotische Versorgung ist grundsätzlich nicht nötig; nur selten wird die Wunde im Heilungsverlauf durch Be lecken beeinträchtigt. Nie haben wir schmerzbedingte Lahmheiten bei den betroffenen Hunden beobachtet. Bei Verwendung von resorbierbarem Faden benötigt dieser diagnostische Eingriff keine Nachbehandlung.

Der Histopathologe muss für seine Arbeit über den Muskelfaserverlauf im Bilde sein. Bei der herkömmlichen chirurgischen Methode ist die Orientierung gut möglich, letzte Klarheit bringt die kurze schriftliche Beschreibung der gewählten Technik und des eingesandten Muskeltyps. Das Gewebe kann entsprechend der Schnittführung auf den Träger gelagert werden. Bei der mit der Stanze gewonnenen Probe ist es möglich, Kryostatschnitte vom profund im Gewebe positionierten Zylinderende anzufertigen, und damit in der Tiefe des Muskelbauches gelegenes Gewebe zu begutachten.

Bei der Biopsie sollte allerdings nicht mit stumpfem Schneidwerkzeug gearbeitet werden, da Zerreissungsartefakte entstehen und das Ergebnis verfälschen können. Bei einer Nadelbiopsie entstehen fast immer Probleme mit dem Umfang der Probe und der Anfälligkeit auf Artefakte, da durch das Arbeiten mit dem Stilet Quetschungen entstehen und die Gefahr der Austrocknung erhöht ist. Häufig wird auch das Muskelmaterial, wenn Umlage-

rungen auf dem Träger oder Neufärbungen erforderlich sind, nicht ausreichen. Darüber hinaus sind die gesetzten Muskelgewebsläsionen bei der Nadelbiopsie am tiefsten. Das Schneidfenster der Nadel sollte bis 0,75 cm tief eingestochen werden, doch beträgt der Abstand zwischen dem Fenster und der Spitze bei einer 14 – gauge Nadel weitere 0,7 cm. Somit beträgt die Einstichtiefe in den Muskel 1,45 cm. Die Eindringtiefe einer Stanze beträgt dagegen etwas mehr als die Hälfte. Generell ist eine Lokalanästhesie nicht empfehlenswert, da intramuskuläre Injektionen das histologische Bild durch mit Druck injizierte Anästhetika und durch mit der Injektionsnadel gesetzte Traumata verfälschen können.

Die hier beschriebene Technik mit dem biopsy punch ist eine einfache, das Tier schonende, Zeit sparende und sehr effiziente Alternative zu den geläufigen Vorgehensweisen. Der Einsatz des Stanzwerkzeuges ist aus der klinischen Dermatologie nicht fremd, daher sollte eine routinemässige Umstellung auf diese Methode leicht fallen. Soll gleichzeitig ein peripherer Nerv biopsiert werden, muss allerdings der Zugang erweitert werden, um zu gewährleisten, dass Nervengewebe und nicht etwa Fett- oder Bindegewebe entnommen wird.

Vorteile der beschriebenen Methode sind besonders bei Serienbiopsien zu erwarten, mit denen ganze Würfe oder gar Zuchten auf mögliche erbliche Schädigungen des neuromuskulären Systems zu testen sind.

Biopsia del muscolo con la punzonatrice da biopsia – Tecnica di prelievo, spedizione e qualità dell'analisi

La biopsia del muscolo con successiva analisi istopatologica è l'esame più preciso per la diagnosi di malattie neuromuscolari. Malgrado ciò viene utilizzata raramente nell'ambulatorio privato. Esistono vari metodi per prelevare una biopsia del muscolo striato. La tecnica con la punzonatrice ha molti vantaggi. La procedura è veloce e poco invasiva e la quantità del campione prelevato è sufficiente per una buona analisi istologica in laboratorio. L'articolo presente tratta del procedimento pratico di questo metodo ed è un invito a scegliere e ad eseguire in maniera sicura questa analisi. I vantaggi della punzonatrice dovrebbero diventare evidenti soprattutto per l'esecuzione in serie di biopsie per l'esame di danni genetici in intere figliate.

Biopsies du muscle au moyen d'un poinçon – Technique de prélèvement, envoi et qualité de l'examen

Pour le diagnostic des maladies neuromusculaires, la biopsie musculaire et son évaluation histopathologique est l'examen le plus sensible. Pourtant cette technique est peu utilisée en pratique. Il y a plusieurs possibilités de prélever un échantillon de muscle squelettique. La technique à l'aide du poinçon s'est avérée avantageuse sur plusieurs points. La procédure peu invasive et rapide permet de prélever un échantillon qui est facile à analyser au laboratoire. Cet article décrit les aspects pratiques et devrait inciter à effectuer cet examen spécifique plus souvent. Les avantages de l'instrument devraient être mis en évidence, surtout lors de séries de biopsies pour examiner des portées pour d'éventuels dommages génétiques.

Literatur

Bilzer T.: Biopsiediagnostik von Muskelkrankheiten des Hundes. Prakt. Tierarzt. 2001, in press

Bojrab M.J.: Technique of skeletal muscle biopsy. In: Current Techniques in Small Animal Surgery. Hrsg. Williams & Wilkins, Baltimore 1998, 4th ed.: 91–94

Magistris M.R., Kohler A., Pizzolato G., Morris M.A. et al.: Needle Muscle Biopsy in the Investigation of Neuromuscular diseases. Muscle Nerve 1998, 2: 194–200

Reynolds A.J., Fuhrer L., Valentine B.A.: New approach to percutaneous muscle biopsy in dogs. Am. J. Vet. Res. 1995, 56: 982–985

Wheeler S.J.: Manual of Small Animal Neurology. Brit. Small Anim. Vet. Assoc. 1995.

Korrespondenzadresse:

Tim Bley, Dr. med. vet.

Departement für klinische Veterinärmedizin, Abteilung für Neurologie, Universität Bern

Bremgartenstrasse 109a, CH-3012 Bern

bley@mails.ch, Fax: +41/ (0)31- 631 25 38

Manuskripteingang: 13. Oktober 2000.

In vorliegender Form angenommen: 5. November 2000

Ihre Praxis – ein Ort der Begegnung?

Nicht nur Ihre Kunden und Patienten wollen in Ihrer Praxis ein gutes Gefühl haben, auch Sie und Ihre Mitarbeiter profitieren von einer zeitgemässen Arbeitsumgebung.

Fragen Sie einen Spezialisten. Fragen Sie uns.

innenarchitektur design planung

ide

rusch gmbh

martin rusch nägeliskehr 9108 gonten www.ideplanrusch.ch info@ideplanrusch.ch

KB*

*FORMULAR AUTOMATISCH AUSGEDRUCKT

**DIANA
VETERA**
ZÜRICH FRANKFURT LINDAU

SEMIR AG Veterinärinformatik
Gutstrasse 3, 8055 Zürich
T 01 4505454, F 01 4505445
www.diana.ch, office@diana.ch