

**Die Neuropathologie der frühen  
Progressiven Multifokalen  
Leukoenzephalopathie**

**Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Jungjohann, Simone, geb. Salewski  
aus Herne**

**Gießen 2008**

**Aus dem Institut für Neuropathologie  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. K. Kuchelmeister**

**Gutachter: Prof. Dr. Kuchelmeister**

**Gutachter: Prof. Dr. Stolz**

**Tag der Disputation: 22.10.2008**

<b><u>Inhaltsangabe</u></b>	<b><u>Seite</u></b>
1. Einleitung	4-9
2. Fragestellung	10
3. Material und Methode	10-12
3.1. Konventionelle histologische Färbungen	10
3.2. Verfahrensbeschreibung der Immunhistologie	10-11
3.3. Verfahrensbeschreibung der In-situ-Hybridisierung	11-12
4. Falldarstellung A	12-16
4.1. Klinische Befunde	13
4.2. Allgemeinsektion	13-14
4.3. Neuropathologische Sektion	14-16
5. Falldarstellung B	16-20
5.1. Klinische Befunde	16-17
5.2. Allgemeinsektion	17-18
5.3. Neuropathologische Sektion	18-20
6. Diskussion	20-31
7. Zusammenfassung	32-36
8. Literaturverzeichnis	37-49
9. Abbildungen	50-75
10. Anhang	76-78

## 1. Einleitung

Die progressive multifokale Leukoenzephalopathie (PML) wurde erstmals 1958 als eigenständige Erkrankung des zentralen Nervensystems von Aström, Mancall und Richardson beschrieben. Die Autoren untersuchten drei Autopsiefälle einer ungewöhnlichen zerebralen Entmarkungskrankheit, wobei ein Patient an Morbus Hodgkin und zwei Patienten an einer chronisch lymphatischen Leukämie litten. Sie schilderten die neurologischen Symptome der Patienten und beschrieben die neuropathologischen Veränderungen dieser Erkrankung, deren Ätiologie vorerst noch ungeklärt blieb [Aström et al., 1958]. Nur ein Jahr später äußerten Cavanagh und seine Mitarbeiter erstmals den Verdacht auf eine virale Genese dieser Erkrankung [Cavanagh et al., 1959]. Diese Vermutung wurde 1962 durch Waksman und Adams in einer Studie über 21 Fälle von infektiösen Leukoenzephalitiden wiederholt [Waksman und Adams, 1962]. Der Nachweis der viralen Genese wurde 1965 von zwei Arbeitsgruppen erbracht, die elektronenmikroskopisch im Hirngewebe eines PML-Patienten intranukleäre Einschlüsse in Oligodendrozyten als Virusmaterial der Papova-Virusgruppe identifizieren konnten [Zu Rhein und Chou, 1965; Silverman und Rubinstein, 1965]. Der Name "Papova" leitet sich aus der ursprünglichen Unterteilung in **P**apillom- und **P**olyomaviren und das "**v**acuolating agent"(SV40) ab [Cole, 1996]. 1971 gelang es Padgett et al., das Virus aus dem Hirngewebe eines an PML verstorbenen Patienten zu isolieren und auf Zellkulturen aus humanen fetalen Gliazellen zu kultivieren. Das Virus wurde nach den Initialen dieses Patienten als JC-Virus benannt [Padgett et al., 1971]. Die Papovaviren sind 45-55 nm große, ikosaedrische, unbehüllte Viren mit einem doppelsträngigem DNA-Genom [Bienz, 1989]. Das Genom der Polyomaviren ist in eine "frühe" und eine "späte" Region unterteilt. Die frühe Region wird früh, nachdem das Virus in die Zelle eintritt transkribiert und enkodiert die viralen Regulatorproteine. Die späte Region des Genoms wird erst nach der viralen DNA-Replikation transkribiert und enkodiert die Kapsidproteine. Das Kapsid des JCV besteht aus drei viralen Kapsidproteinen (VP1,VP2 und VP3) [Kim et al., 2001]. Das JC-Virusgenom enthält annähernd 5000 Basenpaare mit einem einfachen

genomischen Aufbau [Cole, 1996]. Das JC-Virus gehört wie das BK-Virus zu den humanen Polyomaviren. Diese Viren haben eine große Verbreitung in der Erwachsenenbevölkerung [Walker und Padgett, 1983]. Serumuntersuchungen haben gezeigt, dass bereits 10% der Fünfjährigen und 69%-90% der Erwachsenenbevölkerung IgG- Antikörper gegen JCV aufweisen; die meisten Menschen erwerben das JC- Virus vor dem fünfzehnten Lebensjahr [Dalsgaard Hansen et al., 1996]. Bis heute konnte keine genaue klinische Symptomatik in Zusammenhang mit der Initialinfektion des JC-Virus gebracht werden. Der Nachweis von JCV-Genom in Tonsillengewebe unterstützt jedoch die Vermutung, dass der initiale Viruseintritt über die Tonsillen stattfindet. Es wäre somit denkbar, dass die Primärinfektion eine weitgehend symptomlose Infektion der oberen Luftwege oder des Oropharyngealtraktes darstellt [Berger, 1999]. Die PML gehört zu den "Slow-Virus-Infektionen" des ZNS, welche nach langer Inkubationszeit progredient bis zum Tode fortschreiten. Eine "Slow-Virus-Infektion" ist eine persistierende Infektion, bei der der Körper das Virus über einen sehr langen Zeitraum beherbergt und die Infektion latent, inapparent oder manifest verlaufen kann [Falke, 1999]. Die PML ist eine demyelinisierende Erkrankung des ZNS, die das Marklager des Großhirns bevorzugt, aber auch das Kleinhirn und den Hirnstamm befallen kann [Kuchelmeister et al., 1993a; Xin Dang und I.J. Koralnik, 2006]. Es finden sich oft multifokale, punktförmige, disseminierte Entmarkungsherde, die zur Konfluenz neigen und am häufigsten an der Rinden-Markgrenze lokalisiert sind. Meist sind beide Gehirnhemisphären symmetrisch betroffen, wobei eine Seite praktisch immer stärker befallen ist. Am häufigsten sind die Parietal-, Frontal- und Okzipitallappen betroffen, aber auch jede andere Hirnregion kann befallen sein [Thurnher et al., 1997]. Insbesondere bei AIDS-assoziierten PML-Fällen können die Entmarkungsherde zu sehr ausgedehnten Läsionen konfluieren, die auch einen ausgesprochen nekrotisierenden Charakter zeigen und somit an Hirninfarkte erinnern können [Kuchelmeister et al., 1993b]. Aström, Mancall und Richardson beschrieben 1958 die Demyelinisierungsherde als diffuse, weiche, grau diskolorierte Läsionen der weißen Substanz. Es handelte sich um disseminierte perivaskuläre

Destruktionsfoci der Myelinscheiden mit spärlichen Achsenzylindern. Die kleinsten noch erkennbaren Läsionen bestanden aus perivaskulären Ansammlungen pleomorpher mikrogliöser Zellen ohne eine definierbare Veränderung des Myelins. In den größeren Foci fanden sie zusätzlich voll entwickelte Phagozyten in vermehrter Anzahl und hypertrophe, proliferierte Astrozyten. Die Peripherie größerer Läsionen war charakterisiert durch eine dichte zelluläre Wand aus pleomorphen mikrogliösen Zellen, proliferierten Astrozyten und Zellen mit runden basophilen Zellkernen. Diese Zellen lagen auffälligerweise zwischen den aufgereihten, normalen interfascikulären Oligodendrozyten im Randbereich einiger Läsionen. Aström et al. (1958) nahmen daher an, dass es sich bei diesen Zellen um veränderte Oligodendrozyten handelt. Diese Annahme wurde in weiteren Studien bestätigt [Cavanagh et al., 1959; Waksman und Adams, 1962]. Spätere mikroskopische Untersuchungen dieser Demyelinisierungsherde zeigen im Zentrum neben dem Verlust der Markscheiden auch einen Oligodendrozytenverlust und eine Vermehrung von vergrößerten, z.T. pleomorphen, bizarr geformten und an Tumorzellen erinnernde Astrozyten. In der Peripherie dieser Foci finden sich transformierte Oligodendrozyten mit vergrößertem Zellkern und intranukleären, zum Teil amphophilen oder eosinophilen JC-Virus-Einschlusskörperchen [Kuchelmeister et al., 1993; von Einsiedel et al., 1993; Brooks und Walker, 1984; Dorries et al., 1979; Silverman und Rubinstein, 1965; ZuRhein und Chou, 1965]. Nachdem es über einen bisher noch weitgehend unbekanntem Übertragungsweg zur Primärinfektion gekommen ist, persistiert das Virus offenbar im Körper und wird erst unter immunsuppressiven Bedingungen produktiv. Die Seroprävalenz des JC-Virus in der Normalbevölkerung liegt bei bis zu 90% [Walker und Padgett, 1983]. Die gesunde Bevölkerung weist zumeist IgG-Antikörper gegen das JC-Virus auf. Bei PML-Patienten spricht der häufig vorliegende Mangel von IgM-Antikörpern gegen das JC-Virus für eine Reaktivierung einer latenten Infektion, da eine Neuinfektion mit JCV zunächst die Bildung von IgM-Antikörpern nach sich ziehen würde [Major et al., 1992]. Bei der PML handelt es sich um eine sogenannte opportunistische Infektionskrankheit, da sich nur

bei einer verschwindend kleinen Anzahl von PML-Patienten keine Grunderkrankung, die das Immunsystem schwächt, nachweisen lässt [Berger und Major, 1999]. Als immunsupprimierende Grundkrankheit bei Patienten mit PML kam nach einer ersten großen Fallübersicht von Brooks und Walker (1984) den lymphoproliferativen Erkrankungen (62.2% d. Fälle) die absolut größte Bedeutung zu, gefolgt von Immundefizienz bei Organtransplantationen, rheumatologischen Erkrankungen und Kollagenosen (16,1% der Fälle), granulomatösen und inflammatorischen Erkrankungen (7,4% der Fälle), myeloproliferativen Erkrankungen (6,5% der Fälle) und Karzinomerkrankungen (2.2% der Fälle). Aksamit unterscheidet bei den nicht AIDS-assoziierten PML-Fällen zwischen zwei Grunderkrankungsgruppen, der lymphoretikulären Malignität (55% der Fälle) und den Organtransplantationen (7% der Fälle) [Aksamit, 2006]. Seit Mitte der 80-ziger Jahre stehen aber die Fälle von AIDS-assoziiertes PML zahlenmäßig ganz im Vordergrund [Kuchelmeister et al., 1993b]. Gehörte die PML früher zu den seltenen Erkrankungen, so ist sie durch das Auftreten der AIDS-Pandemie immer häufiger geworden. Vor der AIDS-Ära sind, nach der Übersicht von Brooks und Walker, in den Jahren 1958 - 1983 insgesamt 230 Fälle von PML in der Literatur beschrieben worden. Wenn man nun heute von einer PML-Erkrankungsrate von 0,8% - 4,0% bei AIDS-Patienten ausgeht und diese Zahlen auf die 300 000 AIDS-Fälle, die bis 1995 in den Vereinigten Staaten registriert waren, bezieht, ergeben sich allein in den USA bis 1995 ca. 6000 PML-Erkrankungen im Rahmen von AIDS, also fast dreißig mal so viele Fälle wie in den 25 Jahren vor der AIDS-Epidemie [Aksamit, 1995]. Diese Zahlen machen deutlich, warum der PML in den letzten Jahren ein immer größer werdendes Interesse entgegengebracht wird. Die Aktualität des Themas zeigen auch die neuesten Studienergebnisse über die medikamentöse Therapie der Multiplen Sklerose mit Natalizumab (Tysabri®), welche in einigen Fällen bei den behandelten Patienten zur Reaktivierung des Virus und zur PML-Erkrankung geführt hat [Koralnik, 2006; Stüve et al., 2007; Khalili et al., 2007]. Auch in der Behandlung von Lymphomen mit dem monoklonalem Antikörper Rituximab konnte in einzelnen neuropathologischen Autopsiebefunden die Entwicklung

einer PML beobachtet und veröffentlicht werden [Freim Wahl et al., 2007].

Die Vielfältigkeit der klinischen Symptome der PML erklärt sich durch die multifokale Lokalisation der Demyelinisierungsherde im ZNS. Nach der Übersicht von Brooks und Walker im Jahre 1984 wies die Mehrzahl der untersuchten Patienten mentale, visuelle und motorische Defizite auf. Die Patienten können eine Demenz, Sensibilitätsstörungen, Ataxie, Sehstörungen, Inkontinenz, motorische Störungen bis hin zur Paraparese und Koma zeigen [von Einsiedel et al., 1993]. Oftmals beginnt die neurologische Symptomatik schleichend oder subakut.

In der Therapie der AIDS-assoziierten PML hat sich in Einzelfällen die HAART (highly active antiretroviral therapy) in Kombination mit Proteaseinhibitoren bewähren können [Sala et al., 2001; Geschwind et al., 2001; Antinori et al. 2001]. HAART ist die Bezeichnung für eine Kombinationstherapie mit drei bis vier antiviralen Medikamenten aus folgenden Wirkstoffklassen: nukleosidanaloge Reverse-Transkriptase-Hemmer, nicht nukleosidanaloge Reverse-Transkriptase-Hemmer und Proteasehemmer [Manji und Miller, 2000]. Albrecht und seine Mitarbeiter (1998) fanden in ihren Untersuchungen heraus, dass an PML erkrankte AIDS-Patienten einen signifikanten Nutzen aus der HAART zogen. Die Patienten wiesen längere Überlebenszeiten auf und zeigten eine Verbesserung ihrer Symptome bzw. eine ungewöhnlich verlangsamte Progression ihrer Symptome [Clifford et al., 1999]. Die alleinige Therapie mit Nucleosidanalogen zeigte in ihren Untersuchungen nicht den gewünschten Erfolg [Albrecht et al., 1998]. Das erste Nucleosidanalogue, das zur Behandlung der PML eingesetzt wurde, war Cytarabin (cytosine arabinoside). Es zeigte eine Unterdrückung der JCV-Replikation in Zellkulturen, doch die mit Cytarabin behandelten, meist HIV-positiven Patienten zogen weder einen Benefiz noch eine verbesserte Prognose aus der Therapie [Weber und Major, 1997; Tubridy et al., 2000; Happe et al., 2000]. In einer Studie von Aksamit zeigte sich jedoch bei der intravenösen Gabe von Cytarabin eine 36%ige Chance für HIV-negative PML-Patienten, eine Stabilisierung für ein Jahr zu entwickeln [Aksamit, 2001]. Eine Behandlung mit Interferon zeigte Erfolge in der Leukopenieverbesserung und Viruselimination [Arbusow et al., 2000].

Besonders geeignet scheint die subkutane Gabe von Alpha-Interferon zu sein, da dies in einer Studie im Jahr 2000 von Manji und Miller zur signifikanten Verlängerung der mittleren Überlebenszeit in der so behandelten Patientengruppe führte. Nath et al. (2006) beschreiben die immunmodulativen und antiviralen Effekte des  $\beta$ -Interferon, die eine Rolle spielen können in der Verlaufsmodulation einer JC-Virusinfektion. Auch wenn die Effekte des  $\beta$ -Interferon noch nicht ausreichend studiert sind, glauben die Autoren, dass durch die Möglichkeit multiple antivirale Wirtsgene zu stimulieren und die retrovirale Replikation zu regulieren, die Behandlung mit  $\beta$ -Interferon vor allem für PML-Patienten mit HIV-Infektion einen potentiellen Nutzen haben könnte [Nath et al., 2006]. Eine neue Strategie zur Inhibition der JCV-Replikation basiert auf dem Einsatz von Topoisomeraseinhibitoren wie Topotecan und Camoptectin. Sie zeigten in vitro eine erfolgreiche Unterdrückung der viralen DNA-Replikation und sollen auch bei der AIDS-assoziierten PML wirksam sein [Weber und Major, 1997]. Atwood konnte in seinen Untersuchungen zeigen, dass das Neuroleptikum Chlorpromazin den endozytotischen Zugangsweg des JC-Virus in die Gliazellen inhibieren kann. Er konnte demonstrieren, dass nicht-toxische Dosen von Chlorpromazin in der Gewebekultur die JCV-Multiplikation und Ausbreitung effektiv hemmen [Atwood, 2001]. Auch durchgeführte Therapieversuche mit dem zusätzlich zur HAART verabreichten Wirkstoff Cidofovir schienen einen positiven Effekt auf die Überlebenszeit der behandelten AIDS-Patienten mit PML zu haben [Gasnault et al., 2001; De Luca et al., 2001]. Ein guter Immunstatus stellt jedoch den wesentlichen Faktor für die Überlebensdauer der Patienten dar, da eine spezifische Therapie der PML bis heute nicht existiert [Happe et al., 2000; Kraemer et al., 2008]. Doch führte die PML im Durchschnitt bei unbehandelten Patienten nach ca. zwei bis sechs Monaten zum Tode [Sweeney et al., 1993], so konnte durch die Möglichkeiten der HAART eine deutlich verlängerte mittlere Überlebenszeit von über 46 Wochen bei HIV-positiven PML-Patienten erreicht werden [Clifford et al., 1999]. Trotz der verbesserten Therapiemöglichkeiten endet die PML nahezu immer letal. Dies ist der Grund dafür, dass es sich bei den bisherigen neuropathologischen Autopsiestudien

zur PML fast immer um Gehirne von Patienten handelt, die an der PML selbst verstorben sind und somit morphologisch das Endstadium dieser Krankheit zeigen. Neuropathologische Obduktionsbefunde über Frühstadien der PML sind deshalb sehr selten und die zwei hier berichteten Fälle stellen äußerst ungewöhnliche Beobachtungen dar, die einige interessante Fragen aufwerfen.

## **2. Fragestellungen:**

Wie kann der Erregernachweis in PML-Autopsiegewebe geführt werden ?

Welche morphologischen Besonderheiten finden sich im dargestellten Fall der frühen PML hinsichtlich der beteiligten Zellen ?

Wie lässt sich das Schädigungsmuster beschreiben ?

Welche Schlussfolgerungen lassen sich bezüglich der Pathogenese der PML daraus ableiten?

## **3. Material und Methode**

### **3.1. Konventionelle histologische Färbungen**

Von dem formalinfixiertem Autopsiematerial der beiden Gehirne wurden zahlreiche Paraffinblöcke angefertigt und Schnitte angelegt. Die Paraffinschnitte wurden dann nach Standardverfahren mit Hämatoxylin-Eosin und der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera angefärbt.

### **3.2. Verfahrensbeschreibung der Immunhistologie**

Mit der Immunhistochemie können spezifische Zellproteine sichtbar gemacht werden. Einzelne Zellen lassen sich so bestimmten Zellpopulationen zuordnen und ihre Verteilung innerhalb der Zelle kann sichtbar gemacht werden. Der immunhistochemische Nachweis spezifischer Zellbestandteile dient somit dazu, Zellen und Gewebeelemente im Schnittpräparat (Paraffinschnitt) zu identifizieren. Bei diesem Verfahren werden Antigene mit einem spezifischen meist monoklonalen Primärantikörper markiert. Es wurde nach Standardprotokollen die Immunhistologie mit dem Streptavidin-Biotin-

Verfahren durchgeführt. Als Chromogen der Immunreaktion diente der braune Farbstoff Diaminobenzidin (DAB). Das immunhistologisch gefärbte Präparat wurde danach mit dem Farbstoff Hämatoxylin-Eosin und der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera gegengefärbt. Das saure Gliafaserprotein, „glial fibrillary acidic protein“ (GFAP) wird als gliales Intermediärfilament vorwiegend in Zellen astrozytären Ursprungs exprimiert. Der Marker CD 68 markiert Monozyten, Makrophagen und Mikroglia. Lymphozyten können mit Hilfe des „leukocyte common antigen“ (CD45) markiert werden [Mennel und Solcher, 1988; Herbst und Hübner, 1998-2003]. Des Weiteren wurden in den beschriebenen Fällen der B-Zell-Marker CD20 und der T-Zell-Marker CD3 eingesetzt.

In dem hier dargestellten Fall B wurde für den immunhistologischen Nachweis des JC-Virus der PML-Antikörper PAb 2003 verwendet. PAb 2003 hat sich in einer vergleichenden Studie mit der In-situ-Hybridisierung und der Polymerase-chain-reaction als verlässlicher immunhistochemischer Marker für die „frühen“ Proteine des JCV-Infektionszyklus erwiesen [Muñoz-Mármol et al., 2004].

### **3.3. ISH- Verfahrensbeschreibung**

Die Labordiagnostik zum direkten Erregernachweis in unserem beschriebenen Fall A führten wir in Zusammenarbeit mit dem Institut für Neuropathologie der Universität Münster (damaliger Direktor Prof. Dr. F. Gullotta) mittels der In-situ-Hybridisierung durch.

Bei der Hybridisierung wird ein bekannter Nukleinsäureabschnitt durch molekulare Hybridisierung mit einer basenkomplementären Nukleinsäuresonde nachgewiesen. Unter Hybridisierung versteht man die Bildung eines doppelsträngigen Nukleinsäuremoleküls zweier gegenläufiger einzelsträngiger Nukleinsäuremoleküle (DNS-DNS oder DNS-RNS). Das Prinzip der Nukleinsäurehybridisierung macht sich die Basenpaarregel zunutze, wonach ein Adenin mit einem Thymin bzw. ein Guanin mit einem Cytosin in Wechselwirkung tritt. Bei den Nukleinsäuresonden handelt es sich entweder um klonierte Genfragmente oder um kurze, synthetisch hergestellte

Einzelstrang-DNS-Moleküle (Oligonukleotide). Dieses Oligonukleotid wird mit einem detektierbaren Marker versehen, z.B. radioaktiv- oder fluoreszenzmarkierte Nukleotide. Im dargestellten Fall wurde mit biotinylierten JC-Virus-Sonden gearbeitet, wobei das Oligonukleotid an das Biotin gekoppelt wird. Die virale Nukleinsäure wird in Einzelstränge denaturiert und mit dem synthetischen komplementären und markierten Oligonukleotid versetzt. Die gebildeten Doppelstränge (Hybride) können dann anhand ihrer jeweiligen Markierung mit Hilfe entsprechender Detektoren identifiziert werden. Bei der Anwendung dieses Verfahrens im Gewebeschnitt oder in der Zellkultur können einzelne virusinfizierte Zellen identifiziert werden [Böttger, 1999; Hof et al., 2000].

#### **4. Falldarstellung A**

##### **4.1. Klinische Befunde**

Anamnese: Der 55 Jahre alte männliche Patient litt unter einer chronischen terminalen Niereninsuffizienz, welche eine chronische Dialysebehandlung mittels einer Peritonealdialyse (CAPD = kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse) nötig machte. Weiterhin lagen eine rheumatoide Arthritis, eine chronische arterielle Hypertonie und eine fortgeschrittene allgemeine Atherosklerose vor. Außerdem bestand eine koronare Herzkrankheit und eine periphere arterielle Verschlusskrankheit, die bereits zu einer Vorfußamputation geführt hatte. Wegen rezidivierender Spontan-perforationen im Dünn- und Dickdarmbereich mit einer Peritonitis war eine stationäre Aufnahme des Patienten notwendig geworden. Eine sofortige Antibiotikatherapie ergab kein dauerhaftes Abklingen der Infektionszeichen, und es entwickelte sich ein paralytischer Ileus. Bei der daraufhin eingeleiteten explorativen Laparotomie wurde der CAPD-Katheter entfernt, und es fanden sich disseminierte bis pfennigstückgroße Nekrosen im gesamten Dünndarmbereich. Das terminale Ileum musste wegen einer Perforation entfernt werden und eine Hemikolektomie wurde notwendig. Postoperativ kam es zu keiner Stabilisierung des Patienten und es traten massive Hämatochezien auf, so

dass fünf Tage später eine Second-look-Operation durchgeführt werden musste, die eine persistierende Peritonitis bei Anastomoseninsuffizienz zeigte. Die daraufhin notwendige Nachresektion mit Anastomosenneuanlage und Resektion lokaler Dünndarmnekrosen führte zu keiner Besserung des klinischen Zustandes. Es trat ein zunehmend septisches Krankheitsbild auf, mit Ausbildung von Schocklungen und dem Auftreten eines Leberversagens. Der Patient verstarb 16 Tage nach der stationären Aufnahme unter dem Bild des septischen Kreislaufversagens.

