

Aus dem Institut für Neuropathologie  
(Prof. Dr. med. W. Brück)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

---

**Kortikale Demyelinisierung bei entzündlichen, neoplastischen und  
metabolischen ZNS-Erkrankungen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

**Jadwiga Zyta Wozniak**

geboren in

Tarnowskie Gory (Polen)

Göttingen 2018

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent: Prof. Dr. med. W. Brück

Ko-Referent/in: Prof. Dr. J. Gärtner

Drittreferent/in: Prof. Dr. M. Oppermann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2018

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Kortikale Demyelinisierung bei entzündlichen, neoplastischen und metabolischen ZNS-Erkrankungen" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den .....

.....

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>IV</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Zielsetzung der Arbeit	1
1.2 Einführung in demyelinisierende Erkrankungen	2
1.3 Kategorisierung der ZNS-Erkrankungen mit kortikaler Pathogenese	3
1.3.1 Autoimmun-entzündliche Erkrankungen	3
1.3.1.1 MS	3
1.3.1.1.1 Epidemiologie/Ätiologie	3
1.3.1.1.2 Befallmuster/ Diagnosestellung	5
1.3.1.1.3 Klinik/ Verlaufsformen/Progression	5
1.3.1.1.4 Behandlung	7
1.3.1.1.5 Pathophysiologie der Demyelinisierung	7
1.3.1.1.6 Histologie	9
1.3.1.2 NMO	12
1.3.1.3 ADEM	13
1.3.2 Infektiöse Erkrankungen	14
1.3.2.1 Virale Infektionen	14
1.3.2.2 Bakterielle Infektionen	17
1.3.3 Neoplastische Erkrankungen	20
1.3.4 Metabolische Erkrankungen	20
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>22</b>
2.1 Autopsiekollektiv	22
2.2 Histologische und immunhistologische Methoden	24
2.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung	25
2.2.2 LFB-PAS	25

2.2.3	Silberimprägnation nach Bielschowsky .....	25
2.2.4	Immunhistochemie .....	26
2.3	<i>Läsions- und Infiltratklassifikation</i> .....	28
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>29</b>
3.1	<i>Klassisch demyelinisierende Erkrankungen</i> .....	31
3.1.1	Multiple Sklerose .....	31
3.1.2	Keine subpiale Demyelinisierung bei ADEM und NMO .....	32
3.1.3	PML und supiale Demyelinisierung .....	34
3.1.4	Kortikale Entmarkung bei der extrapontinen Myelinolyse .....	35
3.2	<i>Infektiöse Erkrankungen</i> .....	37
3.2.1	Akute meningeale Entzündungen .....	37
3.2.1.1	Akute bakterielle Infektionen .....	37
3.2.1.2	Virale Infektionen außer PML .....	37
3.2.2	Chronische Infektionen .....	38
3.2.2.1	Chronisch granulomatöse bakterielle Infektionen .....	38
3.2.2.2	Kortikale Pathologie bei chronisch viralen Infektionen .....	39
3.3	<i>Neoplastische Erkrankungen der Hirnhäute</i> .....	41
3.3.1	Lymphome und Plasmozytome .....	41
3.3.2	Meningeosis carcinomatosa .....	41
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>43</b>
4.1	<i>Einleitung: Demyelinisierung als krankheitsspezifisches Phänomen</i> .....	43
4.2	<i>Zytokine und Chemokine prägen ein krankheitsspezifisches Milieu</i> .....	43
4.4	<i>Genetische Grundlagen bedingen das Demyelinisierungsverhalten</i> .....	47
4.5	<i>Erhebliche Unterschiede zwischen weißer und grauer Substanz</i> .....	48
4.6	<i>Myelinschädigung bei hypoxisch-ischämischen Geschehen</i> .....	49
4.7	<i>Subpiale bandförmige Läsionen sind MS-spezifisch</i> .....	49
4.8	<i>Ausblick</i> .....	51

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>Abstract .....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>61</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ADEM	Akut disseminierte Enzephalomyelitis
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
AIDS	<i>acquired immune deficiency syndrome</i>
APP	<i>amyloid precursor protein</i>
APZ	Antigen-präsentierende Zelle
AQP4	Aquaporin-4
BDNF	<i>brain-derived neurotrophic factor</i>
CFA	Freunds complete adjuvans
CMV	Zytomegalievirus
CNP	<i>2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase</i>
EPM	Extrapontine Myelinolyse
CPM	Zentrale Pontine Myelinolyse
CXCL	<i>chemokine C-X-C motif ligand</i>
CCL	<i>chemokine C-C motif ligand</i>
DAB	3, 3'-Diaminobenzidin
dest.	Destilliert
DLBCL	<i>diffuse large B-cell lymphoma</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAE	Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FFPE	<i>formalin fixed paraffin embedded</i>
GFAP	<i>glial fibrillary acidic protein</i>
GM	<i>grey matter</i>
gp120	<i>HIV-1 envelope glycoprotein</i>
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
HPF	<i>high power field</i>
HSV	Herpes-simplex-Virus
iNOS	NO-Synthase

IHC	Immunhistochemie
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
LFB-PAS	<i>luxol fast blue-periodic acid schiff</i>
MAG	<i>myelin associated glycoprotein</i>
MBP	<i>myelin basic protein</i>
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MOG	<i>myelin oligodendrocyte glycoprotein</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NADP	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NMO	Neuromyelitis Optica
NO	Stickstoffmonoxid
P0	Protein Null
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung/engl.: Phosphate Buffered Saline
PCNSL	<i>primary central nervous system lymphoma</i>
PLP	Proteolipid-Protein
PML	Progressive multifokale Leukenzephalopathie
PNS	Peripheres Nervensystem
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
ssp.	Subspecies
SSPE	Subakute sklerosierende Panenzephalitis
Tat	<i>transactivator of transcription</i>
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TLR	Toll-like-Rezeptoren
TMEV	Theiler's Murine Enzephalomyelitis Virus
TNF	Tumornekrosefaktor
WM	<i>white matter</i>
ZNS	Zentrales Nervensystem



## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Semiquantitative Beurteilung der zellulären meningealen Infiltration in allen untersuchten Autopsiefällen.....	30
<b>Abbildung 2:</b> Kortikal demyelinisierte MS-Läsionen.....	31
<b>Abbildung 3:</b> Leukokortikale Demyelinisierung bei der ADEM .....	33
<b>Abbildung 4:</b> Kortikale Demyelinisierung in der PML.....	35
<b>Abbildung 5:</b> Kortiko-subkortikale Demyelinisierung in der extrapontinen Myelinolyse.....	36
<b>Abbildung 6:</b> Subpiale Myelinscheiden sind bei akuten bakteriellen und viralen Infektionen (HSV) erhalten .....	38
<b>Abbildung 7:</b> Intaktes subpiales Myelin bei der meningealen TBC .....	39
<b>Abbildung 8:</b> Kein Hinweis kortikaler Demyelinisierung in der SSPE .....	40
<b>Abbildung 9:</b> Erhaltene subpiale Myelinscheiden in einer Vielzahl von Erkrankungen mit meningealer neoplastischer Zellinfiltration .....	42

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Untersuchte Krankheitsentitäten des ZNS.....	23
<b>Tabelle 2:</b> Antikörper der IHC und Färbeverfahren .....	27
<b>Tabelle 3:</b> Ausführliche Beschreibung der untersuchten Autopsiefälle .....	55

# 1 Einleitung

## 1.1 Zielsetzung der Arbeit

Die kortikale Demyelinisierung ist ein häufiges Phänomen bei der Multiplen Sklerose (MS), auch Enzephalomyelitis disseminata genannt (Albert et al. 2007; Kutzelnigg und Lassmann 2005). Dabei stellen subpiale Läsionen bezogen auf die Fläche den größten Anteil der Läsionen im Kortex dar, was die subpiale Demyelinisierung im Allgemeinen als ein Charakteristikum der MS erscheinen lässt (Bo et al. 2003 b). Die kortikale und insbesondere subpiale Pathologie ist dabei deutlich mit meningealer Entzündung assoziiert (Howell et al. 2011; Lucchinetti et al. 2011; Magliozzi et al. 2007). Damit liegt die Überlegung nahe, dass möglicherweise auch andere Erkrankungen mit meningealen, zellulär infiltrativen Prozessen des zentralen Nervensystems (ZNS), inflammatorischer oder auch neoplastischer Genese, zu einer kortikalen Schädigung des Myelins führen können und welches Gewebemilieu grundsätzlich eine subpiale/kortikale Myelinschädigung nach sich zieht. Beschrieben ist, dass in seltenen Fällen das primäre ZNS-Lymphom mit fokaler Demyelinisierung assoziiert ist (Alderson et al. 1996; Hussein et al. 2012), wobei eine kortikale Demyelinisierung in diesem Zusammenhang bisher nicht festgestellt werden konnte (Hart und Earle 1975).

Besonders bei lang anhaltenden kortikalen Pathologien, die mit einer chronischen Infiltration durch Entzündungszellen oder neoplastische Zellkomponente einhergehen, wie das beispielsweise bei der Syphilis, der Tuberkulose (TBC) oder der subakuten sklerosierenden Panenzephalitis (SSPE) der Fall ist, stellt sich die Frage, ob auch diese Erkrankungen zu einer subpialen bzw. kortikalen Demyelinisierung führen können.

Um zu untersuchen, dass subpiale Entmarkung gegebenenfalls neben der MS auch in anderen demyelinisierenden Erkrankungen auftritt oder einzigartig für diese Erkrankung ist, wurden Autopsiefälle der Neuromyelitis optica (NMO/Devic), der akuten disseminierten Enzephalomyelitis (ADEM), der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) und der extrapontinen Myelinolyse in diese Studie miteinbezogen. Seltene pathologische Bedingungen, wie Vergiftungen oder genetische Erkrankungen, die eine Demyelinisierung verursachen können, sind in diese Arbeit nicht miteingeflossen.

Ziel dieser Dissertation war es, eine große Kohorte unterschiedlicher ZNS-Erkrankungen mit einer Vielzahl an kortikalen zellulären Infiltrations- und Zytokinmustern hinsichtlich der

Integrität der kortikalen Myelinscheiden zu untersuchen und diese zu vergleichen. Durch die Erkenntnisse dieser Arbeit können entscheidende Rückschlüsse auf die Pathophysiologie des kortikalen Myelinverlustes, insbesondere bei der MS, getroffen werden.

## **1.2 Einführung in demyelinisierende Erkrankungen**

Demyelinisierung bezeichnet den isolierten Verlust der Myelinscheiden bei relativem Axonerhalt als Auswirkung auf einen Schaden des Myelins oder der Myelin bildenden Zellen (Adams und Kubik 1952). Der Prozess der Demyelinisierung wird durch verschiedene Mechanismen und unterschiedliche Konditionen hervorgerufen, die Oligodendrozyten oder die Myelinscheide schädigen. Dadurch kann eine Einteilung demyelinisierender Erkrankungen nach ihrer Pathogenese erfolgen. Die gängige Klassifikation dieser Erkrankungen umfasst ein großes Spektrum: Inflammatorische Demyelinisierung hervorgerufen durch autoimmune oder virale Prozesse, metabolische oder toxische Formen der Entmarkung und Myelinschädigung durch hereditäre Erkrankungen (Lassmann 2001; Love 2006).

Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über bekannte demyelinisierende Erkrankungen gegeben werden, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden.

Die am weitesten verbreitete demyelinisierende Erkrankung ist die MS, bei der eine autoimmun-inflammatorische Genese wahrscheinlich ist. Zu Sonderformen zählen die konzentrische Sklerose (Balo) und die myelinoklastische diffuse Sklerose (Enzephalitis periaxialis diffusa Schilder). Andere, bereits erwähnte entzündlich demyelinisierende Erkrankungen sind die ADEM, die eine perivaskuläre Entmarkung um kleine Gefäße verursacht und para- bzw. postinfektiös auftreten kann und die NMO, bei der AQP-4-Antikörper eine astrozytäre Pathologie mit sekundärer Entmarkung auslösen (Love 2006).

Zu den viralen Auslösern eines selektiven fokalen Myelinverlustes im ZNS gehört beim Menschen vor allem die PML, die insbesondere bei immunkompromittierten Patienten durch eine Infektion von Oligodendrozyten mit dem John-Cunningham-Virus (JC-Virus) eine Entmarkung hervorruft. Auch bei der SSPE, einer chronischen ZNS-Erkrankung, die durch Masernviren verursacht wird, ist Demyelinisierung beschrieben (Love 2006). Des Weiteren kann eine HIV-Infektion (*human immunodeficiency virus*) unter Umständen zur Enzephalitis und Myelinschädigung der weißen Substanz führen (Langford et al. 2002; Corral et al. 2004; Gray et al. 2003).

Eine metabolisch bedingte Demyelinisierung findet sich bei der zentralen pontinen oder extrapontinen Myelinolyse (CPM/EPM), bei der intra- und extrazelluläre Elektrolytverschiebungen im ZNS eine ursächliche Rolle spielen. Dabei führt ein häufig iatrogen, zu schneller Ausgleich einer länger bestehenden Hyponatriämie zur osmotisch bedingten Oligodendrozytenschädigung in der Pons, aber auch in anderen Regionen des ZNS (Martin 2004).

Zu den demyelinisierenden Erkrankungen toxischer Genese zählen weiterhin die Intoxikationen mit Kohlenstoffmonoxid oder mitochondrialen Toxinen, wie Cyaniden oder Schwefelwasserstoffen (Wilson 1983; Solnyshkova und Shakhlamov 2002).

Können Myelinscheiden nicht adäquat gebildet oder erhalten werden, spricht man von Leukodystrophien. Dies sind sehr seltene, genetisch bedingte neurometabolische Erkrankungen, die im Kindesalter auftreten und durch die verschiedenen Stoffwechselprozesse des ZNS eine unterschiedliche Neuropathologie aufweisen (Kuhlmann 2012).

### **1.3 Kategorisierung der ZNS-Erkrankungen mit kortikaler Pathogenese**

#### **1.3.1 Autoimmun-entzündliche Erkrankungen**

##### **1.3.1.1 MS**

Die MS ist die am weitesten verbreitete demyelinisierende Erkrankung des ZNS und stellt die häufigste Ursache einer neurologischen Behinderung im jungen Erwachsenenalter dar (Noseworthy et al. 2000). In Deutschland wird die Zahl der Erkrankten auf 150.000–180.000 geschätzt. Weltweit sind es etwa 2,5 Mio. Menschen, die an MS leiden (Hein und Hopfenmüller 2000). Am häufigsten sind junge Frauen mittleren Alters betroffen.

##### **1.3.1.1.1 Epidemiologie/Ätiologie**

Bisher konnte die Genese der Erkrankung nicht zufriedenstellend geklärt werden. Pathogenetisch nimmt man jedoch an, die MS sei ein autoimmuner Prozess mit Reaktionen gegen Myelinbestandteile. Dabei spielt wahrscheinlich eine Kombination aus genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen in der Ätiologie der MS als heterogene Erkrankung eine wichtige Rolle.

Es gibt Hinweise auf eine familiäre Häufung der Erkrankung. Das Risiko, an MS zu erkranken, steigt für Eltern oder Geschwister eines Patienten um ein 20-40-Faches. Bei einem Gesamtbevölkerungsrisiko von 0,1 % steigt das Risiko dabei auf 2 % eine MS zu entwickeln. Bei monozygoten Zwillingen vervielfacht sich das Risiko sogar bis zu 200-fach im Vergleich zur Gesamtbevölkerung (Sadovnick et al. 1999; Sawcer et al. 2011). Bekannte Gene und genetische Polymorphismen werden als MS-prädisponierend angesehen. Einen wichtigen Suszeptibilitätsloкус für die MS stellt der Haupthistokompatibilitätskomplex (*human leukocyte antigen*, HLA) auf Chromosom 6p21.3 dar, der für den Major-Histocompatibility-Complex (MHC) kodiert und dadurch eine entscheidende Rolle in der Antigenpräsentation spielt (Oksenberg et al. 2008). Allele wie HLA-DRB2 können bei homozygoten Trägern die Erkrankungswahrscheinlichkeit und die Anfälligkeit für einen drastischen Krankheitsverlauf erhöhen (Barcellos et al. 2003). Weitere bekannte Risikofaktoren an MS zu erkranken sind das Vorhandensein von Polymorphismen in den Genen, die für CD58, Interleukin-2- und Interleukin-7-Rezeptoren auf Chromosom 5p13 kodieren (Hafler et al. 2007; International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) 2008). Zudem liefern Studien zur Migration und Prävalenz bei MS einen deutlichen Hinweis auf die Bedeutung von Umwelteinflüssen und genetischen Faktoren als Trigger der Erkrankung, auch wenn bisher keine Umweltexposition als alleinige Ursache der Erkrankung ergründet werden konnte (Marrie 2004). Beispielsweise ist das Vorkommen der Erkrankung in nördlichen Regionen, wie den USA, Kanada und dem nördlichen Europa im Vergleich zu äquatornahen Regionen gehäuft. Eine Migration im Kindes- und Jugendalter in ein Land mit niedrigerer Prävalenz kann die Erkrankungswahrscheinlichkeit sogar verringern (Lowis 1988; Rosati 2001). Die Länder mit niedrigerer Prävalenz sind Länder mit stärkerer Sonneneinstrahlung, was eine vieldiskutierte mögliche Ursache der unterschiedlichen Erkrankungshäufigkeit darstellt. Dabei wird die inaktive Form von Vitamin D durch UV-Strahlung/Sonnenlicht in seine aktive Form überführt. Aktives Vitamin D kann die TGF- $\beta$ -1- (*transforming growth factor*) und Interleukin-4-Produktion (IL-4) fördern, was die pro-entzündliche T-Zellaktivität hemmen kann (Deluca und Cantorna 2001). Im experimentellen MS-Mausmodell, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), bei der durch die Immunisierung von Mäusen mit MOG-Peptiden (Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein) und der zusätzlichen Injektion von komplettem Freundschem Adjuvans (Freunds complete adjuvans/CFA) eine Entzündungsreaktion im Rückenmark ausgelöst werden kann, konnte die Gabe von

Vitamin D die Verschlechterung der Enzephalomyelitis vermindern (Deluca und Cantorna 2001). Auch beim Menschen scheint Vitamin D als Regulator der T-Zell- und Makrophagenaktivität das Erkrankungsrisiko (Munger et al. 2006), die Schubrate und die Behinderung bei der MS (Smolders et al. 2008) positiv zu beeinflussen.

#### **1.3.1.1.2 Befallmuster/ Diagnosestellung**

Bei der MS entstehen demyelinisierte Herde sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz des ZNS. Bevorzugte Lokalisationen dieser Läsionen, die in der Bildgebung mittels Kernspintomographie sichtbar werden, befinden sich in der periventrikulären und subkortikalen weißen Substanz. Nervus opticus, Hirnstamm, Kleinhirn und Rückenmark sind ebenso Prädilektionsstellen der Entmarkung. Diagnostisch wird neben der Kernspintomographie auch der Liquor hinsichtlich entzündlicher Veränderungen untersucht. Um eine Diagnose anhand der klinischen Symptomatik in Verbindung mit der Bildgebung zu ermöglichen und zu erleichtern, wurden unterschiedliche Kriterien entwickelt. Die am weitesten verbreiteten sind dabei die McDonald-Kriterien (McDonald et al. 2001) und ihre Revisionen 2005 und 2010 .

#### **1.3.1.1.3 Klinik/ Verlaufsformen/Progression**

Der Krankheitsverlauf der MS ist individuell sehr variabel und die Symptomatik breit gefächert. Häufige Erstsymptome sind die Retrobulbärneuritis oder Parästhesien. Die Bandbreite der Symptome erstreckt sich von Sensibilitäts- und Koordinationstörungen über kognitive Symptome wie Fatigue und Depression bis hin zu Paresen und Ausfällen vegetativer Zentren.

Man unterscheidet vier verschiedene mögliche Krankheitsverläufe (Lublin und Reingold 1996). Der mit 80% häufigste Verlauf ist der schubförmig-remittierende, bei dem die Patienten eine akute, schubförmige Symptomatik zeigen, die sich ganz oder zumindest teilweise zurückbildet. Dieser Verlauf kann in die sekundär-progrediente Form übergehen, die durch eine kontinuierliche Verschlechterung der klinischen Symptomatik charakterisiert ist. Ist eine klare Abgrenzung von Schüben bereits im frühen Stadium der Erkrankung nicht möglich, spricht man vom primär-progredienten Verlauf. Zusammengenommen sind 40% der Verläufe (primär) progredient oder gehen (sekundär) in einen progredienten Verlauf über.

Die Mechanismen, die zu einer primären oder sekundär progressiven Form der MS führen, sind ungeklärt. Es fällt jedoch auf, dass die Schubrate während der frühen Krankheitsphase den Beginn der Progression beeinflusst (Confavreux et al. 2000). Das morphologische Korrelat der progredienten klinischen Symptomatik ist im Wesentlichen ein fortschreitender axonaler Verlust (Davie et al. 1997; Davie et al. 1995; Losseff et al. 1996; Truyen et al. 1996; De Stefano et al. 1998). Die akute Demyelinisierung führt zu einer Beeinträchtigung der Reizweiterleitung in den Axonen, was als Leitungsblock bezeichnet wird (McDonald und Sears 1970). Dabei sind die Mechanismen, die zu axonaler Schädigung führen, noch nicht ausreichend verstanden. Es wurde gezeigt, dass durch Entzündungsprozesse bedingter oxidativer Stress die Mitochondrien, Axone und Neurone schädigt und damit letztendlich ein Trigger der Krankheitsprogression darstellen könnte (Lassmann et al. 2012). Angriffspunkte freier Sauerstoff- und NO-Radikale (Stickstoffmonoxid) sind dabei mitochondriale und zelluläre DNA sowie Phospholipide. In der Folge werden Oligodendrozyten und neuronale Strukturen beeinträchtigt (Haider et al. 2011). Dieser Effekt scheint beispielsweise durch altersabhängige Eisenspeicherung des Gehirns noch zusätzlich verstärkt zu werden (Lassmann et al. 2012).

Durch den Rückgang der für Axone protektiven Myelinscheiden sind die Axone schädigenden Einflüssen vermehrt ausgesetzt, was im Verlauf der Erkrankung zu einer wesentlichen Reduktion der axonalen Leitungsbahnen im ZNS führt. Axonale Degeneration tritt nicht nur in den späten Phasen der Multiplen Sklerose auf, sondern ist bereits in den frühen Episoden entzündlicher Demyelinisierung ein entscheidender Prozess (Bitsch et al. 2000b). Während der frühen Krankheitsstadien zeigt sich dabei in den Läsionen sogar eine höhere Dichte an axonalen Sphäroiden (als Maß für die akute axonale Schädigung) als im späteren Verlauf der Erkrankung (Kuhlmann 2012). Neben der axonalen Schädigung kommt es zur Bildung von Glianarben und der Erschöpfung des Oligodendrozytenvorläuferpools, was die Regenerationsfähigkeit des ZNS im Verlauf der Erkrankung vermindert (Noseworthy et al. 2000). Das sich formende pathologische, chronisch entzündliche Milieu führt zu einer stetigen Neurodegeneration und ist von einer weit verbreiteten Mikrogliaaktivierung in weißer und grauer Substanz dominiert (Compston und Coles 2008).

#### **1.3.1.1.4 Behandlung**

In den vergangenen drei Jahrzehnten wurden wichtige Fortschritte im Verständnis des Entzündungsprozesses und der pathophysiologischen Mechanismen bei der MS erzielt. Damit sind wirksame entzündungshemmende und immunmodulatorische Behandlungen, vor allem für Patienten im Stadium der schubförmig-remittierenden MS, verfügbar. Eine kausale Therapie ist dagegen nach wie vor nicht vorhanden (Lassmann et al. 2012).

#### **1.3.1.1.5 Pathophysiologie der Demyelinisierung**

Hinweisend darauf, dass es sich bei MS um eine Autoimmunerkrankung handelt, sind das Vorhandensein autoreaktiver T-Zellen gegen körpereigenes Myelin und pathologische Ähnlichkeiten zwischen der MS und den experimentellen Tiermodellen. Die Vermutung liegt nahe, dass aktivierte, autoreaktive T-Zellen in den Läsionen den chronischen Entzündungsprozess des ZNS in Gang setzen und Makrophagen aktivieren, die das geschädigte Myelin abräumen (Weiner 2004). Autoreaktive T-Zellen, die auch bei Gesunden nachweisbar sind (Babbe et al. 2000), werden bei MS-Erkrankten in der Körperperipherie aktiviert, wobei der Trigger dieser Aktivierung immer noch nicht eindeutig aufgefunden werden konnte. Unterschiedliche Ursachen wie chronische Entzündungsprozesse werden debattiert (Kroner-Milsch 2012). Studien suggerieren den Einfluss von Viren, wie dem Epstein-Barr- oder Masernvirus, auf die Pathogenese der MS (Wagner et al. 2004; Alvarez-Lafuente et al. 2004).

