

## LEUCOENCEFALITA MULTIFOCALĂ PROGRESIVĂ (PML)

**Dr. Dan Duiculescu, Dr. Luminița Ene**

*Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș“ București*

### REZUMAT

Leucoencefalita multifocală progresivă (PML) este o afecțiune demielinizantă a sistemului nervos central, produsă prin reactivarea virusului JC (virus ADN, gen Polyomaviridae, familia Papovaviridae) la pacienții cu imunodepresie severă, caracterizată prin modificări histopatologice și neuroradiologice tipice. Prevalența PML este de 0.7-8% din bolile indicatoare SIDA și a rămas neschimbată după introducerea pe scară largă a terapiei antiretrovirale înalt active (HAART), comparativ cu celelalte infecții oportuniste și cu encefalopatia HIV ale căror incidențe s-au redus la jumătate după introducerea HAART. Leziunile din PML sunt de demielinizare (produsă prin infecția și liza oligodendroglilor), de obicei în focare multiple, localizate în substanța albă. Tabloul clinic corespunde topografiei zonelor lezate, predominând deficitul motorii de tipul hemiparezelor. Diagnosticul de prezumție se stabilește pe baza examinării prin rezonanța magnetică nucleară și poate fi confirmat prin detecția virusului JC din lichidul cefalorahidian prin utilizarea tehnicilor polimerase chain reactions (PCR). Diagnosticul de certitudine este histologic: aspect de demielinizare multifocală, oligodendrocite cu nuclei lărgiți și astrocite mari, bizare, cu nuclei lobulați hiper cromatici. Prognosticul PML este rezervat (în medie supraviețuire 4 luni de la diagnostic), în condițiile în care nu există tratament specific anti-JC, ameliorări fiind înregistrate la unii pacienți spontan sau sub tratament antiretroviral înalt activ.

### ABSTRACT

Progressive multifocal encephalitis (PML) is a demyelinating central nervous system disease, induced by reactivation of JC virus (DNA virus, Polyomaviridae genus, Papovaviridae family), in patients with severe immunosuppression, is characterized by typical histological and neuroradiological features. PML prevalence is 0.7-8% among AIDS-defining diseases and it remained unchanged after highly active antiretroviral therapy (HAART) introduction, when compared to other opportunistic infections and to HIV encephalopathy, whose incidences are nowadays diminished with 50% on HAART. PML lesions are demyelinating (produced through oligodendroglia infection and lysis), usually in multiple foci, in the cerebral white matter. The clinical features are corresponding to the lesions' topography, mainly with motor impairment, like hemiparesis. The presumptive diagnosis is established based on magnetic resonance imaging and may be confirmed through JC virus detection in cerebrospinal fluid using polymerase chain reactions (PCR) techniques. The positive diagnosis is histological: multiple demyelination foci, oligodendrocytes with enlarged nuclei and large, bizarre astrocytes, with hyperchromatic lobulated nuclei. PML prognosis is poor (average survival 4 months), as there is no specific anti-JC treatment; improvements were observed in some patients spontaneous or after HAART.

Leucoencefalopatia multifocală progresivă (PML) este o afecțiune demielinizantă a sistemului nervos central (SNC) produsă prin reactivarea virusului JC (inițialele pacientului de la care a fost izolat), caracterizată prin modificări histopatologice și radiologice specifice. Leziunile morfologice din PML au fost identificate pentru prima dată de neuropatologul Hallervorden în 1930, iar manifestările clinice au fost descrise în 1958 (Astrom, Mancal și Richardson). Virusul JC a fost identificat prin microscopie electronică în 1965 ca făcând parte din familia papovavirusuri (ZuRhein și Chou) și a fost izolat de Padgett și colab. în 1971 (1,2).

PML a fost descrisă inițial ca o complicație la pacienții imunodepresiați cu limfoame primitive ale SNC, cu leucemie, la pacienți cu tratament imunodepresor pentru artrită reumatoidă, sarcoidoză, sau după transplant de organ (3). În prezent imunodepresia determinată de infecția cu HIV este cea mai frecventă cauza de PML cu o incidență de 50 de ori mai mare comparativ cu alte afecțiuni care

determină imunodepresie (4). Prima descriere a PML la pacienți cu infecție HIV (5) a apărut la mai puțin de un an de la diagnosticarea primelor cazuri de SIDA (6-8).