#### **4.2. Allgemeinsektion**

Als Hauptbefunde fanden sich bei dem Patienten die Zeichen der chronischen arteriellen Hypertonie mit einem Herzgewicht von 650 g mit ausgeprägter linksventrikulärer Myokardhypertrophie und Dilatation des linken Herzventrikels. Des weiteren bestand eine hochgradige allgemeine Atherosklerose mit zahlreichen exulzerierten und arteriosklerotischen Plaques in der gesamten Aorta. Im Bereich der Karotisbifurkation fand sich beidseits eine jeweils 70%ige und an den Abgängen der Aa. iliaca eine jeweils 80%ige Stenosierung des Gefäßlumens. Es lag eine mittelgradige Koronararteriosklerose vor, mit einer 70%igen Abgangsstenose des linken Koronararterienhauptstammes. Es fanden sich beidseits Schrumpfnieren mit einem Durchmesser von 5,0 x 3,0 x 1,5 cm und einem Gewicht von jeweils 75 Gramm, die zahlreiche Zysten mit Einblutungen aufwiesen. Es bestand eine rote Granularatrophie der Nierenoberfläche als Folge einer Arterio-Arteriolosklerose, und histologisch zeigte sich eine ausgedehnte Degeneration der Nierenglomerula mit starker Fibrosierung des Nierenparenchyms. Der Darm wies auf seiner gesamten Länge brüchige Wandverhältnisse auf und es bestand eine ulzerierende, floride und chronisch granulierende Ileitis mit eitriger Peritonitis und Pilzbefall. Es fanden sich 1,5 Liter hellrote Flüssigkeit im Bauchraum. Mikroskopisch konnten *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* im Aszites nachgewiesen werden. Es lagen starke Verwachsungen

des Mesenteriums und des großen Netzes vor. Es fanden sich fibrinös-eitrige Beläge auf dem Restdunn- und -dickdarm, sowie auf den parenchymatösen Bauchorganen. Vom Colon transversum bis zum Rektum zeigte sich eine dunkelrot gefärbte Schleimhaut mit disseminierten fibrinös-hämorrhagischen Belägen, als Zeichen der relativen Ischämie des Restkolons ohne nennenswerte Stenosen der präparierbaren Mesenterialgefäße. Es gab keinen Anhalt für eine Anastomoseninsuffizienz im Bereich der Ileoileostomie beziehungsweise Ileotransversostomie. Es lagen allgemein die Zeichen des septischen Schocks vor mit beginnender Demarkation von Nierenrinde und Nierenmark, einer akuten Stauung der Leber und beginnender septischer Auflockerung der Milzstruktur. Es bestand ein interstitielles und intraalveoläres Lungenödem, wobei die linke Lunge 790 Gramm und die rechte Lunge 1020 Gramm wog. Als Nebenbefund wurde eine Cholezystolithiasis mit multiplen schwarzen Pigmentsteinen festgestellt.

### **4.3. Neuropathologischer Sektionsbericht**

#### Makroskopie:

Das Gehirn des Patienten wog formalinfixiert 1360 Gramm. Die Großhirnhemisphären waren symmetrisch und zeigten ein regelrecht angelegtes gyrales Relief. Die Leptomeningen erschienen leicht hauchartig getrübt und die leptomeningealen Gefäße waren blutgefüllt. An der Basalseite zeigten sich als Zeichen eines mäßigen Hirnödems beidseits angedeutete Uncusschnürfurchen und leicht prominente bilaterale Kleinhirntonsillen. Die basalen Hirnarterien verliefen regelrecht, sie waren mittelkalibrig und zeigten mehrere skleroatheromatöse Wandeinlagerungen. Es lag eine allgemeine Anämie des Gehirns vor.

Nach dem Zerlegen des Gehirns in frontale Scheiben, zeigte sich ein mittelständiges, symmetrisches und leicht erweitertes Ventrikelsystem mit angedeutet abgerundeten lateralen Seitenventrikelkanten. Auf einem Schnitt caudal der Commissura anterior und auf einem Schnitt durch die Corpora mamillaria stellten sich jeweils rechts hochfrontal unregelmäßig begrenzte,

zum Teil runde, im Durchmesser etwa 0,2 bis maximal 0,4 cm große, graubraune, kortiko-subkortikale Gewebsverfärbungen dar, die teilweise eine Tendenz zum Konfluieren zeigten (Abb. 1 + 2). Weitere derartige kortiko-subkortikale Herde wurden auch nach Lupenbetrachtung nur noch links parietal, im Bereich der oberen Parietalwindung gefunden, wobei die Herde hier mit einem Durchmesser bis maximal 0,2 cm deutlich kleiner waren (Abb. 3 + 4). Die Stammganglien, die thalamischen Kerngebiete, die Corpora mamillaria und die Hippocampusformationen zeigten makroskopisch keine Auffälligkeiten. Links parieto-occipital stellten sich im Marklager kapilläre Teleangiectasien dar (Abb.3). Das infratentorielle Segment wies makroskopisch keine Auffälligkeiten auf.

#### Mikroskopie:

Mikroskopisch stellten sich die rechts frontalen und links parietalen Läsionen in der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (Abb. 5 + 6) als Demyelinisierungsherde mit Astrozytose und Mikroglia-/Makrophageninfiltraten dar (Abb. 7 + 8). In einigen Herden fanden sich randlich auch ganz vereinzelt zum Teil leicht amphophil oder leicht eosinophil erscheinende Zellen mit runden Kernen, die das Aussehen vergrößerter Oligodendrozyten zeigten (Abb. 9 + 10). In einigen dieser Zellen ließ sich mittels In-situ-Hybridisierung JC-Virus-DNA nachweisen. Auch einzelne nur mikroskopisch sichtbare Entmarkungsherde wurden gefunden, die oft kontralateral zu den makroskopisch sichtbaren Läsionen lokalisiert waren. In diesen Mikroherden ließen sich, trotz bereits stattgefundener Markscheidenrarefizierung, keine Zellen mit der Morphologie von infizierten Oligodendrozyten nachweisen. Daneben fanden sich auch nur mikroskopisch sichtbare Foci mit Vermehrung mikroglöser Zellelemente ohne Entmarkungen, bei denen es sich möglicherweise um ganz frühe PML-Herde handelt. Die Stammganglien, die thalamischen Kerngebiete, die Corpora mamillaria und die Hippocampusformationen wiesen auch mikroskopisch keine Auffälligkeiten auf. In den ektatischen Gefäßen der links parieto-occipital gelegenen

Teleangiektasien stellten sich einzelne hyaline Thromben (sog. Shockbodies) und Leukozytenzylinder dar. Mikroskopisch zeigte sich eine Arteriosklerose mit fibrohyalinen Gefäßwandverdickungen. Entmarkungsherde waren im Bereich des infratentoriellen Segmentes auch mikroskopisch nicht nachzuweisen. Der Nucleus olivaris inferior der Medulla oblongata ließ einzelne eosinophil nekrotische Ganglienzellveränderungen erkennen und im Kleinhirn zeigten die Purkinjezellen eine leichte Rarefizierung mit einzelnen eosinophil homogenisierten Neuronen.

#### Immunhistologie:

In immunhistologischen Untersuchungen zeigte der Makrophagen-/Mikroglia marker CD68 in allen Herden eine deutliche Mikrogliaaktivierung mit zum Teil bereits stattgefundenen Markscheidenrarefizierung (Abb. 11) oder auch ohne erkennbare Entmarkung (Abb. 12). Es wurden zahlreiche, zum Teil perivaskulär lokalisierte, meist stäbchenförmige Zellen markiert. Mit einem Antikörper gegen GFAP stellte sich in allen Läsionen mit (Abb. 13) und ohne Entmarkung (Abb. 14) eine deutliche immunreaktive Gliose mit relativ isomorphen, großleibigen, fortsatzreichen, reaktiven Astrozyten dar. Die charakteristischen, bizarr geformten, neoplastoiden Astrozyten älterer PML-Herde lagen an keiner Stelle vor. In den Läsionen waren auch vereinzelt lymphoide Zellen nachweisbar, die mit einem Antikörper gegen das leukocyte common antigen (CD45) reagierten (Abb. 15). Diese CD45-positiven Zellen ließen sich immunhistologisch mit Markern gegen B- und T-Zellen nicht weiter typisieren. Mittels der In-situ-Hybridisierung (ISH) mit biotinylierten JC-Virus-DNA-Sonden konnten wenige Einzelzellen mit der Morphologie von vergrößerten Oligodendrozyten markiert werden (Abb. 16 + 17). Diese markierten Zellen befanden sich jedoch ausschließlich am Rande größerer, schon makroskopisch sichtbarer Entmarkungsherde.

Die neuropathologische Diagnose lautete: Progressive multifokale Leukoenzephalopathie (mit Nachweis von JC-Virus-DNA in der In-situ-Hybridisierung) im Frühstadium mit makroskopisch sichtbaren kortiko-subkortikalen Entmarkungsherden rechts frontal und links parietal und

einzelnen kortiko-subkortikalen Mikroherden. Kapilläre Teleangiektasie links parieto-occipital. Nachweis von intravasalen hyalinen Thromben. Mäßiggradige Hirnbasisarteriosklerose und geringe Arteriolosklerose. Allgemeine Anämie des Gehirns. Mäßiges Hirnödem.

## **5. Falldarstellung B**

### **5.1. Klinische Befunde**

Anamnese: Bei der notfallmäßigen Aufnahme litt der 63 Jahre alte männliche Patient unter Dyspnoe, Fieber mit Schüttelfrost, Myalgien und zunehmenden Schluckbeschwerden. Es zeigten sich Zeichen einer hämorrhagischen Diathese mit Einblutung in die Halsregion und eine hochgradig eingeschränkte linksventrikuläre Funktion am Herzen. Als Grundleiden des Patienten war ein Morbus Hodgkin bekannt. Die Lymphogranulomatose hatte zuvor eine thorakale Radiatio und eine chemotherapeutische Behandlung notwendig gemacht. Zudem befand sich der Patient im Zustand nach einem Hodentumor links, einer aortokoronaren Bypass-Operation (ACVB) und einem Aortenklappenersatz bei schwerer koronarer Herzkrankheit mit chronisch arteriellem Hypertonus. Der Patient verstarb unter dem Bild des septischen Schocks mit Multiorganversagen bei Verdacht auf eine pneumogene Sepsis.

### **5.2. Allgemeinsektion**

Als pathologische Hauptbefunde fanden sich bei dem Patienten die Zeichen einer chronischen arteriellen Hypertonie mit einer konzentrischen linksventrikulären Myokardhypertrophie, sowie einer Arterio-Arteriolosklerose der Nieren mit feiner Granulierung der Nierenoberfläche, vaskulären Rindennarben beidseits und hyaliner Verödung einiger Glomerula. Es zeigte sich eine höhergradige allgemeine Arteriosklerose mit infrarenal betonter Arteriosklerose der Aorta und ihrer großen Äste mit zahlreichen teils kalzifizierten, teils exulzerierten und arteriosklerotisch belegten Plaques. Es

stellten sich Abgangsstenosen der Arteria renalis beidseits und der Arteria mesenterica superior, sowie eine 50%ige Stenose der linken Arteria iliaca externa und ein Verschluss am Abgang der Arteria mesenterica inferior dar. Außerdem wurde eine höhergradige Koronarsklerose mit Verschluss des Hauptstammes ein Zentimeter nach seinem Abgang und ein langstreckiger Verschluss des Ramus circumflexus, sowie eine mittelgradige Stenose des Ramus interventricularis anterior und eine hochgradige Stenose der rechten Koronararterie sichtbar. Der LIMA-Bypass auf LAD zeigte sich 9 cm nach Abgang mit freiem Durchgang. ACVB auf dem Ramus circumflexus 7,5 cm nach Abgang mit höhergradigen Stenosen. Die Stentimplantation in LAD war 0,5 cm nach Abgang durchlässig. Es wurden flächige Verwachsungen des Perikards und der linken Lunge im Bereich des Mediastinums erkennbar. Es zeigte sich eine transmurale Infarkt Narbe der linken Hinter-, Seiten- und Vorderwand über eine Fläche von 7,5 x 3,3 cm. Zudem ergab sich eine konzentrische Hypertrophie des linken Ventrikels mit einem Herzgewicht von 550 Gramm und einer Wandstärke von 2,2 cm bei einem Körpergewicht von 81 Kilogramm. Der Aortenklappenersatz zeigte suffiziente Nahtverhältnisse im Bereich der Implantation. Es stellte sich eine chronische Lungenstauung mit Sklerose der Pulmonalarterienäste und der Nachweis von Siderophagen ("Herzfehlerzellen") dar. Eine konsekutive Rechtsherzhypertrophie mit Zunahme der Wandstärke (0,8 cm) und des Trabekelwerkes, sowie eine Dilatation des rechten Vorhofs wurde sichtbar. Zudem zeigte sich eine subakute Leberstauung mit Venulosklerose und Maschendrahtfibrose unter dem makroskopischen Aspekt einer "Muskatnussleber". Des Weiteren bestand eine beidseitige Pneumonie. Die Zeichen eines terminalen Kreislaufversagens waren erkennbar.

Nebenbefundlich bestand ein Zustand nach Orchiektomie links und Splenektomie. Eine Narbenfibrose des Mediastinums bei einem Zustand nach thorakaler Radiatio aufgrund eines Hodenteratoms links und eines Morbus Hodgkin wurde sichtbar. Die Todesursache war ein kardio-respiratorisches Kreislaufversagen bei beidseitiger Pneumonie auf dem Boden einer chronischen Herzinsuffizienz.

### 5.3. Neuropathologischer Sektionsbericht

#### Makroskopie:

Das Gehirn wog formalinfixiert 1385 Gramm. Bei der Betrachtung des Gehirns von der Konvexität sah man symmetrische Großhirnhemisphären mit regelrechtem gyralen Relief. Die weichen Hirnhäute erschienen leicht milchig getrübt, die leptomeningealen Gefäße gering blutgestaut. Links parietal parasagittal sah man zwei eröffnete Arachnoidalzysten. Die weiter rostral gelegene maß 1 x 1 cm, während die caudal gelegene Arachnoidalzyste 2 x 1,5 cm maß. Auf der Basalseite waren geringe Hirndruckzeichen erkennbar. Links okzipital sah man eine ca. 3 x 1,5 cm messende filmartige leptomeningeale Blutung. Die basalen Hirnarterien waren zart und durchscheinend.

Nach Zerlegen des Gehirns in frontale Scheiben blickte man auf ein erweitertes Ventrikelsystem mit deutlich abgerundeten lateralen Seitenventrikelkanten. An mehreren Stellen konnte man zum Teil erst in retrospektiver Nachkontrolle multiple sehr kleine, überwiegend kortiko-subkortikale graubraune, zum Teil konfluierende Herde erkennen. Links fronto-lateral, kortiko-subkortikal zeigte sich ein ca. 0,4 x 0,2 cm messender derartiger Herd aus konfluierenden Einzelherden und fronto-basal, kortiko-subkortikal links sah man einen weiteren ca. 0,2 cm messenden Herd. Einen weiteren fand man rechtsseitig im Bereich des Gyrus cinguli. Auf einem Schnitt in Höhe der Corpora mamillaria sah man links hochfrontal, kortiko-subkortikal mehrere konfluierende Herde mit einem Durchmesser von jeweils 0,2 cm, die sich in einem etwa 1,5 cm langen Bereich ausgedehnt haben (Abb. 18). In Bereich der Rindenmarkgrenze links parietal dorsal und bilateral direkt unterhalb des Splenium corporis callosi ließen sich weitere Herde nachweisen. Mehrere kleine konfluierende kortiko-subkortikale Herde fand man auch beidseits okzipito-basal. Daneben zeigten sich beidseits parieto-okzipital großflächige diffuse graue Verfärbungen des Marklagers. Im rechten vorderen Stammganglienbereich kamen weitere Herde zur Darstellung (Abb. 19).

Nach Zerlegen des infratentoriellen Segmentes stellte sich der Hirnstamm makroskopisch unauffällig dar. In lamellierenden Schnitten durch beide

Kleinhirnhemisphären zeigten sich rechts dorsal kleine Gewebsdefekte.

#### Mikroskopie:

Mikroskopisch erwiesen sich die bereits makroskopisch sichtbaren supratentoriellen Herde als unterschiedlich große Entmarkungsherde, die sich mit der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera darstellen ließen (Abb. 20 + 21). Es zeigten sich überdies zahlreiche weitere nur mikroskopisch erkennbare derartige Läsionen. Im Bereich des rechten Hirnschenkels erkannte man einen weiteren kleinen Entmarkungsherd. Die beschriebenen Gewebsdefekte im Kleinhirn stellten sich mikroskopisch als fortgeschrittene organisierte Kleinhirnrindenfarkte dar.

#### Immunhistologie:

In den beschriebenen Herden fanden sich reichlich CD68-positive Mikrogliazellen und Makrophagen (Abb. 22). Es zeigte sich eine Proliferation von zum Teil sehr pleomorphen, GFAP-positiven Astrozyten (Abb. 23). Randlich der Läsionen konnte man immer wieder runde Zellen nach Art von deutlich vergrößerten Oligodendrozyten erkennen (Abb. 24). Mit einem Antikörper gegen das JC-Virus (PAb 2003) ließ sich ein Teil dieser oligodendroglialen Zellen nukleär markieren (Abb. 25 + 26). Außer diesen PML-Herden waren keine weiteren Veränderungen des Großhirns feststellbar. Die neuropathologische Diagnose lautet: Progressive multifokale Leukoenzephalopathie (mit immunhistochemischem Nachweis von JC-Viren) im Frühstadium mit kortiko-subkortikalen Entmarkungsherden links fronto-lateral und fronto-basal, links dorsal und im Stammganglienbereich, sowie einzelnen kortiko-subkortikalen Mikroherden.

## **Diskussion**

Die progressive multifokale Leukoenzephalopathie (PML) ist eine demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems, die infolge einer Infektion von Oligodendrozyten mit dem JC-Virus entsteht [Richardson, 1988; Schneider-Schaulies et al., 1999]. Nach der Primärinfektion persistiert das JCV offenbar im Körper und wird erst unter immunsuppressiven Bedingungen produktiv. Nach Auftreten der ersten klinischen Symptome schreitet die PML innerhalb von durchschnittlich vier Monaten unvermeidlich bis zum Tode fort [Adler et al., 1996; Koralnik, 2004]. Infolge dessen, zeigten die bisherigen neuropathologischen Autopsieuntersuchungen fast ausschließlich das morphologische Endstadium der PML. Die hier beschriebenen Autopsiefälle sind ungewöhnlich, da es sich um Frühstadien der PML handelt. Die Erkrankung konnte nicht weiter fortschreiten, da die Patienten vorher an den Folgen eines septischen bzw. kardiogen Schocks verstarben. Als Grundleiden des zuerst beschriebenen Patienten wurde eine allgemeine Atherosklerose angegeben, die zu einer terminalen Niereninsuffizienz führte. Im Verlauf der erforderlichen Peritonealdialyse entwickelte sich eine Peritonitis, welche zum septischen Schock und zum Tode des Patienten führte.

Die zweite Falldarstellung beschreibt einen Patienten mit Morbus Hodgkin und Hodentertatom, der aufgrund einer beidseitigen Pneumonie auf dem Boden einer chronischen Herzinsuffizienz ein kardio-respiratorisches Kreislaufversagen erleidet. Konkrete Angaben zum Immunstatus mit Lymphozytenanzahl sowie ausführliche klinische, besonders neurologische Befundberichte der Patienten lagen nicht vor. Aufgrund der Anamnese ist jedoch anzunehmen, dass bei beiden hier beschriebenen Patienten eine Schwächung der zellulären Immunabwehr bestanden haben dürfte. Der Morbus Hodgkin ist als immunsupprimierende Grunderkrankung bei PML-Patienten häufig beschrieben worden und gehört als lymphoproliferative Erkrankung nach einer großen Fallübersicht von Brooks und Walker im Jahre 1984, also noch vor der AIDS-Ära, zur größten Gruppe der beschriebenen Grundleiden. Chowdhary et al. publizierten 2007 drei Fälle von nicht HIV-assoziiertes PML bei Patienten mit lymphoproliferativen Grundleiden. In der

Klinik der chronischen Niereninsuffizienz sind immunologische Funktionsstörungen und sekundäre zelluläre Immundefekte häufig beschriebene Symptome. Auch durchgeführte antirheumatische und immunsuppressive Therapien der ebenfalls bekannten Rheumatoiden Arthritis des Patienten, könnten bereits zu T-Zell-Defekten geführt haben. [Lüthy und Siegenthaler, 1988; Rankin und Scaravilli, 1995; Herold, 1996]. In der Literatur konnte in neueren Studien bestätigt werden, dass durch eine Schwächung der zellulären Immunantwort die Reaktivierung des opportunistisch-pathogenen JC-Virus stattfinden und zur Entwicklung der PML führen kann. Die humorale Immunantwort scheint eine untergeordnete Rolle in der Pathogenese der PML zu spielen [Weber et al., 2001; Koralnik et al., 2001]. Die zelluläre Immunsuppression ist über die CD4-Lymphozyten-Anzahl definiert, die Referenzwerte liegen zwischen 500 - 900 Zellen/mcl (mm<sup>3</sup>) [Herold, 1996]. Bei der überwiegenden Mehrzahl der PML-Patienten wurden weniger als 200 Zellen/mm<sup>3</sup> beobachtet [Berger und Major, 1999; Colucci et al., 2004]. In einer Studie von Einsiedel et al. über AIDS- assoziierte PML lag die CD4-Lymphozyten-Anzahl im Mittel bei 84 Zellen/mm<sup>3</sup>. Die PML gilt nach von Einsiedel et al. ausschließlich als eine Erkrankung immunsupprimierter Patienten, wobei Tempo und Progression der PML in Assoziation mit AIDS von der Integrität des Immunsystems und damit von der Lymphozytenanzahl abhängig sind [Von Einsiedel et al., 1993]. Die CD4-T-Lymphozyten spielen eine entscheidende Rolle im Kampf gegen das JC-Virus, weil sie mit ihrer Produktion spezifischer Zytokine in der Lage sind, Makrophagen und CD8-T-Lymphozyten (zytotoxische T-Lymphozyten) zu stimulieren. Die CD8-T-Lymphozyten stellen die eigentlichen Effektoren der zellulären Immunantwort dar. Sie können virale Epitope an den MHC-Klasse-1-Molekülen der Zelloberfläche identifizieren und die virusinfizierte Zelle zerstören. Somit sind die JCV-spezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten bei der Begrenzung der Virusausbreitung maßgeblich beteiligt und können den PML-Verlauf entscheidend beeinflussen [Koralnik, 2004; Du Pasquier et al., 2004]. Nach Happe et al. gibt es bis heute keinen gesichert berichteten Fall von PML ohne eine zugleich bestehende zelluläre Immunschwäche [Happe et al., 2000]. Die

Initialinfektion mit dem JC-Virus könnte eine weitgehend inapparent verlaufende Infektion der oberen Luftwege oder des Oropharyngealtraktes darstellen, da es gelang JC-Virus-Genom in Tonsillengewebe nachzuweisen. Nach der Primärinfektion verbleibt das JC-Virus latent im Retikuloendothelialen System und in den Nieren [Berger und Major, 1999]. Dort ist es im Urin von z.B. gesunden Schwangeren, Patienten mit Zustand nach Nierentransplantation oder auch älteren, klinisch symptomlosen Personen nachweisbar [Sweeney et al., 1993]. Mittels PCR (polymerase chain reaction) konnte das JC-Virus auch in der Milz, den Lymphknoten, der Lunge und den B-Lymphozyten (Memory-Zellen) nachgewiesen werden [Heizmann, 2000; Wei et al., 2000]. In einer weiteren Studie wurden DNA-Sequenzen des JC-Virus in der normalen humanen Kolonmukosa entdeckt [Laghi et al., 1999]. JCV-DNA und Proteine konnten in B-Lymphozyten des Knochenmarks und peripheren Lymphozyten von PML-Patienten und HIV-seropositiven Patienten ohne PML nachgewiesen werden. Die Lymphozyten kommen somit als Träger der hämatogenen Ausbreitung des JC-Virus in das Gehirn in Betracht [Dalsgaard Hansen et al., 1996]. In einer Studie von Azzi et al. zeigen 38,8% - 50% der immunsupprimierten, PML-negativen Patienten JCV-DNA-Sequenzen in peripheren Lymphozyten [Azzi et al., 1996]. Eine sporadische Reaktivierung des JC-Virus konnte in 0,5 - 20% der gesunden seropositiven Individuen nachgewiesen werden [Kahan et al., 1980]. Eine Reaktivierung des Virus könnte dann das Resultat zirkulierender infizierter Lymphozyten sein, welche imstande sind die Blut-Hirn-Schranke zu passieren und die Infektion an die Astrozyten, die an Blutgefäßgrenzen liegen, weitergeben [Berger und Major, 1999]. Wei et al. unterstützen die Hypothese, dass B-Lymphozyten am Transport des JC-Virus ins Gehirn involviert sind [Wei et al., 2000]. Auch die Befunde von Houff und seinen Mitarbeitern (1988) lassen vermuten, dass das JC-Virus während der Latenzzeit in mononukleären Zellen des Knochenmarks präsent ist. Ihre Befunde sprechen für eine produktive Infektion der Lymphozyten, da sowohl JCV-DNA als auch Virion-Kapsid-Antigene in den Lymphozyten nachgewiesen wurden. Die Präsenz von JCV-infizierten Zellen im perivaskulärem Parenchym weist darauf hin, dass das JC-Virus auf dem

hämato-genen Weg in das Gehirn gelangt, um dort die Progression der Infektion über die Gliazellen zu veranlassen [Houff et al., 1988]. Elphick et al. fanden heraus, dass das JC-Virus Serotonin-Rezeptoren (5HT 2a R) benutzt, um Zellen zu infizieren. 5HT-Rezeptoren finden sich vorwiegend in mikrovaskulären Strukturen des Gehirns, sowie in Astrozyten an der Blut-Hirn-Schranke. Hier könnte den Astrozyten und anderen 5HT-Rezeptor-tragenden Zellen eine entscheidende Bedeutung in der Pathogenese der PML zukommen. Zudem folgerten die Autoren, dass die prophylaktische Behandlung von HIV-Infizierten mit Serotonin-Rezeptor-Antagonisten die Ausbreitung von JCV und die Entwicklung einer PML verhindern könnte [Elphick et al., 2004]. Zum jetzigen Zeitpunkt ist noch nicht geklärt, ob auch die Oligodendrozyten den 5HT-Rezeptor exprimieren und somit einer Blockade des Serotonin-Rezeptor-Mechanismus zugänglich wären [Santagata und Kinney, 2005]. Chapagain et al. (2007) konnten dagegen nachweisen, dass humane mikrovaskuläre Endothelzellen des Gehirns nicht den 5-HT-Serotonin-Rezeptor exprimieren und somit eine JCV-Infektion der Endothelzellen nicht durch 5-HT-Blocker verhindert werden kann. Ihren Befunden zufolge ist in vitro eine produktive JC-Virusinfektion der mikrovaskulären Endothelzellen unabhängig von 5-HT-Rezeptoren [Chapagain et al., 2007].