#### *Aufbau der Myelinscheiden*

Myelinscheiden sind lipidreiche Biomembranen, welche die Axone der Nervenzellen mehrfach umhüllen. Durch die elektrische Isolation der Axone ermöglichen sie die schnelle, saltatorische Erregungsleitung und sind damit eine Voraussetzung für die Funktion höher entwickelter Nervensysteme. Im ZNS wird das Myelin von Oligodendrozyten, im peripheren Nervensystem (PNS) von Schwann-Zellen gebildet. Die Oligodendrozyten durchlaufen eine ausgedehnte Entwicklung und Differenzierung, um die Fähigkeit der Myelinbildung zu erlangen. Dabei sind sie metabolisch sehr aktiv und weisen durch verschiedene zellspezifische Eigenschaften eine hohe Vulnerabilität auf (Bradl und Lassmann 2010).

Myelin besteht vorwiegend aus Lipiden mit nur 15% Proteingehalt, was die Myelinscheiden von anderen Membranen unterscheidet. Die Proteine sind myelinspezifisch und unterscheiden sich in der Zusammensetzung im zentralen und peripheren Nervensystem.



Schwann-Zellen exprimieren vorwiegend die Myelinproteine Protein Null ( $P_0$ ) und das Myelin Basic Protein (MBP), während Oligodendrozyten Proteolipid-Protein (PLP) und MBP bilden (Lemke 1992). MBP -als Myelinprotein des ZNS und PNS- ermöglicht die Ausbildung der zytoplasmatischen Oberfläche des kompakten Myelins und seine strukturelle Aufrechterhaltung (Harauz et al. 2004). Zentral hat es einen Anteil von 30% und peripher von 5-15% an den Gesamtmyelinproteinen. Hauptmyelinprotein des Zentralnervensystems ist das Proteolipid Protein (PLP), das etwa 50% der Proteinkomponente der zentralen Myelinscheiden bildet (Lemke 1992).

Neben diesen „Hauptproteinen“ gibt es in den Myelinscheiden zahlreiche andere Myelinproteine. Dabei wurde beobachtet, dass das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG) unter bestimmten Umständen selektiv herabreguliert (oder zerstört) werden kann. So wird in hypoxischen Läsionen nach einem Schlaganfall vorrangig ein MAG-Verlust beobachtet, während die übrigen Myelinproteine zunächst noch erhalten blieben (Aboul-Enein et al. 2003). Des Weiteren findet sich auch bei der MS ein selektiver Myelinproteinverlust von MAG in früh-aktiven Subtyp-III-Läsionen (Lucchinetti et al. 2000) (siehe unten). MAG ist sowohl zentral, als auch peripher zu finden und gilt als ein Zelladhäsionsmolekül zwischen Oligodendrozyten und Neuronen, dessen Struktur mit dem der Immunglobuline (Ig) verwandt ist. Die MAG-Expression kann bereits in der frühesten Phase der Myelinisierung der Nervenfasern detektiert werden, bevor andere Myelinproteine auftreten. Somit scheint MAG eine Rolle in der frühen Myelinisierung zu spielen (Lemke 1992).

Antikörper gegen das Myelinprotein MOG können im Serum insbesondere bei kindlichen MS-Patienten in einem hohen Prozentsatz der Erkrankten nachgewiesen werden (Meinl et al. 2011). MOG macht den geringsten Anteil der Proteine der Myelinscheide aus und wird ausschließlich im ZNS exprimiert. Es befindet sich an der Oberfläche der Myelinhülle und den Zellkörpern der Oligodendrozyten und ist damit direkten Angriffen auf das Myelin durch Antikörper ausgesetzt. Daher ist es auch ein dominantes Zielantigen beim häufig angewandten Tiermodell der MS, der EAE bei Nagetieren. Diese extrazelluläre Domäne ist das einzige bekannte Antigen, das bei mit MOG immunisierten EAE-Tieren sowohl eine T-Zell-, als auch eine demyelinisierende Antikörperantwort hervorruft (Berger und Reindl 2007).

### 1.3.1.1.6 Histologie

Die Entmarkungsherde zeigen bei der MS, insbesondere in frühen Läsionsstadien, eine große histologische Vielfalt. Um dieser immunopathologischen Bandbreite der MS-Läsionen gerecht zu werden, können die Regionen der Gewebeschädigung (Plaques) nach ihrer inflammatorischen und demyelinisierenden Aktivität eingeteilt werden (Love 2006). Je nach Läsionsstadium ist das Entzündungsinfiltrat variabel. In der Regel geht die aktive Demyelinisierung (frühes Läsionsstadium) mit perivaskulärer Inflammation einher, wobei sich das entzündliche Infiltrat hauptsächlich aus CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, einigen B-Zellen und Plasmazellen, aktivierten Makrophagen bzw. Mikrogliazellen zusammensetzt (Lassmann et al. 1998). Um aktive Plaques zu ermitteln, ist dabei die Suche nach Makrophagen mit Myelinabbauprodukten im Zytoplasma die sicherste Methode (Noseworthy et al. 2000). Diese Ablagerungen in Makrophagen werden beispielsweise durch die LFB-PAS-Färbung (Luxol Fast Blue - Periodic Acid Schiff) oder die immunhistochemische Färbung der Myelinproteine identifiziert (Lassmann et al. 1998). Solche Makrophagen lassen sich häufig auch im stark infiltrierten peripheren Läsionssaum der chronisch aktiven Plaques nachweisen, deren Zentrum jedoch hypozellulär und dicht gliotisch ist. Inaktive Plaques sind durch ein nur noch geringes Infiltrat von Entzündungszellen und eine starke Fasergliose gekennzeichnet und weisen eine reduzierte Axondichte auf. Eine weitere Form der inaktiven Plaques sind so genannte Shadow-Plaques, in denen eine Remyelinisierung der demyelinisierten Axone in einem begrenzten Umfang stattfindet. Diese Regionen sind scharf begrenzt und zeigen eine geringere Myelinfärbung, die die dünnen Myelinscheiden an remyelinisierten Axonen repräsentiert.

#### Aktive Läsionen: Immunhistologische Subtypen I-IV

Histologisch lassen sich bei früh aktiven MS-Plaques vier Subtypen (*pattern*) der Demyelinisierung unterscheiden. Infolgedessen wird diskutiert, ob verschiedene Patienten einen individuellen immunpathogenetischen Verlauf entsprechend den histopathologischen Läsionstypen aufweisen. Eine Erklärungsmöglichkeit der vier identifizierten histopathologischen Läsionstypen ist, dass die Subtypen entweder verschiedenen Pathomechanismen entsprechen oder dass sie unterschiedliche Stadien der Läsionsentstehung widerspiegeln. Auch könnten patientenspezifische Unterschiede der Immunantwort zu Variationen der Histomorphologie führen (Lucchinetti et al. 2000).

Trotz einer gewissen Variabilität früh aktiver Läsionen, konnten einheitliche Kriterien für vier folgende immunpathologische Schädigungsmuster erarbeitet werden. Die Expression von Myelinproteinen, die Struktur und Ausdehnung der Läsionen, ihre Lokalisation, Oligodendrozytendegeneration sowie Komplementaktivierung werden dabei miteinbezogen. Entzündungszellen variablen Ausmaßes, wie Makrophagen bzw. Mikrogliazellen und CD3<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, sind ein Bestandteil aller Läsionen (Lucchinetti et al. 2000). Das Hauptmerkmal, das die Subtyp-I-Läsionen von den Subtyp-II-Läsionen unterscheidet, sind die zusätzlichen Immunglobulin- und Komplementablagerungen (C9neo-Antigen) in den Regionen der aktiven Myelinzerstörung. Diese sind nur bei Subtyp II zu finden. Eine scharfe Plaquegrenze mit Läsionslokalisation um kleine Venen oder Venolen zeigt sich häufig bei Subtyp I und Subtyp II. Die unscharf begrenzten Subtyp-III-Läsionen sind durch eine ausgeprägte Oligodendrozytenapoptose und einen überproportionalen MAG-Verlust (im Vergleich zu Myelinproteinen wie MOG, PLP oder MBP) gekennzeichnet. Das Charakteristikum von Läsionen des Subtyp IV ist ein Untergang der Oligodendrozyten in einem schmalen Rand nahe der aktiven Zone der Läsion. Dieser Läsionentyp konnte bisher nur in primär progredienten Krankheitsverläufen gefunden werden (Lucchinetti et al. 2000).

### *Kortikale Demyelinisierung*

Kortikale Läsionen sind ein Phänomen, das wie der axonale Schaden bereits während früher Krankheitsstadien und nicht nur in chronischen Stadien der MS anzutreffen ist (Lucchinetti et al. 2011). Im Gegensatz zu Läsionen der weißen Substanz sind diese Läsionen grundsätzlich durch eine geringer ausgeprägte Entzündung, weniger Gliose und effizientere Myelinreparaturmechanismen charakterisiert (Kutzelnigg und Lassmann 2005). Ausgedehnte kortikale Demyelinisierung geht mit neuronalem und synaptischem Verlust einher (Wegner et al. 2006), der mit kortikaler Atrophie korreliert (Kutzelnigg und Lassmann 2005). Daher werden kortikale MS-Läsionen für nicht-fokale Symptome, wie neuropsychologische und kognitive Dysfunktion, verantwortlich gemacht (Kutzelnigg und Lassmann 2006; Rinaldi et al. 2010). Diese Symptomatik ist ein Merkmal der chronischen Phase der MS (Amato et al. 2004).

Der prozentuale Anteil des entmarkten Kortex liegt im Verlauf der MS im Durchschnitt bei 15% und kann sogar die Ausdehnung der Demyelinisierung der weißen Substanz

überschreiten. In extremen Fällen können bemerkenswerterweise sogar bis zu 70% der grauen Substanz demyelinisiert sein. Demyelinisierte Läsionen der grauen Substanz treten im Verlauf in etwa 90% der chronischen MS-Patienten (primär und sekundär-chronische MS) auf (Albert et al. 2007) und sind häufig mit entzündlicher meningealer Infiltration assoziiert (Howell et al. 2011; Magliozzi et al. 2007). Die Bedeutung meningealer Entzündung wurde zusätzlich dadurch fundiert, dass sie auch bei der primär-progredienten MS zu finden ist (Choi et al. 2012). Im meningealen Infiltrat sind dabei follikelähnliche Immunkomplexe mit T-Zellen, Makrophagen, B- und Plasmazellen zu finden (Serafini et al. 2004). Dabei hängt das Ausmaß der meningealen Inflammation mit dem axonalen Schaden der Infiltrat-nahen Kortexschichten (Magliozzi et al. 2010) und der kortikalen Demyelinisierung zusammen (Magliozzi et al. 2007). Wahrscheinlich korreliert sogar die Geschwindigkeit der Krankheitsprogression mit dem Ausmaß der meningealen Entzündung (Stadelmann 2013). Daher scheint es möglich zu sein, dass meningeale, entzündliche Aggregate sowohl zur kortikalen Demyelinisierung, als auch zur MS-Progression beitragen.

#### *Arten der kortikalen Demyelinisierung bei der MS – Kortikale Läsionen Typ 1-3*

Die kortikalen Läsionen bei der MS wurden in unterschiedlichen Studien anhand ihrer Lokalisation in den kortikalen Schichten eingeteilt. Heute wird allgemein eine Klassifikation angewendet, anhand derer die Läsionen in drei Typen gruppiert werden (Bo et al. 2003 a; Lucchinetti et al. 2011). Typ-1-Läsionen (kortiko-subkortikale oder leukokortikale Läsionen) liegen an der Grenze zwischen grauer und weißer Substanz. Typ-2-Läsionen finden sich intrakortikal in der Umgebung kleiner Gefäße. Typ-3-Läsionen, in subpialer Lage, zeigen eine umschriebene oder bandförmige Demyelinisierung der oberen kortikalen Schichten, die sich häufig über benachbarte Gyri ausbreitet (Howell et al. 2011; Kutzelnigg und Lassmann 2005). Bevorzugt Sulci des Gyrus cinguli, der Inselrinde, des temporalen und frontalen Kortex sind von subpialer Demyelinisierung betroffen. Folglich entstand die Hypothese, dass Mediatoren aus dem stagnierenden Liquor in den Sulci eine Demyelinisierung begünstigen können (Peterson et al. 2001). Subpiale Läsionen stellen flächenmäßig den größten Anteil der kortikalen Läsionen dar (etwa 65% aller kortikalen Läsionen) und erstrecken sich auf bis zu 67% des gesamten demyelinisierten kortikalen Bereichs (Bo et al. 2003 b). Damit steht die subpiale Entmarkung in einem besonderen Fokus. Aufgrund des häufigen Auftretens bei Patienten mit langjähriger MS wird die subpiale Demyelinisierung auch als pathologisches

Korrelat der Krankheitsprogression angesehen (Albert et al. 2007; Kutzelnigg und Lassmann 2005).

#### *Pathophysiologie kortikaler Läsionen*

Die pathophysiologischen Mechanismen, die zu kortikaler Demyelinisierung führen, sind nach wie vor nicht zufriedenstellend geklärt. Myelinschäden können durch verschiedene Mechanismen wie immunvermittelte Entzündung, Stoffwechselveränderungen oder ischämische/exzitotoxische Gewebeeränderungen verursacht werden (Lassmann 2001). Im Falle der MS werden unterschiedliche Ursachen für die autoimmune Demyelinisierung, wie ein Antikörper- bzw. Komplementangriff, Entzündungsmediatoren (Schwab und McGeer 2002; Bo et al. 2003 a) oder zytotoxische T-Zellen (Ruijs et al. 1990) diskutiert.

#### **1.3.1.2 NMO**

Auch die NMO wird als inflammatorisch demyelinisierende Erkrankung angesehen. Gekennzeichnet ist die NMO durch Optikusneuritiden und Myelitiden, wobei ihre Symptome häufig schwer von einer MS abgrenzbar sind, weil es teilweise auch schubförmige NMO-Verläufe gibt (Wingerchuk et al. 1999). Diagnostisch zeigen sich in der Magnetresonanztomographie (MRT) ausgedehnte spinale Läsionen oft über drei Wirbelkörper hinaus. Häufig beobachtet man eine örtliche, jedoch keine zeitliche Dissemination der Läsionen in der Bildgebung. Der kraniale MRT-Befund zeigt sich dabei häufig unauffällig. In aktuellen MRT-Studien wurde allerdings beschrieben, dass NMO-Patienten auch supraspinale Auffälligkeiten entwickeln können, die sich sowohl in der weißen als auch grauen Substanz detektieren lassen (Rocca et al. 2004). Bei der NMO sind neben Demyelinisierung auch Neurodegeneration und kognitive Beeinträchtigung aufzufinden. Ein erheblicher diffuser Neuronenverlust und umfangreiche meningeale Inflammation ohne kortikale Demyelinisierung können beobachtet werden (Saji et al. 2013). Gleichermaßen zeigt eine Studie, dass die zuvor berichteten kognitiven und kortikalen Anomalien in der Bildgebung mittels MRT nicht auf kortikale Demyelinisierung zurückzuführen sind. Das Fehlen kortikaler Demyelinisierung ist dabei ein wesentliches Merkmal, das die NMO von der MS unterscheidet (Popescu et al. 2010).

Serologisch sind bei den betroffenen Patienten Autoantikörper (NMO-Immunoglobulin G) gegen Aquaporin-4 (AQP4) nachweisbar. AQP4 ist ein Wasserkanal, der eine hohe Dichte an Astrozytenendfüßchen aufweist, die die Blut-Hirn-Schranke bilden (Lennon et al. 2004).

Charakteristischerweise zeigt die Histopathologie in den früh-aktiven Läsionen der NMO neben der Demyelinisierung perivaskuläre Immunglobulin- und Komplementablagerungen (C9neo Antigen) einhergehend mit einem Astrozyten- und Aquaporin-4-Verlust. Die umfangreiche Demyelinisierung der weißen Substanz ist mit akutem axonalem Schaden assoziiert, der sehr ausgeprägt sein kann. Das entzündliche Infiltrat der aktiven Läsionen besteht aus zahlreichen Makrophagen, einigen perivaskulären neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, sowie CD3<sup>+</sup>-T-Zellen, wobei sich ein Teil davon als zytotoxische CD8<sup>+</sup>-T-Zellen präsentiert. Häufig ist auch eine ausgeprägte Fibrose und Hyalinisierung der Gefäßwände zu beobachten (Mandler et al. 1993). In einigen aktiven supraspinalen Läsionen der AQP4-IgG-seropositiven NMO Patienten fanden sich Komplementaktivierungsprodukte in Makrophagen, apoptotische Oligodendrozyten sowie ein dominierender MAG-Verlust. Diese Merkmale tauchen in ähnlicher Form bei der MS in den immunhistologischen Subtypen II und III wieder auf (Brück et al. 2012). Pathologische Charakteristika chronischer Läsionen sind extensive Gliose und Atrophie der betroffenen Regionen (Kuhlmann 2012).

### **1.3.1.3 ADEM**

Die ADEM ist eine autoimmunvermittelte, demyelinisierende ZNS-Erkrankung, die häufig Kinder oder junge Erwachsene betrifft und parainfektios oder seltener nach Impfungen auftritt (Tenenbaum et al. 2007). Durch den wiederholten zeitlichen Zusammenhang mit Infektionen werden diese als Ursache einer Autoimmunreaktion vermutet. Wie bei der NMO ist auch die ADEM-Symptomatik schwer von der MS zu unterscheiden und wird hauptsächlich durch den meist monophasischen Verlauf von den beiden anderen Erkrankungen abgegrenzt. Die Patienten sind oft von einer diffusen, vielfältigen neurologischen Symptomatik betroffen. Prognostisch gesehen kommt es innerhalb kurzer Zeit häufig zu einer Rückbildung der Beeinträchtigungen mit oft nur geringer oder keiner Residualsymptomatik (Tenenbaum et al. 2007).

Vorwiegend befällt die ADEM die weiße Substanz und das Rückenmark. Angrenzend an die graue Substanz finden sich häufig subkortikale Läsionen (Kroner-Milsch 2012). Das Merkmal der pathologischen Befunde ist eine auf perivenöse Areale begrenzte Demyelinisierung mit einer wallartigen Infiltration von Lymphozyten und vorwiegend schaumzelligen Makrophagen, die vereinzelt auch konfluiert. Bioptisch lassen sich diese Entmarkungsherde zum Teil nur schwer von MS-Läsionen abgrenzen (Kuhlmann 2012). Bisher wurde subpiale

Demyelinisierung in der Literatur in drei Fällen mit perivenöser Demyelinisierung beschrieben (Young et al. 2010). Weitere Veränderungen der weißen und grauen Substanz sind Hyperämie, endotheliale Schwellung und Gefäßwandinvasion durch Entzündungszellen (Garg 2003).

### **1.3.2 Infektiöse Erkrankungen**

Zentralnervöse Infektionen können sich topographisch unterschiedlich ausbreiten. Während eine Leptomeningitis nur die Pia und Arachnoidea mater und eine Pachymeningitis die harten Hirnhäute betrifft, befindet sich das entzündliche Infiltrat bei einer Enzephalitis im Gehirnparenchym. Ist die graue Substanz involviert spricht man von einer Polioenzephalitis, eine Beeinträchtigung der weißen Substanz wird als Leukenzephalitis und der Befall der weißen und grauen Substanz als Panenzephalitis bezeichnet. Ist das Rückenmark betroffen, spricht man von einer Myelitis.

Vor allem die bakteriellen Meningitiden bzw. Enzephalitiden können sich mit einer klassischen Trias von Fieber, Nackensteifigkeit und Bewusstseinsstörungen präsentieren und gehen mit Kopfschmerzen einher (van de Beek et al. 2006).

#### **1.3.2.1 Virale Infektionen**

Die häufigsten ZNS-Infektionen viraler Genese sind durch Enteroviren bedingt und bedürfen oftmals keiner Therapie. Enteroviren verursachen eine milde Meningitis und erreichen das ZNS meist durch hämatogene Streuung (Deckert 2012).

Verschiedene morphologische Charakteristika sind den viralen ZNS-Infektionen gemeinsam. Klassischerweise sind virale ZNS-Infektionen initial polymorphonukleär und im Verlauf lymphozytär dominiert. Es gelangen T- und B-Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten mit Makrophagen in die Meningen oder das Hirnparenchym. Da z.B. Herpesviren praktisch alle neuronalen Zellen befallen können, kommt es nach der Invasion des Erregers zur Neuronophagie. In den Zielzellen zeigen sich darüber hinaus Virusbestandteile in zytoplasmatischen oder nukleären Einschlüssen. Üblicherweise führt eine virale ZNS-Infektion zur ausgeprägten residualen Astrozyten- und Mikrogliaaktivierung, auch teilweise in Form von Mikrogliaknötchen (Deckert 2012). Bei Panenzephalitiden kommt es häufig zu ausgedehnten hämorrhagischen Nekrosen.

### *Herpes-simplex-Virus (HSV)*

Das HSV verursacht häufig eine latente Infektion in den Ganglien des Menschen. Von dort aus kann es bei Reaktivierung anterograd den Nervenbahnen folgen und unter Umständen Symptome wie beispielsweise Effloreszenzen an den Lippen (durch Transport vom Ganglion trigeminale in den Nervus trigeminus) auslösen. Durch retrograden Transport über Axone können die neurotrophen Viren vom Ganglion trigeminale in das das Gehirnparenchym, bevorzugt in temporale Regionen des Gehirns, einwandern. Damit kann das neuroanatomische Befallsmuster hinweisend auf die Art der Virusinfektion sein (Deckert 2012).

### *Poliomyelitis*

Das Polio-Virus wird fäkal-oral übertragen, breitet sich danach hämatogen aus und führt zu bleibenden Lähmungserscheinungen oder sogar zum Tod. Überwiegend sind dabei Kinder betroffen. Das Virus hat eine hohe Affinität zum Rückenmark, infiltriert dort die  $\alpha$ -Motoneurone im Vorderhorn und befällt auch Motoneurone des Pons und der Olive. Dadurch kommt es zur neurogenen Atrophie der Muskulatur. Histologisch findet eine ausgeprägte lymphozytäre Entzündung der grauen Substanz und der Meningen statt, die mit Mikrogliaknötchen einhergeht (Deckert 2012).

### *Subakute sklerosierende Panenzephalitis (SSPE)*

Eine weitere virale Infektion des ZNS mit letalem Ausgang ist die SSPE, eine mögliche, seltene Spätkomplikation einer Masernvireninfektion, deren Entstehung nicht vollständig geklärt ist. Vier bis zehn Jahre nach einer Maserninfektion tritt die Erkrankung auf und verläuft langsam progredient in drei Stadien über mehrere Monate. Das erste Stadium ist durch psychische Störungen und Persönlichkeitsveränderungen gekennzeichnet, das zweite durch Myoklonien, epileptische Anfälle und Demenz. Final geht das dritte Stadium mit einem Dezerebrationssyndrom bis hin zum Koma und Mutismus einher (Garg 2008; Schonberger et al. 2013). Serologisch ist eine starke Antikörperaktivierung nachweisbar, die auch im Liquor vorzufinden ist. Die SSPE manifestiert sich als eine chronisch progrediente Enzephalopathie mit Einschlusskörpern im Kern der virusinfizierten Zielzellen. Es zeigt sich eine perivaskuläre Inflammation und Gliose sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz. Das



entzündliche Infiltrat setzt sich aus CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, sowie Monozyten und Plasmazellen zusammen (Deckert 2012). Teilweise wurde überwiegend subkortikal ein ungleichmäßiger, fleckenförmiger oder sogar diffuser Myelinverlust bei relativ erhaltenen Axonen beobachtet (Love 2006).