### ETIOLOGIE

Prima menționare a virusului JC datează din 1971, când s-a izolat un virus uman cu ADN dublu-catenar și simetrie icosaedrică în culturi de celule gliale (9). JCV aparține genului Polyomaviridae, familia Papovaviridae. Deși ceilalți membri ai familiei Polyomaviridae, SV20 și BK virus, au fost suspectați a fi responsabili de modificările descrise în cadrul PML, JCV pare a fi responsabil de acestea în majoritatea cazurilor (10). Se pare că BKV produce o infecție renală severă la pacienții cu transplant renal (11-12).

Genomul JCV este inclus într-o structură proteică icosaedrică cu diametrul de 40 de nm. ADN codifică o proteină non-structurală, dar

multifuncțională (T) și trei proteine de capsidă (VP1, VP2, VP3).

Proteina T este proteina de legare a ADN și inițiază replicarea acestuia. În culturi de celule non-umane inițiază transformarea malignă a celulelor. Proteina VP1 este proteina capsidară majoră, care conține epitopii responsabili de inducerea și recunoașterea de anticorpi, ca și de atașarea de membrane celulare, având abilitatea de a aglutina eritrocitele umane tip O. Variațiile nucleotidelor terminale ale VP1 au determinat descrierea „tipurilor” de JCV. În Statele Unite există cel puțin 4 genotipuri diferite (tipul 1 provine din Europa, tipul 2 din Asia, tipul 3 din Africa, iar tipul 4 provine din recombinarea tipurilor 1 și 3) (13). Nu s-a demonstrat o corelație între variantele de VP1 și anticorpii specifici. Se cunoaște însă faptul că VP1 se leagă de un receptor membranar glicoproteic, sensibil la digestia cu neuraminidază. Această glicoproteină se exprimă la nivelul mai multor tipuri celulare, dar pare a fi mai abundentă în celulele susceptibile la infecția cu JCV. Spre deosebire de alți agenți patogeni umani, susceptibilitatea la infecția cu JCV nu este asociată cu atașarea virusului de receptori specifici și de penetrare. JCV se poate atașa și poate pătrunde în multe tipuri de celule (ex. fibroblaști), dar nu determină la acest nivel transcrierea și replicarea ADN. Susceptibilitatea gazdei la infecția cu JCV este controlată de factori dependenți de tipul celular de ADN și de factori specifici de replicare (14). Nu s-a putut demonstra existența unei corelații între structura JCV și neurovirulența sa (15).

## EPIDEMIOLOGIE

Este estimat că 39-70% din toți pacienții cu SIDA dezvoltă afecțiuni neurologice și că acestea reprezintă prima manifestare SIDA la 7-20% dintre cazuri (16). La pacienții cu SIDA afectarea sistemului nervos este semnalată în studii necrotice cu o frecvență de 28-34%, ocupând locul al doilea după patologia respiratorie (17). Alături de encefalopatia HIV, cele mai frecvente infecții oportuniste ale SNC sunt toxoplasmoza cerebrală, meningita cu *Cryptococcus neoformans*, PML și limfomul primar cerebral. Odată cu introducerea pe scară largă a terapiei antiretrovirale înalt active (HAART) incidența PML a ramas neschimbată comparativ cu celelalte infecții oportuniste și cu encefalopatia HIV ale căror incidențe s-au redus la jumătate (17).

În prezent PML este diagnosticat la 1-10% din pacienții cu SIDA (18, 19). Prevalența PML este

de 0.7-8% din bolile indicatoare SIDA (20-24) și în perioada pre-HAART a reprezentat în 25-57% din cazuri prima boala indicatoare SIDA (24-27).

Infecția organismului uman cu JCV evoluează inaparent în majoritatea cazurilor, cu transmitere probabil aerogenă, sporadic apărând afecțiuni respiratorii nespecifice. Foarte probabil infecția apare endemic, fapt demonstrat de procentul de 40-60 din copiii de până la 10 ani la care s-au evidențiat anticorpi anti-JC (28-30). Oricum, s-a demonstrat că până la vârsta adultă, 85% din populația generală are anticorpi tip IgG împotriva JC. După pătrundere, virusul diseminează în tot organismul, cu cantonare în rinichi și țesutul limfoid, unde rămâne timp de mai mulți ani. Mutațiile suferite în timp la nivelul porțiunii genomului viral care controlează multiplicarea virusului determină, în anumite condiții, apariția unei forme neurotrope care infectează oligodendroglia și astrocitele din SNC și consecutiv le lizează.

Deși inițial s-a emis ipoteza conform căreia imunodepresia reprezintă factorul declanșator al proliferării virale, ulterior s-a demonstrat că numărul pacienților cu limfoame primare ale SNC care dezvoltă PML este mult mai mic comparativ cu cel al pacienților cu SIDA care dezvoltă PML, sugerând implicarea și a altor factori legați de infecția HIV.