In der **makroskopischen** Untersuchung der hier beschriebenen PML-Fälle zeigten sich unregelmäßig begrenzte, zum Teil runde, im Durchmesser ca. 0.2 bis 0,4 cm große, graubraune kortiko-subkortikale Gewebsveränderungen. Im Gegensatz hierzu, sind die Herde späterer PML-Stadien größer und werden in der Literatur wie folgt beschrieben: graue, weit verstreute, oftmals ovale, teils ausgedehnte, zur Konfluenz neigende, vielfach perivaskulär gelegene Foci destrukturierter Myelinscheiden [Aström et al., 1958; Walker, 1978]. Die Entmarkungsherde erscheinen oft trauben- oder kettenförmig angeordnet und weisen einen Durchmesser von wenigen Millimetern bis zu mehreren Zentimetern auf [Raine, 1997]. Schon Aström et al. beschrieben in ihren Untersuchungen von 1958, dass mit dem zeitlichen Fortschreiten der PML-Erkrankung eine kontinuierliche progressive Größenzunahme der Läsionen mit

erweiterter Myelindestruktion und Zunahme begleitender zytologischer Veränderungen einhergeht. Zunächst wird eine Reduktion, dann eine Fragmentierung und später ein Verschwinden der Myelinscheiden erkennbar [Aström et al., 1958].

In den hier untersuchten Fällen stellten sich **mikroskopisch** diese, schon makroskopisch sichtbaren, Gewebsveränderungen als Demyelinisierungs-herde mit reaktiven Astrozyten und Mikroglia-/Makrophageninfiltraten dar. Am Rande dieser Herde lagen vereinzelte amphophile oder leicht eosinophile Zellen mit runden Zellkernen ohne abgrenzbare Zytoplasmasäume. Diese vergrößerten und in der In-situ-Hybridisierung (ISH) im Fall A nachweislich JCV-infizierten Zellen mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten lagen insgesamt nur selten und ausschließlich in den größeren, schon makroskopisch sichtbaren und vermutlich etwas älteren Herden vor. In den kleineren, früheren PML-Herden fanden sich lediglich Astrozyten und Mikrogliazellen sowie allenfalls spärliche lymphoide Infiltrate. Bei diesen CD45-positiven Zellen war keine weitere Subtypisierung möglich. Eine floride Enzephalitis lag nicht vor. Das weitgehende Fehlen einer entzündlichen Reaktion gilt als typisch für die PML [Richardson, 1961; Kuchelmeister et al., 1993b]. Bei den HIV-assoziierten PML-Fällen werden entzündliche Infiltrate häufiger beobachtet, insbesondere bei Patienten, die einer HAART (highly active antiretroviral therapy) unterzogen worden sind [Huang et al. 2007; Martinez et al., 2006].

In den dargestellten Fällen sind die vergrößerten und nachweislich JCV-infizierten oligodendrozytenartigen Zellen vor allem in der Peripherie der größeren Läsionen erkennbar, während sich im Zentrum der Herde teilweise eine Rarefizierung der Oligodendrozyten zeigt. Auch nach Literaturangaben sind die geschwollenen Oligodendrozyten mit ihren intranukleären Einschlüssen typischerweise am Rande von größeren Foci lokalisiert, während sich die atypischen, neoplastoiden Astrozyten eher im Zentrum befinden [Walker, 1978; Thunher et al., 1997]. Auffällig ist, dass diese in der Literatur häufig beschriebenen bizarr geformten neoplastoiden Astrozyten in den hier dargestellten frühen PML-Fällen an keiner Stelle vorlagen. Ihr Auftreten

scheint also ein späteres Ereignis in der Pathogenese der PML zu sein, was mit den Befunden in der Literatur übereinstimmt, dass sie meist im bereits völlig entmarktem Zentrum größerer, älterer PML-Foci und nicht im "floriden" Randbereich vorliegen [Major et al., 1992; Shintaku et al., 2000; Stoner und Ryschkewitsch, 1998]. Zur diagnostischen Trias der PML gehören also eine multifokale Demyelinisierung mit überwiegend zentral gelegenen bizarr vergrößerten Astrozyten mit irregulären, hyperchromatischen Zellkernen und peripher gelegenen, vergrößerten Oligodendrozyten. In diesen vergrößerten Oligodendrozyten lassen sich Viruspartikel und virus-spezifisches Antigen nachweisen [Brooks und Walker; 1984]. Mazlo und Tariska demonstrierten ultrastrukturelle Charakteristika wie Adsorption, Penetration und intrazellulärer JC-Virustransport vorwiegend in Oligodendrozyten und nur in ca. 10% der PML-Fälle in Astrozyten. Da diese frühen Schritte der JC-Virusinfektion sich häufiger im Zytoplasma der Astrozyten als in ihrem Zellkern befanden, vermuteten sie, dass die Astrozyten zwar infiziert sind, jedoch die Infektion nur selten produktiv verläuft [Mazlo und Tariska, 1982]. Auch die Ergebnisse von Itoyama et al. (1981) zeigten, dass die überwiegende Mehrzahl der Zellen, die sich mit JCV-Antiserum markieren ließen, Oligodendrozyten waren. Sie gingen deshalb ebenfalls davon aus, dass die aktive JC-Virus-Infektion im Nukleus der Oligodendrozyten beginnt [Itoyama et al., 1981].

Auch von Giesen et al. (1997) schlussfolgerten in ihrer Studie, dass die Oligodendrozyten und nicht die Astrozyten, die produktiv infizierten Ziel-Zellen des JC-Virus darstellen, da mit der In-Situ-Hybridisierung JC-Virus-DNA bisher vorwiegend in Oligodendrozyten und nur vereinzelt auch in Astrozyten nachgewiesen werden konnte [von Giesen, 1997; Kuchelmeister et al., 1993b]. Eine solche produktive Infektion der Oligodendrozyten führt zu einer progressiven Vergrößerung ihrer Kerne, wobei das kompakte Chromatin aufgelöst und durch amphophiles, milchglasartiges oder auch dichtes, homogenes, eosinophiles Material ersetzt wird [Rosenblum, 1996; Richardson, 1970; Walker, 1978].

Im Infektionszyklus der Papovaviren wird in der viralen Proteinsynthese zwischen einer „frühen“ und einer „späten“ Translation unterschieden. Zu

verschiedenen Zeiten werden verschiedene mRNA-Moleküle hergestellt, die zur Bildung sogenannter "früher" und "später" Proteine führen. Die Frühproteine wirken als Transformationsproteine (T-Antigene) und zeigen Enzymeigenschaften für die Replikation der Virus-DNA. In dieser Frühphase der Virussyntese werden zelleigene Vorgänge selektiv blockiert (virus-host-shut-off). In der Spätphase der Virussyntese beginnt die Nukleinsäuresynthese und die Bildung von Strukturproteinen. Diese Spätproteine sind Kapsid- oder Virusproteine [Bienz, 1989; Hahn et al., 2005]. Das JCV-Genom besteht aus drei funktionalen Einheiten, der frühen und der späten Kodierungsregion, sowie der transkriptionalen Kontrollregion. Die späte Region encodiert die Kapsidproteine, die frühe Region encodiert das multifunktionale Onkoprotein (large tumor antigen oder T-Antigen), welches in der Lage ist Zelltransformationen in vitro hervorzurufen [Renic et al., 1996]. JCV-T-Antigen ist ein großes nukleäres Phosphoprotein, welches den entscheidenden Faktor für die virale DNA-Replikation darstellt. Nach der Bindung an die Zelloberfläche gelangen die JCV-Virionen durch Endozytose in die Wirtszelle und werden zum Zellkern transportiert. Nachdem das JCV den Nukleus der permissiven Zellen durchdrungen hat, wird die frühe Region des Primärtranskript exprimiert und alternativ gespliced, um die Grundlage für das "large" und "small" T-Antigen zu stellen [White und Khalili, 2005].

Das tumorgenetische Potential des JC-Virus liegt in der Transformationsfähigkeit der viralen encodierten Onkoproteine (large T-Antigen und small t-Antigen). Experimentelle Studien konnten zeigen, dass das JC-Virus in der Lage ist, Tumore in Labortieren zu induzieren [Walker et al., 1973; Zu Rhein, 1983; Eash et al., 2006]. White und Khalili beschreiben, wie die JC-Virus-Proteine die transkriptionale Regulation und die Zellzykluskontrolle beeinflussen, wie diese Effekte in die Progression der JCV-assoziierten Tumore involviert sind und somit therapeutische Ansatzpunkte in der Therapie darstellen könnten [White und Khalili, 2005]. Das humane JC-Polyomavirus scheint, mit der Entwicklung von primitiven neuroektodermalen Tumoren und zahlreichen glialen Tumoren inklusive dem Glioblastoma multiforme in Verbindung stehen zu können [Del Valle et al., 2001; Pina-

Oviedo et al., 2006]. Das JCV-Genom enkodiert fünf "frühe" Proteine, die die Replikation der viralen DNA regulieren und die Zelltransformation induzieren. Diese "frühen" Proteine werden transkribiert bevor die Replikation des JCV-Genoms stattfindet. Es wird daher angenommen, dass sich frühe Proteine in den frühen Phasen der Infektion oder in abortiv bzw. latent infizierten Zellen darstellen [Muñoz-Mármol et al., 2004].

In den hier dargestellten Fällen zeigten unsere **immunhistologischen** Untersuchungen mit einem Antikörper gegen GFAP (glial fibrillary acidic protein) in allen Demyelinisierungsherden, auch den nur mikroskopisch sichtbaren, eine deutliche immunreaktive Gliose mit zahlreichen großleibigen, fortsatzreichen, reaktiven Astrozyten, allerdings ohne neoplastoide Astrozyten. Des weiteren ließen sich in den Herden auch CD68-positive Mikrogliazellen identifizieren. Während sich die vergrößerten JCV-infizierten Oligodendrozyten ausschließlich in den größeren, schon makroskopisch sichtbaren Läsionen fanden. Trotz des Fehlens nachweislich infizierter Oligodendrozyten zeigten einige der Mikroherde bereits eine leichte Markscheidenrarefizierung. Daher kann man annehmen, dass in der Frühphase der PML den Astrozyten und der Mikroglia eine wichtige Bedeutung zukommt, während die Oligodendroglia trotz bereits nachweisbarer Markscheidenschädigung als Zielpopulation der Infektion möglicherweise noch keine Rolle spielt. In der Literatur ist dies jedoch umstritten, so konnten Itoyama und seine Mitarbeiter in ihren Studien zeigen, dass Veränderungen in der oligodendroglialen MAG- (oligodendrogliales myelin-assoziiertes Glycoprotein) Verteilung ein Indikator für frühe oligodendrogliale Abnormitäten sein können, die dann den Myelinzusammenbruch bewirken. Diese Veränderungen im periaxonalen, oligodendroglialen MAG würden sich noch vor Beginn der eigentlichen Demyelinisierung ereignen [Itoyama et al., 1981]. Aksamit konnte 1995 in einer Studie in den GFAP-positiven, reaktiven Astrozyten keine Spuren einer produktiven JCV-Infektion finden und erklärte somit die reaktive Astrozytose als eine zwangsläufige Begleiterscheinung der Demyelinisierung [Aksamit, 1995]. Auch Mazlo und Tariska beschrieben den Demyelinisierungsprozeß der PML als eine Folge der Zytolyse der Oligodendroglia und sahen keinen

direkten Zusammenhang zur Präsenz des Virus [Mazlo und Tariska, 1980 und 1982]. Dem gegenüber kommen Aström und Stoner (1994), in einer der wenigen Untersuchungen über die frühen pathologischen Veränderungen der PML zu dem Ergebnis, dass der ersten histologischen Manifestation der PML eine Stimulation der Astrozyten zugrunde liegt und die JCV-Infektion latent in den Astrozyten vorliegt noch bevor sie manifest wird. Sie gehen davon aus, dass sowohl Oligodendrozyten als auch Astrozyten mit dem JC-Virus infiziert sein können. Doch während die Oligodendrozyten eine permissive Infektion aufweisen, zeigen die Astrozyten eine restriktive Infektion. Die JCV-Infektion löse eine Lyse der Oligodendrozyten aus und bewirke eine nicht-lytische Veränderung der Astrozyten. Die erste histologische Manifestation der PML scheint nach Aström und Stoner (1994) eine Stimulation der Astrozyten zu sein, die dann vergrößert und deutlich GFAP-produzierend in Erscheinung treten, unabhängig von der Myelindestruktion oder Oligodendrozyteninfektion [Aström und Stoner, 1994; Aksamit, 1995]. Stoner et al. beschrieben schon 1988, dass Zellen, die sich in einem frühen Stadium der PML-Infektion befinden, nur T-Antigen präsentieren und dass es sich bei diesen Zellen meistens um Astrozyten handelt. Eine von Einsiedel et al. durchgeführte immunozytochemische Studie zu den frühen (T-Antigen) und späten (Kapsid-) Proteinen des JC-Virus zeigte, dass in frühen Stadien der PML-Infektion T-Antigen vorwiegend in Oligodendrozyten mit normal erscheinendem Nukleus und Astrozyten nachgewiesen werden konnte. T-Antigen ist nicht in das Virion inkorporiert und zeigt die frühen Stadien der beginnenden PML-Läsionen. Die Astrozyten scheinen abortiv mit JCV infiziert zu sein und die Mehrheit der Astrozyten verbleibt offenbar in diesem frühen Stadium der Infektion. Vergrößerte oligodendrogliale Zellkerne zeigen Kapsid-Proteine vereinbar mit einem späten Stadium einer produktiven Infektion und sind gefüllt mit Virionen, während die Astrozyten nur sehr selten Kapsid-Proteine zeigen [von Einsiedel et al., 1993]. Die Präsenz von viralen Kapsid-Antigenen deutet auf eine fortgeschrittene Virusreplikation hin, da diese Proteine aus der späten Phase der Transkription des Virusgenoms resultieren [Houff et al., 1988]. Aström und Stoner (1994) vermuteten, dass die PML in den Astrozyten

beginnt. Die Astrozyten werden durch das frühe Protein (T-Antigen) transaktiviert und zeigen eine deutliche GFAP-Positivität. Später transformieren einige zu den bizarr geformten neoplastoiden Astrozyten, in denen sich sehr selten auch Kapsid-Antigene nachweisen lassen. Hier scheinen zytopathische Effekte als Folge der Virusinfektion für die Veränderung der Zellmorphologie verantwortlich zu sein. Die meisten Astrozyten werden jedoch nicht zerstört und bleiben abortiv infiziert. Die infizierten, nachweislich Kapsid-Antigen tragenden Oligodendrozyten werden durch die Virionen aufgebläht und funktionsuntüchtig gemacht. Du Pasquier et al. (2003) fanden heraus, dass auch Körnerzellneurone des Kleinhirns produktiv mit JCV infiziert sein können und diese lytische Infektion zu einer partiellen Destruktion der internen Körnerzellschicht führen kann. Hier offenbarte die In-situ-Hybridisierung deutlich mehr JCV-infizierte Körnerzellneurone als die immunhistochemischen Untersuchungen mit einem spezifischen Antikörper für Polyomavirus VP1 Kapsidprotein. Es gab reichlich mehr Körnerzellneurone, die JCV-DNA beinhalten als solche mit viralen Kapsidproteinen. Die Autoren schlussfolgerten, dass es sich hierbei um eine abortive Infektion der Zellen handeln könnte. Es sei jedoch auch möglich, dass die infizierten Neurone, die mit der In-situ-Hybridisierung und nicht durch die Immunhistochemie identifiziert worden sind, erst seit kurzem die Infektion in sich tragen und später auch zur viralen Proteinexpression befähigt sind. Dann bestehe nur eine kurze Zeitspanne zwischen Expression von VP1, Virusmontage und Zellyse. Dies würde erklären, warum die Anzahl der Körnerzellneurone, die durch die Immunhistochemie identifiziert worden sind, relativ klein ist und diese Neurone in der Peripherie der Demyelinisierungsherde lokalisiert sind. Hier bestehen Parallelen zur Infektion der Oligodendrozyten [Du Pasquier et al., 2003]. Kuchelmeister et al. (1993a) untersuchten sechs AIDS-assoziierte PML-Fälle, die zelluläre Veränderungen der cerebellären Körnerzellschicht zeigten. Diese Zellen der Körnerzellschicht lagen im Umkreis der PML-Herde und wiesen vergrößerte hyperchromatische Nuklei auf, in denen sich weder HIV-Antigen p24 noch JCV-DNA oder ultrastrukturelle Papovaviruspartikel nachweisen ließen. Auch die Autoren

nahmen an, dass es sich hierbei um abortiv oder latent JCV infizierte cerebelläre Körnerzellen handelt [Kuchelmeister et al., 1993a]. Dang und Koralnik konnten nachweisen, dass eine Deletion im C-Terminus des VP1-Gens des JC-Virus möglicherweise den Eintritt und die Replikation des JCV in Körnerzellen erleichtert [Dang und Koralnik, 2006].

Die reaktiven, fortsatzreichen, nicht neoplastoiden Astrozyten in den PML-Herden sind offenbar nicht produktiv mit den JC-Viren infiziert. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Form der sogenannten "restringierten" Infektion, bei der mittels Restriktionsenzymen eine Replikation verhindert werden kann und abortive Replikationszyklen auftreten. Die "restringiert" infizierten Astrozyten nehmen die Form der fortsatzreichen reaktiven Astroglia mit deutlicher GFAP-Expression an und könnten dann z.B. über eine Störung der Gewebstrophik oder eine Beeinträchtigung der Bluthirnschranke zu der schon frühen Markscheidenschädigung führen. Es wäre denkbar, dass die Astrozyten das JC-Virus an die Oligodendrozyten weitergeben, in denen dann eine produktive Infektion stattfindet. Pho et al. konnten in einer Studie demonstrieren, daß das JC-Virus über eine Rezeptor-vermittelte Clathrin-abhängige Endozytose in die Gliazellen eindringt [PHO et al., 2000]. Querbes et al. konnten nachweisen, dass JC-Viren über Clathrin-abhängige Endozytose in die Zellen eindringen und in frühe Endosome transportiert werden, in denen dann eine Einsortierung in ein Caveolin-1-positives Endosomal-Kompartiment stattfindet [Querbes, O'Hara, Williams, Atwood, 2006]. Mesquita und seine Mitarbeiter fanden heraus, dass infizierte Oligodendrozyten und Virus-beladene Makrophagen in der Lage sind Polyomaviruspartikel freizusetzen, die wiederum möglicherweise die Astrozyten infizieren können. Reaktive, pleomorphe, sogenannte neoplastoide Astrozyten (giant astrocytes) können infizierte Oligodendrozyten und CD68-positive Zellen partiell oder komplett in ihr Zytoplasma aufnehmen. Insgesamt scheinen diese Astrozyten-Oligodendrozyten-Makrophagen-Zell-zu-Zell-Interaktionen in der Pathogenese der PML eine entscheidende Rolle zu spielen [Mesquita et al., 1996]. Die sehr ausgedehnte Mikrogliaaktivierung in den frühen PML-Herden des dargestellten Falles muss nicht für einen direkten Virusbefall dieser Zellpopulation sprechen, da die Mikrogliazellen

bekanntermaßen sehr früh auf unterschiedlichste Schädigungen des Gehirns reagieren. Möglicherweise sind aber von der Mikroglia produzierte Zytokine an der frühen Markscheidenschädigung beteiligt. Aktivierte Mikroglia setzt Produkte wie Interleukine, Interferone, Tumor-Nekrose-Faktoren und Chemokine frei, welche zum Teil ein toxisches Potential auf Oligodendrozyten und Neurone besitzen. Der Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF $\alpha$ ) kann z.B. direkt toxisch auf Oligodendrozyten wirken und Myelinstrukturen zerstören [Hanisch, 2001 und 2002].

Die vorliegenden Beobachtungen der frühen Markscheidenschädigung ohne erkennbare Beteiligung JCV-infizierter Oligodendrozyten sind ein weiterer Hinweis darauf, dass die PML nicht einfach als Erkrankung der Oligodendrozyten angesehen werden darf, sondern dass offenbar der Astroglia und möglicherweise auch der Mikroglia in der Frühphase der Erkrankung eine pathogenetische Schlüsselrolle zukommen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden bereits auf der 43. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie vorgestellt und ein Abstract ist dazu publiziert worden [Salewski et al., 1998].