### *Human immunodeficiency virus (HIV)*

Das HI-Virus führt nach einer mehrjährigen symptomlosen Latenzphase unbehandelt zu einem Immundefizienzsyndrom „Acquired Immune Deficiency Syndrome“ (AIDS). Das Virus befällt vorwiegend T-Lymphozyten, in denen es sich vermehrt und die im Verlauf der Infektion zugrunde gehen (Fauci 1996). Die antivirale Therapie hat heutzutage das Fortschreiten der Erkrankung stark gebremst und das Überleben der Patienten wesentlich verlängert (Mocroft et al. 2003). Die HI-Virusinfektion kann entweder direkt zur Beteiligung des ZNS führen oder durch die immunsupprimierenden Folgen der Erkrankungen zu Veränderungen des ZNS beitragen. Durch die HI-Virus induzierte Immunsuppression sind die Patienten anfällig für opportunistische Infektionen, die sich häufig auch im ZNS abspielen (Deckert 2012). Da das HI-Virus oft das ZNS infiltriert und eine Meningitis auslöst, lassen sich bei 20–30% der Patienten, die an AIDS versterben, neuropathologische Veränderungen nachweisen. Es kann bereits früh zu einer aseptischen Meningitis oder im Verlauf zu einer HIV-Enzephalopathie kommen. Ist das Rückenmark beteiligt, spricht man von einer vakuolären Myelopathie (Epstein und Gendelman 1993). Bei über der Hälfte der asymptomatischen HIV-Patienten ist im Liquor eine leichte, vorwiegend lymphozytäre Pleozytose beschrieben worden, die mit einer intrathekalen Immunreaktion gegen die HIV-Infektion zusammenzuhängen scheint. Später klingt die Pleozytose jedoch wieder ab (Feiden 2012). Wie bei allen Entzündungen des ZNS kommt es zu einer Mikroglia- und Makrophagenaktivierung mit nachfolgender Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren, die neurotoxisch wirken, sowie die Apoptose von Oligodendrozyten, Endothelzellen und auch Gliazellen verursachen können (Epstein und Gendelman 1993). Klinisch folgen häufig neurokognitive Störungen wie eine Demenz (AIDS-Demenz-Komplex) (Gendelman et al. 1997).

Kennzeichnend für die HIV-Enzephalopathie sind mehrkernige Riesenzellen und Mikroglia Knötchen, die neben der diffusen lymphozytären Infiltration vorherrschen (Gray et al. 2003). Unter Umständen kann eine HIV-Infektion sogar zur diffusen oder multifokal

entzündlichen Entmarkung der weißen Substanz führen (Langford et al. 2002; Corral et al. 2004). Durch die effektive retrovirale Therapie scheint es zu einem Wandel des Infiltrationsmusters bei der HIV-Leukenzephalopathie zu kommen. Die Invasion des Hirnparenchyms durch Monozyten/Makrophagen, der Grad der Entzündung und die Zerstörung der weißen Substanz stellt sich umfangreicher dar (Langford et al. 2003).

#### Progressive multifokale Leukenzephalopathie (*PML*)

Die PML ist eine opportunistische virale ZNS-Infektion, die vorwiegend bei HIV-Patienten vorkommt, aber auch beispielsweise bei Patienten unter stark immunsupprimierender MS- oder Leukämietherapie zu finden ist (Brew et al. 2010). Diese demyelinisierende Erkrankung wird durch das JC-Virus verursacht, das auch bei Gesunden asymptomatisch in B-Lymphozyten oder in der Niere persistiert (Dorries 1998) und bei 75% der Erwachsenen nachweisbar ist (Love 2006). Bei immundefizienten Patienten kann das Virus reaktiviert werden und führt so zur Erkrankung. Die neurologische Symptomatik ist vielfältig und beeinflusst motorische und sprachliche Fähigkeiten oder auch die Kognition und Persönlichkeit (Brew et al. 2010).

Die Läsionen enthalten zahlreiche schaumzellige Makrophagen und vereinzelt Lymphozyten (Love 2006). Bei der PML sind in der grauen Substanz intrakortikale und leukokortikale, jedoch keine subpialen Läsionen beobachtet worden. Die kortikalen demyelinisierenden Herde weisen weniger entzündliches Infiltrat als Läsionen der weißen Substanz auf (Moll et al. 2008). Es zeigt sich bei der PML bei den Myelinproteinen ein dominierender MAG-Verlust, der histologisch dem Subtyp III der MS-Läsionen ähnelt (Lucchinetti et al. 2000; Gendelman et al. 1985). Darüber hinaus können, assoziiert mit den demyelinisierenden Arealen, JC-Virus infizierte Zellen gefunden werden (Moll et al. 2008). In der Nachbarschaft entzündlicher Läsionen befinden sich oft Oligodendrozyten mit vergrößertem, stark basophilem Zellkern und nukleären Einschlüssen mit Virusbestandteilen. Auch die Astrozyten können in Form und Größe bizarr verändert sein und einen vergrößerten, polymorphen, hyperchromatischen Nukleus aufweisen (Deckert 2012).

#### **1.3.2.2 Bakterielle Infektionen**

Das Erregerspektrum der bakteriellen ZNS-Infektionen ist altersabhängig. Während Neugeborene unter einem Monat eher durch gramnegative Bakterien, Gruppe-B-

Streptokokken und Listerien gefährdet sind, werden Meningitiden bei Kindern und Jugendlichen vorwiegend durch *Haemophilus influenzae*, Meningokokken (*Neisseria meningitidis*) und Pneumokokken (*Streptococcus pneumoniae*) hervorgerufen. Bei Erwachsenen nimmt die Infektionshäufigkeit mit dem Alter durch *Haemophilus* stark ab und durch Listerien wiederum zu (Schuchat et al. 1997). Die genannten Bakterien sind für ca. 80% der bakteriellen Infektionen verantwortlich und führen unbehandelt zu neurologischen Langzeitfolgen oder sogar zum Tod. Der Verlauf dieser bakteriellen Meningitiden ist meist höchst akut und mit einem Hirnödem und eitrigem Exsudat im Subarachnoidalraum assoziiert. Mikroskopisch lassen sich im Infiltrat vorwiegend neutrophile Granulozyten beobachten. Die intrathekale Entzündung resultiert in manchen Fällen in thrombotischen Verschlüssen meningealer Gefäße, die sich histopathologisch in ischämischen Arealen mit Nekrosen und einer Aktivierung von Mikroglia und Astrozyten darstellen. Bei persistierender Infektion ändert sich die Zellzusammensetzung des entzündlichen Infiltrats während der ersten Woche und es treten Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen und Fibroblasten in Erscheinung (Deckert 2012).

### *Syphilis*

Syphilis ist eine chronische entzündliche Erkrankung, die von dem Bakterium *Treponema pallidum* hervorgerufen wird. Die Beteiligung des ZNS kann Jahre oder Jahrzehnte nach der Primärinfektion auftreten. Die Syphilis manifestiert sich in drei Stadien (Miklossy 2008). Nach dem Primäraffekt (Stadium 1), einer schmerzlosen Papel (harter Schanker), die den ersten Kontakt des Erregers zur Haut darstellt, verbreitet sich die Infektion auf hämatogenem Weg bis ins ZNS. In 10 % der Fälle kommt es zu einer syphilitischen Meningitis (Stadium 2), die durch ausgedehnte zelluläre Infiltration der Meningen mit Lymphozyten und Plasmazellen gekennzeichnet ist (Miklossy 2008). Dieses Stadium, das vorwiegend die Leptomeningen betrifft (Kinnier Wilson 1954), klingt nach mehreren Wochen ab und kann in eine latente Phase münden. Die latente Phase kann innerhalb von Jahren bis Jahrzehnten in die tertiäre Neurosyphilis, die sich in mehreren Formen darstellt, übergehen (Miklossy 2008). Die unterschiedlichen Neurosyphilisformen sind häufig gemischt anzutreffen. Die meningovaskuläre Neurosyphilis, eine chronische Meningitis mit multifokaler Arteriitis (Heubner-Arteriitis), manifestiert sich häufig in Form von Schlaganfällen, verbunden mit einem allmählich fortschreitenden vaskulären Syndrom. Histologisch ist neben dem

entzündlichen Infiltrat die Verdickung der Meningen und der Arterien aller Größen zu sehen (Deckert 2012). Die *parenchymatöse Neurosyphilis* resultiert aus der Invasion des Erregers in das Hirngewebe, die zur ausgedehnten Parenchymschädigung führt. Infolgedessen kommt es zu unterschiedlichen neurologischen und psychiatrischen Manifestationen, wie der progressiven Paralyse mit Demenz oder Tabes dorsalis. Diese Neurosyphilisform mit chronischer, frontal betonter Meningoenzephalitis stellt sich durch eine spärliche perivaskuläre und parenchymatöse Zellinvasion dar und führt zu einer generalisierten Hirnrindenatrophie mit Verlust von Neuronen (Deckert 2012). Das entzündliche Infiltrat enthält Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen, die zu epitheloiden Zellen transformieren können. Im Verlauf können sich Granulome in Form von syphilitischen Gummen mit zentraler Nekrose und spärliche Infiltration mit mehrkernigen Riesenzellen bilden (Pilleri et al. 1974; Prange 1987). Des Weiteren wurden teilweise fokale Ischämien beobachtet (Deckert 2012).

In der Literatur werden bei der Syphilis diffuse Bereiche mit Myelinschaden und abgeblasste Regionen der periventrikulären weißen Substanz beschrieben (Miklossy 2008). Auch in der Bildgebung zeigen sich Areale mit geschädigtem Myelin in der weißen Substanz (Brinar und Habek 2006).

### *Tuberkulose (TBC)*

Die Tuberkulose manifestiert sich primär pulmonal über die Inhalation des Erregers *Mycobacterium tuberculosis* (Primärtuberkulose), kann jedoch sekundär praktisch alle Organsysteme des Körpers betreffen. Nach der Ansteckung kann das Bakterium, auch ohne zu Symptomen zu führen, noch jahrelang im Körper eines Patienten persistieren (latente Tuberkulose) und unter Umständen, beispielsweise durch eine Immunsuppression, reaktiviert werden. Entwickelt ein Patient nach seiner Erstinfektion erneut Symptome, spricht man von einer postprimären bzw. sekundären Tuberkulose (Gideon und Flynn 2011). Durch hämatogene Dissemination im Rahmen der Primärtuberkulose gelangt das *Mycobacterium tuberculosis* bei immundefizienten Patienten auch in das ZNS und löst so zunächst eine Meningitis aus. Diese häufig basal gelegene Meningitis verläuft in der Regel chronisch. Im Laufe der Zeit kann die ausgeprägte Entzündung auf das Hirnparenchym übergreifen und zu einer Meningoenzephalitis führen (Deckert 2012).

Klassischerweise entwickeln sich im entzündlichen Infiltrat mit der Zeit verkäsende Granulome bzw. Tuberkulome. Diese Granulome sind von Lymphozyten, Makrophagen, Epitheloidzellen, Fibroblasten und mehrkernigen Riesenzellen (Langhans-Typ) umgeben. Durch die Ziehl-Neelsen-Färbung lässt sich das sogenannte säurefeste Stäbchenbakterium histologisch nachweisen. Myelinschäden der weißen Substanz und ADEM ähnliche perivaskuläre Demyelinisierung wurde in seltenen Fällen beschrieben (Dastur et al. 1995).

### **1.3.3 Neoplastische Erkrankungen**

Die häufigsten Primärtumore, die ins ZNS und die Meningen metastasieren sind Adenokarzinome (Mamma- oder Lungenkarzinome), aber auch maligne Melanome, sowie Lymphome, Leukämien oder seltener das Plasmozytom. Sind die Meningen von einer diffusen metastatischen Tumorzellaussaat betroffen, spricht man von einer Meningeosis neoplastica. Bei Karzinomen als Primarius bezeichnet man die neoplastische Infiltration als Meningeosis carcinomatosa oder bei Lymphomen als Meningeosis lymphomatosa (Bigner 1992).

Primäre Non-Hodgkin-Lymphome des ZNS (PCNSL) treten gehäuft bei immunsupprimierten Patienten auf. In den allermeisten Fällen wird dabei ein diffus großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL) mittels Probebiopsie histologisch diagnostiziert (Feiden und Milutinovic 2002), das ein angiozentrisches Tumordinfiltrationsmuster zeigt. Je nach Ausprägung ist eine Gehirnparenchymreaktion mit einer Mikrogliaaktivierung bis hin zur Makrophageninfiltration möglich (Paulus und Hasselblatt 2012). Bekannt ist, dass seltene Fälle des PCNSL mit fokaler Demyelinisierung assoziiert sind (Alderson et al. 1996; Hussein et al. 2012; Kuhlmann et al. 2001). Auch ischämisch bedingte Myelinschäden wurde im Rahmen von ZNS-Lymphomen beschrieben (Sadahira et al. 2000).

### **1.3.4 Metabolische Erkrankungen**

Ein Beispiel für metabolische Demyelinisierung ist die zentrale pontine bzw. die extrapontine Myelinolyse (Laureno und Karp 1997). Elektrolytverschiebungen durch Alkoholmissbrauch und ein zu rapider Hyponatriämieausgleich (z.B. iatrogen) sind bekannte Ursachen dieser Erkrankung. Dabei kommt es zu osmotischen Vorgängen im ZNS, die über einen bisher unbekanntem Mechanismus zur Demyelinisierung führen (Martin 2004). Etwa 25-35% der Patienten mit einer zentralen pontinen Myelinolyse zeigen auch eine extrapontine

Manifestation. In bis zu 25% der extrapontinen Fälle ist sogar keine pontine Demyelinisierung zu finden. Extrapontin sind meist das Cerebellum und die weiße Substanz im Großhirn betroffen. Klinisch zeigen sich nach wenigen Tagen Bewusstseinsstörungen bis hin zum Koma, Schwäche der Extremitäten bis hin zur Tetraparese und Störung der Hirnstammfunktionen. Bei einer isolierten pontinen Myelinolyse stehen pseudobulbäre Symptome im Vordergrund. Histologisch sind die entmarkten Herde scharf begrenzt und beinhalten Lipid beladene Makrophagen, wenige oder keine Lymphozyten und zahlreiche reaktive Astrozyten (Love 2006; Oehmichen 2012).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Autopsiekollektiv

Die Studie wurde an Hirngewebe eines Autopsiekollektivs von 156 Fällen mit einer Vielfalt an entzündlichen, neoplastischen und metabolischen Erkrankungen durchgeführt (**Tabelle 1**, **Tabelle 3**). Die Erkrankungen der untersuchten Fälle wurden am Institut für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen diagnostiziert. Weiterhin wurden die neuropathologischen Diagnosen aller Patienten von drei Neuropathologen des Instituts (Prof. Dr. med. Wolfgang Brück, Prof. Dr. med. Christine Stadelmann-Nessler und Dr. med. Andreas Junker) überprüft. Die Autopsien der 33 MS-Patienten, 3 ADEM-Fälle und 6 NMO-Patienten stammen aus dem Institut für Neurologie der McGill University in Montreal, Kanada und dem Institut für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Insgesamt wurden 457 Hirngewebeblöcke der 156 Autopsien untersucht und die diagnostizierten Erkrankungen in 6 Kategorien mit 19 Krankheitsentitäten (**Tabelle 1**) eingeteilt. Die Gewebeblöcke entstammen den frontalen, parietalen, temporalen oder occipitalen Kortexregionen.

Darüber hinaus wurden auch die Krankengeschichte und die vorhandenen Ergebnisse der jeweiligen gesamten Autopsie überprüft. Die kortikalen Läsionen aus der MS-Kohorte wurden bereits in einer früheren Studie (Albert et al. 2007) detailliert analysiert. Diese MS-Patienten hatten eine mittlere Krankheitsdauer von 17 Jahren (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung:  $17,8 \pm 6,4$ , Median: 20,5 Jahre).

Alle Untersuchungen wurden in Übereinstimmung mit Gesetzen und Richtlinien der Georg-August-Universität durchgeführt und von der Ethikkommission genehmigt.

**Tabelle 1: Untersuchte Krankheitsentitäten des ZNS**

Kategorie	Diagnose	Autopsie- fälle	Zahl der untersuchten Gewebeblöcke mit Kortex
autoimmune Demyelinisierung	MS	33	180
autoimmune Demyelinisierung	ADEM	3	14
autoimmune Demyelinisierung	NMO	6	21
viral	HIV	2	4
viral	JC-Virus (PML)	11 <sup>1</sup>	39
viral	SSPE	2	7
viral	Poliomyelitis	5	10
viral	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC- Virus) mit bekanntem Erreger	8	16
bakteriell	TBC	13	22
bakteriell	Syphilis	3	16
bakteriell	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	12	20
Entzündung/Infektion ohne bekannten Erreger	akute <b>lymphozytäre</b> Meningitis / Meningoenzephalitis ohne bekannten Erreger	6	12
Entzündung/Infektion ohne bekannten Erreger	akute <b>granulozytäre</b> Meningitis / Meningoenzephalitis ohne bekannten Erreger	5	10
Entzündung/Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	6	13
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	18	30
neoplastisch	Hodgkin-Lymphom	3	4
neoplastisch	Plasmozytom	3	5
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	11	20
metabolische Erkrankungen	Zentrale pontine Myelinolyse	6	14
Kategorienzahl: <b>6</b>	Gesamtzahl der Krankheitsentitäten: <b>19</b>	Gesamtfallzahl: <b>156</b>	Gesamtblockzahl: <b>457</b>

<sup>1</sup> beinhaltet einen Biopsiefall mit umfangreichen kortikalen Arealen



## 2.2 Histologische und immunhistologische Methoden

Um Gewebe unter dem Mikroskop untersuchen zu können, muss es zunächst fixiert, geschnitten und anschließend gefärbt werden. Direkt im Anschluss an die Autopsie wurde das Hirngewebe mit Formalin fixiert und später in Paraffin eingebettet (FFPE/ *formalin fixed paraffin embedded*). Die Gewebeschnitte (ca. 3 µm dick) der in Paraffin eingebetteten Autopsieblöcke wurden mit einem Schlittenmikrotom (Leica) angefertigt und in einem 37 °C warmen Wasserbad gestreckt. Danach wurden sie auf Objektträger aufgezogen und in einem Brutschrank über Nacht bei 30 °C getrocknet. Die vor der Färbung notwendige Entparaffinierung wurde thermisch (60 °C Brutschrank, 45 min) und chemisch (Xylol) durchgeführt. Direkt danach erfolgte die Rehydrierung durch eine absteigende Alkoholreihe (100%, 90%, 70%, 50%, Aqua. Bidest, je 5 min) und anschließend die jeweilige Färbung. Um die gefärbten Schnitte permanent zu erhalten, wurden sie durch eine aufsteigende Ethanolreihe bis 100% dehydriert, in Xylol getaucht und mit DePex mounting media (BDH England) eingedeckt.

Alle Färbungen wurden nach Routinelaborstandards des neuropathologischen Instituts durchgeführt und sind im folgenden Abschnitt (s. u.) näher erläutert. Mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) wurden Übersichtsfärbungen angefertigt, um Pathomorphologien wie Entzündungen beurteilen zu können. Um Demyelinisierung zu erkennen wurde mit der LFB-PAS-Färbung das Myelin gefärbt und mit der Silberimprägnation nach Bielschowsky die Axone dargestellt. Immunhistochemische (IHC) Färbungen wurden hinzugezogen, um das Myelin, verschiedene neuronale Zelltypen und das zelluläre Infiltrat zu beurteilen oder Erreger nachzuweisen. Da es schwierig sein kann, kortikale Läsionen in der LFB-PAS-Färbung zu sehen und zu beurteilen, wurden zusätzlich die Myelinproteine PLP, MBP und MOG immunhistochemisch gefärbt. Dadurch wurden die Myelinscheiden deutlicher visualisiert, so dass auch Myelindichteminderungen detektiert werden konnten. Alle Blöcke wurden einer detaillierten neuropathologischen Untersuchung unterzogen und dabei die Myelinintegrität der grauen und weißen Substanz beurteilt. Darüber hinaus half die immunhistochemische Darstellung des Amyloid Precursor Proteins (APP), axonalen Schaden zu detektieren. Intakte axonale Neurofilamente konnten durch die NF200-IHC dargestellt werden.

Der Nachweis von grampositiven Bakterien wurde auf Grundlage der Gram-Färbung vorgenommen. Weiterhin zeigte die Ziehl-Neelsen-Färbung die Anwesenheit von

säurefesten Mykobakterien und die Chloracetat-Esterase-Färbung wurde durchgeführt, um Granulozyten zu visualisieren.

### **2.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung**

Die Schnitte wurden mit Mayers Hämalaun (Merck), das die Zellkerne blau färbt, behandelt, in 1% HCL-Alkohol differenziert und anschließend unter fließendem Leitungswasser gebläut. Nach der Spülung mit Aqua dest. folgte die Gegenfärbung mit Eosin 1%, welches das Bindegewebe und das Zytoplasma rosa erscheinen lässt.

### **2.2.2 LFB-PAS**

Bei dieser Färbung wurden die Schnitte nicht vollständig rehydriert (absteigende Alkoholreihe bis 90% Ethanol) und in LFB-Lösung, die das Myelin blau färbt, bei 60 °C im Brutschrank über Nacht inkubiert. Die Differenzierung der Schnitte erfolgte in drei Schritten. Zuerst wurden die Schnitte in 0,05% Lithiumcarbonat getaucht, danach in 70% Ethanol getränkt und anschließend in destilliertem Wasser gespült. Anschließend folgte die PAS-Färbung, indem die Schnitte zunächst 5 Minuten in 1% Periodsäure verblieben und danach unter fließendem Leitungswasser und später in Aqua dest. gespült wurden. Die Schnitte wurden 20-30 Minuten im Schiffs Reagenz belassen, mit Leitungswasser gespült, kurz in Mayers Hämalaun getränkt und nachfolgend in Aqua dest. getaucht. Nach der Differenzierung mit Alkohol wurde erneut mit Leitungswasser gebläut.

### **2.2.3 Silberimprägnation nach Bielschowsky**

Die Schnitte wurden nach der Entparaffinierung in eine Küvette mit Aqua bidest. überführt. 20% Silbernitratlösung wurde tropfenweise mit Ammoniak versetzt und die Schnitte darin 15 Minuten im Dunkeln inkubiert. Danach wurden die Schnitte in Aqua bidest. mit Ammoniak geschwenkt. Der Ammoniak-/Silberlösung wurde ein Entwickler zugefügt und die Schnitte darin getränkt. Die rasch ablaufende Entwicklung wurde mit destilliertem Wasser gestoppt, die Schnitte in 2% Natriumthiosulfat getaucht und vor der Alkoholreihe zu allerletzt mit Leitungswasser gespült.

Diese Färbung versilbert Neurofilamente. Damit erscheinen Neurone und ihre Axone schwarz.

#### 2.2.4 Immunhistochemie

Durch Antikörper können in Gewebeschnitten spezifische Antigene markiert und anschließend durch Färbung visualisiert werden (Immunhistochemie, IHC). Voraussetzung für die Bindung des verwendeten Antikörpers ist das „Freiliegen“ des Gewebeantigens (Epitops). Durch das oben beschriebene Fixieren des Gewebes werden Proteine vernetzt und es kann zur „Maskierung“ der Epitope kommen. Je nach Antikörper (**Tabelle 2**) muss deshalb eine Antigendemaskierung durch Mikrowellenbehandlung für 15 Minuten (800 Watt) in Citrat oder EDTA (Ethylendiamintetraacetat)-Puffer durchgeführt werden. Im Anschluss an diese Vorbehandlung wurde die endogene Peroxidaseaktivität durch die Inkubation der Gewebeschnitte in 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS/phosphate buffered saline) blockiert. Um eine unspezifische Antikörperbindung zu verhindern, mussten die Schnitte darüber hinaus mit 10% fetalem Kälberserum in PBS für 10 Minuten bei Raumtemperatur blockiert werden. Die gewaschen Schnitte wurden mit den in der Tabelle aufgelisteten Antikörpern (**Tabelle 2**) über Nacht inkubiert und danach unter Anwendung einer Avidin-Biotin-Technik mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) oder 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC) als Chromogene visualisiert. Abschließend wurden die Schnitte zusätzlich mit Mayers Hämalaun gegengefärbt, mit Alkohol differenziert und mit Wasser gespült, um die Kerne der Zellen sichtbar zu machen.