Cauzele care determină apariția unei forme neurotrope la pacienții cu HIV și imunodepresie severă par să fie complexe: absența limfocitelor T citotoxice față de JC (30), afectarea barierei hematoencefalice (31,32) fenomenul de up-regulation exercitat de secvența tat din genomul HIV asupra turn-over-ului virusului JC (33,34).

## PATOGENIE

Leucoencefalopatia multifocală progresivă este o afecțiune produsă prin infecția și liza oligodendrogliei din substanța albă cerebrală.

Leziunile din PML sunt de demielinizare, de obicei în mai multe focare, foarte rar în focar unic (35). Leziunile de demielinizare pot apărea oriunde în substanța albă și au dimensiuni de la 1 mm până la câțiva cm. Localizarea leziunilor este nespecifică, cu o oarecare tendință de a predomina în zonele temporo-occipitale. Leziunile pontine și cerebeloase apar în 10-15% din cazuri. La pacienții cu infecție HIV-1 leziunile sunt mai frecvent inițial unilaterale, spre deosebire de seronegativi, unde leziunile sunt bilaterale de la debut. O caracteristică importantă pare a fi prevalența topografică a leziunilor fie în emisferile cerebrale, fie în cerebel (rar leziunile au aceeași densitate în ambele zone).

Virusul afectează în primul rând oligodendrogliele, care prezintă nuclei măriți, hiperchromatici, și astrocitele, care se măresc, devin bizare, cu nuclei mari, multilobați și care pot prezenta mitoze cu aparență de malignitate. Procesele de producere a mielinei sunt perturbate, ceea ce duce la demielinizare parțială, iar în stadiile finale, la demielinizare globală în zonele afectate. În forme severe se ajunge la distrucție tisulară cu cavitație, reacție glială și infiltrație macrofagică și limfocitară. Examinarea la microscopul electronic poate releva prezența în oligodendrocite a JCV. JCV nu infectează neuronii în vitro sau în vivo (36-38).

Studii pe cohorte populaționale largi au demonstrat că 80-90% din populația umană prezintă anticorpi specifici anti-JCV la vârste tinere (30,39). Până în prezent seroconversia JCV nu a fost asociată cu nici o formă acută de boală. Descoperirea JCV la nivelul amigdalelor a sugerat o cale de pătrundere respiratorie, după care virusul ar rămâne latent la nivelul sistemului reticuloendotelial și al rinichilor. Există date care susțin cantonarea JCV în limfocitele din măduva hematogenă și alte țesuturi limfoide, precum și activarea în condiții de imunosupresie, cu pătrunderea în curentul sangvin (10,40).

În ceea ce privește cantonarea virusului la nivelul SNC, deși inițial s-a sugerat că virusul ar infecta SNC latent (41), ulterior s-a demonstrat că virusul nu se găsește în forma latentă la nivelul țesutului nervos, ci apare numai după reactivare (42,43). Reactivarea virusului poate fi pusă în evidență prin prezența limfocitelor B infectate care traversează bariera hematoencefalică infectând astrocitele de la marginea vaselor sanguine. Prin PCR se poate pune în evidență prezența ADN JCV în limfocitele sanguine la 50-95% din pacienții cu PML. Argumente în favoarea „diseminării hematogene” a JCV sunt detecția virusului în plasma și în monocitele circulante și localizarea predilectă a leziunilor PML la interfața între substanța cenușie și cea albă din jurul arteriolelor terminale (44).

În condiții fiziologice, circulația limfocitelor spre creier este limitată. Pe de o parte ele nu aderă de endoteliul vaselor cerebrale, iar joncțiunile intercelulare sunt foarte strânse și nu permit migrarea transendotelială. În infecția HIV se pare că endoteliul vaselor cerebrale se modifică prin creșterea numărului de molecule aderente.

În sprijinul ipotezei conform căreia limfocitele B transportă JCV la nivelul SNC vine și observația existenței proteinelor de legare ale ADN care recunosc poziții importante din regiunea reglatoare a JCV, anumite linii celulare B fiind descrise ca

permissive pentru înmulțirea JCV (45). Proteinele de legare ADN fac parte din grupul factorilor de transcripție NF-1, care sunt ubicuitari la oameni. Un membru al acestui grup, NF-1/X, este bine reprezentat la nivelul SNC și se corelează cu susceptibilitatea crescută la infecția cu JCV (46). Dezvoltarea PML pare să fie legată de afectarea funcției tip Th1 a celulelor helper și a imunității mediate celular (47).