## **Zusammenfassung**

Die progressive multifokale Leukoenzephalopathie (PML) ist eine opportunistische Infektion des Zentralen Nervensystems mit dem JC-Polyomavirus. Da die PML trotz verbesserter Therapiemöglichkeiten zumeist innerhalb weniger Monate progredient bis zum Tode fortschreitet, sind Autopsiestudien von frühen Erkrankungsstadien äußerst selten und die PML-Pathogenese ist nur unvollständig bekannt. Es werden neuropathologische Autopsiefälle einer frühen PML bei einem 55-jährigen (Fall A) und einem 63-jährigen (Fall B) männlichen Patienten dargestellt. Patient A litt an einer chronischen Niereninsuffizienz, welche eine Peritonealdialyse notwendig machte. Er verstarb nach persistierender Peritonitis und paralytischem Ileus mit anschließender Hemikolektomie im septischen Kreislaufversagen. Der Patient B litt an einer Lymphogranulomatose (Morbus Hodgkin) und hatte sich bereits einer Radio- und Chemotherapie unterzogen. Zudem bestand ein Zustand nach Operation eines Hodenteratoms, nach aortokoronarer Bypass-Operation und einem Aortenklappenersatz bei schwerer koronarer Herzkrankheit mit chronisch arterieller Hypertonie. Er verstarb im kardiorespiratorischen Kreislaufversagen bei beidseitiger Pneumonie auf dem Boden einer chronischen Herzinsuffizienz. Die neuropathologische Untersuchung des Gehirns zeigte in beiden Fällen makroskopisch kleine runde, graue, teils konfluierende Herde an der Rinden-Markgrenze. Histologisch stellten sich die Entmarkungsherde mit Astrogliose (ohne neoplastoide Astrozyten) und mit Mikroglia- und Makrophageninfiltraten sowie spärlichen perivaskulären Lymphozyten dar. In einzelnen dieser makroskopisch sichtbaren Foci konnten mikroskopisch vorwiegend randlich gelegene vergrößerte Oligodendrozyten gesehen werden. In einigen dieser Oligodendrozyten konnte mittels In-situ-Hybridisierung (ISH) bzw. Immunhistologie (IH) JCV-Antigen nachgewiesen werden. Zusätzlich zeigten sich besonders in Fall A nur mikroskopisch sichtbare Läsionen ohne oder mit nur leichter Entmarkung, in denen sich GFAP-positive reaktive Astrozyten und Mikrogliafiltrate, jedoch keine vergrößerten Oligodendrozyten und keine perivaskulären Lymphozyten darstellen ließen. Diese Herde repräsentieren offenbar sehr frühe

Gewebsveränderungen der PML. Eine produktive Infektion mit dem JC-Virus konnte mittels ISH bzw. IH nur in Oligodendrozyten der makroskopisch erkennbaren Entmarkungsherde nachgewiesen werden. Die frühe Markscheidenschädigung ohne erkennbare Beteiligung JCV-infizierter Oligodendrozyten spricht dafür, dass die PML nicht einfach als Erkrankung der Oligodendrozyten angesehen werden darf, sondern dass offenbar der Astroglia und möglicherweise auch der Mikroglia in der Frühphase der Erkrankung eine pathogenetische Schlüsselrolle zukommen.

## **Summary**

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is an opportunistic CNS infection by the polyomavirus JC. Although the treatment has improved, PML mostly runs a fatal course within a few months. Therefore autopsy cases of early PML are exceedingly rare and the pathogenesis of the disease is only incompletely known. Two neuropathological autopsy cases are presented with early PML lesions in a 55-year-old (case A) and a 63-year-old male patient (case B). Patient A had suffered from chronic renal insufficiency treated with peritoneal dialysis. He died of septic cardiovascular failure after persistent peritonitis and paralytic ileus with following hemicolectomy. Patient B had suffered from lymphogranulomatosis (Hodgkin's disease) treated with radio- and chemotherapy. Anamnestic data also reported surgery of testicular teratoma, aortocoronary bypass and aortic valve replacement, coronary heart disease and arterial hypertension. He died of cardiorespiratory failure with bilateral pneumonia and chronic heart insufficiency. Neuropathological examination disclosed in both cases small round, grey, sometimes confluent lesions at the border between cortex and white matter. Histologically, these lesions proved to be demyelinating foci with astrocytic gliosis and infiltrations of microglia, macrophages and rare perivascular lymphocytes. Only a few of these foci showed enlarged oligodendrocytes, mostly in the periphery of the demyelinating lesions. There were also some, only microscopically visible foci with no or a very slight demyelination which showed GFAP-positive reactive astrocytes and microglial infiltration, but no enlarged oligodendrocytes and no perivascular lymphocytes. These lesions obviously represent very early tissue alterations in PML. In situ-hybridization and immunhistology for JC-virus labelled only a few cells, all of which showed morphological features of enlarged oligodendrocytes, and therefore were exclusively found in larger demyelinating foci. The examinations show that only oligodendrocytes are productively infected by JC-virus in early PML. The observation of early demyelination without recognizable participation of JCV-infected oligodendrocytes indicates that PML is not only a disease of oligodendrocytes, but astrocytic and microglial activation may play an important pathogenetic

role in the early PML.

## Literaturverzeichnis

Adler G, Burg G, Kunze J, Pongratz D, Schinzel A, Spranger J (1996) Die klinischen Syndrome, Leiber, Band 1: Krankheitsbilder, 8.Auflage, Verlag Urban & Schwarzenberg, München- Wien- Baltimore

Aksamit AJ (2006) Review of progressive multifocal leukoencephalopathy and natalizumab. *The Neurologist* 12: 293-298

Aksamit AJ (2001) Treatment of non-AIDS progressive multifocal leukoencephalopathy with cytosine arabinoside. *Journal of Neurovirology* 7: 386-390

Aksamit AJ (1995) Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: A Review of the Pathology and Pathogenesis. *Microscopy Research And Technique* 32: 302-311

Albrecht H, Hoffmann C, Degen O, Stoehr A, Plettenberg A, Mertenskötter T, Eggers C, Stellbrink H-J (1998) Highly active antiretroviral therapy significantly improves the prognosis of patients with HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *AIDS* 12: 1149-1154

Antinori A, Ammassari A, Giancola ML, Cingolani A, Grisetti S, Murri Alba L, Ciancio B, Soldani F, Larussa D, Ippolito G, de Luca A (2001) Epidemiology and prognosis of AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in the HAART era. *Journal of Neurovirology* 7: 323-328

Arbusow V, Strupp M, Pfister H-W, Seelos KC, Brückmann H, Brandt T (2000) Contrast enhancement in progressive multifocal leukoencephalopathy: a predictive factor for long-term survival. *Journal of Neurology* 247: 306-308

Aström KE, Mancall EL, Richardson EP (1958) Progressive Multifocal Leuko-

Encephalopathy: a hitherto unrecognized complication of chronic lymphocytic leukemia and lymphoma. *Brain* 81: 93-111

Aström KE, Stoner GL (1994) Early pathological changes in progressive multifocal leukoencephalopathy: a report of two asymptomatic cases occurring prior to the AIDS epidemic. *Acta Neuropathologica* 88: 93-105

Atwood WJ (2001) A combination of low-dose chlorpromazine and neutralizing antibodies inhibits the spread of JC virus (JCV) in a tissue culture model: Implications for prophylactic and therapeutic treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Journal of Neurovirology* 7: 307-310

Azzi A, De Santis R, Ciappi S, Leoncini F, Sterrantino G, Marino N, Mazzotta F, Laszlo D, Fanci R, Bosi A (1996) Human polyomaviruses DNA detection in peripheral blood leukocytes from immunocompetent and immunocompromised individuals. *Journal of Neurovirology* 2: 411-416

Berger JR, Major EO (1999) Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Seminars in Neurology* 19: 193-200

Bienz KA (1989) Erreger viraler Infektionskrankheiten. In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Lindenmann J. *Medizinische Mikrobiologie: Immunologie, Bakteriologie, Mykologie, Virologie, Parasitologie*. 7.Auflage, Georg Thieme Verlag

Böttger EC (1999) Molekularbiologische Nachweisverfahren. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Dritte Auflage. Springer Verlag

Brooks BR, Walker DL (1984) Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Neurologic Clinics* 2: 299-313

Cavanagh JB, Greenbaum D, Marshall AHE, Rubinstein LJ (1959) Cerebral demyelination associated with disorders of the reticuloendothelial system. *The Lancet* 2: 524-529

Chapagain ML, Verma S, Mercier F, Yanagihara R, Nerurkar VR (2007) Polyomavirus JC infects human brain microvascular endothelial cells independent of serotonin receptor 2A. *Virology* 20: 55-63

Chowdhary S, Chalmers LM, Chamberlain M (2007) Non-HIV-related progressive multifocal leukoencephalopathy (PML): A tertiary cancer center experience. *Journal of Neuroimaging* 17: 69-73

Clifford DB, Yiannoutsos C, Glicksman M, Simpson DM, Singer EJ, Piliero P, Marra CM, Francis GS, McArthur JC, Tyler KL, Tselis AC, Hyslop NE (1999) HAART improves prognosis in HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 52: 623-625

Cole CN (1996) Polyomaviridae: The viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds., Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, Roizman B, Straus SE. ass. eds. *Fundamental Virology*, Third Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven: 917-945

Dalsgaard Hansen NJ, Madsen C, Stenager E (1996) Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Italian Journal of Neurological Sciences*. 17: 393-399

Dang X, Koralknik IJ (2006) A granule cell neuron-associated JC virus variant has a unique deletion in the VP1 gene. *Journal of General Virology* 87: 2533-2537

De Luca A, Giancola ML, Ammassari A, Grisetti S, Cingolani A, Larussa D, Alba L, Murri R, Ippolito G, Cauda R, Monforte A, Antinori A (2001) Potent anti-retroviral therapy with or without zidovudine for AIDS-associated progressive

multifocal leukoencephalopathy: Extended follow-up of an observational study. *Journal of Neurovirology* 7: 364-368

Del Valle L, Gordon J, Assimakopoulou M, Enam S, Geddes JF, Varakis JN, Katsetos CD, Croul S, Khalili K (2001) Detection of JC virus DNA sequences and expression of the viral regulatory protein T-antigen in tumors of the central nervous system. *Cancer Research* 61: 4287-4293

Du Pasquier RA, Corey S, Margolin DH, Williams K, Pfister L-A, De Girolami U, Mac Key JJ, Wüthrich C, Joseph JT, Koralnik IJ (2003) Productive infection of cerebellar granule cell neurons by JC virus in an HIV+individual. *Neurology* 61: 775-782

Du Pasquier RA, Koralnik IJ (2003) Inflammatory reaction in progressive multifocal leukoencephalopathy: Harmful or beneficial?. *Journal of Neurovirology* 9 (suppl.1): 25-31

Dorries K, Johnson RT, Ter Meulen V (1979) Detection of polyoma virus DNA in PML-brain tissue by (in situ) hybridization. *Journal of General Virology* 42: 49-57

Eash S, Manley K, Gasparovic M, Querbes W, Atwood WJ (2006) The human polyomaviruses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63: 865-876

Elphick G, Querbes W, Jordan J, Gee G, Eash S, Manley K (2004) The human polyomavirus, JCV, uses serotonin receptors to infect cells. *Science* 306: 1380-1383

Falke D (1999) Pathogenität- Infektionsverlauf. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Dritte Auflage. Springer Verlag.

Freim Wahl SG, Folvik MR, Torp SH (2007) Progressive multifocal leukoencephalopathy in a lymphoma patient with complete remission after treatment with cytostatics and rituximab: case report and review of the literature. *Clinical Neuropathology* 26: 68-73

Gasnault J, Kousignian P, Kahraman M, Rahoiljaon J, Matheron S, Delfraissy JF, Taoufik Y (2001) Cidofovir in AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: A monocenter observational study with clinical and JC virus load monitoring. *Journal of Neurovirology* 7: 375-381

Geschwind M, Skolasky R, Royal W, McArthur J (2001) The relative contributions of HAART and alpha-interferon for therapy of progressive multifocal leukoencephalopathy in AIDS. *Journal of Neurovirology* 7: 353-357

Gullotta F, Masini T, Scarlato G, Kuchelmeister K (1992) Progressive multifocal leukoencephalopathy and gliomas in a HIV-negative patient. *Pathology Research and Practice* 188: 964-967

Hanisch U-K (2002) Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 40: 140-155

Hanisch U-K (2001a) Microglia as a source and target of cytokine activities in the brain. In: Streit WJ, editor. *Microglia in the degenerating and regenerating CNS*. New York: Springer Verlag: 79-124

Happe S, Lünenborg N, Rickert CH, Heese C, Reichelt D, Schwierer G, Schul C, Husstedt I-W (2000) Progressive multifokale Leukoenzephalopathie im Verlauf der AIDS-Erkrankung. *Nervenarzt* 71: 96-104

Heizmann WR (2000) *Infektiologie 2000: Krankheitsbild-Diagnose-Therapie*. Bayer Vital GmbH & Co.KG

Herbst H und Hübner J.-H (1998-2003) Pathologie-Online: Methoden: Immunhistologie; [www.pathologie-online.de](http://www.pathologie-online.de)

Herold G und Mitarbeiter (1996) Innere Medizin, Selbstverlag

Hof H, Dörries R, Müller RL (2000) Allgemeine Virologie. In: Duale Reihe Mikrobiologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart

Houff SA, Major EO, Katz DA, Kufta CV, Sever JL, Pittaluga S, Roberts JR, Gitt J, Saini N, Lux W (1988) Involvement of JC Virus-Infected Mononuclear Cells from the Bone Marrow and Spleen in the Pathogenesis of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *The New England Journal of Medicine* 318: 301-305

Huang D, Cossoy M, Li M, Choi D, Taege A, Staugaitis SM, Rehm S, Ransohoff RM (2007) Inflammatory progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus-negative patients. *Annals of Neurology* 27

Itoyama Y, Webster HdeF, Sternberger NH, Richardson EP, Walker DL, Quarles RH, Padgett BL (1981) Distribution of Papovavirus, Myelin-Associated Glycoprotein, and Myelin Basic Protein in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Lesions. *Annals of Neurology* 11: 396-407

Kahan AV, Coleman DV, Koss LG (1980) Activation of human polyomavirus infection-detection by cytologic techniques. *American Journal of Clinical Pathology* 74: 326-332

Khalili K, White MK, Lublin F, Ferrante P, Berger JR (2007) Reactivation of JC virus and development of PML in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 68: 985-990

Kim H-S, Henson JW, Frisque RJ (2001) Transcription and replication in the human polyomavirus. In Khalili K, Stoner GL, eds. Human polyomaviruses: molecular and clinical perspective. New York, Wiley-Liss Inc.: 73-126

Koralnik, IJ (2006) Progressive multifocal leukoencephalopathy revisited: Has the disease outgrown its name ?. *Annals of Neurology* 60: 162-173

Koralnik IJ, Du Pasquier RA, Letvin NL (2001) JC Virus-Specific Cytotoxic T Lymphocytes in Individuals with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Journal of Virology* 75: 3483-3487

Kraemer C, Evers S, Nolting T, Arendt G, Husstedt IW (2008) Cidovofir in combination with HAART and survival in AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Journal of Neurology* 18

Kuchelmeister K, Bergmann M, Gullotta F (1993a) Cellular changes in the cerebellar granular layer in AIDS-associated PML. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 19: 398-401

Kuchelmeister K, Gullotta F, Bergmann M, Angeli G, Masini T (1993b) Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Pathology Research and Practice* 189: 163-173

Laghi L, Randolph AE, Chauhan DP, Marra G, Major EO, Neel JV, Boland CR (1999) JC virus DNA is present in the mucosa of the human colon and in colorectal cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, Medical Sciences*, 96: 7484-7489

Lüthy R, Siegenthaler W (1988) Status febrilis. In: Siegenthaler W (Hrsg.) *Differentialdiagnose innerer Krankheiten*. Georg Thieme Verlag Stuttgart- New York, 16. neubearbeitete Auflage

Major EO, Amemiya K, Tornatore CS, Houff SA, Berger JR (1992) Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC-Virus induced demyelinating disease of the human brain. *Clinical Microbiology Reviews* 5: 49-73

Manji H, Miller RF (2000) Progressive multifocal leukoencephalopathy: progress in the AIDS era. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 69: 569-571

Mazlo M, Tariska I (1980) Morphological Demonstration of the First Phase of Polyomavirus Replication in Oligodendroglia Cells of Human Brain in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Acta Neuropathologica* 49: 133-143

Mazlo M, Tariska I (1982) Are Astrocytes Infected in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML)?. *Acta Neuropathologica* 56: 45-51

Mennel HD, Solcher H (1988) Entzündliche Erkrankungen und Geschwülste. In: Doerr W, Seifert G, Uehlinger E (Hrsg.) *Pathologie des Nervensystems*, Band 13/III, Springer Verlag

Mesquita R, Björkholm M, Ekman M, Bogdanovic G, Biberfeld P (1996) Polyomavirus-infected oligodendrocytes and macrophages within astrocytes in progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *Acta Pathologica, Microbiologica and Immunologica Scandinavica* 104: 153-160

Muñoz-Mármol AM, Mola G, Fernández-Vasalo A, Vela E, Mate JL, Ariza A (2004) JC virus early protein detection by immunohistochemistry in progressive multifocal leukoencephalopathy: a comparative study with in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 63: 1124-1130

Nath A, Venkataramana A, Reich DS, Cortese I, Major EO (2006) Progression of progressive multifocal leukoencephalopathy despite treatment with  $\beta$ -interferon. *Neurology* 66:149-150

Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH (1971) Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *The Lancet* 1 (7712): 1257-1260

Pho MT, Ashok A, Atwood WJ (2000) JC Virus Enters Human Glial Cells by Clathrin-Dependent Receptor-Mediated Endocytosis. *Journal of Virology* 74: 2288-2292

Pina-Oviedo S, De Leon-Bojorge B, Cuesta-Mejias T, White MK, Ortiz-Hidalgo C, Khalili K, Del Valle L (2006) Glioblastoma multiforme with small cell neuronal-like component: association with human neurotropic JC virus. *Acta Neuropathologica* 111: 388-396

Querbes W, O`Hara BA, Williams G, Atwood WJ (2006) Invasion of host cells by identifies a novel role for caveolae in endosomal sorting of noncaveolar ligands. *Journal of Virology* 80: 9402- 9413

Raine CS (1997) Demyelinating Diseases. In: Davis RL, Robertson DM, editors. *Textbook of Neuropathology*, 3.Edition, Baltimore:Williams & Wilkins, 627-714

Rankin E, Scaravilli F (1995) Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with rheumatoid arthritis and polymyositis. *Journal of Rheumatology* 22: 777-779

Rencic A, Gordon J, Otte J, Curtis M, Kovatich A, Zoltick P, Khalili K, Andrews D (1996) Detection of JC virus DNA sequence and expression of the viral oncoprotein, tumor antigen, in brain of immunocompetent patient with

oligoastrocytoma. Proceeding of. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 93: 7352-7357

Richardson EP (1961) Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. The New England Journal of Medicine 265: 815-823

Richardson EP (1970) Progressive multifocal leukoencephalopathy. In Vinken, PJ and Bruyn, GW (eds.): Handbook of clinical neurology, Multiple Sclerosis and other demyelinating diseases Vol. 9: 485-499

Richardson EP (1988) Progressive multifocal leukoencephalopathy 30 years later. The New England Journal of Medicine 318: 315-317

Rosenblum MK (1996) Neuromuscular system. In: Rosai J (ed.) Ackerman`s Surgical Pathology, 8.Edition, Mosby, St. Louis, Vol. 2: 2257-2264

Sala M, Vartanian J-P, Kousignian P, Delfraissy J-F, Taoufik Y, Wain-Hobson S, Gasnault J (2001) Progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus type 1 - infected patients: absence of correlation between JC virus neurovirulence and polymorphisms in the transcriptional control region and the major capsid protein loci. Journal of General Virology 82: 899-907

Salewski S, Kuchelmeister K, Becker C, Gullotta F, Schachenmayr W (1998) Morphology of early PML. Clinical Neuropathology 17: 281-282

Santagata S, Kinney HC (2005) Mechanism of JCV Entry into Oligodendrocytes. Science 309: 381-382

Schneider- Schaulies S, Johnston ICD, Schneider- Schaulies J (1999) Virale Infektionen des ZNS. In: Ganten D, Ruckpaul K (Hrsg.) Erkrankungen des Zentralnervensystems. Handbuch der Molekularen Medizin. Band 5, Springer Verlag, Berlin, S. 29-66

Shintaku M, Matsumoto R, Sawa H, Nagashima K (2000) Infection with JC Virus and Possible Dysplastic Ganglion-Like Transformation of the Cerebral Cortical Neurons in a Case of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 59: 921-929

Silverman L, Rubinstein LJ (1965) Electron microscopic observations on a case of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Acta Neuropathologica* 5: 215-224

Stoner GL, Soffer D, Ryschkewitsch CF, Walker DL, Webster HdeF (1988) A double-label method detects both early (T-antigen) and late (capsid) proteins of JC-virus in progressive multifocal leukoencephalopathy brain tissue from AIDS and non-AIDS patients. *Journal of Neuroimmunology* 19: 223-236

Stoner GL, Ryschkewitsch CF (1998) Reappraisal of progressive multifocal leukoencephalopathy due to simian virus 40. *Acta Neuropathologica* 96: 271-278

Stüve O, Marra M, Cravens PD, Singh MP, Wei H, Lovett-Racke A, Monson NL, Phillips JT, Tervaert JWC, Nash RA, Hartung H-P, Kieseier BC, Racke MM, Frohmann EM, Hemmer B (2007) Potential risk of progressive multifocal leukoencephalopathy with natalizumab therapy. *Archives of Neurology* 64: 169-176

Sweeney BJ, Miller RF, Harrison MJG (1993) Progressive multifocal leukoencephalopathy. *British Journal of Hospital Medicine* 50: 187-192

Thurnher MM, Thurnher SA, Mühlbauer B, Hainfellner JA, Steuer A, Fleischmann D, Trattnig S, Budka H, Schindler E (1997) Progressive multifocal leukoencephalopathy in AIDS: initial and follow-up CT and MRI. *Neuroradiology* 39: 611-618

Tubridy N, Wells C, Lewis D, Schon F (2000) Unsuccessful treatment with cidofovir and cytarabine in progressive multifocal leukoencephalopathy associated with dermatomyositis. *Journal of the Royal Society of Medicine* 93: 374-375

Tyler K D (2003) The uninvited guest, JC virus infection of neurons in PML. *Neurology* 61: 734-735

von Einsiedel RW, Fife TD, Aksamit AJ, Cornford ME, Secor DI, Tomiyasu U, Itabashi HH, Vinters HV (1993) Progressive multifocal leukoencephalopathy in AIDS: a clinicopathologic study and review of the literature. *Journal of Neurology* 240: 391-406

von Giesen HJ, Neuen-Jacob E, Dörries K, Jablonowski H, Roick H, Arendt G (1997) Diagnostic criteria and clinical procedures in HIV-1 associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Journal of Neurological Sciences* 147: 63-72

Waksman BH, Adams RD (1962) Infectious Leukoencephalitis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 21: 491-518

Walker DL (1978) Progressive multifocal leukoencephalopathy: an opportunistic viral infection of the central nervous system. In: Vinken PJ and Bruyn GW (eds.) *Handbook of clinical neurology*, Amsterdam, North-Holland Publ. Co., Vol. 34, pp 307-329

Walker DL, Padgett BL (1983) The epidemiology of human polyomavirus, in Sever JL, Madden DM (eds.), *Polyomaviruses and human neurological disease*. Alan R. Liss. Inc., New York: 99-106

Weber F, Goldmann C, Krämer M, Kaup FJ, Pickhardt M, Young P, Petry H,

Weber T, Lüke W ( 2001) Cellular and Humoral Immune Response in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Annals of Neurology* 49: 636-642

Weber T, Major EO (1997) Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: Molecular Biology, Pathogenesis and Clinical Impact. *Intervirology* 40: 98-111

Wei G, Liu CK, Atwood WJ (2000) JC Virus binds to primary human glial cells, tonsillar stromal cells, and B-lymphocytes, but not to T lymphocytes. *Journal of Neurovirology* 6: 127-136

White MK, Khalili K (2005) Expression of JC-virus regulatory proteins in human cancer: Potential mechanisms for tumourigenesis. *European Journal of Cancer* 41: 2537-2548

ZuRhein GM, Chou SM (1965) Particles resembling papovaviruses in human cerebral demyelinating disease. *Science* 148: 1477-1479