**Tabelle 2: Antikörper der IHC und Färbeverfahren**

<b>Antigen</b>	<b>Tierart der Antikörper</b>	<b>Verdünnung</b>	<b>Vorbehandlung</b>	<b>Firma</b>	<b>Zielstruktur</b>
MBP	rabbit pc	1:2000	-	DAKO REF A0623	Myelinprotein
MOG	rat pc	1:1000	Citrat	Spende von Prof. D. Merkle, Universität Geneva, Schweiz	Myelinprotein
PLP clone plpc1	mouse mc	1:500	Citrat	ABD Serotec MCA 829G	Myelinprotein
GFAP	rabbit pc	1:1000	-	DAKO REF 0334	Astrozyten
Nogo A	rabbit pc	1:1000	Citrat	Santa Cruz	Oligodendrozyten
NF 200 clone 52	mouse mc	1:400	Citrat	Sigma Produktnummer: N0142	Neurofilamente
APP	mouse mc	1:2000	Citrat	Chemicon MAB348	Axonschaden, Sphäroide
KIM1P	mouse mc	1:5000	Citrat	Spende von Prof. HJ Radzun, Universität Göttingen	Makrophagen
2B4	mouse mc	1:500	Citrat	Spende von Prof. JL Bennett, Universität Colorado, Denver, USA	NK-(Natural Killer) Zellen-Ligand CD244
CD 3	rabbit mc	1:50	Citrat	DAKO REF A0452	T-Zellen
CD 8 clone C8/144B	mouse mc	1:50	Citrat	DAKO REF M7103	Zytotoxische T-Zellen
CD 20 clone C26	mouse mc	1:100	-	DAKO REF M0755	B-Lymphozyten
CD 138 clone MI15	mouse mc	1:100	EDTA	DAKO REF M7228	Plasmazellen
HSV1	rabbit pc	1:500	Citrat	DAKO REF 0114	Virusnachweis

### 2.3 Läsions- und Infiltratklassifikation

Die Anzahl und die Lage der demyelinisierten Läsionen (in Gewebelöcken der MS, PML, NMO, extrapontinen Myelinolyse), die Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats (Granulozyten, Lymphozyten, Makrophagen) und das Vorhandensein von meningealer Entzündung und kortikalen Beteiligung wurden dokumentiert.

Die meningeale Zellinfiltration wurde in allen Autopsiefällen semiquantitativ beurteilt, indem die infiltrierenden Zellen pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung (sog. *high power field*, HPF) gezählt wurden. Zuletzt wurde mithilfe von vier verschiedenen Kategorien die Infiltratdichte eingestuft (**Abbildung 1**).

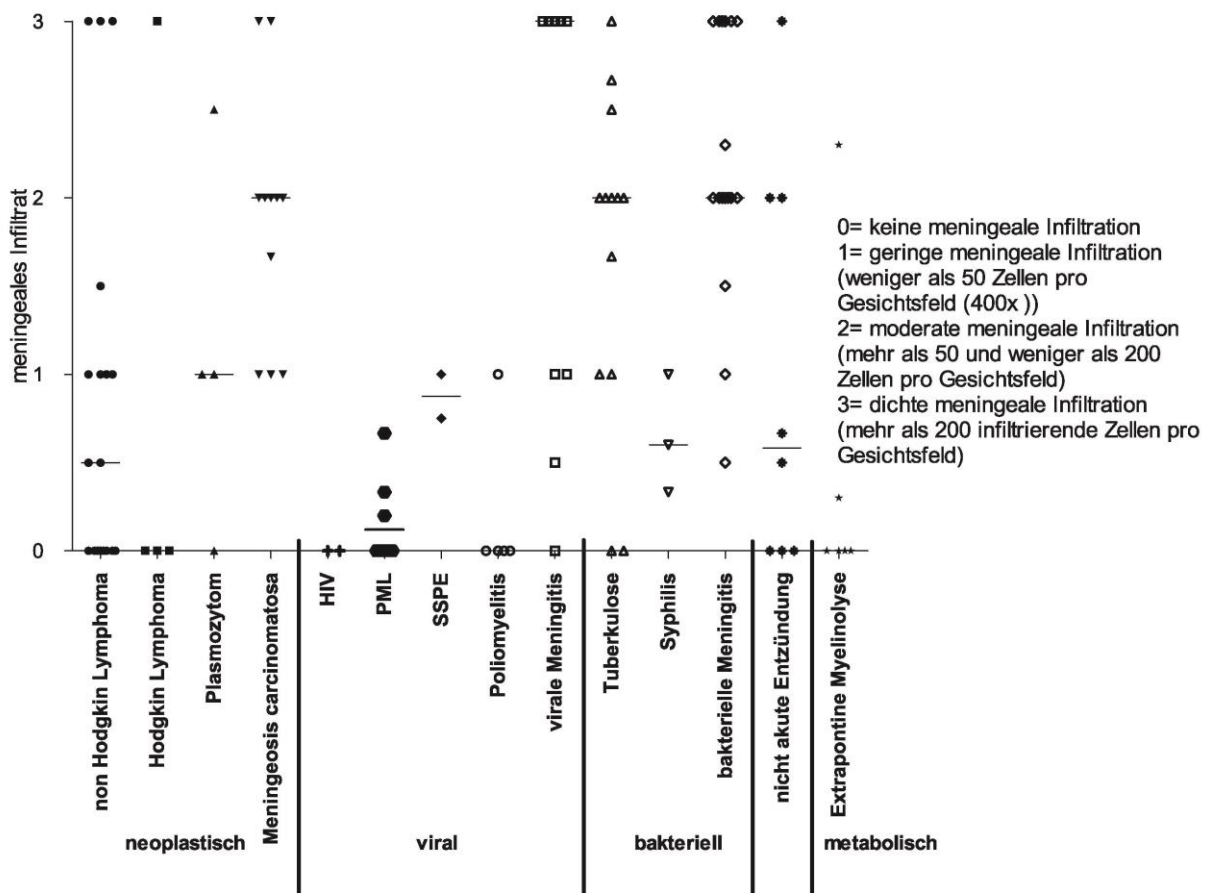
### 3 Ergebnisse

Kortikale und besonders subpiale Demyelinisierung sind ein wesentliches Kennzeichen der MS. In dieser Studie wurde untersucht, ob innerhalb anderer entmarkender Erkrankungen sowie bei weiteren entzündlichen, neoplastischen oder metabolischen Störungen ebenfalls eine kortikale respektive subpiale Entmarkung zu finden ist. Des Weiteren wurde die Integrität des kortikalen Myelins in Verbindung mit der darüber liegenden entzündlichen oder neoplastischen Hirnhautinfiltration untersucht. Diese Untersuchung erfolgte unter der Annahme, dass lösliche Mediatoren, die durch intrathekale Zellinfiltrate frei werden und in den Kortex diffundieren, kortikales Myelin und Oligodendrozyten schädigen (**Tabelle 2** und **Abbildung 1**).

Die viralen und bakteriellen Meningitiden bzw. Enzephalitiden zeigten die am schwerwiegendsten ausgeprägte meningeale Zellinfiltration, während kaum Infiltration in den Fällen der PML, der extrapontinen Myelinolyse und bei HIV auftrat (**Abbildung 1**).

Neben der MS konnte auch bei der PML subpiale Demyelinisierung detektiert werden, die morphologisch jedoch nicht den subpialen MS-Läsionen entspricht. In keiner anderen der untersuchten Fallkategorien konnte subpiale Demyelinisierung nachgewiesen werden. Die kortikale Demyelinisierung wurde hingegen bei der ADEM und der extrapontinen Myelinolyse beobachtet.

### Quantifizierung des meningealen Infiltrates der untersuchten Fälle



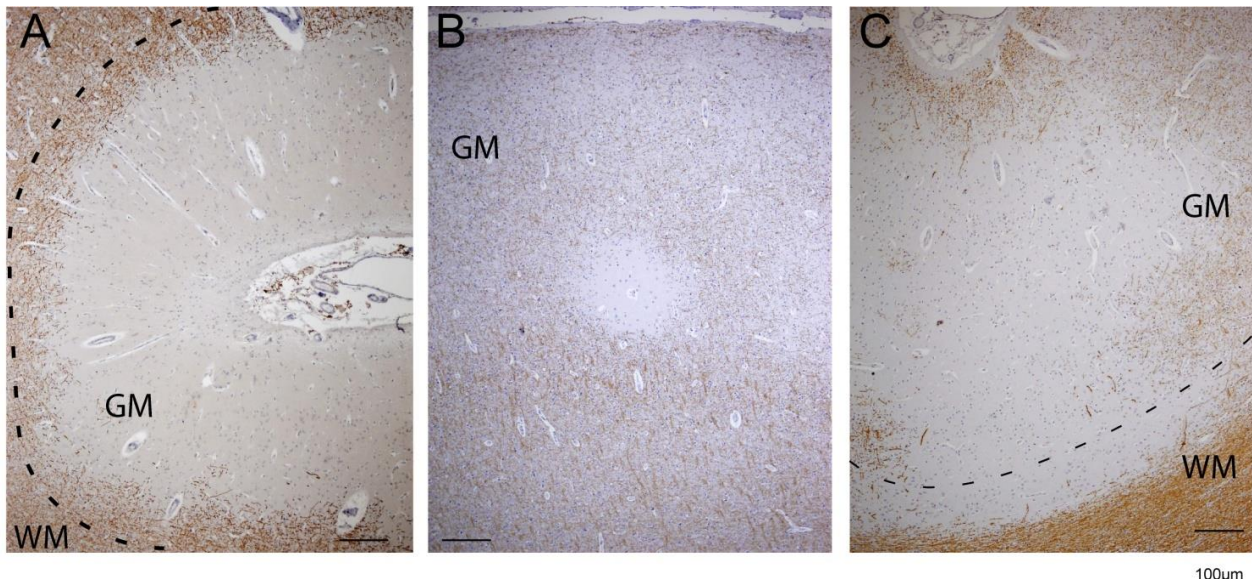
**Abbildung 1: Semi quantitative Beurteilung des zellulären meningealen Infiltrats in allen untersuchten Autopsiefällen**

Das zelluläre meningeale Infiltrat dargestellt in vier Kategorien: **(0)** Keine infiltrierenden Zellen, **(1)** spärliche meningeale Infiltration (weniger als 50 infiltrierende Zellen pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung/HPF), **(2)** moderate Zellinfiltration (50 bis 200 infiltrierende Zellen pro HPF), **(3)** dichte Infiltration (mehr als 200 infiltrierende Zellen pro HPF). Der Mittelwert der Hirnhautinfiltration aller Schnitte pro Kategorie ist in der Abbildung dargestellt. Die dichteste meningeale Infiltration wurde in den Fällen mit viraler oder bakterieller Meningitis/Meningoenzephalitis gesehen.

### 3.1 Klassisch demyelinisierende Erkrankungen

#### 3.1.1 Multiple Sklerose

Kortikale Demyelinisierung trat wie zuvor beschrieben bei der Mehrheit der chronischen MS-Patienten der untersuchten Kohorte auf (Albert *et al.* 2007). Es wurden 180 MS-Gewebeblöcke der 33 verschiedenen MS-Fälle untersucht und darunter in 29 Fällen kortikal entmarkte Läsionen gefunden. Dabei fanden sich leukokortikale Läsionen in der Myelinprotein-IHC an der Grenze zwischen weißer und grauer Substanz (Typ I), perivaskuläre Läsionen in der grauen Substanz (Typ II) und subpiale bandförmige Läsionen (Typ III). Fokale meningeale lymphozytäre Aggregate waren in der Nähe von Typ-III-Läsionen selten zu finden. Die subpial demyelinisierten Läsionen der untersuchten Autopsiefälle zeigten nur spärliche Lymphozyteninfiltration und moderate Mikrogliaaktivierung. Am häufigsten traten diese Typ-III-Läsionen im frontalen Kortex auf (64% aller frontalen kortikalen Läsionen) (Albert *et al.* 2007).



**Abbildung 2: Kortikal demyelinisierte MS-Läsionen**

Typische kortikale MS-Läsionen kommen in den Abbildungen durch die immunohistochemische Färbung des Myelinproteins MBP zur Darstellung. **A** zeigt eine subpiale bandförmig demyelinisierte Läsion der oberen kortikalen Schichten, die sich auf benachbarte Gyri erstreckt. **B** zeigt eine gut abgegrenzte kleine perivaskuläre kortikale Läsionen und in **C** ist eine leukokortikale Läsion an der Grenze der grauen und weißen Substanz dargestellt. (WM=weiße Substanz, GM=graue Substanz)



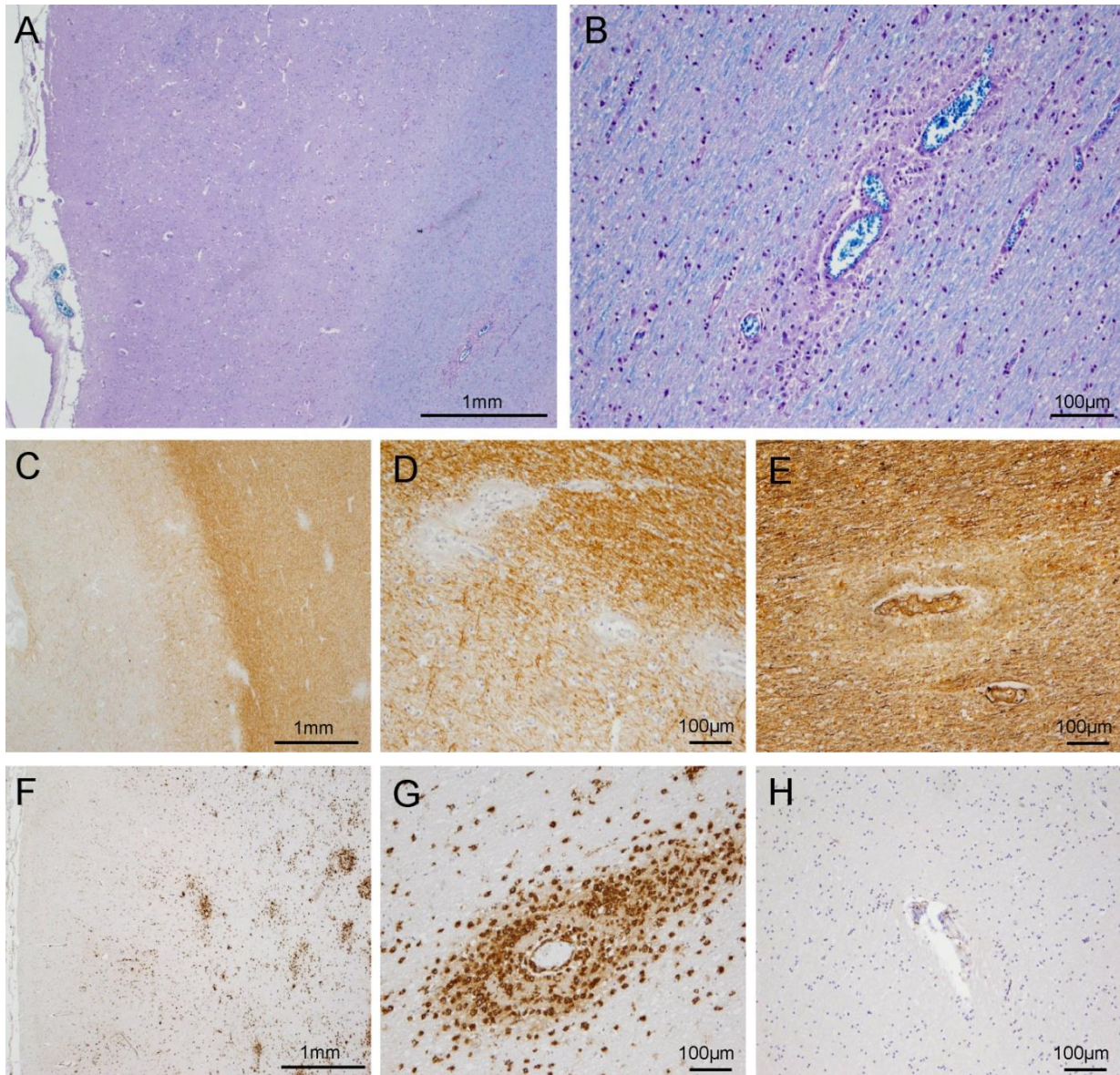
### 3.1.2 Keine subpiale Demyelinisierung bei ADEM und NMO

Kortikale Areale von 3 ADEM- und 6 NMO-Autopsiefällen, deren Diagnosen histologisch und klinisch belegt waren, wurden untersucht.

Ein ADEM-Fall zeigte in beiden verfügbaren Gewebeblöcken leukokortikale Läsionen. Die kleinen perivaskulären entzündlichen Läsionen wiesen erhaltene axonale Integrität und fokalen Myelinverlust (**Abbildung 3**) auf. Makrophagen und aktivierte Mikroglia zeigten die typische Anordnung um kleine Gefäße. Des Weiteren war im entzündlichen Infiltrat eine geringe Anzahl an T-Zellen anzutreffen. In den oberen kortikalen Schichten fanden sich keine auffälligen perivaskulären entzündlichen Infiltrate und keine subpiale oder intrakortikale Demyelinisierung.

In den beiden anderen untersuchten ADEM-Fällen war keine Beeinträchtigung der kortikalen oder leukokortikalen Bereiche erkennbar. Nur in der weißen Substanz wurden demyelinisierte Areale beobachtet.

In den 6 NMO-Fällen mit 21 Gewebeblöcken waren neben aktiven auch chronisch demyelinisierte Läsionen zu beobachten, die sich jedoch auf die weiße Substanz beschränkten. Dieser Befund deckt sich mit der Literatur (Popescu *et al.* 2010). Die noch vorhandenen Astrozyten zeigten einen deutlichen fokalen Aquaporin-4-Verlust. Die umfangreiche Demyelinisierung der weißen Substanz war mit akutem axonalen Schaden assoziiert. Daneben bestand das entzündliche Infiltrat der aktiven Läsionen aus zahlreichen schaumzelligen Makrophagen und einzelnen perivaskulären Granulozyten. Spärlich eingestreut zeigten sich CD3<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Darüber hinaus war das Merkmal der chronischen Läsionen eine extensive Gliose.



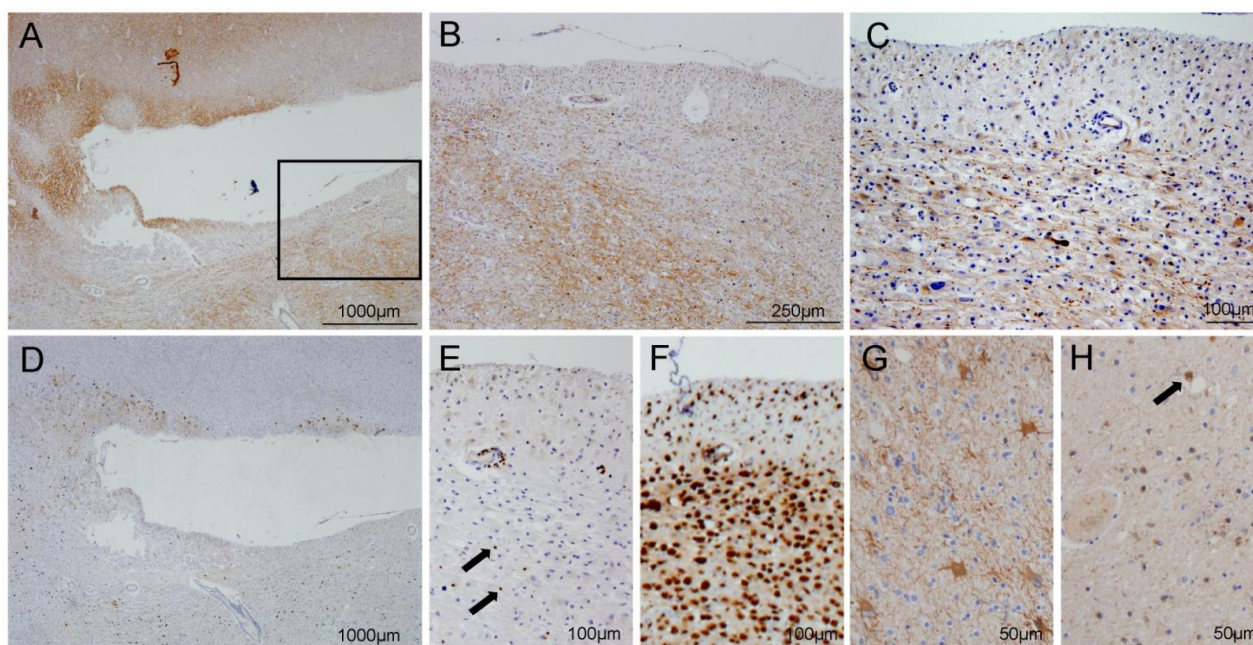
### Abbildung 3: Leukokortikale Demyelinisierung bei der ADEM

In LFB-PAS gefärbten Serienschnitten konnten kleine perivaskuläre demyelinisierte Herde an der leukokortikalen Grenze (A) identifiziert werden. B zeigt eine typische perivaskuläre Zellinfiltration und Demyelinisierung der weißen Substanz in der LFB-PAS-Färbung. Die MBP-IHC (C und D) zeigt leukokortikal demyelinisierte Läsionen. Es wurde keine subpiaale oder intrakortikale Demyelinisierung beobachtet. E zeigt das erhaltene, aber aufgelockerte axonale Gerüst in der Silberimprägnierung nach Bielschowsky. In F und G kommen schaumzellige Makrophagen und aktivierte Mikrogliazellen, immunhistochemisch mit dem Antikörper-Klon-KiM1P gefärbt, zur Darstellung. Einige wenige perivaskuläre CD3<sup>+</sup>-T-Lymphozyten sind in H zu sehen.

### 3.1.3 PML und supiale Demyelinisierung

Alle 10 untersuchten PML-Fälle zeigten demyelinisierte Herde der weißen Substanz. Insgesamt enthielten 32 Gewebeblöcke der unterschiedlichen Fälle entmarkte Herde in dieser Region. Typische aktive PML-Läsionen enthielten schaumzellige Makrophagen, einige Lymphozyten (vor allem CD8<sup>+</sup>) und Astrozyten mit bizarr geformten Zellkörpern und Kernformen. Die Oligodendrozyten hatten teilweise milchglasartige Zellkerne und waren in ihrer Anzahl reduziert. Mittels SV40-IHC, die einen positiven Virusnachweis im Zytoplasma und den Zellkernen mehrerer Oligodendrozyten in den Läsionen zeigte, wurde die JC-Virus-Infektion (**Abbildung 4, D**) verifiziert.

Intrakortikale demyelinisierte Läsionen mit unscharfen Grenzen traten bei 6 von 10 Autopsiefällen auf; ferner wurden in einer hinzukommenden Biopsie ebenfalls kortikale Läsionen nachgewiesen. Leukokortikale Läsionen waren in 7 von 10 Fällen vorhanden. Darüber hinaus zeigten zwei Autopsiefälle mit kortikaler Inflammation und hoher kortikaler Viruslast subpiale demyelinisierte Areale. Diese Bereiche waren fokal, klein, rundlich und unscharf begrenzt. Die betroffenen Läsionen zeichneten sich durch das komplette Fehlen des subpialen Myelins und durch viele schaumzellige Makrophagen mit Myelinabbauprodukten im Zytoplasma aus. Die axonalen Strukturen waren in den oberen kortikalen Schichten erhalten, zeigten jedoch viele intraaxonale APP<sup>+</sup>-Sphäroide als Zeichen eines akuten axonalen Schadens. Es imponierte eine außergewöhnliche Viruslast in den oberen kortikalen Arealen, die bis in die subpialen Bereiche reichte. Interessanterweise traten nur wenige, überwiegend perivaskulär lokalisierte T-Zellen in diesen Läsionen auf, während zahlreiche schaumzellige Makrophagen die betroffenen subpialen und oberen kortikalen Regionen besiedelten. Einige Astrozyten zeigten ein hohes Maß an Kernpolymorphien. Auffallend waren bei einigen Oligodendrozyten die unregelmäßigen Zellformen und die Dichteminderung in mehreren Arealen. Darüber hinaus fand sich auch in der untersuchten Biopsie ein Areal mit subpialer Demyelinisierung.