Limfocitele B activate traversează bariera hemato-encefalică. Localizarea JCV pusă în evidență prin coloratii imunohistochemice tisulare este preponderentă la nivelul oligodendrocitelor, în timp ce HIV este localizat mai ales în microglia, monocite și astrocite (48-50). HIV induce producerea unei proteine reglatoare tat care are rol de inducere a regiunii promotoare a JCV (48,49). În acest mod crește replicarea JCV cu liza ulterioară a celulei. Proteina tat induce producerea mai multor citokine de tipul „tumor necrosis factor” (TNF) – factor de necroza tumorală, interleukinei -1 și transformarea factorului de creștere  $\beta$  cu rol de distrugere a celulelor vecine și de stimulare ulterioară a sintezei virale.

În cazul PML, rolul imunodepresiei în apariția bolii este esențial, fiind determinat în contextul infecției HIV sau a unor neoplazii. Studii în vitro arată absența factorului inhibitor de migrare limfocitară (*lymphocyte migration inhibitory factor*) ca răspuns la JCV la pacienții cu PML. În contrast, producția acestui factor este normală la pacienții cu infecție HIV, dar fără PML (51). Această observație sugerează existența unui deficit celular imun specific suprapus imunodeficienței generalizate. Studiul impactului răspunsului imun celular împotriva JCV asupra evoluției clinice a pacienților cu PML a arătat că cei cu limfocite citotoxice specifice anti-proteine T sau VP-1 ale JCV care au nivele detectabile au avut supraviețuire mai îndelungată și ameliorare clinică neurologică semnificativă, chiar și în absența tratamentului HAART, ceea ce sugerează că acești markeri ar putea fi factori de apreciere a prognosticului pacienților cu PML (52).

Într-un studiu asupra unei cohorte de pacienți cu infecție HIV/SIDA (Multicenter AIDS cohort study) (53) se arată că gradul și durata infecției HIV și a imunodepresiei determinate de virusul HIV par a fi legate de relativa creștere a incidenței infecției JCV. Explicația acestei observații ar fi facilitarea intrării limfocitelor B infectate cu JCV la nivelul creierului prin alterarea barierei hematoencefalice, secundară infecției HIV (32) sau reglării adeziunii moleculelor la nivelul endoteliului

vascular cerebral (54,55), în cadrul infecției HIV și a potențialului proteinei tat a HIV de a activa JCV (34,56).

PML apare mai ales la pacienții cu încărcătură virală HIV mare și cu imunodepresie severă, cu  $CD4 < 200$  lf/mmc (4,57,58). Un studiu care a evaluat răspunsul  $CD4$  specific la JCV a sugerat că PML ar apărea în condițiile în care celulele  $CD4$  JC-specifice ar scădea sub un prag critic. În contrast cu pacienții în fazele inițiale ale PML, răspunsul celular  $CD4$  proliferativ a fost constatat la majoritatea pacienților cu PML cu supraviețuire îndelungată, indicând o restaurare a răspunsului  $CD4$  JC-specific concomitent cu dispariția ADN-JC din LCR la toți supraviețuitorii.

PML a fost rar descris în populația pediatrică cu infecție HIV sau boală SIDA (59-63), majoritatea fiind prezentari de caz. Considerăm în acest sens ca cei 21 de copii cu infecție HIV și PML diagnosticați în cadrul Secției a V-a Clinica a Spitalului de Boli infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” din București ca reprezentând un grup omogen, unic ce include cel mai mare număr de copii diagnosticați într-un singur centru, prevalența cazurilor de PML din Clinica noastră fiind mai mare decât totalitatea copiilor diagnosticați cu PML din Europa (64,65).

## CLINICĂ

Tabloul clinic este nespecific; semnele și simptomele sunt corespunzătoare topografiei zonelor lezate.

Cele mai frecvente semne și simptome la prezentare sunt deficitele motorii de tipul hemiparezelor prezente la 50-80% dintre pacienții diagnosticați (4,66). Modificările cognitive sunt prezente la 25% dintre pacienții cu PML, au evoluție rapidă și sunt legate de modificările neurologice și cele imagistice, spre deosebire de cele din encefalopatia HIV. Cele mai frecvente modificări cognitive sunt cele comportamentale și de personalitate, afectarea memoriei, dislexia, discalculia, sindromul de mână străină sau neglijarea unei părți a corpului (somatoadialforie).