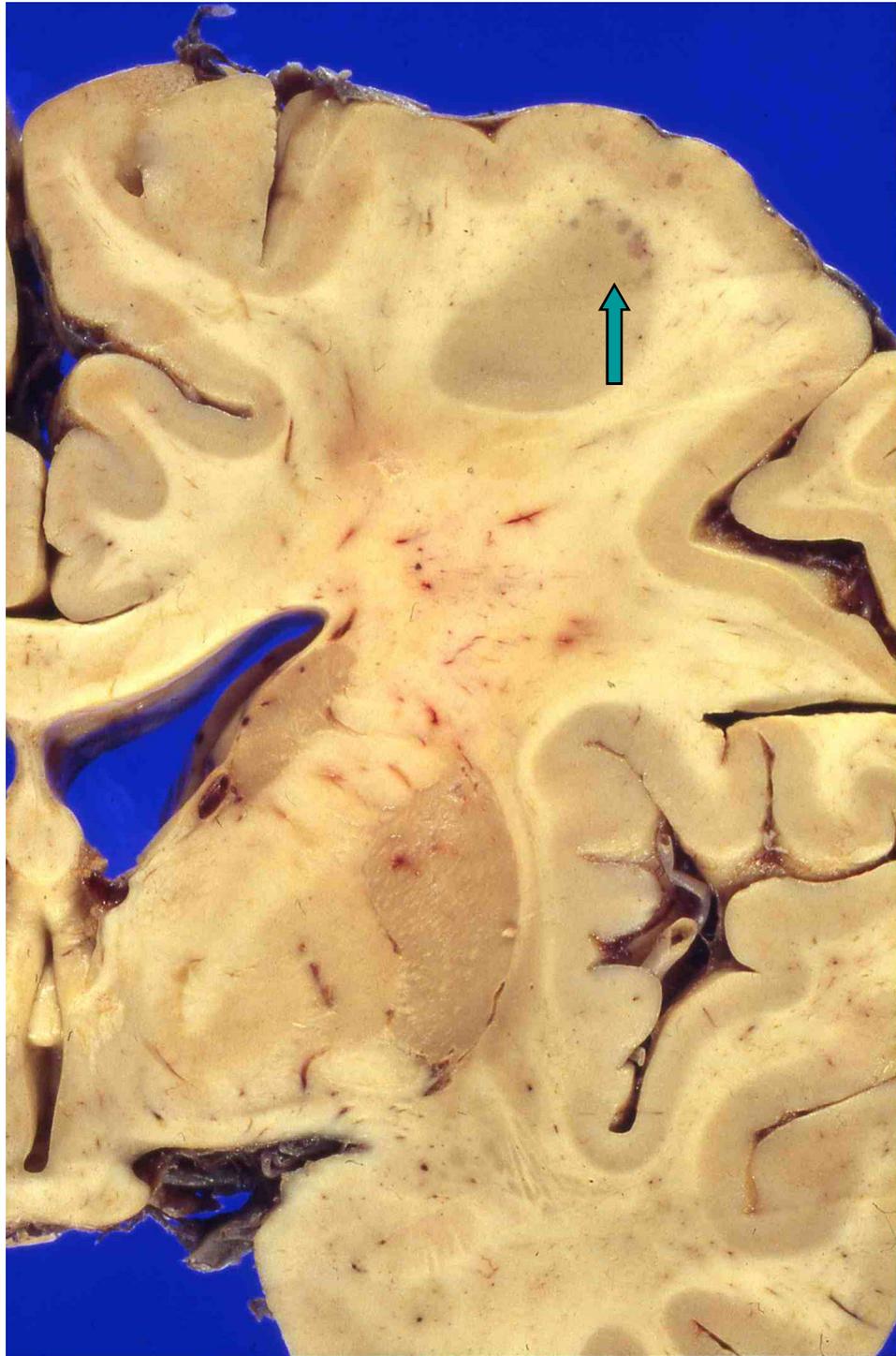


Abb. 1: Fall A: Rechts hochfrontal einzelne kleine kortiko-subkortikale PML-Herde

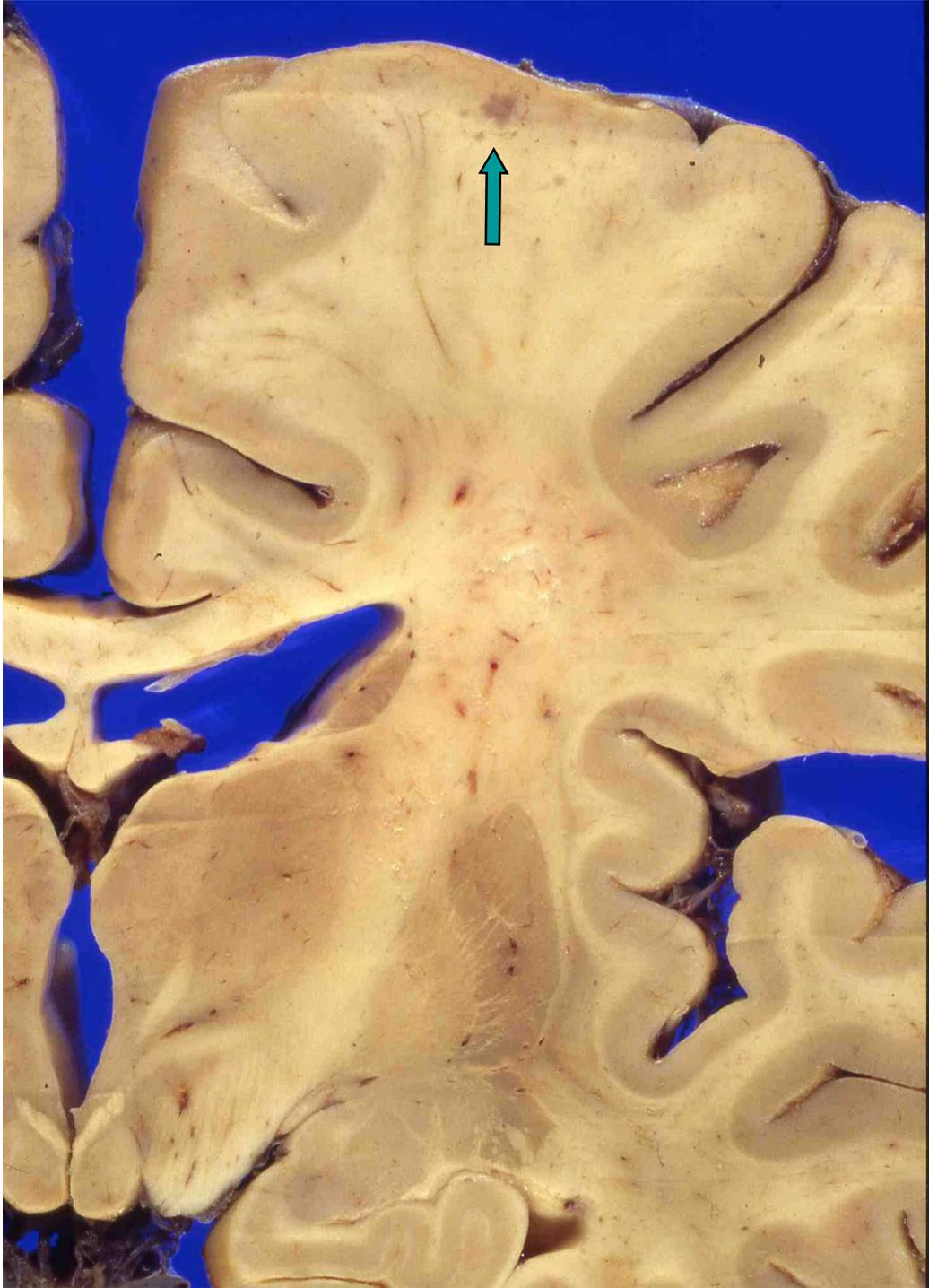


Abb. 2: Fall A: Einzelner kleiner kortiko-subkortikaler PML-Herd rechts hochfrontal auf einem Schnitt durch die Corpora mamillaria

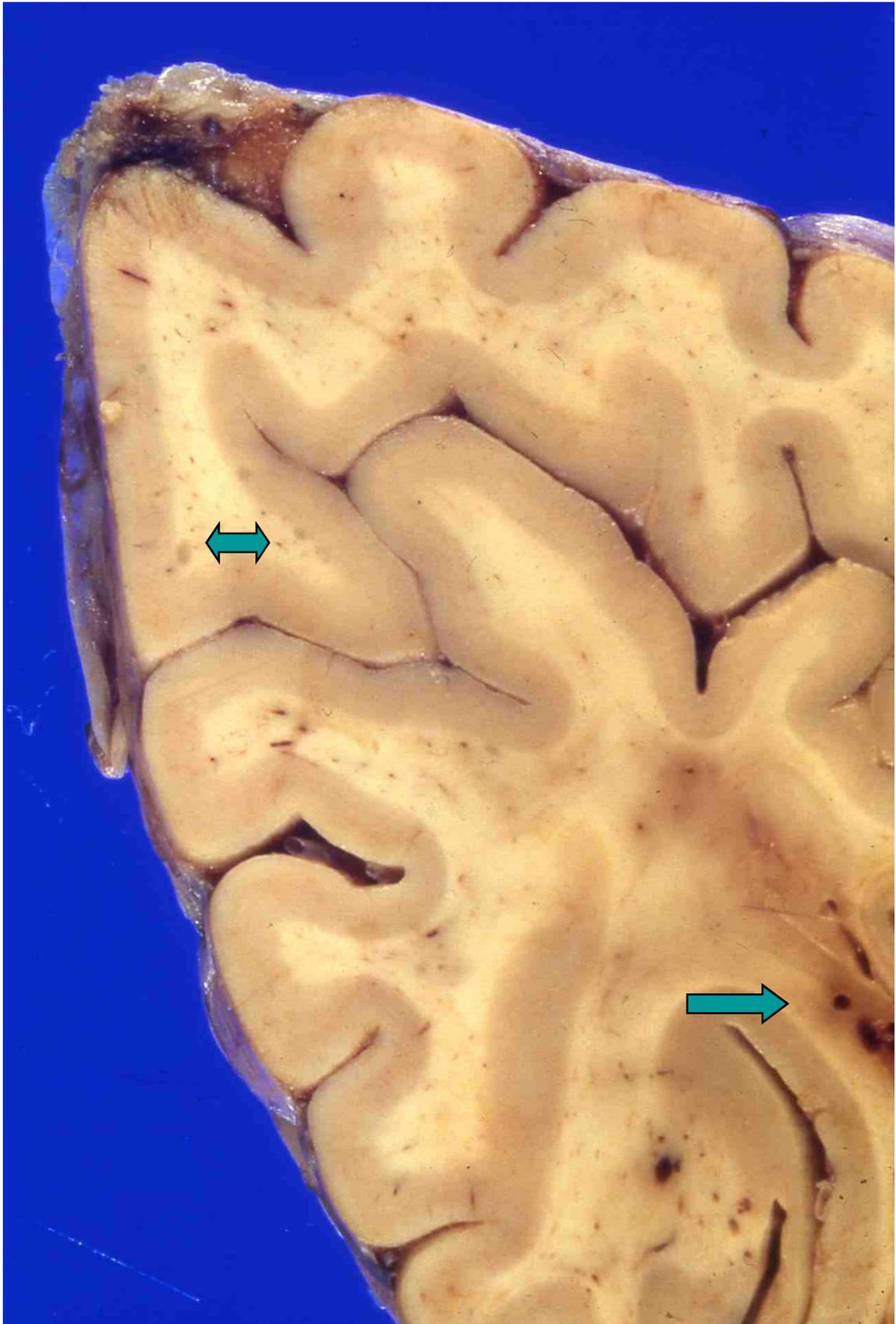


Abb. 3: Fall A: Sehr kleine PML-Herde links parietal kortiko-subkortikal (Doppelpfeil); nebenbefundlich im unteren Bildabschnitt Anschnitte einer kapillären Teleangiektasie (Pfeil)



Abb. 4: Fall A: Ausschnittsvergrößerung der PML-Herde aus Abb. 3

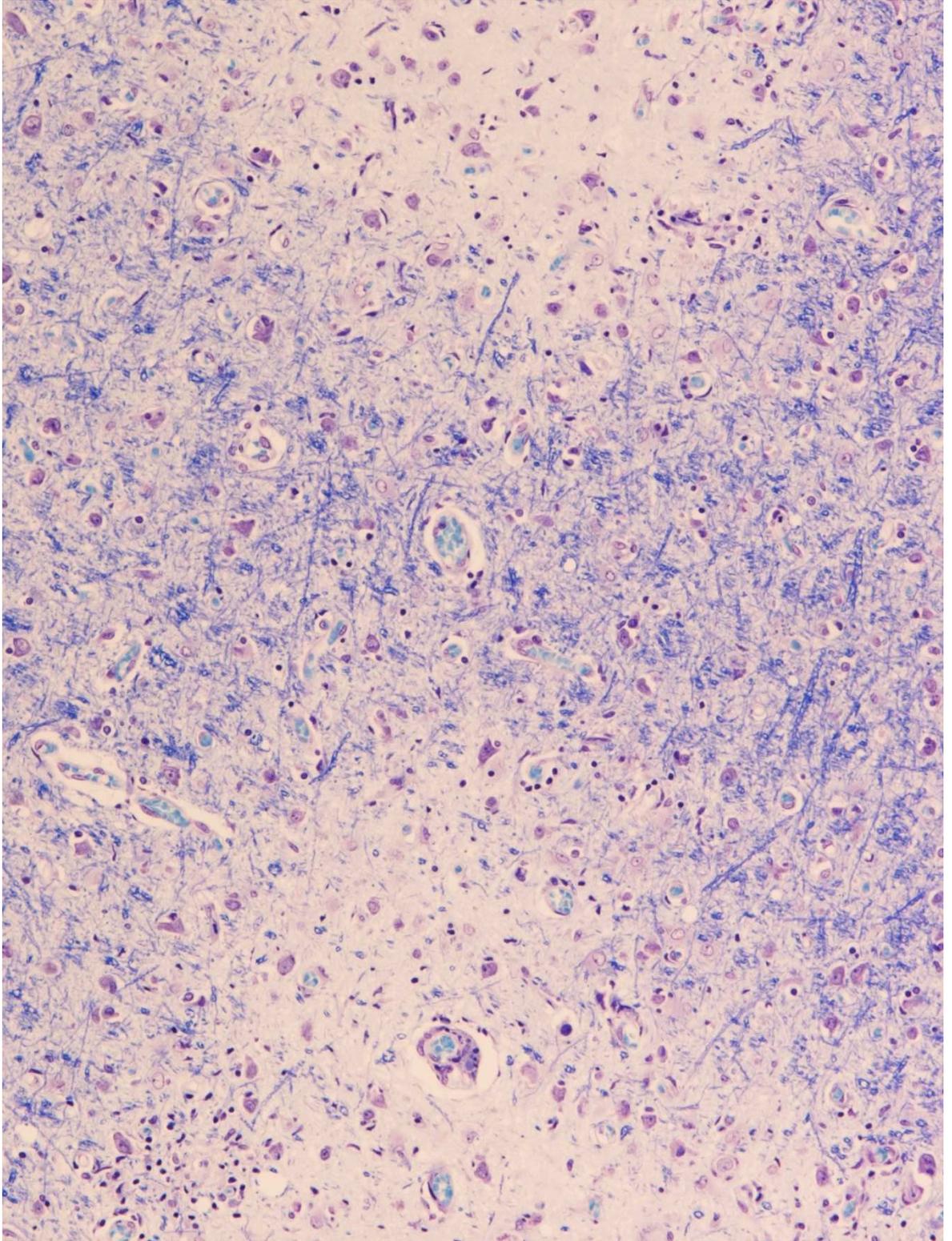


Abb. 5: Fall A: Zwei Entmarkungsherde rechts frontal in der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (erhaltene Markscheiden blau gefärbt)

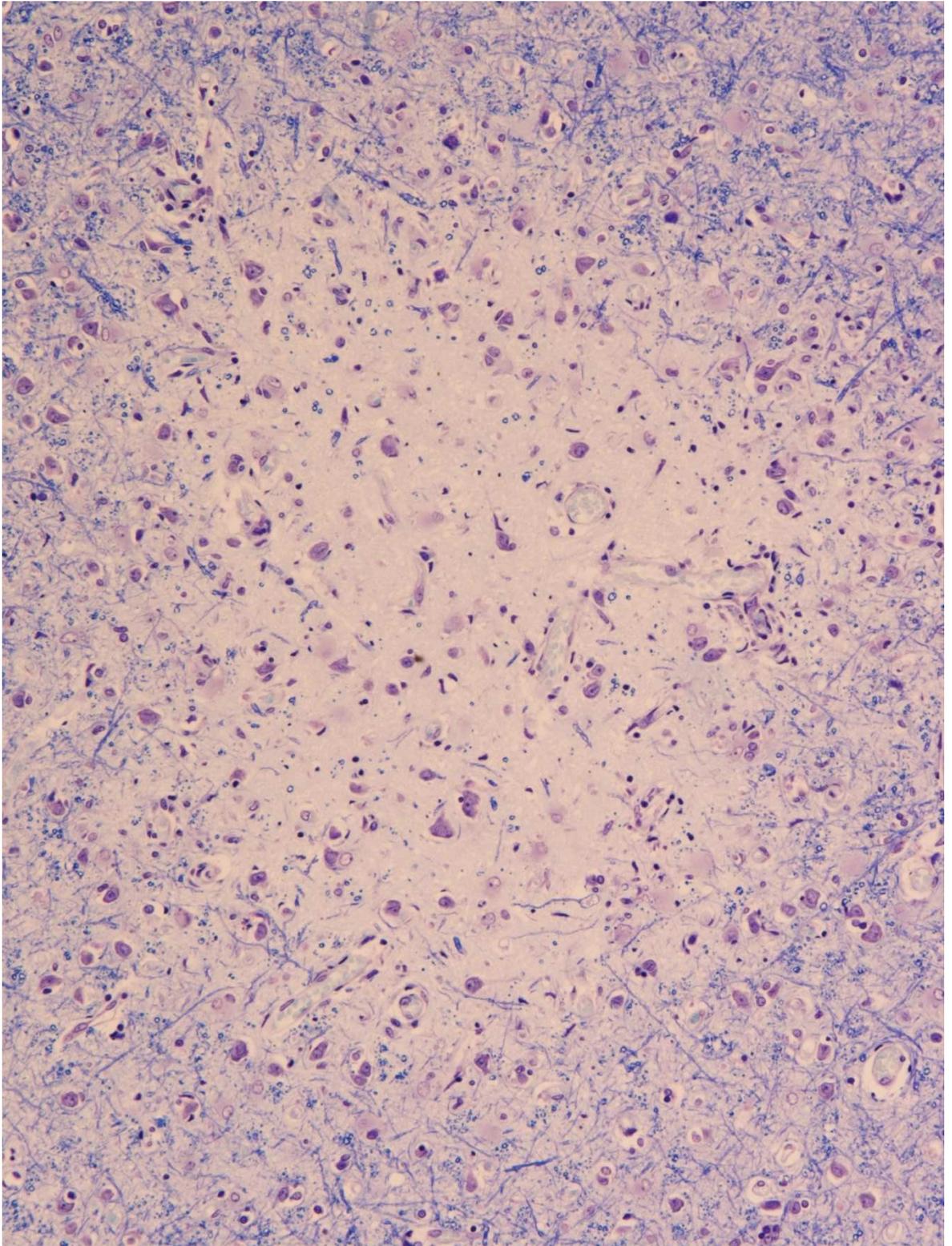


Abb. 6: Fall A: Ein weiterer rechts frontaler Entmarkungsherd in der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

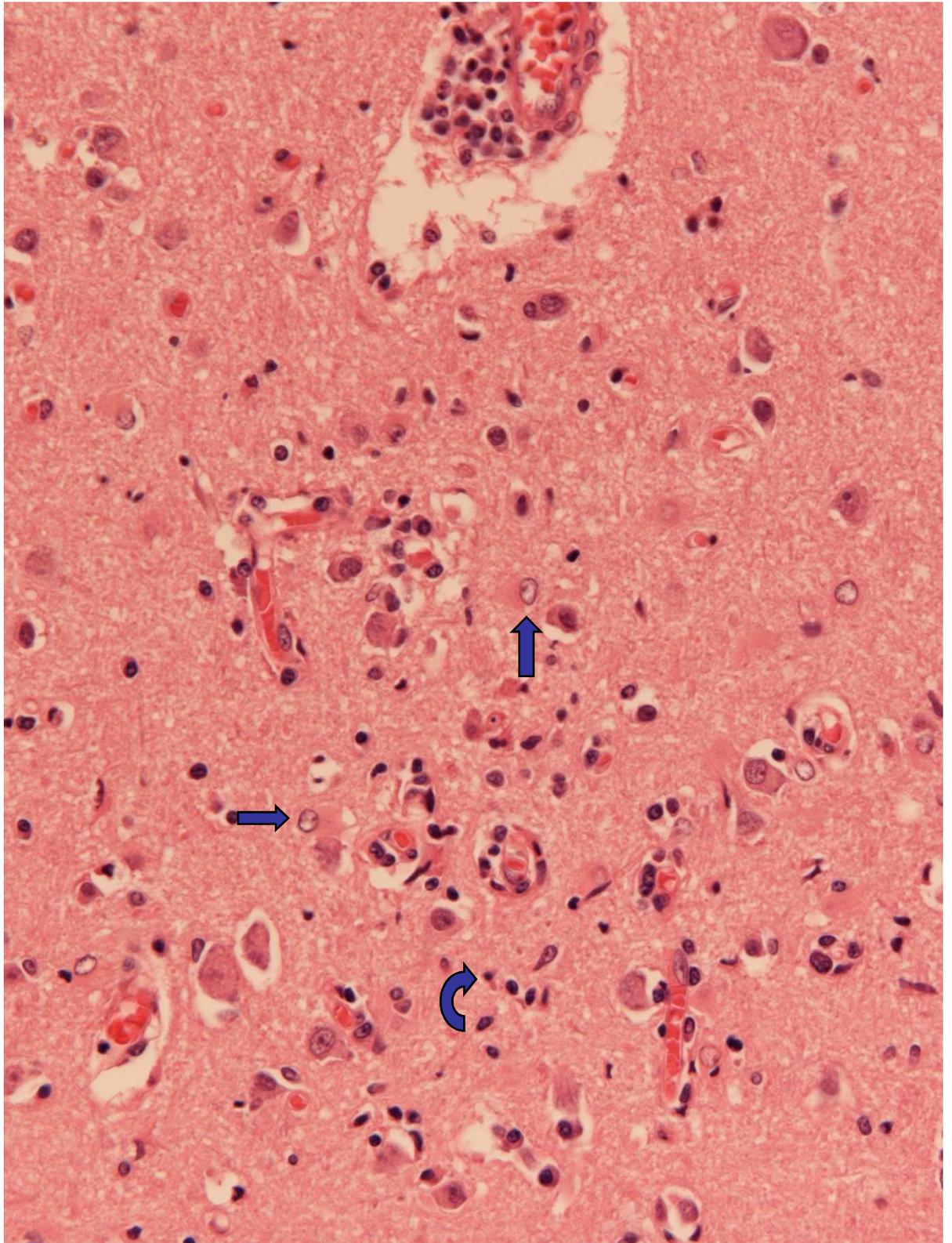


Abb. 7 Fall A: Entmarkungsherd mit Astrozytose (gerade Pfeile) und Mikrogliaaktivierung (gebogener Pfeil) in einem frühen PML-Herd; HE-Färbung