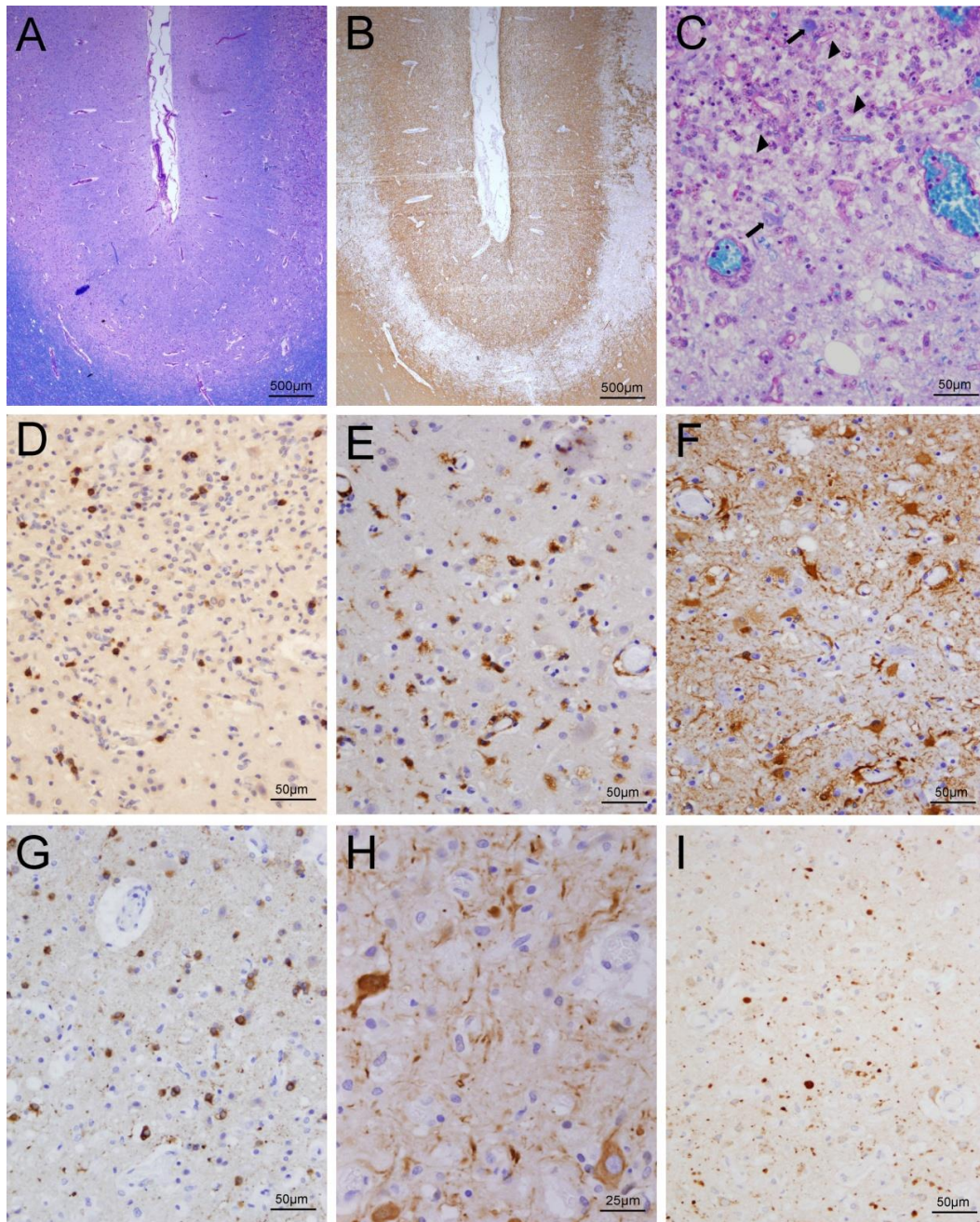


**Abbildung 4: Körtikale Demyelinisierung in der PML**

Kleine, unregelmäßig demyelinisierte subpiale Herde können in den Serienschritten der MBP-IHC (A) identifiziert werden. B zeigt eine subpial demyelinisierte Läsion von A im Detail. C beinhaltet die geschädigten, aber erhaltenen axonalen Strukturen (NF200). Die hohe Viruslast ist in D (SV40 IHC) sichtbar. Die geringe CD3<sup>+</sup> T-Lymphozyteninfiltration ist in E dargestellt (Pfeile zeigen T-Lymphozyten im Parenchym). Schaumzellige Makrophagen sind in F mit der KiM1P-IHC hervorgehoben. Astrozyten mit bizarren Zellkernen (G – GFAP-IHC) und geschwollene Oligodendrozyten mit milchglasartigen Kernen sind erkennbar (H – NogoA-IHC).

### 3.1.4 Körtikale Entmarkung bei der extrapontinen Myelinolyse

Körtikale Demyelinisierung konnte auch bei der metabolischen Erkrankung, der extrapontinen Myelinolyse, festgestellt werden. Bei einem der sechs Patienten mit zentraler pontiner Myelinolyse (Tabelle 1), die sich mit typischen pontinen Läsionen dargestellt, wurden extrapontine demyelinisierte Bereiche mit Myelinverlust und Axonerhalt beobachtet (Abbildung 5). Diese Läsionen erstreckten sich nur in geringem Ausmaß auf die subkörtikale weiße Substanz, aber erfassten bandförmig umfangreiche tiefe körtikale Schichten. Gemäß der Läsionstypisierung der körtikalen MS-Pathologie entsprechen diese Läsionen am ehesten Typ-1-Läsionen. Sie enthielten zahlreiche schaumzellige Makrophagen mit einigen hauptsächlich CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (Abbildung 5).



### Abbildung 5: Körtiko-subkörtikale Demyelinisierung in der extrapontinen Myelinolyse

Bandförmige körtiko-subkörtikale Demyelinisierung wurde in einem Fall der extrapontinen Myelinolyse beobachtet (A: LFB-PAS; B: PLP-IHC). C zeigt Neurone im demyelinisierten Bereich in einer höheren Vergrößerung (Pfeile), außerdem eine beträchtliche Anzahl schaumzelliger Makrophagen mit PAS<sup>+</sup>-Granula in ihrem Zytoplasma (Pfeilspitzen - einige Beispiele) (LFB -PAS). Eine dichte Infiltration durch CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (D) und KiM1P<sup>+</sup>-Makrophagen bzw. aktivierte Mikroglia (E) ist in demyelinisierten Arealen zu finden. F stellt die intensive reaktive Astrogliose dar (GFAP-IHC). Die demyelinisierten Bereiche sind reich an Nogo A<sup>+</sup> - Oligodendrozyten (G). H zeigt weitgehend erhaltene axonale und neuronale Strukturen (NF200-IHC). Die akute axonale Schädigung wird durch den Marker APP (I) dargestellt.

## **3.2 Infektiöse Erkrankungen**

### **3.2.1 Akute meningeale Entzündungen**

#### **3.2.1.1 Akute bakterielle Infektionen**

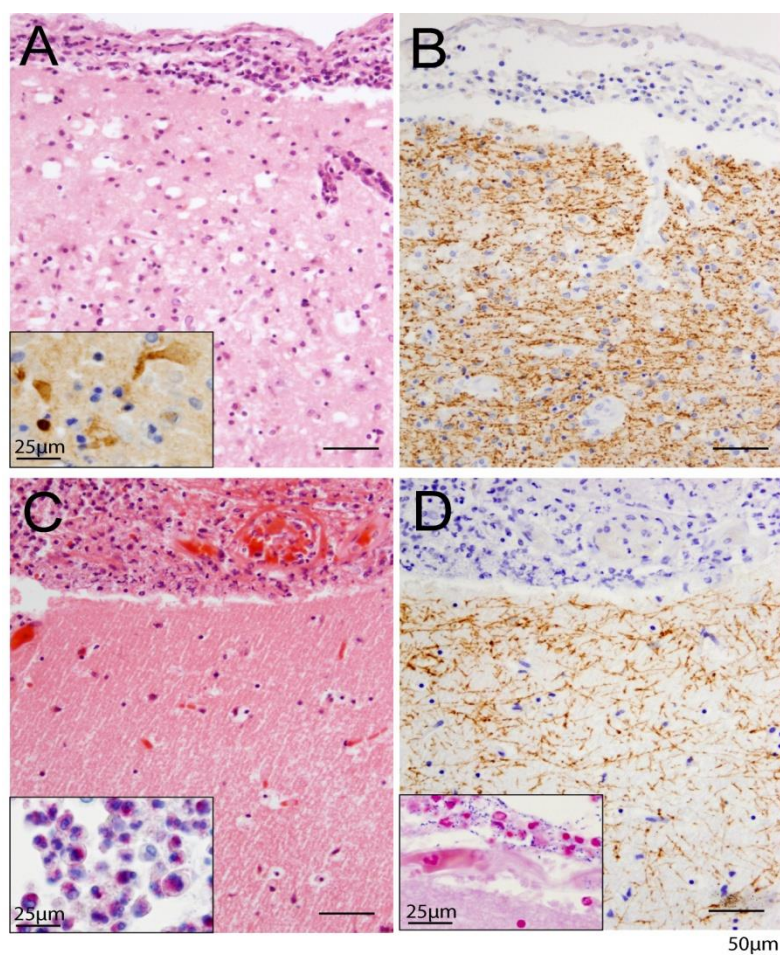
Fälle mit akuter bakterieller Meningitis zeichneten sich durch eine ausgedehnte Hirnhautinfiltration mit Granulozyten, Makrophagen und einigen Lymphozyten aus. In den meisten Fällen (>90%) wurden auch kortikale Bereiche durch die Entzündungszellen fokal infiltriert und etwa 50% der Fälle zeigten herdförmige kortikale Nekrosen. Bei Patienten, die in einem späteren Krankheitsstadium starben, wurde die meningealen Infiltrate durch Lymphozyten und Makrophagen mit wenigen Granulozyten dominiert. Eine Schädigung der Myelinscheiden konnte unabhängig von nekrotischen Arealen nicht beobachtet werden. (**Abbildung 5 A und B**).

#### **3.2.1.2 Virale Infektionen außer PML**

Charakteristisch für die akute virale Meningitis zeigten sich mononukleäre Infiltrate in den Meningen. Neben lymphozytären Meningitiden, bei denen kein Erreger identifiziert werden konnte, fanden sich ebenso mehrere Gewebeproben der Autopsiefälle mit HSV-Meningoenzephalitiden (**Abbildung 6 C und D**). Dort wurden Nekrosen im Kortex und in der weißen Substanz, sowie eine Infiltration durch Granulozyten beobachtet. Der HSV-Nachweis gelang in Neuronen mittels IHC. Eine mäßige Anzahl an Lymphozyten und Makrophagen erstreckte sich von der Pia durch den Kortex bis in die tiefe weiße Substanz. Eine kortikale Demyelinisierung wurde dabei nicht beobachtet.

Eine weitere akute Virusinfektion, die Infektion durch Zytomegalieviren (CMV), zeigte charakteristische Zellen mit Einschlusskörpern, Ependymitis und Gewebnekrosen. Auch hier konnte keine Schädigung des Myelins oder der Oligodendrozyten festgestellt werden.

Die Infektion mit HIV kann unter Umständen schon in frühen Stadien der Erkrankung zu einer ZNS-Beteiligung führen. In den untersuchten HIV-Autopsiefällen waren weder meningeale Zellinfiltrationen, noch demyelinisierte Areale erkennbar.



**Abbildung 6: Subpiale Myelinscheiden sind bei akuten bakteriellen und viralen Infektionen (HSV) erhalten**

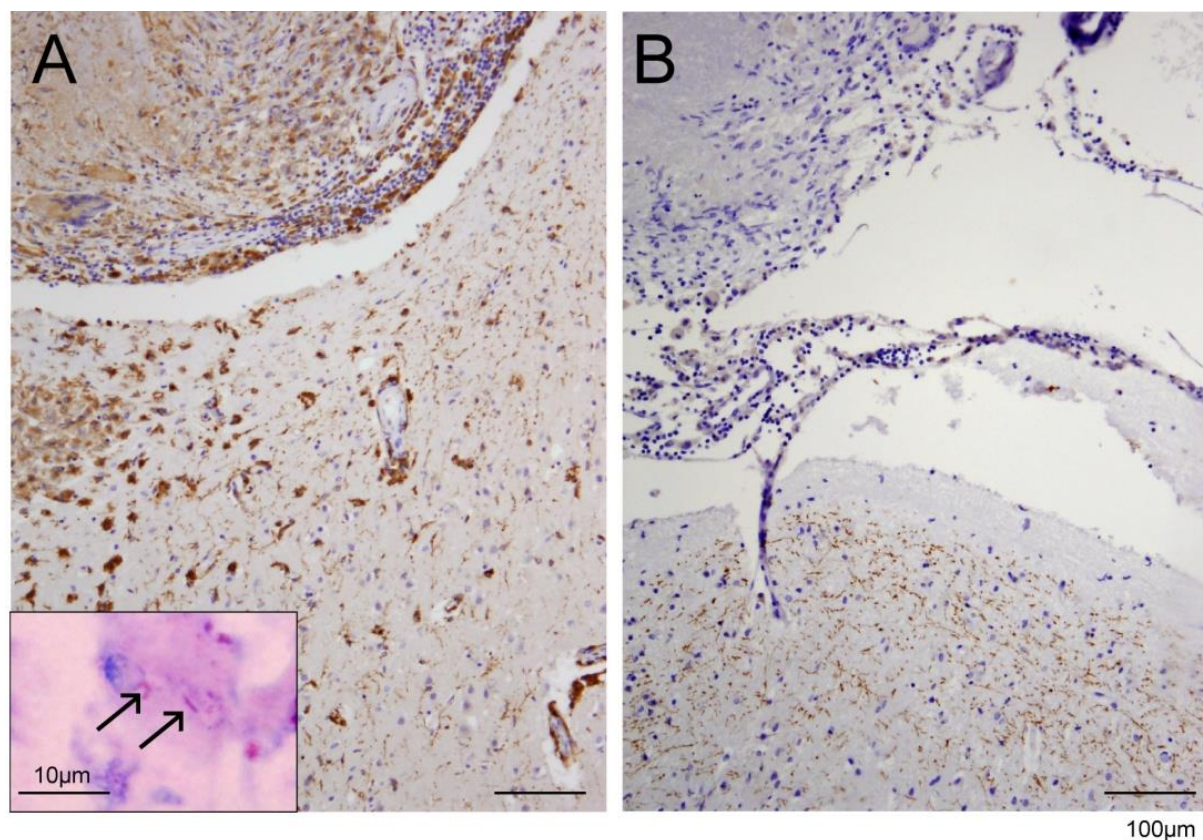
HE (A, C) und PLP-IHC (B, D) des Kortex mit angrenzender Hirnhautinfiltration zeigt intakte subpiale Myelinscheiden bei der HSV-Enzephalitis (A, B) und der akuten bakteriellen Meningitis (C, D). Das in A eingefügte Bild zeigt HSV-1<sup>+</sup>-Neurone. Chloracetatesterase positive Granulozyten werden im eingefügten Bild in C gezeigt, Gram<sup>+</sup> Bakterien in D.

### 3.2.2 Chronische Infektionen

#### 3.2.2.1 Chronisch granulomatöse bakterielle Infektionen

Die Syphilis und die Tuberkulose sind chronische Infektionen durch *Treponema pallidum* und *Mycobacterium* ssp., die die Phagozytose durch Makrophagen überleben und eine chronische Gewebereaktion mit Granulombildung auslösen. Diese Granulome sind durch Nekrosen, epitheloide Zellen, mehrkernige Riesenzellen und Lymphozyteninfiltration charakterisiert. In einem der drei untersuchten Syphilisfälle kamen mehrere ischämische Läsionen in der grauen und weißen Substanz zur Darstellung. Es wurden jedoch keine demyelinisierenden Läsionen weder in der weißen noch in der grauen Substanz, beobachtet. Übereinstimmend mit der zuvor beschriebenen ZNS-Pathologie der TBC waren Granulome mit zentral verkäsender Nekrose auffindbar. In 10 der 13 Autopsiefälle mit Tuberkulose wurde eine signifikante meningeale Infiltration mit Lymphozyten und Makrophagen beobachtet. Meningeale Granulome wurden in 4 der 13 untersuchten Fälle (**Abbildung 7**)

entdeckt. Das benachbarte Parenchym zeigte zahlreiche aktivierte Mikrogliazellen und aktivierte Astrozyten. Darüber hinaus wurden zahlreiche, mit den Granulomen assoziierte Epitheloidzellen und mehrkernige Riesenzellen beobachtet. Eine kortikale und insbesondere eine subpiaie Demyelinisierung fand sich hingegen nicht.



**Abbildung 7: Intaktes subpiaies Myelin bei der meningealen TBC**

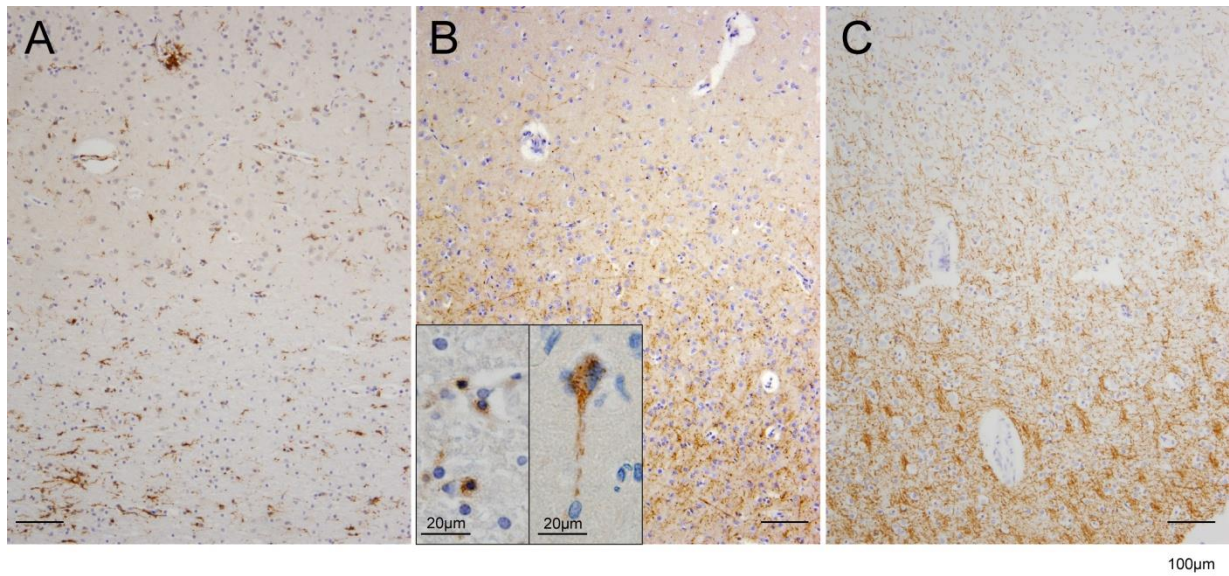
Meningeale Infiltration mit Lymphozyten, Epitheloid- und Riesenzellen sowie verkäsende Nekrose charakterisiert die Tuberkulose (A, KiM1P-IHC). Mykobakterien sind durch die Ziehl-Neelsen-Färbung (kleines Bild) visualisiert. Die PLP-IHC demonstriert das erhaltene subpiaie Myelin unmittelbar neben einem meningealen Tuberkulom (B).

### 3.2.2.2 Kortikale Pathologie bei chronisch viralen Infektionen

Es wurden Gewebeproben zweier Patienten untersucht, die an einer SSPE mit nachgewiesenen Masern-Virus-Infektion (**Abbildung 8**) starben. Die T-Lymphozyteninfiltration war nur spärlich, ging jedoch mit massiver Mikrogliaaktivierung, teilweise in Form von Mikrogliaknötchen, im gesamten Kortex und der weißen Substanz einher. Das Masern-Virus-Antigen wurde in vielen Oligodendrozyten, in intrazytoplasmatischen oder



nukleären Einschlüssen, sowie in einigen kortikalen Neuronen nachgewiesen. Die Myelinprotein-IHC zeigte jedoch keine Demyelinisierung im Hirnparenchym (**Abbildung 8**).



**Abbildung 8: Kein Hinweis kortikaler Demyelinisierung in der SSPE**

In **A** ist eine ausgeprägte Mikrogliaaktivierung in der grauen und weißen Substanz mit Mikrogliaknötchen in einem repräsentativen Fall der Masernvirus induzierten SSPE zu sehen. Das Masern-Virus-Antigen wurde durch die IHC in Oligodendrozyten und Neuronen (Einschub in **B**) nachgewiesen. Es fand sich in der IHC für MAG (**B**) und PLP (**C**) keinen Hinweis für Demyelinisierung.

Ebenso konnte in Fällen mit unspezifischer chronischer Plasma- und B-Zell reicher Entzündung der Meningen ohne Erregernachweis keine subpiale Demyelinisierung nachgewiesen werden.

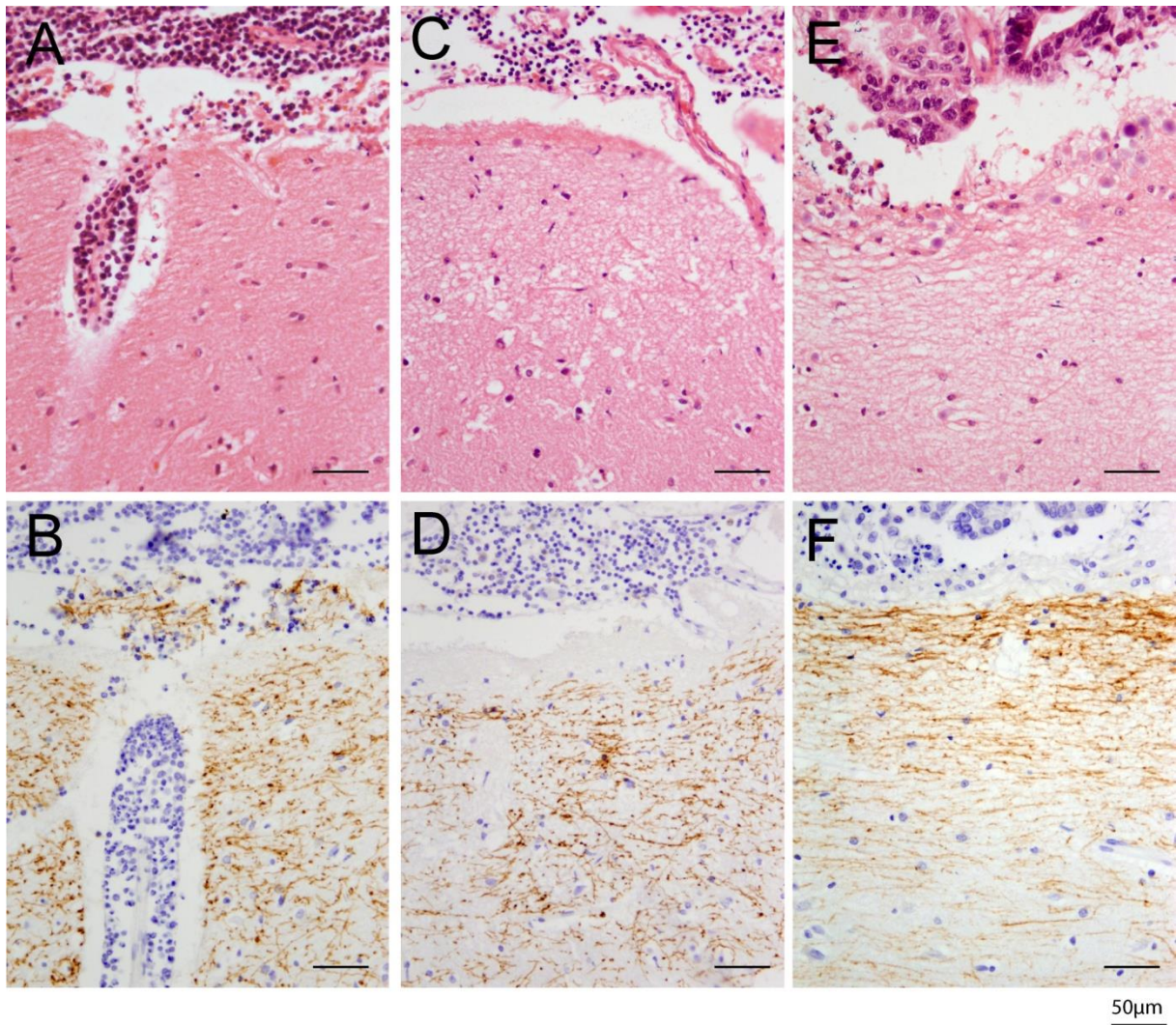
### **3.3 Neoplastische Erkrankungen der Hirnhäute**

#### **3.3.1 Lymphome und Plasmozytome**

Auch bei ausgeprägter Hirnhautinfiltration mit neoplastischen Plasmazellen bei Plasmozytomen fand sich im untersuchten Kollektiv keine kortikale Demyelinisierung. Obgleich im Rahmen des primären Non-Hodgkin-Lymphoms im ZNS Demyelinisierung beschrieben worden ist (Alderson et al. 1996; Hussein et al. 2012; Kuhlmann et al. 2001), war in der Studienkohorte von 18 NHL-Patienten (**Tabelle 1**) keine Demyelinisierung zu detektieren, auch wenn 11 Autopsiefälle kortikale perivaskulär akzentuierte und teilweise disseminierte oder meningeale Infiltration zeigten. Einer der 3 Patienten mit Hodgkin-Lymphom imponierte mit einer dichten neoplastischen Infiltration (**Tabelle 3**). Jedoch waren auch hier die Myelinscheiden gut erhalten (**Abbildung 9 A-D**).