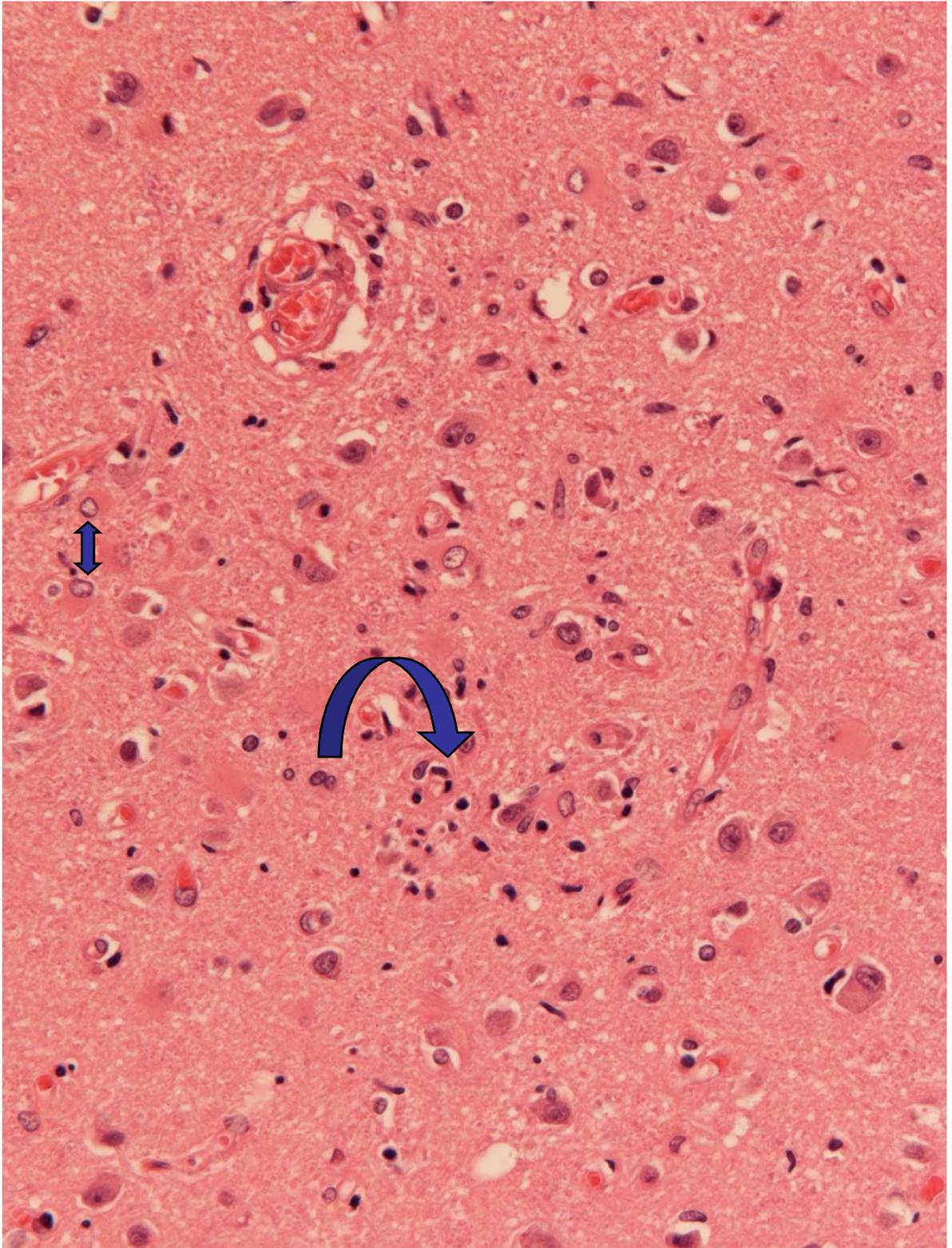


Abb. 8: Fall A: Entmarkungsherd mit Astrozytose (Doppelpfeil) und Mikroglia-aktivierung (gebogener Pfeil); HE-Färbung

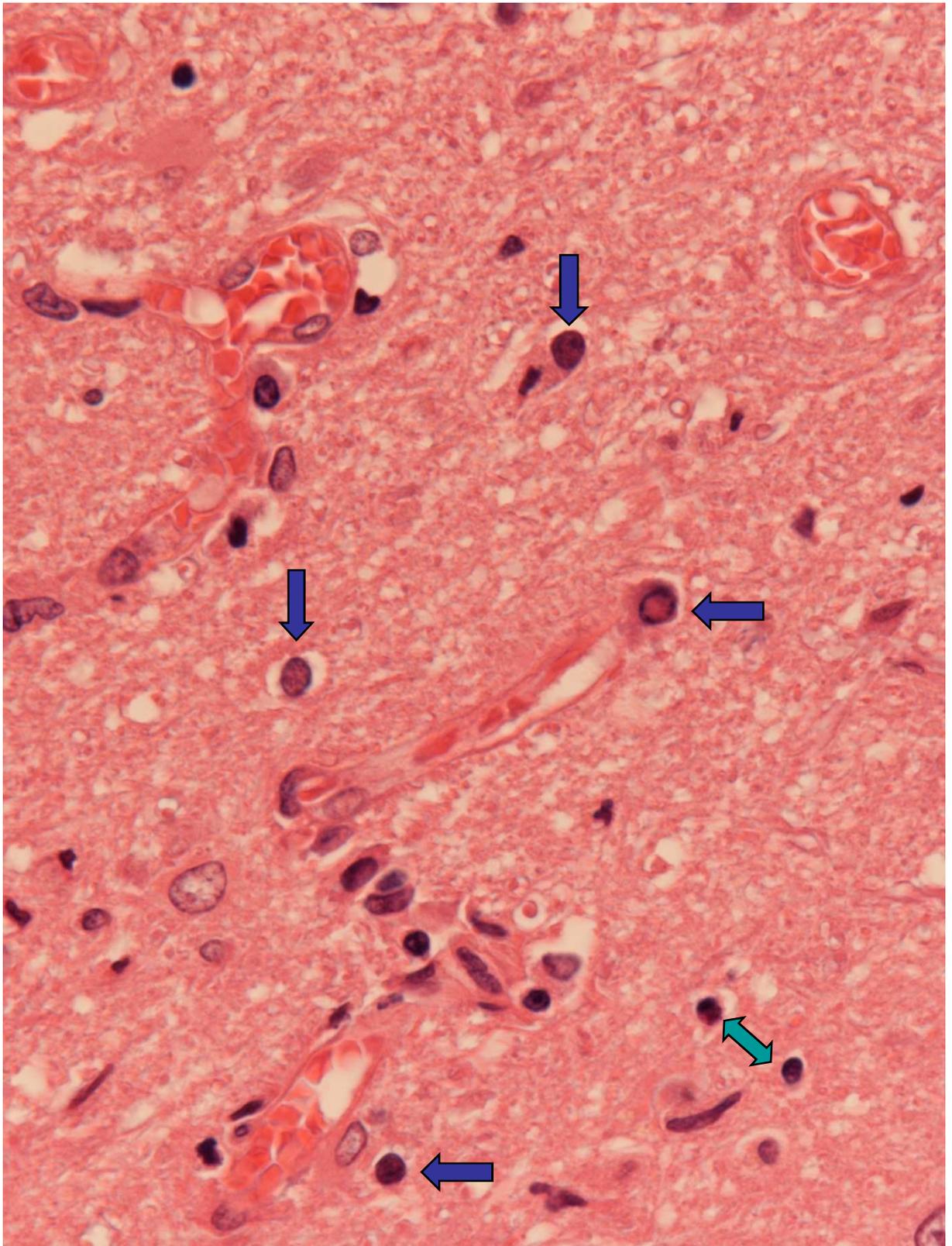


Abb. 9: Fall A: Zellen mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten (Pfeile) im Randbereich eines Entmarkungsherdes, zum Vergleich zwei normale Oligodendrozyten (Doppelpfeil); HE-Färbung

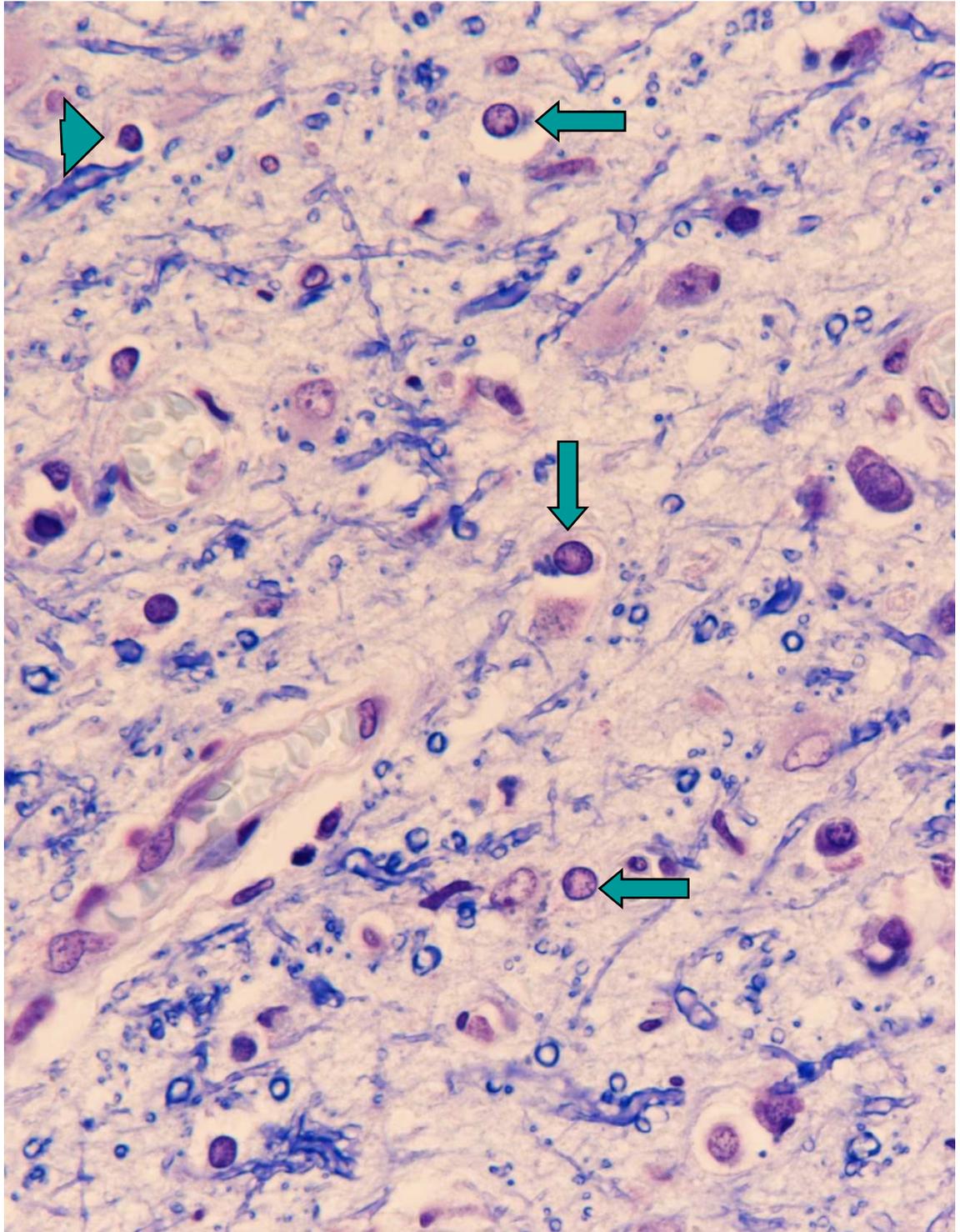


Abb. 10: Fall A: Zellen mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten (Pfeile) in einem Entmarkungsherd, normaler Oligodendrozyt (Pfeilspitze) zum Vergleich; Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera mit blau gefärbten Markscheidenfragmenten

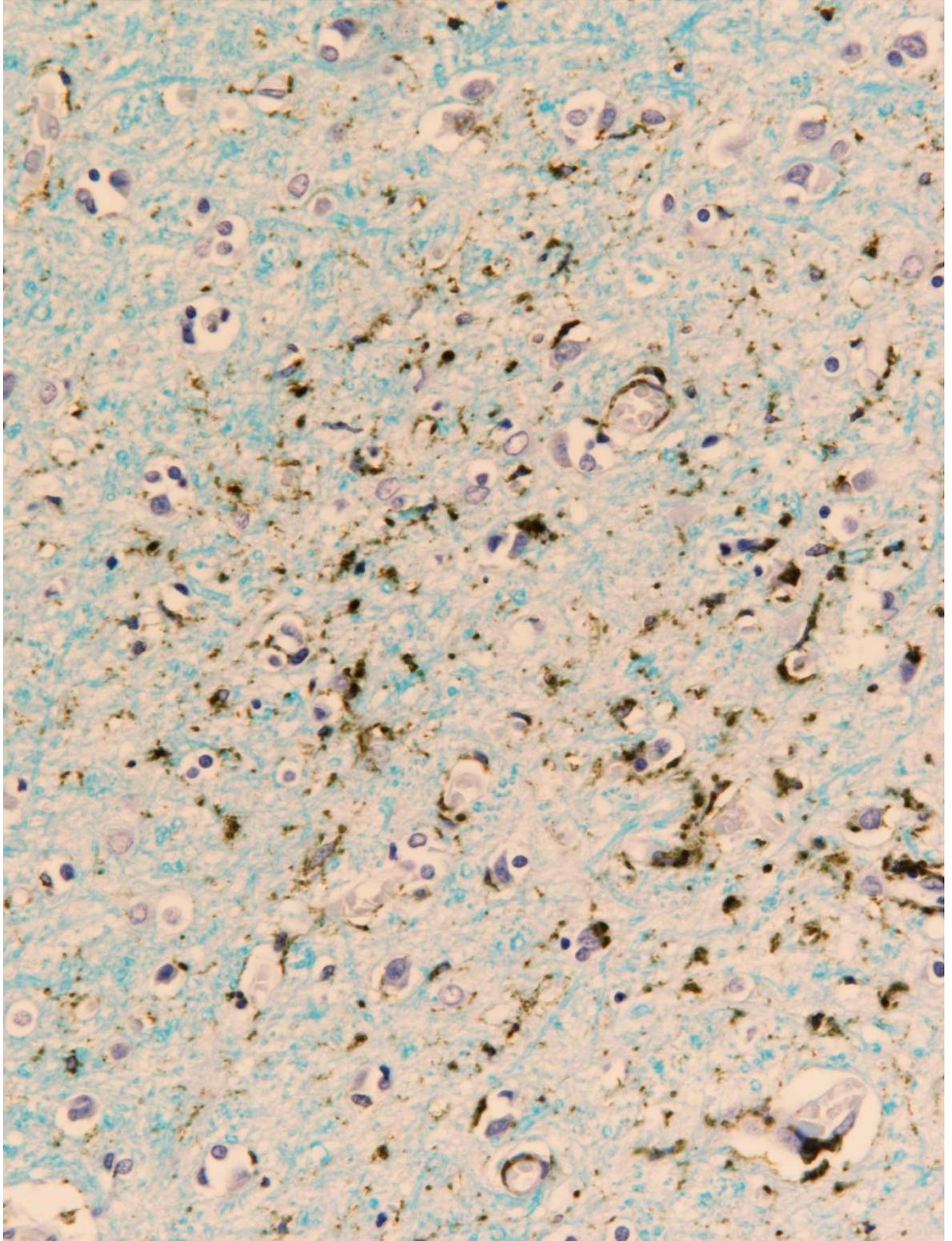


Abb. 11 Fall A: Mikrogliaaktivierung (braun gefärbte Zellen) in einem PML-Herd mit Markscheidenrarefizierung und -fragmentierung (verbliebene Markscheiden blau gefärbt); CD68-Immunhistologie kombiniert mit Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

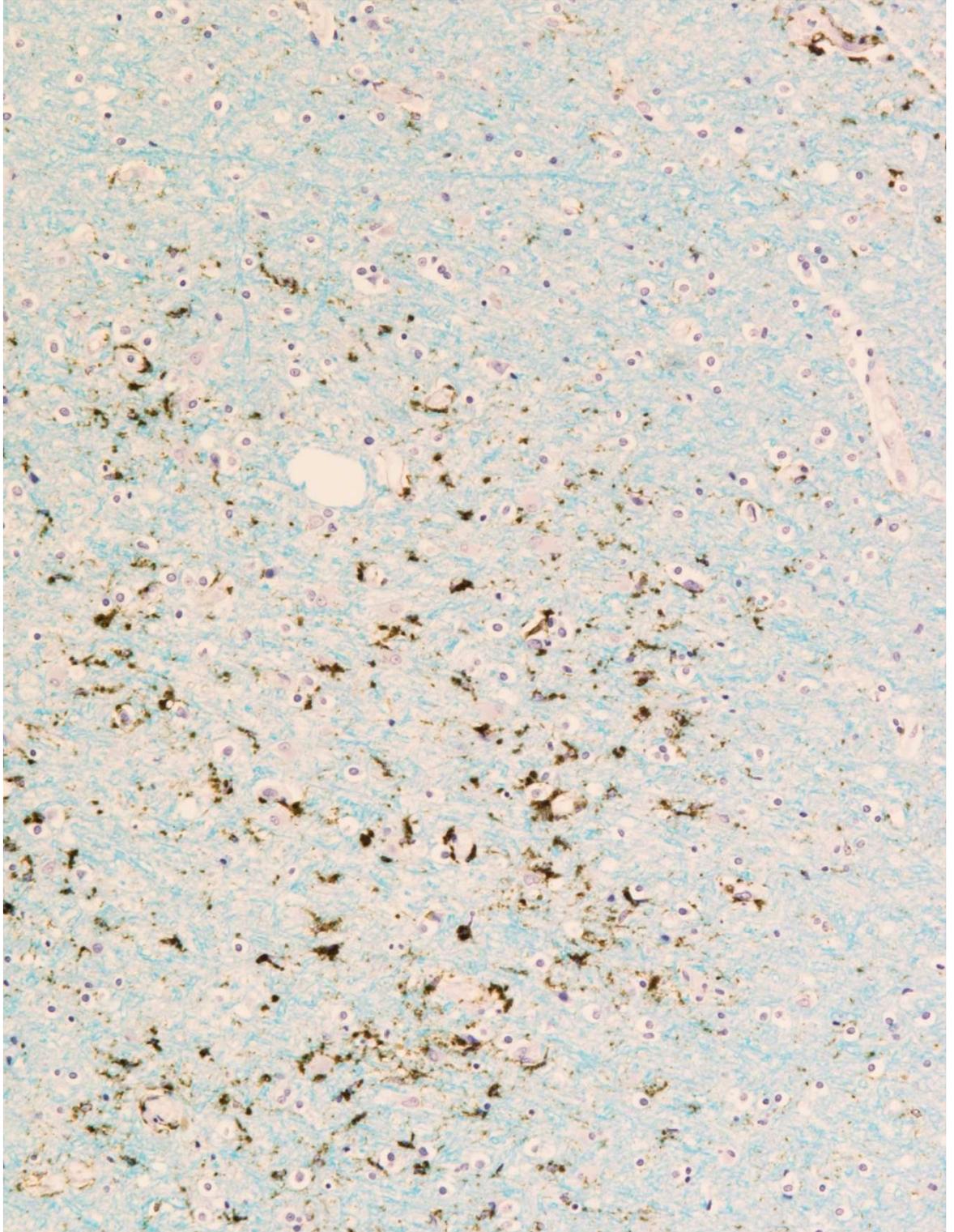


Abb. 12: Fall A: Übersichtsaufnahme eines Herdes mit Mikrogliaaktivierung (braun gefärbte Zellen) mit weitgehend erhaltenen Markscheiden (blau gefärbt); CD68-Immunhistologie kombiniert mit Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

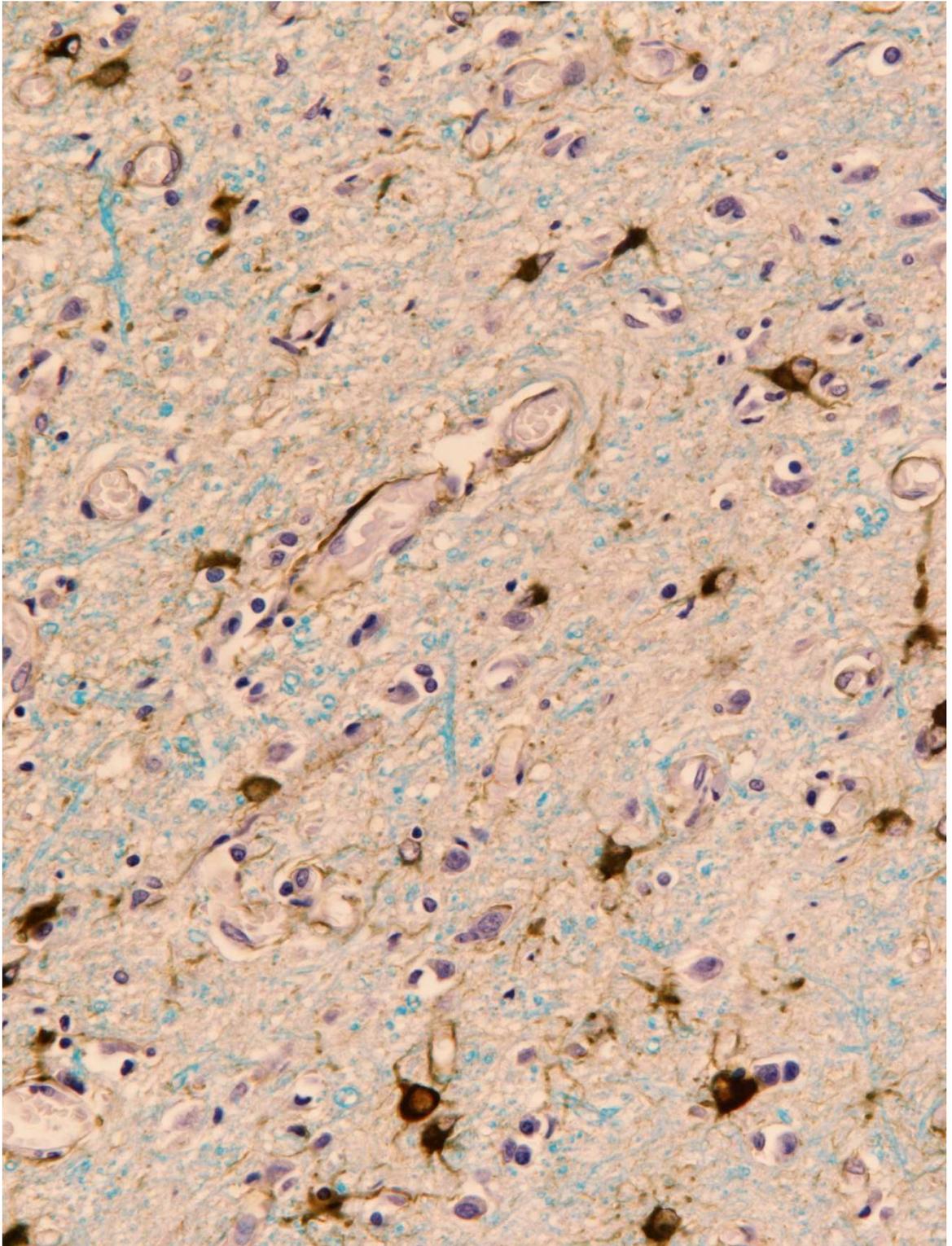


Abb. 13: Fall A: Herd mit Astrogliose (braun gefärbte Zellen) und Markscheiden-rarefizierung und -fragmentierung (verbliebene Markscheiden blau gefärbt); GFAP-Immunhistologie kombiniert mit Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