#### **3.3.2 Meningeosis carcinomatosa**

In 11 Autopsiefällen mit Meningeosis carcinomatosa infiltrierten maligne Zellen diffus oder in drüsigen Zellverbänden den Subarachnoidalraum. Das untersuchte Autopsiekollektiv umfasste Fälle mit Mamma-, Bronchial-, Ovarial-, und Magen-Darm-Karzinom (**Tabelle 3**). Die subpialen kortikalen Schichten enthielten einige aktivierte Astrozyten, aktivierte Mikrogliazellen und nur wenige Lymphozyten. Die subpialen Myelinschichten zeigten in keinem der untersuchten Fälle eine Schädigung (**Abbildung 9 E und F**).



**Abbildung 9: Erhaltene subpiaie Myelinscheiden in einer Vielzahl von Erkrankungen mit meningealer neoplastischer Zellinfiltration**

HE (A, C, E) und PLP-IHC (B, D, F) des Kortex mit angrenzender Hirnhautinfiltration zeigt unbeschädigte subpiaie Myelinscheiden bei Meningeosis lymphomatosa (A, B), Plasmozytom (C, D) und Meningeosis carcinomatosa (E, F).

## 4 Diskussion

### 4.1 Einleitung: Demyelinisierung als krankheitsspezifisches Phänomen

Kortikale Demyelinisierung und besonders der umfangreiche bandförmige subpiale Myelinverlust ist ein Merkmal der MS. Bei diesem Charakteristikum bestünde die Möglichkeit, es als spezifisches diagnostisches Merkmal dieser Erkrankung (z. B. in der Histopathologie oder der Bildgebung) zu nutzen. Andere demyelinisierende Erkrankungen wie die ADEM, die PML und Erkrankungen mit akuter oder chronischer, entzündlicher oder neoplastischer kortikaler Pathologie könnten potentiell kortikale oder subpiale Myelinveränderung aufweisen. Daher sollte anhand dieser groß angelegten Studie verdeutlicht werden, ob die subpialen und kortikalen Läsionsformen der MS-spezifisch für diese Erkrankung sind und ein krankheitsspezifisches Muster aufweisen. Demzufolge wurde ein breites Erkrankungsspektrum ausgiebig untersucht, das mit einer Vielzahl an zellulären Infiltrations- und Zytokinmustern im Kortex einhergeht. Allerdings wurde keine bandförmige subpiale Myelinschädigung in der Autopsiekohorte, außer bei der MS, nachgewiesen. Dies deutet darauf hin, dass krankheitsspezifische Mechanismen der Demyelinisierung bei der MS vorherrschen.

### 4.2 Zytokine und Chemokine prägen ein krankheitsspezifisches Milieu

Subpiale kortikale Demyelinisierung bei der MS wurde mit lymphozytärer meningealer Infiltration in Verbindung gebracht (Magliozzi et al. 2007; Serafini et al. 2004). Die Hypothese, dass inflammatorische Mediatoren, die von Lymphozyten des meningealen Kompartiments freigesetzt werden, zur Pathologie der grauen Substanz und damit zur Zunahme klinischer Behinderung führen, wurde bereits mehrfach geäußert (Gardner et al. 2013; Magliozzi et al. 2010). Zusammen mit der Aktivierung von B- und Plasmazellen wurde eine Hochregulation von Ig-Molekülen bei MS-Patienten im Kortex beobachtet (Torkildsen et al. 2010). Dennoch konnte die enge örtliche Verbindung der Entzündungszellen mit kortikaler Entmarkung nicht in allen Studien bestätigt werden (Kooi et al. 2009). Auch in dieser Studie waren in der MS-Kohorte meningeale Infiltrate nicht konsistent mit kortikalen Typ-III-Läsionen assoziiert. Dies weist darauf hin, dass möglicherweise eine generalisierte Entzündungsreaktion innerhalb der Liquorräume für eine Demyelinisierung erforderlich ist

(Stadelmann et al. 2008). Die MS könnte als fokale Entzündung beginnen und in eine chronifizierte diffuse Entzündungsreaktion des gesamten Parenchyms münden.

Es bleibt abzuwägen, ob ein komplexes krankheitsspezifisches ZNS-Milieu demyelinisierende Vorgänge auslösen kann. Die kortikale stereotaktische Injektion von Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in MOG-immunisierten Ratten im EAE-Modell verursacht fokale demyelinisierte Läsionen an mehreren Stellen im Kortex und verdeutlicht so die Bedeutung der Zytokine. Bemerkenswerterweise hatten diese Läsionen histologische Ähnlichkeiten mit kortikalen Läsionen der MS und zeigten typische Muster der intrakortikalen und subpialen Demyelinisierung samt inflammatorischer Infiltration, Komplementablagerungen und akuter axonaler Schädigung (Merkler et al. 2006).

MS-Läsionen beinhalten ein komplexes Zytokin-/Chemokin-Milieu. An dieser Stelle zeigt eine aktuelle Studie die Hochregulation von inflammatorischen Genen in aktiven demyelinisierenden MS-Läsionen des Kortex und unterstreicht damit ihre entzündliche Komponente (Fischer et al. 2013). Dabei vermitteln immunologische Faktoren wie TNF- $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) oder IFN- $\gamma$  die akuten entzündlichen Prozesse der frühen MS-Läsionen (Bitsch et al. 2000a; Argaw et al. 2006; Navikas und Link 1996). Andere Chemokine oder Chemokinliganden wie CXCL12 (Chemokin C-X-C motif ligand), CXCL13 oder CCL19 (*Chemokin C-C motif ligand*) und inflammatorische Zytokine wie CXCL10, CCL2 und CCL3 begünstigen die Immunzellmigration in das erkrankte ZNS-Gewebe bei der MS (Meinl et al. 2006). Die Chemokine, die in MS-Läsionen gefunden werden konnten, sind interessanterweise wichtige Faktoren bei der Immunzellantwort im Lymphgewebe (Drayton et al. 2006). Darüber hinaus zeigen aktive und chronische MS-Läsionen eine erhebliche Überexpression von TGF- $\beta$  (De Groot et al. 1999).

Die Studienkohorte umfasst Patienten mit akuten sowie chronischen inflammatorischen Krankheitsprozessen. Erstaunlicherweise weisen mehrere dieser Erkrankungen eine Überlappung in ihrer Zytokin- und Chemokinexpression mit der MS auf. IL1- $\beta$  und TNF- $\alpha$  sind Zytokine, die im Liquor bei akuten entzündlichen Infektionen des ZNS mit Bakterien und Mykobakterien (IL1- $\beta$ , TNF) oder bei viralen Meningitiden/Meningoenzephalitiden (IL1- $\beta$ ) hochreguliert werden (Akalin et al. 1994). TGF- $\beta$  ist in reaktiven Astrozyten bei infektiösen Geschehen wie der akuten bakteriellen Hirnhautentzündung (Ata et al. 1997), HIV-1-Infektion oder PML (Johnson und Gold 1996) überexprimiert. Das aktuelle Konzept der Granulom- und Riesenzellbildung favorisiert verschiedene Zytokine wie z. B. IFN- $\gamma$  als

ursächliche Mediatoren (Sakai et al. 2012). Ebenso findet sich bei der akuten entzündlichen Reaktion in frühen MS-Läsionen eine deutliche IFN- $\gamma$  Ausschüttung.

Obwohl sich Entzündungsmediatoren, die durch verschiedene ZNS-Erkrankungen mit kortikaler Pathologie freigesetzt werden, zumindest mit den Signalproteinen bei der MS überschneiden, konnte in keinem der untersuchten Fälle eine kortikale Demyelinisierung beobachtet werden. Jedes komplexe und spezifische Zytokinmilieu einer ZNS-Erkrankung ist mit einer bestimmten glialen Genexpression verbunden (John et al. 2003), was offensichtlich ein krankheitsspezifisches Gewebemilieu prägt.

CXCL13 in Kombination mit IL10 ist beispielsweise bei primären ZNS-Lymphomen hochreguliert und in dieser speziellen Kombination hoch spezifisch für diese Erkrankung (Rubenstein et al. 2013). Bei manchen ZNS-Lymphomen finden sich vor Ausbruch der eigentlichen Erkrankung sogenannte entmarkende „Sentinel lesions“, die Ähnlichkeiten mit der Demyelinisierung bei der MS aufzeigen (Alderson et al. 1996; Hussein et al. 2012; Kuhlmann et al. 2001). Diese „Sentinel-lesions“ weisen ebenfalls darauf hin, dass Faktoren, die von den Lymphomzellen abgesondert werden, zu Myelin- und Oligodendrozytenschäden führen könnten, auch wenn kein Patient in dieser Studie eine Demyelinisierung zeigte. Einige metastatische Hirntumoren bergen übereinstimmend mit der MS gleichermaßen eine Hochregulation von Zytokinen wie CXCL13 (Rubenstein et al. 2013). Dennoch konnte in den untersuchten Autopsiefällen mit metastatischem Infiltrat keine Myelinschädigung in der Umgebung der Tumorzellen dargestellt werden.

In dieser Studie konnte dargelegt werden, dass zahlreiche chronische sowie akute Entzündungsreaktionen und Krankheitsgeschehen per se nicht ausreichend sind, um (kortikale) Demyelinisierung zu verursachen. Jede einzelne Erkrankung scheint typische, krankheitsspezifische Verhältnisse zu prägen, was im Einzelfall, wie beispielsweise bei der PML, ausreichend für Demyelinisierung ist.

### **4.3 Oxidativer Stress als proinflammatorischer Induktor**

Bei der MS wurde die Induktion einer transkriptionsregulierten NO-Synthase (nitric oxide synthase/iNOS) benachbart an aktive MS-Läsionen in Makrophagen bzw. Mikroglia, in reaktiven Astrozyten (De Groot et al. 1997) und unauffälliger weißer Substanz nachgewiesen (Liu et al. 2001; Oleszak et al. 1998). Die Expression dieses Enzyms wird durch eine Kombination von proinflammatorischen Signalen, wie Liganden von Toll-like-Rezeptoren

(TLR) und Zytokinen, wie IL-1, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ , reguliert (Nathan und Xie 1994). Somit setzen Makrophagen und Astrozyten Radikale frei, die möglicherweise zur Myelinschädigung und zur Beeinträchtigung der Oligodendrozytenfunktion beitragen könnten. Bei der MS wurde gezeigt, dass die akute Zellschädigung und der Zelltod von Oligodendrozyten mit hochgradigem zytoplasmatischen und nukleären oxidativen Schaden verknüpft sind. Dies untermauert die Ansicht, dass oxidativer Stress während der aktiven MS eine wichtige Rolle bei der Destruktion des Myelins und der Oligodendrozyten spielt (Haider et al. 2011).

Oxidativer Stress mit strukturschädigenden Auswirkungen findet sich darüber hinaus auch bei anderen Erkrankungen. Beispielsweise sind reaktive Stickstoffspezies (Reactive Oxygen Species/ROS) an pathophysiologischen Vorgängen der bakteriellen Meningitis des Menschen beteiligt (Kastenbauer et al. 2002). Die Messung oxidiertes Lipide bei einer induzierten Meningitis im Rattenmodell durch Streptokokken der Gruppe B belegte auch dort die Anwesenheit von ROS (Leib et al. 1996). Andere Daten zeigen, dass das Mycobacterium tuberculosis, der Erreger der TBC, die proinflammatorische Mikrogliareaktion durch die NADPH (Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat)-Oxidase-abhängige Bildung von ROS aktiv induziert (Yang et al. 2007).

Daneben führen auch virale Infektionen zu oxidativem Stress im Gewebe. Als Reaktion auf eine HSV-Infektion wird die Entzündungsreaktion ebenso hier durch die NADPH-Oxidase-abhängigen ROS moduliert (Hu et al. 2011) und in erster Linie oxidativer Schaden von Neuronen induziert (Valyi-Nagy et al. 2000). Während einer HSV-1-Infektion spielen dabei die TLR 2 der Mikrogliazellen bei der Vermittlung von oxidativem Stress, proinflammatorischen Mediatoren und neuronaler Schädigung eine wichtige Rolle (Schachtele et al. 2010).

Auch bei der HIV-Infektion überwiegt das Ungleichgewicht zugunsten von reaktiven Sauerstoffspezies. Bei HIV-infizierten Patienten findet sich im Verlauf häufig eine Neurodegeneration, die eine fortschreitende Demenz nach sich ziehen kann. Dabei scheinen einige HIV-Proteine wie Tat (transactivator of transcription) und das HIV-1 envelope glycoprotein (gp120) die Produktion von ROS zu stimulieren, die Bluthirnschranke zu schädigen und auf diese Weise die Neurodegeneration zu fördern (Bagashev und Sawaya 2013; Banerjee et al. 2010). Eine weitere Studie zeigte weiterhin, dass HIV-1-Tat exponierte Endothelzellen zu einer dosisabhängigen Erhöhung des oxidativen Stressspiegels und zu

einer Abnahme des intrazellulären Glutathions, eines Antioxidans, führen (Toborek et al. 2003).

In all diesen Studien wurde bei den beschriebenen Erkrankungen trotz des Einflusses von oxidativem Stress keine Entmarkung beobachtet. Demzufolge kann oxidativer Stress unter Umständen mit Entmarkung assoziiert sein, führt aber nicht zwangsläufig dazu. Es werden offensichtlich krankheitsspezifische Muster von Faktoren benötigt, die die Demyelinisierung hervorrufen können.

#### **4.4 Genetische Grundlagen bedingen das Demyelinisierungsverhalten**

Manche Individuen sind offensichtlich aufgrund genetischer Eigenschaften empfänglicher für Demyelinisierung. Die genetischen Voraussetzungen scheinen beim Menschen das demyelinisierende Verhalten bei Erkrankung wie der MS entscheidend zu beeinflussen.

Interessanterweise bestimmen Gene des MHC-Komplexes (*Major Histocompatibility Complex*), ob ein Tierstamm bei der EAE für kortikale Demyelinisierung und pathologische Veränderungen anfällig ist oder nicht. Die Kombination der MHC I- und II-Allele bei unterschiedlichen Rattenstämmen beeinflusst die Häufigkeit und das Ausmaß kortikaler Demyelinisierung (Storch et al. 2006). Es wurde des Weiteren gezeigt, dass bestimmte Gene des MHC-Locus, die wahrscheinlich die Mikrogliaaktivität beeinflussen, bei bestimmten Rattenstämmen prädisponierend für das Ausmaß axonalen Schadens sind. Darüber hinaus wurde auch eine genetische Prädisposition für einen Makrophagen bzw. Mikroglia dominierten Läsionsphänotyp entdeckt (Storch et al. 2002).

Der starke Einfluss der genetischen Grundlagen auf die Demyelinisierung ist ebenfalls in einer experimentellen Infektion von Mäusen mit dem „Theiler's Murine Enzephalomyelitis Virus“ (TMEV), die eine akute Polioenzephalomyelitis induziert, deutlich erkennbar. Tiere, die sich erholen, sind häufig persistierend infiziert und entwickeln fokale Demyelinisierungsherde im ZNS. Bemerkenswert ist, dass die TMEV-Infektion eine Demyelinisierung nur in bestimmten Mausstämmen herbeiführt (bei SJL/J-Mäusen, jedoch nicht bei C57/Bl6-Mäusen). Daneben konnte festgestellt werden, dass auch bei Mäusen, die gleiche klinische Auffälligkeiten zeigten, deutliche Unterschiede in der histopathologischen Untersuchung der Läsionen zum Vorschein kamen (Dal Canto et al. 1995). Diese Ergebnisse stützen die These, dass ein komplexes Netzwerk adaptiver und angeborener Immunität in Abhängigkeit von entsprechenden genetischen Grundlagen eine Voraussetzung für die



Entstehung kortikaler demyelinisierender Läsionen ist und davon abhängig auch der Grad der Behinderung und Regenerationsfähigkeit variiert. So zeigt sich, dass nicht allein das Level von Zytokinen und Chemokinen eine kortikale bzw. subpiale Demyelinisierung auslösen kann.

#### **4.5 Erhebliche Unterschiede zwischen weißer und grauer Substanz**

Die Pathologie und pathophysiologische Aktivität der Entzündung und Degeneration in Läsionen der grauen Substanz unterscheiden sich bei der MS grundlegend von den Läsionen der weißen Substanz. In einer Studie von Pham et al. wurden im Mausmodell der MS, der EAE, Astrozyten der grauen und weißen Substanz verglichen und wiesen selbst zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Demyelinisierung ausgeprägte Unterschiede auf (Pham et al. 2009).

Im Cuprizone-Modell, einem häufig verwendeten Mausmodell der MS, wurden ebenfalls erhebliche Unterschiede zwischen Kortex und Marklager entdeckt. Bei diesem Modell wird Mäusen der Kupferchelator Cuprizone verabreicht, was eine ausgeprägte Demyelinisierung des Balkens und in geringerer Ausprägung auch anderer Bereiche des ZNS nach sich zieht. Wird die Verabreichung von Cuprizone gestoppt, folgt eine kurze, wenige Tage anhaltende, intensive Phase der Remyelinisierung im ZNS. So können de- und remyelinisierende Prozesse untersucht werden, wie sie in ähnlicher Form bei der MS auftreten (Hirshman et al. 1998; Skripuletz et al. 2011). Verschiedene Wachstumsfaktoren, wie Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) sind im Corpus callosum während der Phase der Remyelinisierung hochreguliert, aber vermindert in kortikalen Bereichen vorhanden, obwohl diese in dem Modell auch von Demyelinisierung betroffen sind (Gudi et al. 2011). Infiltrierende Immunzellen im ZNS und Neurone sind das Produkt von Wachstumsfaktoren wie BDNF. BDNF ist in die gliale und neuronale Entwicklung und deren Überleben involviert. Zudem ist es auch bei ZNS-Entzündungen in Läsionen anzutreffen und wirkt damit neuroprotektiv (Kerschensteiner et al. 1999; Linker et al. 2010; Stadelmann et al. 2002). Neben BDNF gibt es noch zahlreiche andere Faktoren, die ein unterschiedliches Milieu zwischen grauer und weißer Substanz bewirken. Die Mikroglia- und Astrozytenaktivierung zeigen beispielsweise auch deutliche Unterschiede in diesen zwei Kompartimenten (Gudi et al. 2009). Dies bedeutet, dass nicht nur bei einzelnen demyelinisierenden Erkrankungen nach spezifischen Pathomechanismen gesucht werden muss, sondern auch bei der Demyelinisierung selbst

regional unterschiedliche Milieufaktoren zwischen grauer und weißer Substanz vorherrschen.

#### **4.6 Myelinschädigung bei hypoxisch-ischämischen Geschehen**

Hypoxisch-ischämische Vorgänge können histopathologisch bei unterschiedlichen Erkrankungen ein buntes Bild hervorrufen. Diffuse Bereiche des Myelinverlustes und abgeblasste Regionen der periventrikulären weißen Substanz wurden bei der Syphilis beschrieben. Kleine multifokale Läsionen mit Myelinverlust im Kortex wurden als ischämische Schäden interpretiert (Miklossy 2008). Darüber hinaus konnten ADEM ähnliche perivaskuläre Myelinschäden der weißen Substanz in einzelnen Fällen auch bei der Neurotuberkulose dargestellt werden (Dastur et al. 1995). Mehrfach wurden vor allem bei der Syphilis in der Bildgebung diffuse Schädigungen der weißen Substanz gesehen. In bis zu 25% der Patienten wurden zudem auch Infarkte diagnostiziert (Brightbill et al. 1995; Fadil et al. 2006). Die Abgrenzung zu demyelinisierenden Läsionen ist jedoch radiologisch häufig als schwierig einzuschätzen. Grundsätzlich imitiert die neurologische Manifestation der Syphilis zahlreiche radiologische Befunde zerebraler Erkrankungen und zeigt vielfältige Erscheinungsformen (Fadil et al. 2006). In den Untersuchungen dieser Studie fand sich hingegen weder bei der Syphilis, noch bei der Tuberkulose eine Demyelinisierung. Die Histopathologie zeigte lediglich ausgeprägte Nekrosen im Kortex und in der weißen Substanz (TBC) oder ischämische Läsionen (Syphilis). Prinzipiell kann bei einer Nekrose bzw. einem Schlaganfall das benachbarte Gehirnparenchym aufgelockert oder abgeblasst erscheinen. Auch chronische Virusinfektionen wie bei der SSPE haben im Autopsiekollektiv dieser Studie zu keiner Demyelinisierung in Hirnarealen, sondern allein zu Mikrogliaaktivierung und Astrozytose geführt.

#### **4.7 Subpiale bandförmige Läsionen sind MS-spezifisch**

Über kortikale demyelinisierende Läsionen in einer Kohorte von biopsierten MS-Patienten in frühen Stadien der Erkrankung wurde umfassend berichtet (Lucchinetti et al. 2011). Es konnten leukokortikale (Typ-I-Läsionen der grauen Substanz), intrakortikale (Typ-II-Läsionen der grauen Substanz) und subpiale Läsionen (Typ-III-Läsionen der grauen Substanz) nachgewiesen werden. Damit wurde gezeigt, dass die kortikale Demyelinisierung ein krankheitsspezifisches Frühphänomen der MS widerspiegelt.

In der Studienkohorte der hier durchgeführten Arbeit wurden neben Autopsien von MS-Erkrankten, Autopsien von Patienten mit PML, ADEM, NMO und extrapontiner Myelinolyse untersucht. Erkrankungen, bei denen die Demyelinisierung ein krankheitsspezifisches Ereignis darstellt, welches auch in dieser Studie histopathologisch dargelegt wird. Somit zeigten sich bei PML-Patienten intrakortikale, leukokortikale und sogar subpiale Demyelinisierung. Subpiale Läsionen wurden trotz vieler unterschiedlicher Pathologien nur bei der PML in zwei Autopsiefällen und einem Biopsiefall nachgewiesen. Doch diese Läsionen hatten eine andere Morphologie als die der MS-Läsionen. Die Entmarkung zeigte sich als ausnahmslos fokal, klein und wenig scharf abgegrenzt und war in kortikalen Bereichen, in denen eine deutliche Viruslast herrschte, anzutreffen. Ferner wurde kortikale Demyelinisierung in zwei weiteren Krankheitsentitäten nachgewiesen. Zwei ADEM-Patienten der Studie zeigten leukokortikale Läsionen, jedoch keine supialen Herde. Bisher wurde subpiale Demyelinisierung bei der ADEM in der Literatur in drei Fällen mit perivenöser Demyelinisierung beschrieben (Young et al. 2010). Einer der untersuchten Fälle des Studienkollektivs mit extrapontiner Myelinolyse wies ausgedehnte bandförmige leukokortikale demyelinisierte Läsionen auf.

Alle diese demyelinisierenden Krankheiten beinhalten spezifische kortikale Umstände, die durch das enge Zusammenspiel von meningealen Entzündungsmediatoren und Parenchymzellen im Kortex, wie Mikroglia, Astrozyten und Oligodendrozyten, entstehen. Daneben sind zudem vor allem bei MS-Patienten prädisponierende genetische Faktoren beteiligt und bilden einen heterogenen Faktorenkomplex. Grundsätzlich liegt die Vermutung nahe, dass zur Demyelinisierung bestimmte pathogenetische Faktoren notwendig sind, die sich von Krankheitsursache zu Krankheitsursache unterscheiden. Diese Hypothese wird dadurch untermauert, dass Demyelinisierung spezifisch für bestimmte Krankheiten ist und bei anderen praktisch nicht beobachtet werden kann.

Die Studienergebnisse lassen darauf schließen, dass die bandförmige subpiale Demyelinisierung ein MS-spezifisches Läsionsmuster und Demyelinisierung im Allgemeinen eine krankheitsspezifische pathognomonische Erscheinung darstellt. Da diese charakteristische Läsionsform der MS bereits in der frühen Phase der Erkrankung auftritt, könnten diese Erkenntnisse zu neuen differentialdiagnostischen Überlegungen in der Patientenversorgung führen.

## 4.8 Ausblick

Bisher ist nur wenig über die kortikale Demyelinisierung in den frühen Stadien der MS bekannt, da u. a. mittels MRT viele subpiale und kortikale entmarkte Läsionen derzeit noch nicht ausreichend darstellbar sind (Calabrese et al. 2013). Da die Kernspintomographie jedoch ständiger Verbesserung unterliegt und immer vielfältigere hochauflösende Sequenzen durchführbar sind (Tallantyre et al. 2010; Tardif et al. 2010), ist es möglicherweise nur eine Frage der Zeit, dass kortikale Entmarkungsherde in der Bildgebung besser detektiert werden und deren prognostische und diagnostische Relevanz so zur Geltung kommen kann. Die fortschrittliche Bildgebung wird, vor allem im Hinblick auf die Relevanz der bandförmigen bzw. kortikalen Demyelinisierung, die Basis für weitere klinisch pathologische Studien bieten. Weiterhin können molekulare Untersuchungen zur Pathogenese der kortikalen Demyelinisierung und zu Reparaturmechanismen der grauen Substanz die heterogenen Pathomechanismen der MS-Läsionen zunehmend aufklären. Insbesondere werden vergleichende Untersuchungen zum oxidativen Stress bei unterschiedlichen kortikalen ZNS-Pathologien, basierend auf dieser Studie, durchgeführt werden, um mögliche Milieuunterschiede und die spezifische Rolle dieser Mechanismen aufzudecken. Vor allem sind Unterschiede der neurotoxischen Verhältnisse zwischen den MS- und PML-Läsionen von großem Interesse

## 5 Zusammenfassung

Kortikale demyelinisierte Läsionen sind bei Patienten mit chronischer Multipler Sklerose (MS) häufig und weit verbreitet und könnten zur Krankheitsprogression beitragen. Es wurden kortikale und subpiale Läsionen in frühen Stadien der MS beobachtet. Dies weist darauf hin, dass diese Läsionen ein inhärentes und frühes Merkmal des Krankheitsprozesses darstellen. Des Weiteren wurde die Hochregulation entzündungsassoziierter Gene in frühen akuten Läsionen des Kortex nachgewiesen. Dennoch bleiben die genauen Mechanismen, die zur Entstehung subpialer kortikaler Demyelinisierung beitragen, ungeklärt. Um zu prüfen, ob kortikale und vor allem subpiale Demyelinisierung in anderen Erkrankungen als bei der MS auftreten, untersuchten wir eine große Autopsiekohorte von Patienten mit Erkrankungen autoimmuner, infektiöser, neoplastischer oder metabolischer Genese, die den Kortex beeinträchtigen. Miteinbezogen wurden unter anderem Patienten mit MS, akuter disseminierter Enzephalomyelitis (ADEM), Neuromyelitis optica (NMO), akuter und chronischer, viraler und bakterieller Meningitis, progressiver multifokaler Leukoenzephalitis (PML), subakuter sklerosierender Panenzephalitis (SSPE), Meningeosis lymphomatosa sowie carcinomatosa und Stoffwechselerkrankungen wie der extrapontinen Myelinolyse, um ein breites Erkrankungsspektrum mit einer Vielzahl an zellulären Infiltrations- und Zytokinmustern im Kortex zu erfassen. Mittels Immunhistochemie für Myelin-basisches Protein (MBP), Proteolipidprotein (PLP) und Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) fanden wir kortikale Demyelinisierung nicht nur bei der MS, sondern auch bei der ADEM, der PML und der extrapontinen Myelinolyse. Bedeutend ist, dass jede dieser Erkrankungen ein krankheitsspezifisches kortikales Demyelinisierungsmuster aufweist und ausgedehnte bandförmige subpiale Demyelinisierung nur bei der MS beobachtet wurde. Subpiale Demyelinisierung trat insbesondere bei der PML auf, war aber im Gegensatz zu MS-Läsionen durch ihre kleine fokale Beschaffenheit charakterisiert. Die Daten dieser Studie erweitern und bestätigen frühere Studien und legen nahe, dass extensive bandförmige subpiale Demyelinisierung MS-spezifisch ist und dies damit ein wichtiges diagnostisches Kriterium darstellen könnte. Offensichtlich sind krankheitsspezifische Milieus oder heterogene Faktoren, wie bestimmte Zytokine, Chemokine und genetischen Grundlagen, notwendig, um Demyelinisierung zu verursachen. Damit sind weitere molekulare Untersuchungen

erforderlich, um die spezifischen Mechanismen der Demyelinisierung bei MS und anderen demyelinisierenden Erkrankungen zu analysieren.

## 6 Abstract

Cortical demyelinated lesions are frequent and widespread in chronic multiple sclerosis (MS) patients, and may contribute to disease progression. Cortical and subpial lesions were found in early MS stages indicating that they may be an inherent and early feature of the disease process. Moreover, inflammation-associated genes were shown to be upregulated in early cortical lesions. Yet, the precise mechanisms leading to the formation of subpial cortical demyelination remain elusive. To test whether cortical demyelination and especially subpial demyelination occurs in diseases other than MS, we studied a large cohort of patients pathologically diagnosed with diseases of autoimmune, infectious, neoplastic or metabolic origin affecting the cortex. Included were, among others, patients with MS, acute disseminated encephalomyelitis (ADEM), neuromyelitis optica (NMO), acute and chronic viral and bacterial meningoencephalitis, progressive multifocal leukoencephalopathy (PML), subacute sclerosing panencephalitis (SSPE), meningeal carcinomatosis, lymphomatous meningitis, and metabolic disorders such as extrapontine myelinolysis, thus encompassing a wide range of adaptive and innate cytokine signatures. Using immunohistochemistry for myelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP) and myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) we found cortical demyelination besides MS in ADEM, PML and extrapontine myelinolysis. Importantly, each of these diseases had a disease specific cortical demyelination pattern and bandlike extensive subpial demyelination was only found in MS. In particular subpial demyelination occurred also in PML but in contrast to MS lesions had a small focal character. These study data extend and confirm previous findings and suggest that extensive bandlike subpial demyelination is specific for MS, thus providing an important diagnostic cue. Obviously, disease-specific milieus or heterogeneous triggers are necessary causing demyelination such as specific cytokines, chemokines and genetic background. Further molecular studies are required to dissect the specific mechanisms of demyelination in MS and other demyelinating diseases.

# 7 Anhang

**Tabelle 3: Ausführliche Beschreibung der untersuchten Autopsiefälle**

Kategorie der ZNS-Erkrankungen	Subkategorie	Diagnose und Begleiterkrankungen	Geschlecht	Alter in Jahren	Erkrankungsdauer u = unbekannt	Todesursache abhängig von ZNS- Erkrankung /unabhängig u = unbekannt	Gewebeblockzahl (mit grauer Substanz)	<sup>1</sup> meningeale Infiltration
virale Infektionen	HIV	HIV-Infektion; Pneumonie; Kaposisarkom; Toxoplasmose	m	34	5 Jahre	krankheitsabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	HIV	HIV-Infektion	w	37	u	u	2(2)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	JC-Virus-Infektion nach Nierentransplantation	w	59	u	krankheitsabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML	w	78	u	krankheitsabhängig	4(4)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML	m	27	4 Wochen	krankheitsabhängig	3(3)	0,3
virale Infektionen	JC-Virus	PML	m	45	3,5 Monate	krankheitsabhängig	4(4)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML; HIV-Infektion	m	51	2 Monate	krankheitsabhängig	5(5)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML nach Chemotherapie; oropharyngealer Tumor	w	58	u	krankheitsabhängig	4(4)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML; HIV-Infektion	m	36	u	krankheitsabhängig	6(6)	0,0
virale Infektionen	JC-Virus	PML; lange Glukokortikoidbehandlung	m	55	2 Monate	krankheitsabhängig	5(5)	0,2
virale Infektionen	JC-Virus	PML; chronische lymphozytäre Leukämie; Aspergillus Pneumonie	m	63	u	u	3(3)	0,7
virale Infektionen	JC-Virus	PML; HIV-Infektion	w	40	u	krankheitsabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	subakut sklerosierende Panenzephalitis (SSPE)	subakut sklerosierende Panenzephalitis (SSPE); Zustand nach Maserninfektion	m	10	3 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	1,0
virale Infektionen	subakut sklerosierende Panenzephalitis (SSPE)	subakut sklerosierende Panenzephalitis (SSPE); Zustand nach Maserninfektion; Kardiale Insuffizienz	m	8	u	krankheitsabhängig	5(5)	0,8
virale Infektionen	Poliomyelitis	Poliomyelitis; Polioenzephalitis	m	20 Monate	7 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	1,0
virale Infektionen	Poliomyelitis	Poliomyelitis; Polioenzephalitis	m	28 Monate	4 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	Poliomyelitis	Zustand nach Poliomyelitis; Hypoglykämie	w	41	u	krankheitsunabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	Poliomyelitis	Zustand nach Poliomyelitis; Herzinfarkt	m	61	53 Jahre	krankheitsunabhängig	2(2)	0,0
virale Infektionen	Poliomyelitis	Zustand nach Poliomyelitis	m	66	28 Jahre	u	3(3)	0,0
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	virale Meningitis; Immundefizienz	w	5 Monate	6 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	1,0



## 7 Anhang

virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	Herpes-simplex-Enzephalitis	m	67	7 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	Herpes-simplex-Enzephalitis	m	63	u	krankheitsabhängig	3(3)	<b>3,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	Herpes-simplex-Enzephalitis	w	42	23 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	Herpes-simplex-Enzephalitis	w	14	3 Wochen	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	Herpes-simplex-Enzephalitis; Zustand nach Nierentransplantation	m	64	u	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	CMV- Infektion; HIV- Infektion; Pneumocystis carinii Pneumonie; Candidose	m	38	7 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
virale Infektionen	virale Meningitis / Meningoenzephalitis (nicht HIV, Masernvirus, Poliovirus oder JC-Virus) mit bekanntem Erreger	CMV-Infektion; HIV-Infektion; Leberversagen; akutes kardiovaskuläres Versagen	m	39	1 Jahr	u	2(2)	<b>0,5</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	67	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	m	68	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	4	u	krankheitsabhängig	3(2)	<b>2,7</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	m	67	3 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	m	u	u	u	3(3)	<b>1,7</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	u	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	83	5 Wochen	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	m	47	6 Monate	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	m	64	4 Wochen	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	25	2 Monate	krankheitsabhängig	3(3)	<b>0,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose	w	41	4 Wochen	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,5</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Miliartuberkulose; HIV	m	32	10 Monate	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	Tuberkulose	Tuberkulose; tödliche Blutung eines Ulcus duodeni	m	55	2 Monate	krankheitsunabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
bakterielle Infektionen	Syphilis	Syphilis	m	u	u	u	5(5)	<b>0,6</b>
bakterielle Infektionen	Syphilis	progressive Paralyse	m	60	7 Jahre	krankheitsabhängig	6(6)	<b>0,3</b>
bakterielle Infektionen	Syphilis	Zustand nach Syphilis; akute kardiovaskuläres Versagen	m	80	u	krankheitsunabhängig	5(5)	<b>1,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Pneumokokken, Meningitis; Pneumonie	w	62	2 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Staphylokokkus aureus Meningoenzephalitis; Zustand nach Glioblastomoperation	m	43	3 Wochen	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Staphylokokkus aureus Meningoenzephalitis	m	65	7 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,5</b>

## 7 Anhang

bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	akute Haemophilus influenzae Meningitis	m	2	2 Tage	krankheitsabhängig	3(3)	<b>3,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Staphylokokkus Meningoenzephalitis	w	75	8 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Klebsiellen, Pneumonie, Meningitis	m	81	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Meningitis, Escherichia coli	m	23 Tage	u	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	Pseudomonas aeruginosa Meningoenzephalitis; Pneumonie nach Nierentransplantation	m	25	u	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
bakterielle Infektionen	bakterielle Meningitis (ohne Tuberkulose oder Syphilis) mit bekanntem Erreger	basale Meningitis nach Abszessdrainage des Gehirns	m	44	6 Wochen	krankheitsabhängig	3(3)	<b>2,3</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	bakterielle Meningitis mit Beweis von Enterokokken und Klebsiellen, Pneumonie	m	53	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	Temporale Meningoenzephalitis	m	25	20 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	akute virale Meningitis; HIV-Infektion; Heroinsucht	m	33	u	u	1(1)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	lymphozytäre Meningoenzephalitis; Strangulation	w	75	u	krankheitsunabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	lymphozytäre Meningoenzephalitis	w	20	3 Wochen	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	lymphozytäre Meningoenzephalitis; Gastroenteritis	m	3 Monate	2 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,5</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	lymphozytäre Meningoenzephalitis; akute respiratorische Erkrankung	m	1 Jahr	u	u	1(1)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute lymphozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	virale Meningitis	w	53	6 Tage	krankheitsabhängig	4(4)	<b>0,8</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	Staphylokokkus epidermidis Meningoenzephalitis	w	78	1 Woche	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	Haemophilus influenzae Meningoenzephalitis; Otitis media	w	2 Monate	3 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	bakterielle Meningitis; Nierenversagen; Gallenblasenkarzinom	w	69	1 Tag	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	akute bakterielle Meningitis	w	20	2 Tage	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	bakterielle Meningitis; bronchial Karzinom; respiratorisches Versagen	w	47	u	krankheitsunabhängig	2(2)	<b>2,0</b>

## 7 Anhang

Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	Streptokokken Meningoenzephalitis	m	5 Tage	2 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	akute granulozytäre Meningitis / Meningoenzephalitis	bakterielle Meningitis; bakterielle Hypophysitis; rezidivierende Otitis media	w	37	u	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,5</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	chronische meningeale Infiltration concomitant to a brain abscess; renal Versagen; Pneumonie	m	69	u	krankheitsunabhängig	2(2)	<b>3,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	chronische meningeale Infiltration; Nierenversagen; Pancreatitis	m	41	u	krankheitsunabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	opportunistische Enzephalitis; abdominales Aortenaneurysma; Lungenembolie; akutes kardiovaskuläres Versagen	m	77	u	u	4(4)	<b>0,7</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	Zustand nach viraler Meningitis; Nierenversagen; Herzversagen	m	77	u	u	2(2)	<b>0,5</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	Hämorrhagische disseminierte chronische Meningoenzephalitis	m	47	u	u	2(2)	<b>0,0</b>
Entzündung/ Infektion ohne bekannten Erreger	Unspezifische/nicht akute Entzündung der Meningen oder des Hirnparenchyms	inflammatorischer ZNS-Prozess; Herzinfarkt	m	45	u	krankheitsunabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	Meningeosis lymphomtosa; malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom	m	67	6 Monate	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	EBV-assoziiertes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom	w	71	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	Meningeosis lymphomtosa; malignes B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom	w	26	5 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,5</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom; akute kardiovaskuläres Versagen	m	53	1 Jahre	krankheitsabhängig	3(3)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom; Lungenödem; Nierenversagen	w	50	11 Monate	krankheitsabhängig	3(3)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom	w	57	u	krankheitsabhängig	3(3)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom	w	77	1 Jahre	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	malignes B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom; Pneumonie; septischer Schock	m	39	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	follikuläres Lymphom; Wieber	w	57	2 Jahre	krankheitsunabhängig	3(3)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Non-Hodgkin-Lymphom, maligne lymphoproliferative Erkrankungen	T-Zell Non-Hodgkin-Lymphom; respiratorisches Versagen	m	69	4 Jahre	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Hodgkin-Lymphom	Hodgkin-Lymphom	w	18	1 Jahr	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Hodgkin-Lymphom	Hodgkin-Lymphom	w	34	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Hodgkin-Lymphom	Hodgkin-Lymphom	m	71	2 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>3,0</b>

## 7 Anhang

neoplastisch	Plasmozytom	Plasmozytom; Herzversagen	w	66	9 Jahre	krankheitsunabhängig	2(2)	<b>2,5</b>
neoplastisch	Plasmozytom	Plasmozytom; Herzversagen	w	61	6 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Plasmozytom	Plasmozytom	m	42	6 Monate	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Leukämie	meningeale Infiltration einer chronischen lymphozytären Leukämie	w	66	1 Jahre	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Leukämie	meningeale Infiltration einer chronischen lymphozytären Leukämie; Pneumonie	w	72	1,5 Jahre	krankheitsunabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Leukämie	akute lymphozytäre Leukämie; akutes kardiovaskuläres Versagen	w	69	20 Tage	krankheitsabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
neoplastisch	Leukämie	meningeale Infiltration bei chronischer lymphozytärer Leukämie; Pneumonie; akutes kardiovaskuläres Versagen	m	75	15 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>0,5</b>
neoplastisch	Leukämie	akute myelotische Leukämie	w	53	6 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,5</b>
neoplastisch	Leukämie	akute undifferenzierte Leukämie; Meningeosis leucaemica	m	12	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
neoplastisch	Leukämie	meningeale Infiltration bei chronisch myelotischer Leukämie; Pneumonie	m	71	8 Wochen	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Leukämie	akute myelotische Leukämie	m	4 Monate	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Nierenzellkarzinom, Ösophaguskarzinom	m	63	2 Jahre	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Pancoasttumor	m	48	8 Monate	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Mammakarzinom	w	42	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Maligner gemischter mesodermaler Tumor	w	84	u	krankheitsabhängig	1(1)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Bronchialkarzinom	m	43	3 Jahre	krankheitsabhängig	1(1)	<b>3,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Meningeosis carcinomatosa; Mammakarzinom	w	64	6 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Meningeosis carcinomatosa; Mammakarzinom	w	34	7 Monate	krankheitsabhängig	3(3)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Meningeosis carcinomatosa; esophageal cancer	m	60	18 Monate	krankheitsabhängig	3(3)	<b>1,7</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Siegelringzellkarzinom	w	76	1 Monate	krankheitsabhängig	2(2)	<b>2,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Meningeosis carcinomatosa; Mammakarzinom	w	41	5 Jahre	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,0</b>
neoplastisch	Meningeosis carcinomatosa	Meningeosis carcinomatosa; Ovarialkarzinom	w	74	9 Jahre	krankheitsabhängig	2(2)	<b>1,0</b>
metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	zentrale pontine Myelinolyse; Sepsis	w	65	u	krankheitsunabhängig	1(1)	<b>0,0</b>
metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	zentrale pontine Myelinolyse; Sepsis; Multiorganversagen	m	55	u	u	1(1)	<b>0,0</b>
metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	zentrale pontine Myelinolyse; alkoholinduzierte Zirrhose	m	31	u	u	3(3)	<b>0,0</b>

## 7 Anhang

---

metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	zentrale pontine Myelinolyse; akutes kardiovaskuläres Versagen	m	31	u	u	2(2)	<b>0,0</b>
metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	zentrale pontine Myelinolyse; bakterielle Meningitis	w	58	13 Tage	krankheitsabhängig	3(3)	<b>2,3</b>
metabolische Erkrankungen	zentrale pontine Myelinolyse	Alkoholismus; Elektrolytbalance	m	39	1 Monat	krankheitsabhängig	4(4)	<b>0,3</b>

---

<sup>1</sup> meningeale Infiltration als Mittelwert aller untersuchten Gewebelöcke des jeweiligen Autopsiefalls

0= keine Infiltration

1= wenig meningeale Infiltration (weniger als 50 infiltrierende Zellen pro Gesichtsfeld (HPW) = 400-wacher Vergrößerung)

2= moderate intrathekale Zellinfiltration (mehr als 50 und weniger als 200 infiltrierenden Zellen pro Gesichtsfeld)

3= dichte Infiltration (mehr als 200 infiltrierenden Zellen pro Gesichtsfeld)

## 8 Literaturverzeichnis

Aboul-Enein F, Rauschka H, Kornek B, Stadelmann C, Stefferl A, Brück W, Lucchinetti C, Schmidbauer M, Jellinger K, Lassmann H (2003): Preferential loss of myelin-associated glycoprotein reflects hypoxia-like white matter damage in stroke and inflammatory brain diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 62, 25-33

Adams RD, Kubik CS (1952): The morbid anatomy of the demyelinating disease. *Am J Med* 12, 510-46

Akalin H, Akdis AC, Mistik R, Helvacı S, Kilicıturğay K (1994): Cerebrospinal fluid interleukin-1 beta/interleukin-1 receptor antagonist balance and tumor necrosis factor-alpha concentrations in tuberculous, viral and acute bacterial meningitis. *Scand J Infect Dis* 26, 667-74

Albert M, Antel J, Brück W, Stadelmann C (2007): Extensive cortical remyelination in patients with chronic multiple sclerosis. *Brain Pathol* 17, 129-38

Alderson L, Fetell MR, Sisti M, Hochberg F, Cohen M, Louis DN (1996): Sentinel lesions of primary CNS lymphoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 60, 102-5

Alvarez-Lafuente R, De IH, V, Bartolome M, Picazo JJ, Arroyo R (2004): Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection. *Arch Neurol* 61, 1523-7

Amato MP, Bartolozzi ML, Zipoli V, Portaccio E, Mortilla M, Guidi L, Siracusa G, Sorbi S, Federico A, De Stefano N (2004): Neocortical volume decrease in relapsing-remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 63, 89-93

Argaw AT, Zhang Y, Snyder BJ, Zhao ML, Kopp N, Lee SC, Raine CS, Brosnan CF, John GR (2006): IL-1beta regulates blood-brain barrier permeability via reactivation of the hypoxia-angiogenesis program. *J Immunol* 177, 5574-84

Ata AK, Funa K, Olsson Y (1997): Expression of various TGF-beta isoforms and type I receptor in necrotizing human brain lesions. *Acta Neuropathol* 93, 326-33

Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, Friese M, Schroder R, Deckert M, Schmidt S (2000): Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 192, 393-404

Bagashev A, Sawaya BE (2013): Roles and functions of HIV-1 Tat protein in the CNS: an overview. *Virology* 10, 358 doi: 10.1186/1743-422X-10-358

Banerjee A, Zhang X, Manda KR, Banks WA, Ercal N (2010): HIV proteins (gp120 and Tat) and methamphetamine in oxidative stress-induced damage in the brain: potential role of the thiol antioxidant N-acetylcysteine amide. *Free Radic Biol Med* 48, 1388-98

Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schmidt S, Vittinghoff E, Goodin DS, Pelletier D, Lincoln RR, Bucher P (2003): HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *Am J Hum Genet* 72, 710-6

Berger T, Reindl M (2007): Multiple sclerosis: disease biomarkers as indicated by pathophysiology. *J Neurol Sci* 259, 21-6

Bigner SH (1992): Cerebrospinal fluid (CSF) cytology: current status and diagnostic applications. *J Neuropathol Exp Neurol* 51, 235-45

Bitsch A, Kuhlmann T, Da CC, Bunkowski S, Polak T, Brück W (2000a): Tumour necrosis factor alpha mRNA expression in early multiple sclerosis lesions: correlation with demyelinating activity and oligodendrocyte pathology. *Glia* 29, 366-75

Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W (2000b): Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 123, 1174-83

Bo L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mork SJ (2003a): Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration. *Mult Scler* 9, 323-31

Bo L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mork SJ (2003b): Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 62, 723-32

Bradl M, Lassmann H (2010): Oligodendrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 119, 37-53

Brew BJ, Davies NW, Cinque P, Clifford DB, Nath A (2010): Progressive multifocal leukoencephalopathy and other forms of JC virus disease. *Nat Rev Neurol* 6, 667-79

Brightbill TC, Ihmeidan IH, Post MJ, Berger JR, Katz DA (1995): Neurosyphilis in HIV-positive and HIV-negative patients: neuroimaging findings. *Am J Neuroradiol* 16, 703-11

Brinar VV, Habek M (2006): Dementia and white-matter demyelination in young patient with neurosyphilis. *Lancet* 368, 2258

Brück W, Popescu B, Lucchinetti CF, Markovic-Plese S, Gold R, Thal DR, Metz I (2012): Neuromyelitis optica lesions may inform multiple sclerosis heterogeneity debate. *Ann Neurol* 72, 385-94

Calabrese M, Favaretto A, Martini V, Gallo P (2013): Grey matter lesions in MS: from histology to clinical implications. *Prion* 7, 20-7

Choi SR, Howell OW, Carassiti D, Magliozzi R, Gveric D, Muraro PA, Nicholas R *et al* (2012): Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 135, 2925-37

Compston A, Coles A (2008): Multiple sclerosis. *Lancet* 372, 1502-17

Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P (2000): Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343, 1430-8

Corral I, Quereda C, Garcia-Villanueva M, Casado JL, Perez-Elias MJ, Navas E, Ariza A *et al* (2004): Focal monophasic demyelinating leukoencephalopathy in advanced HIV infection. *Eur Neurol* 52, 36-41

Dal Canto MC, Melvold RW, Kim BS, Miller SD (1995): Two models of multiple sclerosis: experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV) infection. A pathological and immunological comparison. *Microsc Res Tech* 32, 215-29

Dastur DK, Manghani DK, Udani PM (1995): Pathology and pathogenetic mechanisms in neurotuberculosis. *Radiol Clin North Am* 33, 733-52