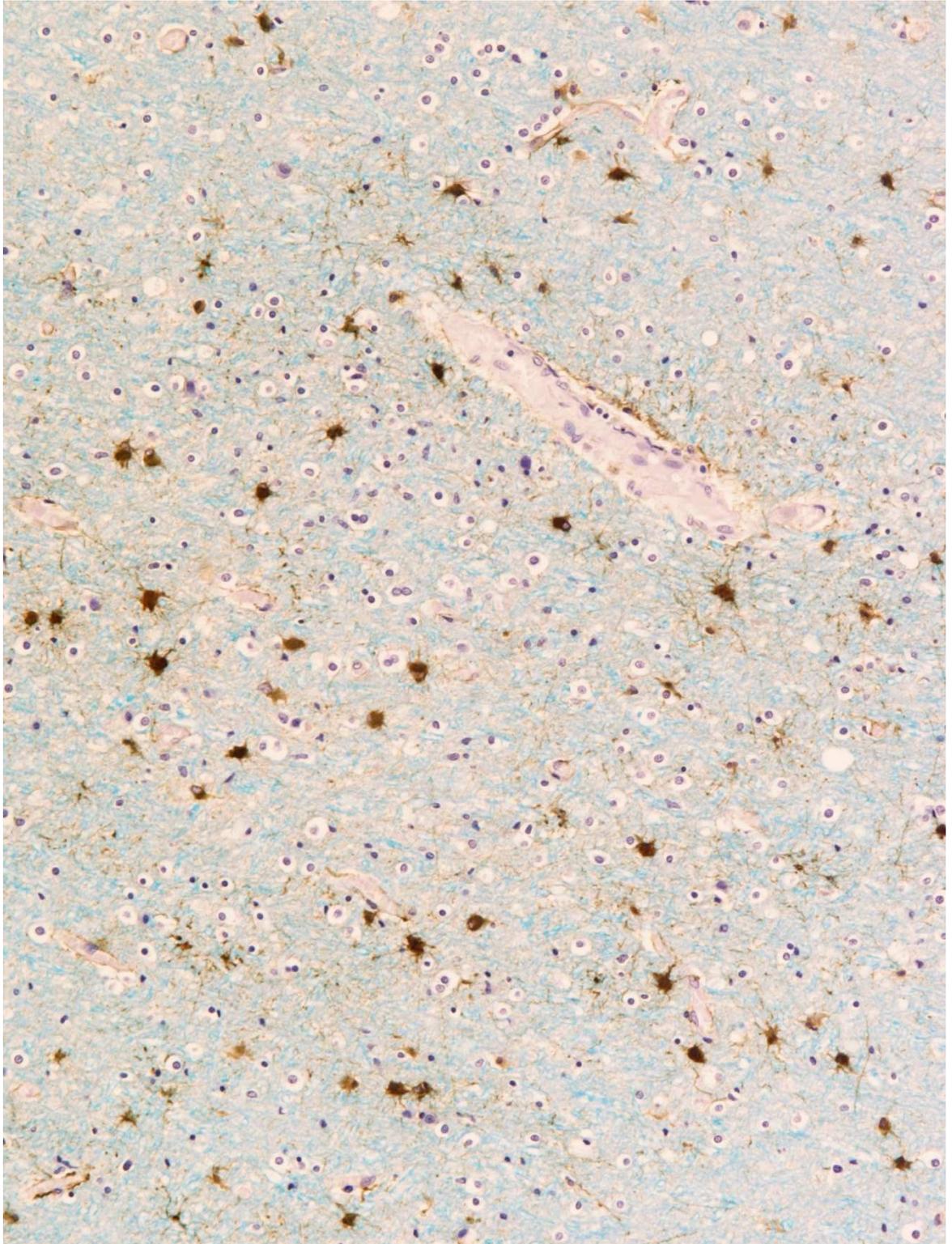


Abb. 14: Fall A: Übersichtsaufnahme eines Herde mit Astrogliose (braun gefärbte Zellen) mit weitgehend erhaltenen Markscheiden (blau gefärbt); GFAP-Immunhistologie kombiniert mit Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

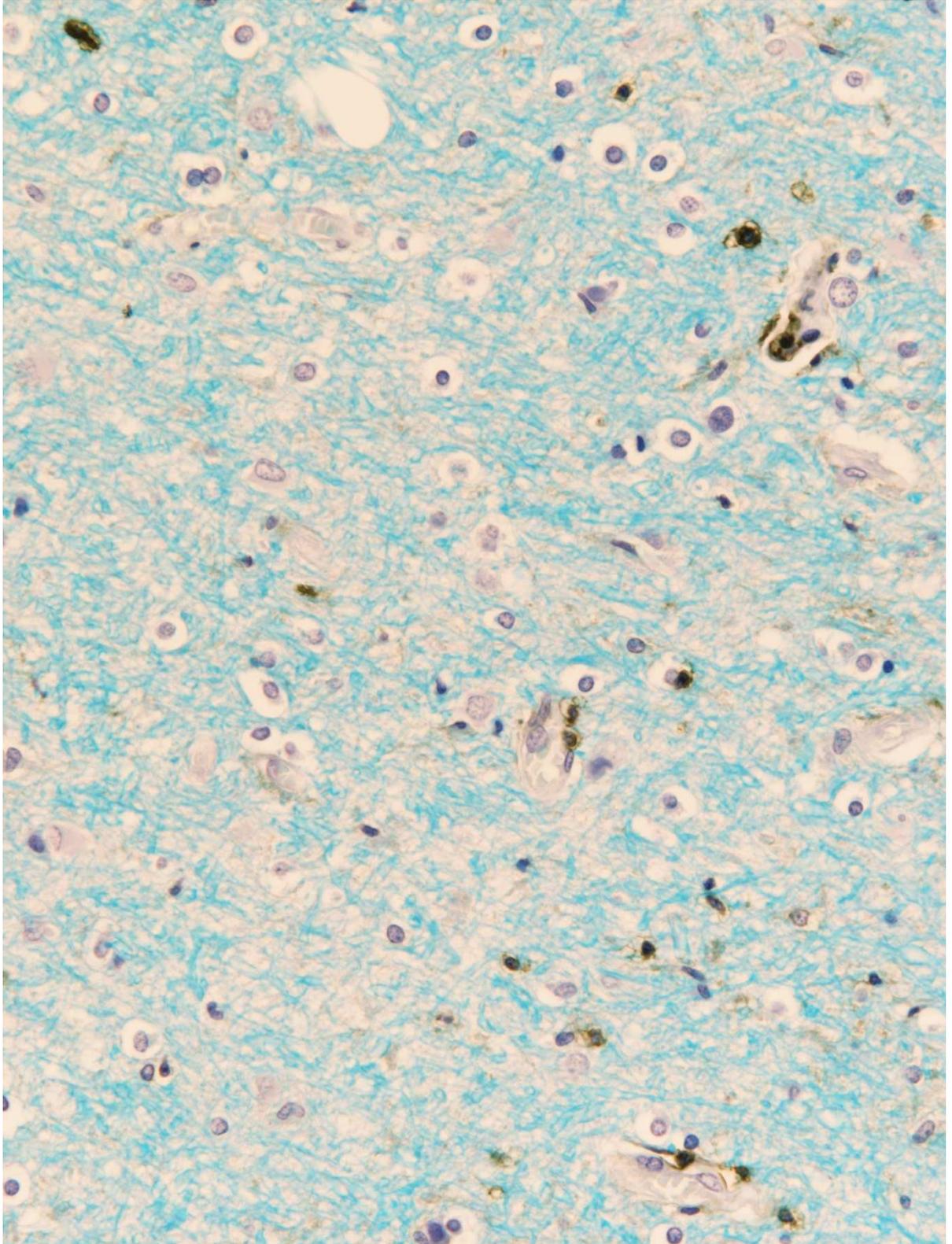


Abb. 15: Fall A: Herd mit CD45-positiven Zellen (braun gefärbte Zellen) und leichter Markfaserrarefifikation (Markscheiden blau gefärbt); CD45-Immunhistologie kombiniert mit Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera

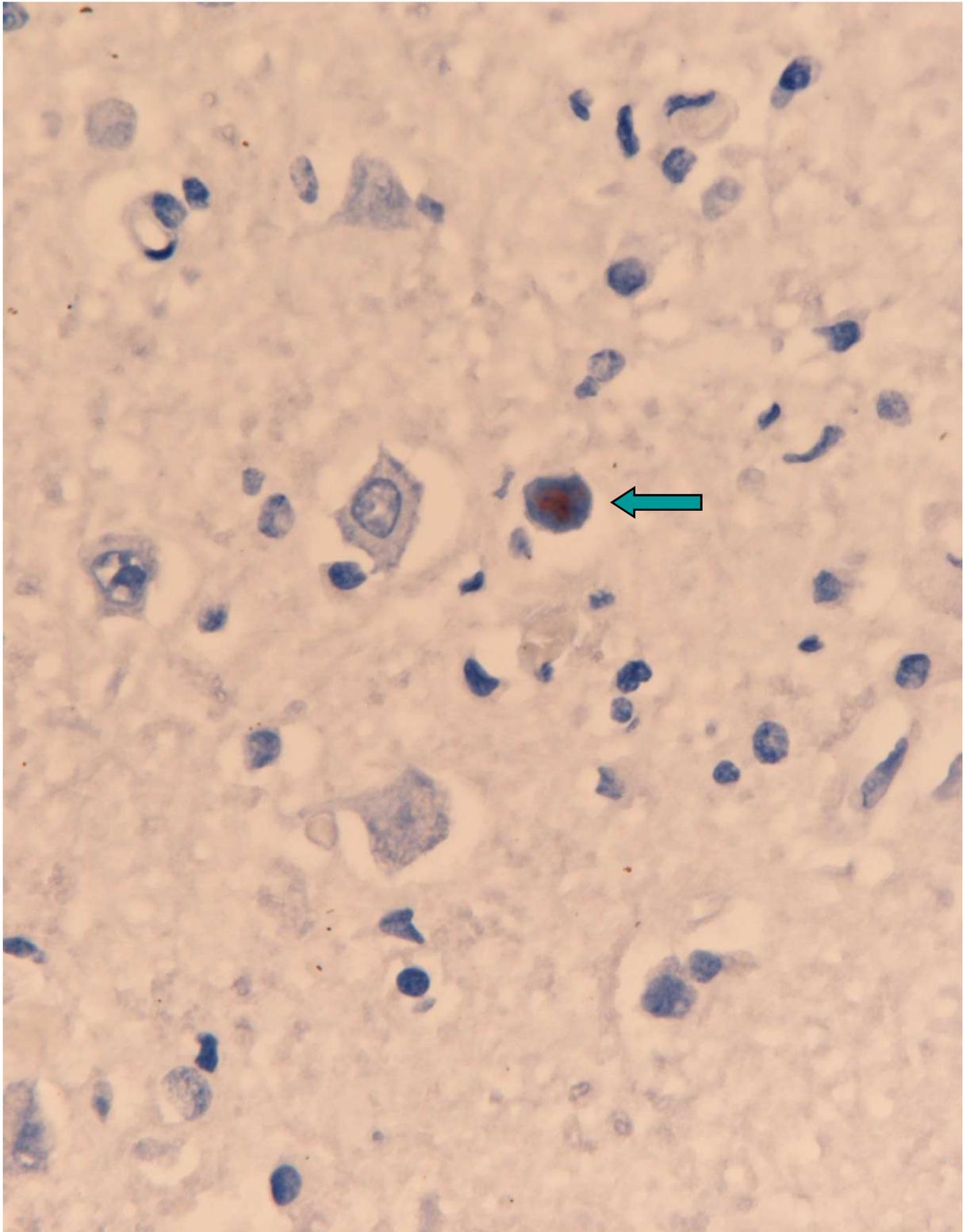


Abb. 16: Fall A: Mittels der JC-Virus- In-situ-Hybridisierung markierter vergrößerter Oligodendrozyt (rötlich gefärbte Zelle, Pfeil) in einem Entmarkungsherd

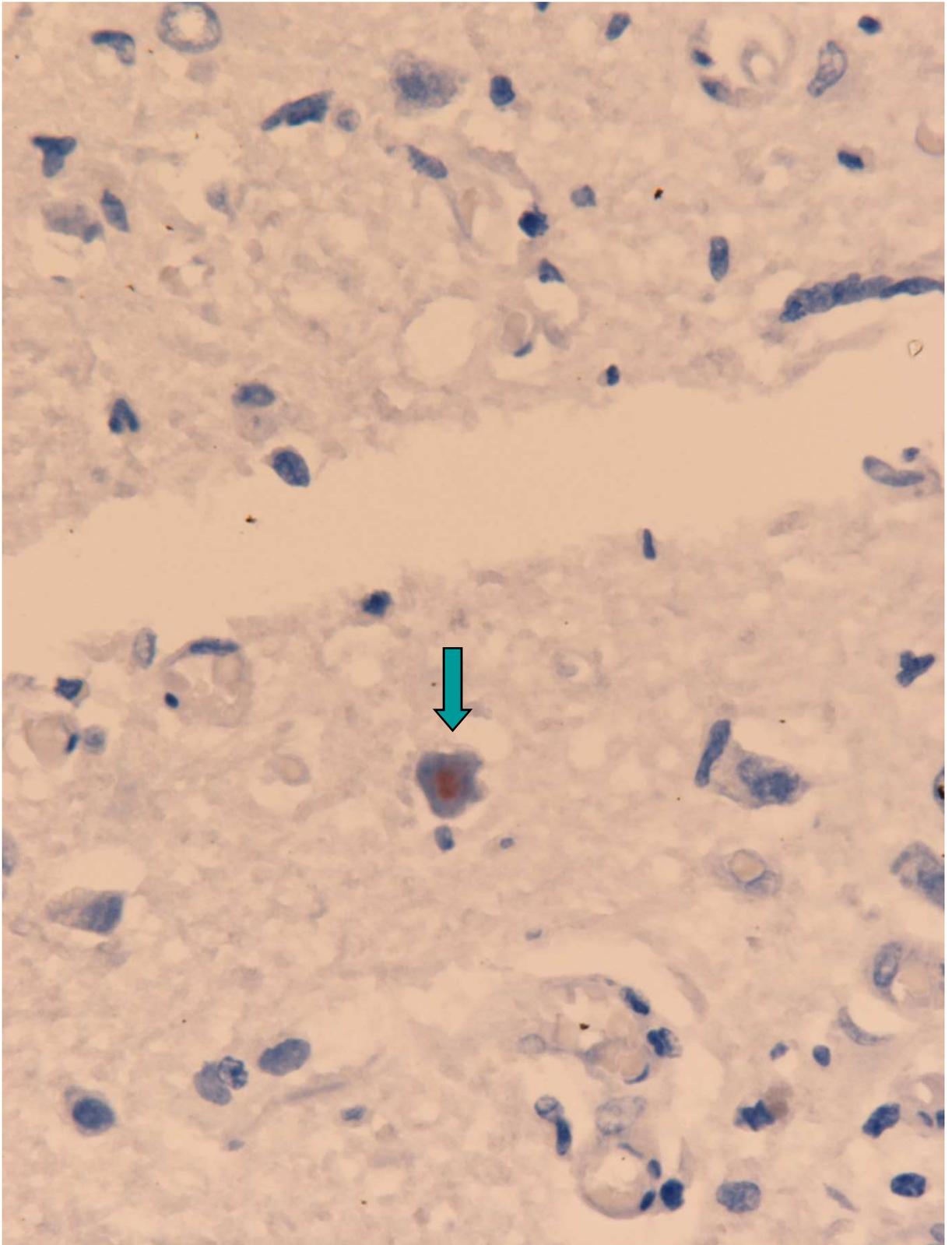


Abb. 17: Fall A: Mittels der JC-Virus- In-situ-Hybridisierung markierter vergrößerter Oligodendrozyt (rötlich gefärbte Zelle, Pfeil) in einem Entmarkungsherd

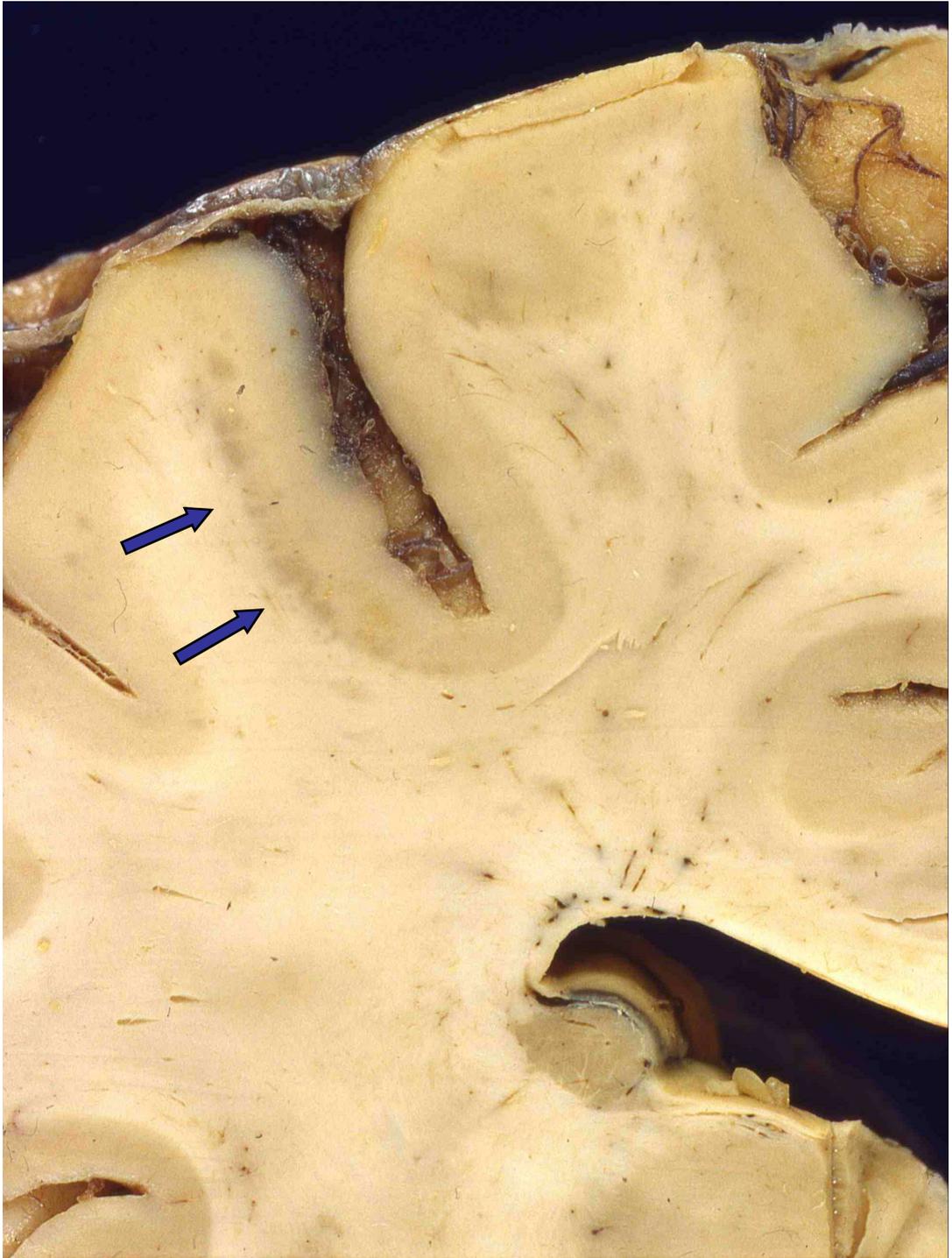


Abb. 18: Fall B: Konfluierende kortiko-subkortikale PML-Herde (Pfeile) links hochfrontal in einem Schnitt in Höhe der Corpora mamillaria

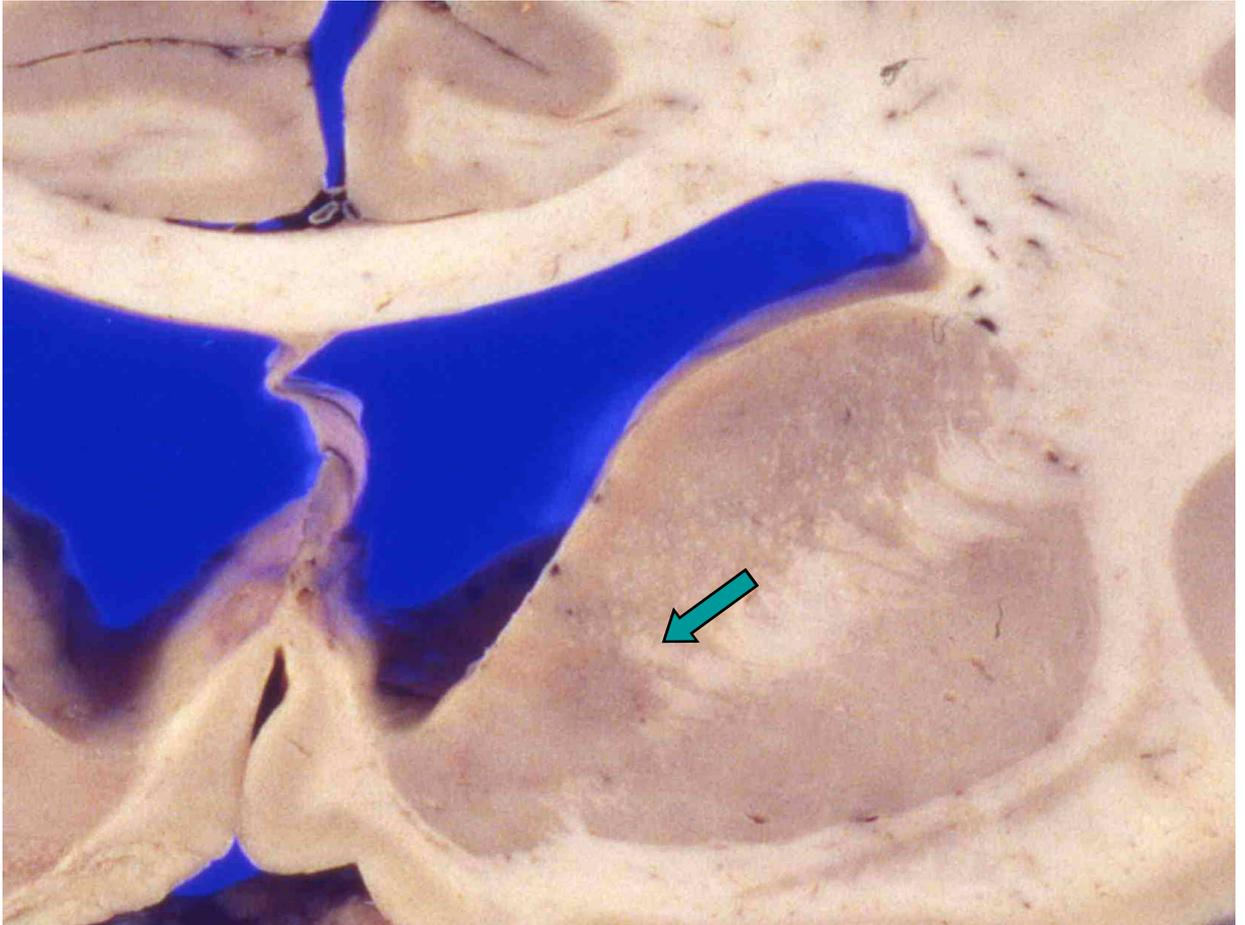


Abb. 19: Fall B: PML-Herd im rechten vorderen Stammganglienbereich (Pfeil)