Davie CA, Barker GJ, Webb S, Tofts PS, Thompson AJ, Harding AE, McDonald WI, Miller DH (1995): Persistent functional deficit in multiple sclerosis and autosomal dominant cerebellar ataxia is associated with axon loss. *Brain* 118, 1583-92

Davie CA, Barker GJ, Thompson AJ, Tofts PS, McDonald WI, Miller DH (1997): 1H magnetic resonance spectroscopy of chronic cerebral white matter lesions and normal appearing white matter in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 63, 736-42

De Groot CJ, Ruuls SR, Theeuwes JW, Dijkstra CD, van der Valk P (1997): Immunocytochemical characterization of the expression of inducible and constitutive isoforms of nitric oxide synthase in demyelinating multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 56, 10-20

De Groot CJ, Montagne L, Barten AD, Sminia P, van der Valk P (1999): Expression of transforming growth factor (TGF)-beta1, -beta2, and -beta3 isoforms and TGF-beta type I and type II receptors in multiple sclerosis lesions and human adult astrocyte cultures. *J Neuropathol Exp Neurol* 58, 174-87

De Stefano N, Matthews PM, Fu L, Narayanan S, Stanley J, Francis GS, Antel JP, Arnold DL (1998): Axonal damage correlates with disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Results of a longitudinal magnetic resonance spectroscopy study. *Brain* 121, 1469-77

Deckert M: Infektionen des ZNS. In: Klöppel G, Kreipe H, Remmele W, Paulus W, Schröder JM (Hrsg.): *Pathologie: Neuropathologie*. 3. Auflage; Springer, Berlin 2012, 303-330

Deluca HF, Cantorna MT (2001): Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J* 15, 2579-85

Dorries K (1998): Molecular biology and pathogenesis of human polyomavirus infections. *Dev Biol Stand* 94, 71-9

Drayton DL, Liao S, Mounzer RH, Ruddle NH (2006): Lymphoid organ development: from ontogeny to neogenesis. *Nat Immunol* 7, 344-53

Epstein LG, Gendelman HE (1993): Human immunodeficiency virus type 1 infection of the nervous system: pathogenetic mechanisms. *Ann Neurol* 33, 429-36



- Fadil H, Gonzalez-Toledo E, Kelley BJ, Kelley RE (2006): Neuroimaging findings in neurosyphilis. *J Neuroimaging* 16, 286-9
- Fauci AS (1996): Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature* 384, 529-34
- Feiden W: Zytologie des Liquor cerebrospinalis. In: Klöppel G, Kreipe H, Remmele W, Paulus W, Schröder JM (Hrsg.): *Pathologie: Neuropathologie*. 3. Auflage; Springer, Berlin 2012, 29-42
- Feiden W, Milutinovic S (2002): Primary CNS lymphomas. Morphology and diagnosis. *Pathologie* 23, 284-91
- Fischer MT, Wimmer I, Hoftberger R, Gerlach S, Haider L, Zrzavy T, Hametner S, Mahad D, Binder CJ, Krumbholz M (2013): Disease-specific molecular events in cortical multiple sclerosis lesions. *Brain* 136, 1799-815
- Gardner C, Magliozzi R, Durrenberger PF, Howell OW, Rundle J, Reynolds R (2013): Cortical grey matter demyelination can be induced by elevated pro-inflammatory cytokines in the subarachnoid space of MOG-immunized rats. *Brain* 136, 3596-608
- Garg RK (2003): Acute disseminated encephalomyelitis. *Postgrad Med J* 79, 11-7
- Garg RK (2008): Subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurol* 255, 1861-71
- Gendelman HE, Pezeshkpour GH, Pressman NJ, Wolinsky JS, Quarles RH, Dobersen MJ, Trapp BD, Kitt CA, Aksamit A, Johnson RT (1985): A quantitation of myelin-associated glycoprotein and myelin basic protein loss in different demyelinating diseases. *Ann Neurol* 18, 324-8
- Gendelman HE, Persidsky Y, Ghorpade A, Limoges J, Stins M, Fiala M, Morrisett R (1997): The neuropathogenesis of the AIDS dementia complex. *AIDS* 11, Suppl A: 35-45
- Gideon HP, Flynn JL (2011): Latent tuberculosis: what the host "sees"? *Immunol Res* 50, 202-12
- Gray F, Chretien F, Vallat-Decouvelaere AV, Scaravilli F (2003): The changing pattern of HIV neuropathology in the HAART era. *J Neuropathol Exp Neurol* 62, 429-40
- Gudi V, Moharreggh-Khiabani D, Skripuletz T, Koutsoudaki PN, Kotsiari A, Skuljec J, Trebst C, Stangel M (2009): Regional differences between grey and white matter in cuprizone induced demyelination. *Brain Res* 1283, 127-38
- Gudi V, Skuljec J, Yildiz O, Frichert K, Skripuletz T, Moharreggh-Khiabani D, Voss E, Wissel K, Wolter S, Stangel M (2011): Spatial and temporal profiles of growth factor expression during CNS demyelination reveal the dynamics of repair priming. *PLoS One* 6, e22623
- Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PI, Gabriel SB, Mirel DB, Ivins AJ (2007): Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 357, 851-62

Haider L, Fischer MT, Frischer JM, Bauer J, Hoftberger R, Botond G, Esterbauer H *et al* (2011): Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain* 134, 1914-24

Harauz G, Ishiyama N, Hill CM, Bates IR, Libich DS, Fares C (2004): Myelin basic protein-diverse conformational states of an intrinsically unstructured protein and its roles in myelin assembly and multiple sclerosis. *Micron* 35, 503-42

Hart MN, Earle KM (1975): Haemorrhagic and perivenous encephalitis: a clinical-pathological review of 38 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 38, 585-91

Hein T, Hopfenmüller W (2000): Projection of the number of multiple sclerosis patients in Germany. *Nervenarzt* 71, 288-94

Hiremath MM, Saito Y, Knapp GW, Ting JP, Suzuki K, Matsushima GK (1998): Microglial/macrophage accumulation during cuprizone-induced demyelination in C57BL/6 mice. *J Neuroimmunol* 92, 38-49

Howell OW, Reeves CA, Nicholas R, Carassiti D, Radotra B, Gentleman SM, Serafini B *et al* (2011): Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain* 134, 2755-71

Hu S, Sheng WS, Schachtele SJ, Lokensgard JR (2011): Reactive oxygen species drive herpes simplex virus (HSV)-1-induced proinflammatory cytokine production by murine microglia. *J Neuroinflammation* 8, 123 doi: 10.1186/1742-2094-8-123

Husseini L, Saleh A, Reifenberger G, Hartung HP, Kieseier BC (2012): Inflammatory demyelinating brain lesions heralding primary CNS lymphoma. *Can J Neurol Sci* 39, 6-10

International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) (2008): Refining genetic associations in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 7, 567-9

John GR, Lee SC, Brosnan CF (2003): Cytokines: powerful regulators of glial cell activation. *Neuroscientist*. 9, 10-22

Johnson MD, Gold LI (1996): Distribution of transforming growth factor-beta isoforms in human immunodeficiency virus-1 encephalitis. *Hum Pathol* 27, 643-9

Kastenbauer S, Koedel U, Becker BF, Pfister HW (2002): Oxidative stress in bacterial meningitis in humans. *Neurology* 58, 186-91

Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, Kolbeck R *et al* (1999): Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 189, 865-70

Kinnier Wilson SA: *Neurology*. 2 Bände. Hrsg. v. Bruce AN. Butterworth, London 1954

Kooi EJ, Geurts JJ, van HJ, Bo L, van d, V (2009): Meningeal inflammation is not associated with cortical demyelination in chronic multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 68, 1021-8

Kroner-Milsch A, Kleinschnitz C, Stadelmann-Nessler C, Raab P, Stangel M, Trebst C, Voß E, Cordes AL: Multiple Sklerose und andere autoimmune ZNS-Erkrankungen. In: Stangel M, Mäurer M (Hrsg.): Autoimmunerkrankungen in der Neurologie: Diagnostik und Therapie. Springer, Berlin 2012, 1-100

Kuhlmann T: Multiple Sclerose und verwandte Erkrankungen. In: Klöppel G, Kreipe H, Remmele W, Paulus W, Schröder JM (Hrsg.): Pathologie: Neuropathologie. 3. Auflage; Springer, Berlin 2012, 353-364

Kuhlmann T, Schroter A, Dechent P, Weber F, Rustenbeck HH, Fuzesi L, Brück W, Ehrenreich H, Frahm J (2001): Diagnosis of a multifocal B cell lymphoma with preceding demyelinating central nervous system lesions by single voxel proton MR spectroscopy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70, 259-62

Kutzelnigg A, Lassmann H (2005): Cortical lesions and brain atrophy in MS. *J Neurol Sci* 233, 55-9

Kutzelnigg A, Lassmann H (2006): Cortical demyelination in multiple sclerosis: a substrate for cognitive deficits? *J Neurol Sci* 245, 123-6

Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H (2005): Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128, 2705-12

Langford TD, Letendre SL, Marcotte TD, Ellis RJ, McCutchan JA, Grant I, Mallory ME *et al* (2002): Severe, demyelinating leukoencephalopathy in AIDS patients on antiretroviral therapy. *AIDS* 16, 1019-29

Langford TD, Letendre SL, Larrea GJ, Masliah E (2003): Changing patterns in the neuropathogenesis of HIV during the HAART era. *Brain Pathol* 13, 195-210

Lassmann H (2001): Classification of demyelinating diseases at the interface between etiology and pathogenesis. *Curr Opin Neurol* 14, 253-8

Lassmann H, Raine CS, Antel J, Prineas JW (1998): Immunopathology of multiple sclerosis: report on an international meeting held at the Institute of Neurology of the University of Vienna. *J Neuroimmunol* 86, 213-7

Lassmann H, van HJ, Mahad D (2012): Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 8, 647-56

Laureno R, Karp BI (1997): Myelinolysis after correction of hyponatremia. *Ann Intern Med* 126, 57-62

Leib SL, Kim YS, Chow LL, Sheldon RA, Tauber MG (1996): Reactive oxygen intermediates contribute to necrotic and apoptotic neuronal injury in an infant rat model of bacterial meningitis due to group B streptococci. *J Clin Invest* 98, 2632-9

Lemke G: Myelin and Myelination. In: Hall ZW (Hrsg.): An introduction to molecular neurobiology. Sinauer Associated Inc., Sunderland 1992, 281-312

Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, Nakashima I *et al* (2004): A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 364, 2106-12

Linker RA, Lee DH, Demir S, Wiese S, Kruse N, Siglienti I, Gerhardt E *et al* (2010): Functional role of brain-derived neurotrophic factor in neuroprotective autoimmunity: therapeutic implications in a model of multiple sclerosis. *Brain* 133, 2248-63

Liu JS, Zhao ML, Brosnan CF, Lee SC (2001): Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in multiple sclerosis lesions. *Am J Pathol* 158, 2057-66

Losseff NA, Webb SL, O'Riordan JI, Page R, Wang L, Barker GJ, Tofts PS *et al* (1996): Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain* 119, 701-8

Love S (2006): Demyelinating diseases. *J Clin Pathol* 59, 1151-9

Lewis GW (1988): Ethnic factors in multiple sclerosis: a review and critique of the epidemiological literature. *Int J Epidemiol* 17, 14-20

Lublin FD, Reingold SC (1996): Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 46, 907-11

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (2000): Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47, 707-17

Lucchinetti CF, Popescu BFG, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, Brück W *et al* (2011): Inflammatory Cortical Demyelination in Early Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 365, 2188-97

Magliozzi R, Howell O, Vora A, Serafini B, Nicholas R, Puopolo M, Reynolds R, Aloisi F (2007): Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain*. 130, 1089-104

Magliozzi R, Howell OW, Reeves C, Roncaroli F, Nicholas R, Serafini B, Aloisi F, Reynolds R (2010): A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 68, 477-93

Mandler RN, Davis LE, Jeffery DR, Kornfeld M (1993): Devic's neuromyelitis optica: a clinicopathological study of 8 patients. *Ann Neurol* 34, 162-8

Marrie RA (2004): Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. *Lancet Neurol* 3, 709-18

Martin RJ (2004): Central pontine and extrapontine myelinolysis: the osmotic demyelination syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75 Suppl 3 iii22-8

McDonald WI, Sears TA (1970): The effects of experimental demyelination on conduction in the central nervous system. *Brain* 93, 583-98

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC (2001): Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 50, 121-7

Meinl E, Krumbholz M, Hohlfeld R (2006): B lineage cells in the inflammatory central nervous system environment: migration, maintenance, local antibody production, and therapeutic modulation. *Ann Neurol* 59, 880

Meinl E, Derfuss T, Krumbholz M, Probstel AK, Hohlfeld R (2011): Humoral autoimmunity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 306, 180-2

Merkler D, Ernsting T, Kerschensteiner M, Brück W, Stadelmann C (2006): A new focal EAE model of cortical demyelination: multiple sclerosis-like lesions with rapid resolution of inflammation and extensive remyelination. *Brain* 129, 1972-83

Miklossy J (2008): Biology and neuropathology of dementia in syphilis and Lyme disease. *Handb Clin Neurol* 89, 825-44 doi: 10.1016/S0072-9752(07)01272-9

Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio MA, Knysz B, Dietrich M, Phillips AN, Lundgren JD (2003): Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet* 362, 22-9

Moll NM, Rietsch AM, Ransohoff AJ, Cossoy MB, Huang D, Eichler FS, Trapp BD *et al* (2008): Cortical demyelination in PML and MS: Similarities and differences. *Neurology* 70, 336-43

Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A (2006): Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 296, 2832-8

Nathan C, Xie QW (1994): Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 269, 13725-8

Navikas V, Link H (1996): Review: cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neurosci Res* 45, 322-33

Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000): Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343, 938-52

Oehmichen M: Intoxikation. In: Klöppel G, Kreipe H, Remmele W, Paulus W, Schröder JM (Hrsg.): *Pathologie: Neuropathologie*. 3. Auflage; Springer, Berlin 2012, 365-402

Oksenberg JR, Baranzini SE, Sawcer S, Hauser SL (2008): The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. *Nat Rev Genet* 9, 516-26

Oleszak EL, Zaczynska E, Bhattacharjee M, Butunoi C, Legido A, Katsetos CD (1998): Inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine are found in monocytes/macrophages and/or astrocytes in acute, but not in chronic, multiple sclerosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 5, 438-45

Paulus W, Hasselblatt M: Tumoren. In: Klöppel G, Kreipe H, Remmele W, Paulus W, Schröder JM (Hrsg.): Pathologie: Neuropathologie. 3. Auflage; Springer, Berlin 2012, 481-552

Peterson JW, Bo L, Mork S, Chang A, Trapp BD (2001): Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 50, 389-400

Pham H, Ramp AA, Klonis N, Ng SW, Klopstein A, Ayers MM, Orian JM (2009): The astrocytic response in early experimental autoimmune encephalomyelitis occurs across both the grey and white matter compartments. *J Neuroimmunol* 208, 30-9

Pilleri G, Lechi A, Carreras M (1974): Symmetric syphilitic gummas of the frontal lobes. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 219, 207-21

Popescu BF, Parisi JE, Cabrera-Gomez JA, Newell K, Mandler RN, Pittock SJ, Lennon VA, Weinshenker BG, Lucchinetti CF (2010): Absence of cortical demyelination in neuromyelitis optica. *Neurology* 75, 2103-9

Prange H : Neurosyphilis. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1987

Rinaldi F, Calabrese M, Grossi P, Puthenparampil M, Perini P, Gallo P (2010): Cortical lesions and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 31, 235-7

Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, Martinelli V, Salvi F, Ghezzi A, Bergamaschi R, Comi G, Filippi M (2004): Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology* 62, 476-8

Rosati G (2001): The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci* 22, 117-39

Rubenstein JL, Wong VS, Kadoch C, Gao HX, Barajas R, Chen L, Josephson SA *et al* (2013): CXCL13 plus interleukin 10 is highly specific for the diagnosis of CNS lymphoma. *Blood* 121, 4740-8

Ruijs TC, Freedman MS, Grenier YG, Olivier A, Antel JP (1990): Human oligodendrocytes are susceptible to cytolysis by major histocompatibility complex class I-restricted lymphocytes. *J Neuroimmunol* 27, 89-97

Sadahira Y, Wada H, Nakamura E, Terayama K, Sugihara T, Yamada O, Mikami Y *et al* (2000): Nasal NK/T cell lymphoma presenting as transverse myelopathy. *Virchows Arch* 436, 393-7

Sadovnick AD, Dircks A, Ebers GC (1999): Genetic counselling in multiple sclerosis: risks to sibs and children of affected individuals. *Clin Genet* 56, 118-22

Saji E, Arakawa M, Yanagawa K, Toyoshima Y, Yokoseki A, Okamoto K, Otsuki M *et al* (2013): Cognitive impairment and cortical degeneration in neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 73, 65-76

- Sakai H, Okafuji I, Nishikomori R, Abe J, Izawa K, Kambe N, Yasumi T *et al* (2012): The CD40-CD40L axis and IFN-gamma play critical roles in Langhans giant cell formation. *Int Immunol* 24, 5-15
- Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, Patsopoulos NA, Moutsianas L, Dilthey A *et al* (2011): Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 476, 214-9
- Schachtele SJ, Hu S, Little MR, Lokensgard JR (2010): Herpes simplex virus induces neural oxidative damage via microglial cell Toll-like receptor-2. *J Neuroinflammation* 7, 35
- Schonberger K, Ludwig MS, Wildner M, Weissbrich B (2013): Epidemiology of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Germany from 2003 to 2009: a risk estimation. *PLoS One* 8, e68909
- Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, Harrison LH, Farley M, Reingold AL, Lefkowitz L, Perkins BA (1997): Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *N Engl J Med* 337, 970-6
- Schwab C, McGeer PL (2002): Complement activated C4d immunoreactive oligodendrocytes delineate small cortical plaques in multiple sclerosis. *Exp Neurol* 174, 81-8
- Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F (2004): Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol* 14, 164-74
- Skripuletz T, Gudi V, Hackstette D, Stangel M (2011): De- and remyelination in the CNS white and grey matter induced by cuprizone: the old, the new, and the unexpected. *Histol Histopathol* 26, 1585-97
- Smolders J, Menheere P, Kessels A, Damoiseaux J, Hupperts R (2008): Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 14, 1220-4
- Solnyshkova TG, Shakhlov VA (2002): Ultrastructural and morphometric characteristics of nerve cells and myelinated fibers in the cerebral cortex after chronic exposure to natural gas containing hydrogen sulfide in low concentrations. *Bull Exp Biol Med* 134, 411-3
- Stadelmann C: Pathologie und Immunpathogenese der Multiplen Sklerose In: Berger T, Linnebank M, Wiendl H (Hrsg.): *Betaferon®: 25 Jahre Multiple Sklerose Forschung*. Springer, Wien 2013, 13-26
- Stadelmann C, Kerschensteiner M, Misgeld T, Brück W, Hohlfeld R, Lassmann H (2002): BDNF and gp145trkB in multiple sclerosis brain lesions: neuroprotective interactions between immune and neuronal cells? *Brain* 125, 75-85
- Stadelmann C, Albert M, Wegner C, Brück W (2008): Cortical pathology in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 21, 229-34

- Storch MK, Bauer J, Lington C, Olsson T, Weissert R, Lassmann H (2006): Cortical demyelination can be modeled in specific rat models of autoimmune encephalomyelitis and is major histocompatibility complex (MHC) haplotype-related. *J Neuropathol Exp Neurol* 65, 1137-42
- Storch MK, Weissert R, Steffer A, Birnbacher R, Wallstrom E, Dahlman I, Ostensson CG, Lington C, Olsson T, Lassmann H (2002): MHC gene related effects on microglia and macrophages in experimental autoimmune encephalomyelitis determine the extent of axonal injury. *Brain Pathol* 12, 287-99
- Tallantyre EC, Morgan PS, Dixon JE, Al-Radaideh A, Brookes MJ, Morris PG, Evangelou N (2010): 3 Tesla and 7 Tesla MRI of multiple sclerosis cortical lesions. *J Magn Reson Imaging* 32, 971-7
- Tardif CL, Collins DL, Eskildsen SF, Richardson JB, Pike GB (2010): Segmentation of cortical MS lesions on MRI using automated laminar profile shape analysis. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 13, 181-8
- Tenembaum S, Chitnis T, Ness J, Hahn JS (2007): Acute disseminated encephalomyelitis. *Neurology* 68, 23-36
- Toborek M, Lee YW, Pu H, Malecki A, Flora G, Garrido R, Hennig B, Bauer HC, Nath A (2003): HIV-Tat protein induces oxidative and inflammatory pathways in brain endothelium. *J Neurochem* 84, 169-79
- Torkildsen O, Stansberg C, Angelskar SM, Kooi EJ, Geurts JJ, van der Valk, Myhr KM, Steen VM, Bo L (2010): Upregulation of immunoglobulin-related genes in cortical sections from multiple sclerosis patients. *Brain Pathol* 20, 720-9
- Truyen L, van Waesberghe JH, van Walderveen MA, van Oosten BW, Polman CH, Hommes OR, Ader HJ, Barkhof F (1996): Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology* 47, 1469-76
- Valyi-Nagy T, Olson SJ, Valyi-Nagy K, Montine TJ, Dermody TS (2000): Herpes simplex virus type 1 latency in the murine nervous system is associated with oxidative damage to neurons. *Virology* 278, 309-21
- van de Beek D, de GJ, Tunkel AR, Wijdicks EF (2006): Community-acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med* 354, 44-53
- Wagner HJ, Munger KL, Ascherio A (2004): Plasma viral load of Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 11, 833-4
- Wegner C, Esiri MM, Chance SA, Palace J, Matthews PM (2006): Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis. *Neurology* 67, 960-7
- Weiner HL (2004): Multiple sclerosis is an inflammatory T-cell-mediated autoimmune disease. *Arch Neurol* 61, 1613-5



Wilson J (1983): Cyanide in human disease: a review of clinical and laboratory evidence. *Toxicol Sci* 3, 397-9

Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG (1999): The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 53, 1107-14

Yang CS, Lee HM, Lee JY, Kim JA, Lee SJ, Shin DM, Lee YH, Lee DS, El-Benna J, Jo EK (2007): Reactive oxygen species and p47phox activation are essential for the Mycobacterium tuberculosis-induced pro-inflammatory response in murine microglia. *J Neuroinflammation* 4, 27

Young NP, Weinshenker BG, Parisi JE, Scheithauer B, Giannini C, Roemer SF, Thomsen KM, Mandrekar JN, Erickson BJ, Lucchinetti CF (2010): Perivenous demyelination: association with clinically defined acute disseminated encephalomyelitis and comparison with pathologically confirmed multiple sclerosis. *Brain* 133, 333-48

## Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei vielen Personen bedanken, die mich bei dieser Dissertationsarbeit sehr unterstützt haben.

Im Besonderen bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Brück als meinen Doktorvater für die Möglichkeit, meine Dissertation in der Abteilung der Neuropathologie zu verfassen und für die Begutachtung dieser Arbeit.

Mein großer Dank gilt Dr. med. Andreas Junker als Betreuer meiner Dissertation. Er hat mich während meiner ganzen Promotionsphase begleitet, betreut und stand mir mit Rat und Tat zur Seite. Wir haben gemeinsam viel durchgestanden.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Christine Stadelmann-Nessler für die vielen Anregungen und die konstruktive Kritik, die zum guten Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen haben.

Der MTA Uta Scheidt danke ich unendlich für die tatkräftige Unterstützung im Labor. Ohne sie und ihre jahrelange Erfahrung hätte ich das nie schaffen können.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Familie und Juuso Tiihonen für die endlose Unterstützung und Motivation in allen Lebenslagen.

## Lebenslauf

Ich, Jadwiga Wozniak, wurde am 30.12.1986 in Tarnowskie Gory (Polen) geboren und zog 1989 nach Deutschland.

Ich wuchs in Rottenburg am Neckar auf, wo ich das katholische freie Gymnasium St. Meinrad besuchte, an dem ich im Jahr 2006 die allgemeine Hochschulreife erwarb.

Vor Beginn meines Studiums absolvierte ich ein Freiwilliges Soziales Jahr am Universitätsklinikum Tübingen in der Kinderkardiologie und Kinderchirurgie.

Zum Sommersemester 2008 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität zu Göttingen auf, welches ich im Herbst 2014 beendete.

Im Februar 2012 begann ich mit den histologischen Arbeiten zur vorliegenden Dissertationsarbeit in der Arbeitsgruppe von Dr. Andreas Junker in der Abteilung Neuropathologie der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Brück.

Seit April 2015 arbeite ich als Assistenzärztin in der Anästhesie und Intensivmedizin bei den Vivantes Kliniken in Berlin.