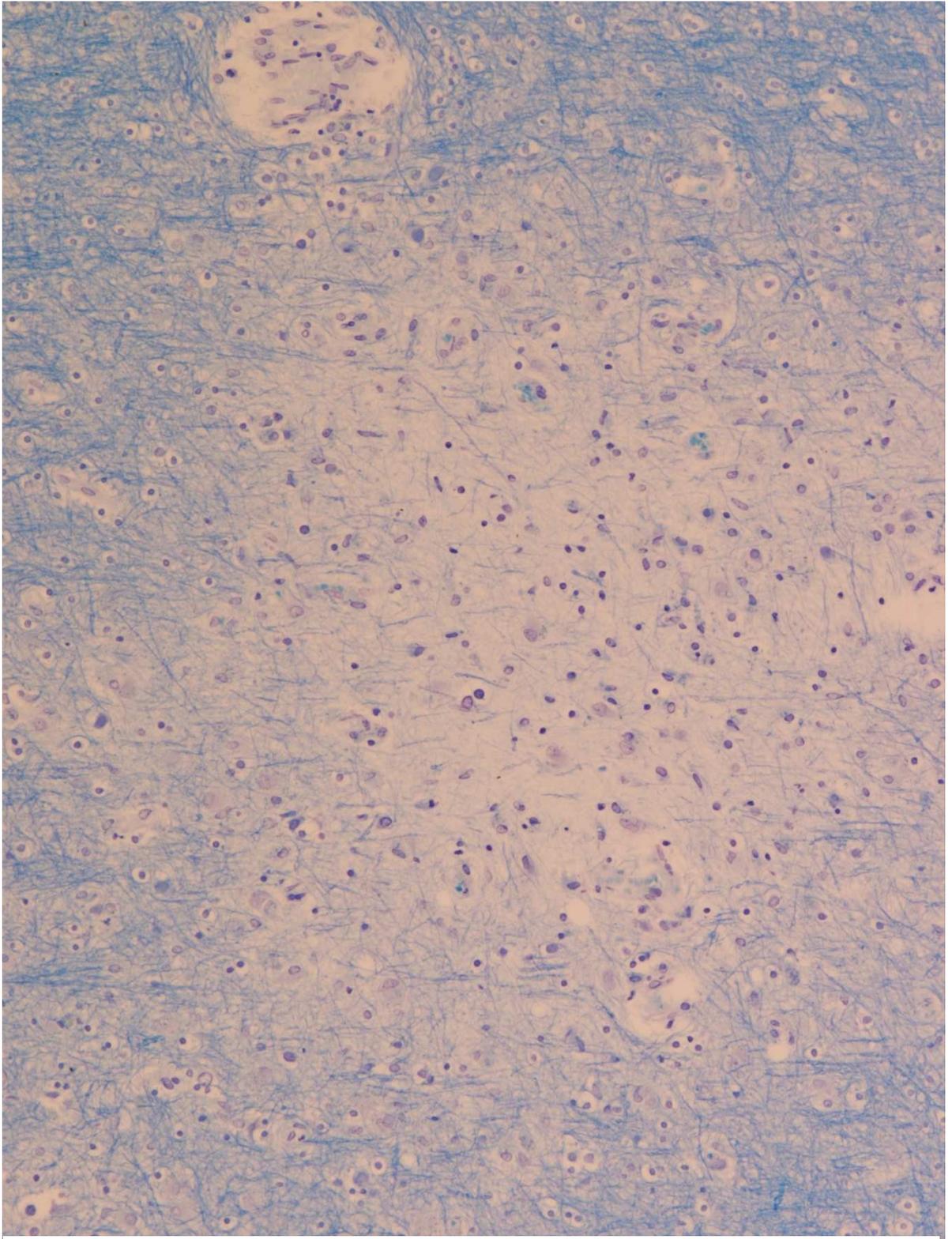


Abb. 20: Fall B: Deutlich sichtbarer Entmarkungsherd in der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (verbliebene Markscheiden blau gefärbt)



Abb. 21: Fall B: Deutlich sichtbarer Entmarkungsherd in der Markscheidenfärbung nach Klüver-Barrera (verbliebene Markscheiden blau gefärbt)

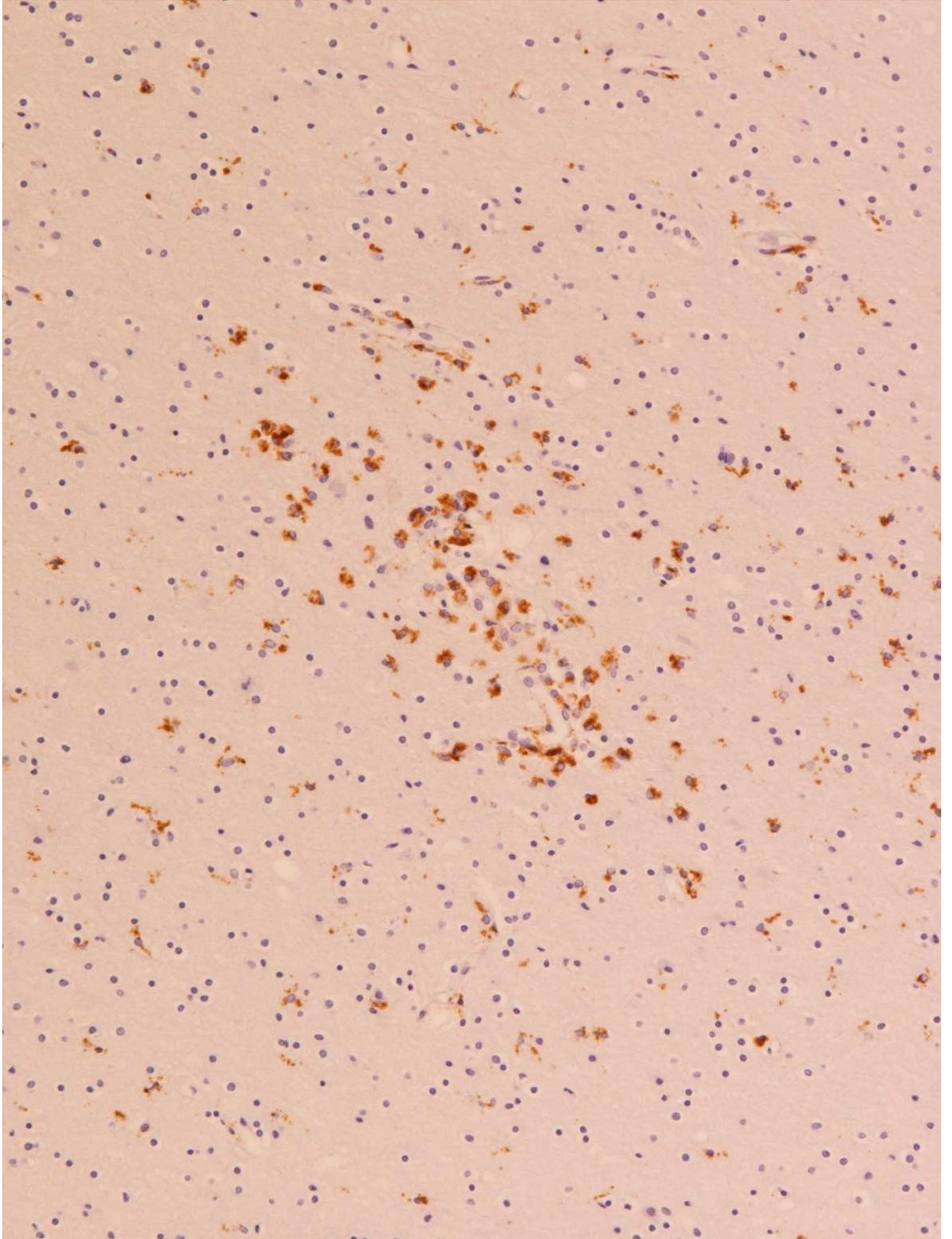


Abb.22: Fall B: PML-Herd mit zahlreiche CD68-positiven Zellen (braun gefärbt);  
CD 68-Immunhistologie

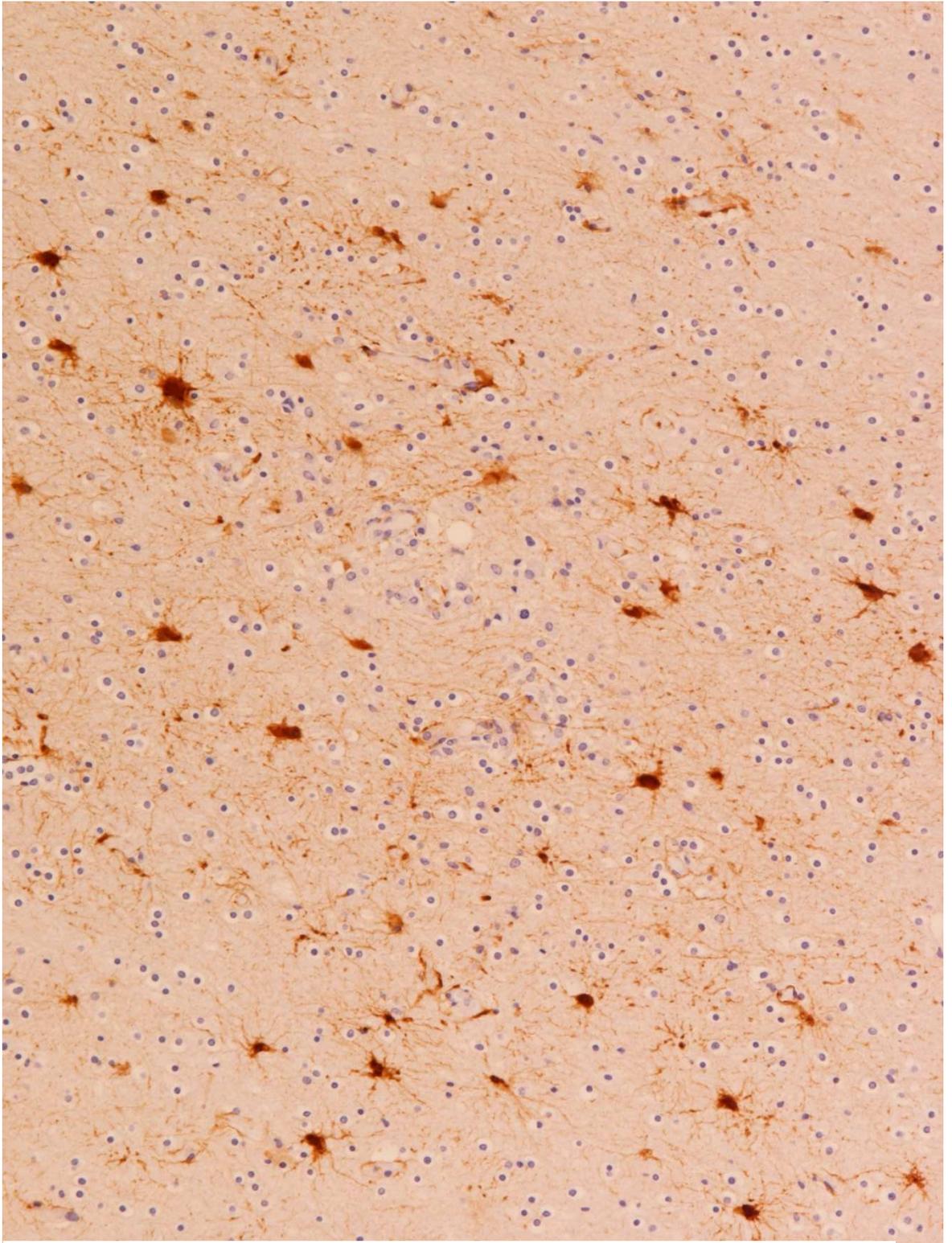


Abb. 23: Fall B: PML-Herd mit Astroglie (braun gefärbte Zellen) in der GFAP-Immunhistologie

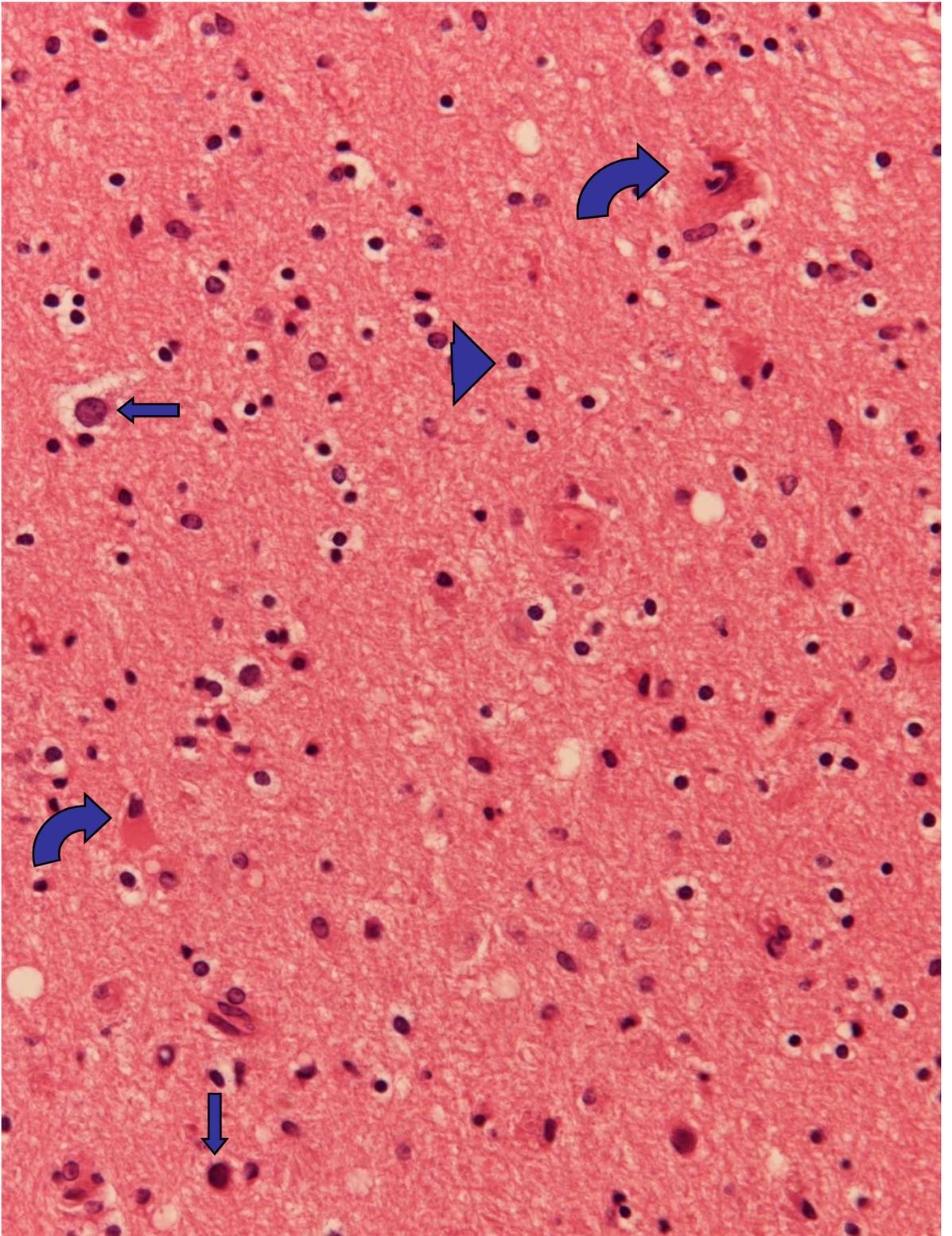


Abb.24: Fall B: Zellen mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten (Pfeile) (zum Vergleich normaler Oligodendrozyt: Pfeilspitze) im Randbereich eines PML-Herdes mit Astrogliose (gebogene Pfeile); HE-Färbung

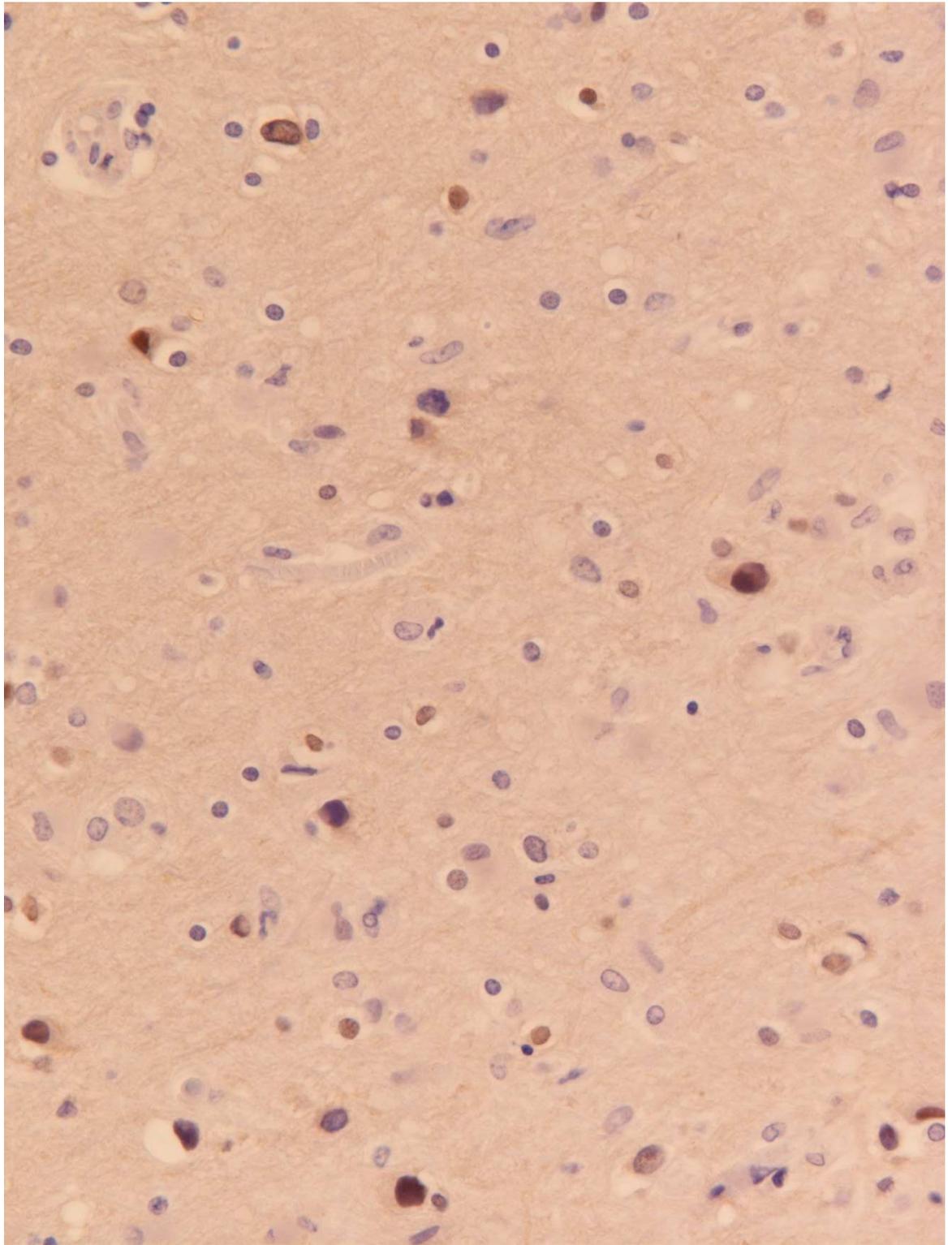


Abb. 25: Fall B: Mittels der JC-Virus-Immunhistologie nukleär markierte Zellen (braun gefärbt) mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten

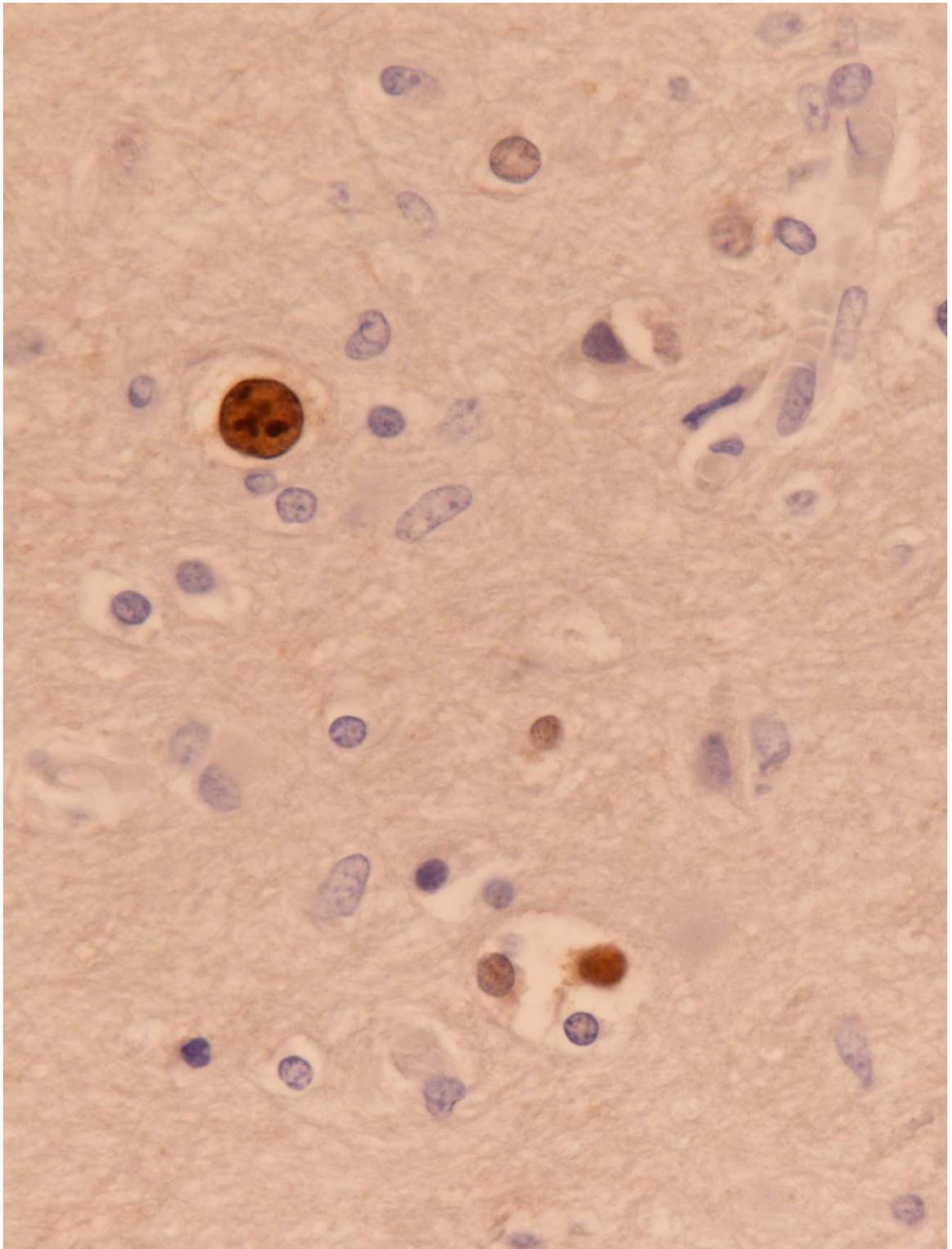


Abb. 26: Fall B: Mittels der JC-Virus-Immunhistologie nukleär markierte Zellen (braun gefärbt) mit der Morphologie vergrößerter Oligodendrozyten

## **10. Anhang**

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

Simone Jungjohann

## **Curriculum Vitae**

### **Simone Jungjohann, geb. Salewski**

Im Pader Buchen 8  
51580 Reichshof

### **Persönliche Angaben**

Geburtsdatum: 13. Juli 1968  
Geburtsort: Herne (Nordrhein-Westfalen)  
Familienstand: verheiratet  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Schulbildung**

1975-1979 Grundschule in Herne  
1979-1983 Haranni-Gymnasium in Herne  
1983-1985 Wüllenweber-Gymnasium in Bergneustadt  
1986-1989 Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium in Wiehl

### **Akademische Ausbildung**

1989-1990 Universität zu Köln, Erziehungswissenschaftliche Fakultät  
1990-1997 Justus-Liebig-Universität in Gießen, Studiengang Humanmedizin:  
1994 Ärztliche Vorprüfung  
1996 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
1997 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
1997-1998 Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn:  
1997-1998 Praktisches Jahr im Kreiskrankenhaus Lüdenscheid  
1998 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Berufliche Tätigkeit**

- 01.01.1999-30.06.1999 Ärztin im Praktikum im Institut für Neuropathologie der Justus-Liebig-Universität in Gießen
- 01.10.1999-30.09.2000 Ärztin im Praktikum in der Psychiatrischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Lüdenscheid
- 01.10.2000-31.03.2001 Assistenzärztin in der Psychiatrischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Lüdenscheid
- 01.01.2002-31.03.2005 Assistenzärztin in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Kreiskrankenhauses in Lüdenscheid
- 01.04.2005-28.02.2007 Assistenzärztin in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Kreiskrankenhauses in Gummersbach
- Seit dem 01.03.2007 Fachärztin für Kinder- und Jugendpsychiatrie und -psychotherapie in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Kreiskrankenhauses in Gummersbach

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. K. Kuchelmeister  
für die Überlassung des Themas, seine unermüdliche Hilfsbereitschaft  
und seine wohlwollende Betreuung

Meinem lieben Ehemann Rüdiger und meiner Familie für ihre Geduld  
und Unterstützung