Manifestările neurooftalmice apar la debut la 30-45% dintre pacienți (66,67). Cel mai frecvent simptom este hemianopsia omonimă sau quadranopsia prin leziunea radiațiilor optice (67). Alte manifestări optice sunt: diplopia (în primul rând prin afectarea căilor optice retrooptochiasmice, dar și prin afectarea nervilor cranieni III, IV și VI) (66,68), afazia optică, cecitatea corticală.

Există până în prezent o singură relatare a afectării măduvei spinării determinată de PML, dar aceasta a fost evidențiată doar la examenul necrotic (69).

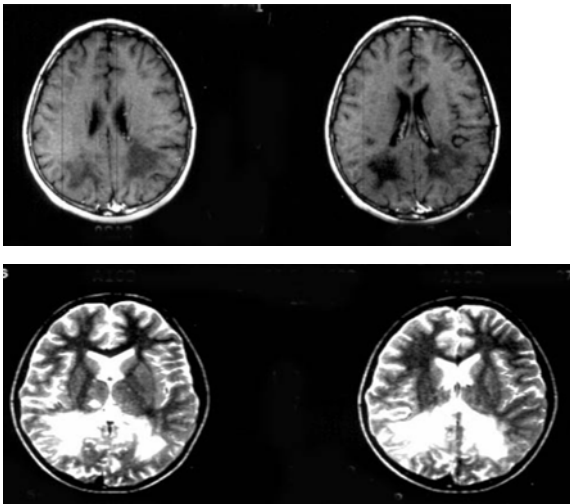
Alte simptome care pot apărea sunt: cefaleea (mai ales la pacienții cu PML fara infecție HIV, (67) și convulsiile (produse fie prin afectarea cortexului în cadrul PML (68), fie secundare altor comorbidități în cadrul infecției HIV (70). Afectarea măduvei spinării și a nervului optic apar rar. În tabloul clinic al PML nu apar febra și sindromul de hipertensiune craniană.

La copiii diagnosticați cu PML în secția a V-a a Spitalului Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” din București am constatat prezența semnelor neurologice de focar la toți pacienții încă de la debutul clinic neurologic și prezența sindromului cerebelos la peste jumătate din pacienți. Deși determinările cerebeloase ar pleda mai degrabă pentru o afectare de tip demielinizant determinată de virusul HIV, predominanța lor și în rândul cazurilor confirmate cu PML, pare să constituie mai degrabă o particularitate a acestor copii (71).

## NEUROIMAGISTICĂ

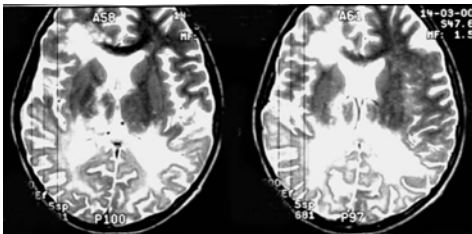
Modificările imagistice ale SNC reprezintă un argument important în susținerea diagnosticului PML, mai ales dacă acesta este prezumtiv în lipsa biopsiei cerebrale și a punerii în evidență a JCV din LCR prin tehnici PCR. Examenul CT evidențiază leziuni hipodense specifice în substanța albă, care de obicei nu captează substanță de contrast (doar 5-10% din cazuri) și nu au efect de masă (72).

RMN reprezintă investigația imagistică de elecție, pentru că reușește evidențierea unor leziuni chiar în stadiile incipiente, pe când examinarea CT poate fi normală inițial și este utilă doar în cazurile constituite, cu simptome clinice evidente. Avantajul RMN asupra CT constă în utilizarea unei selecții de parametrii. Astfel, la nivel cerebral, imaginile ponderate T1 determină aspectul alb al tracturilor nervoase (conexiuni nervoase), gri al aglomerarilor neuronale și întunecat (negru) al LCR. În T2 toți acești parametrii sunt inversați. Leziunile de PML apar în secvențele T2 ca niște arii delimitate slab în substanța albă – zone deschise la culoare (albe) de diferite dimensiuni și cu densități scăzute corespunzător (închise la culoare) în secvențele T1 (figura 1, 2). În unele cazuri cu leziuni extinse la nivelul substanței albe cerebrale este dificilă delimitarea exactă a dimensiunilor



**Figura 1.**  
Imagine demielinizantă hipodensă T1 (sus), hiperintensă T2 (jos) la un pacient cu PML (colecția dr. Dan Duiculescu)

leziunilor din cauza interferenței imaginilor albe determinate de prezența LCR. Tehnici (secvențe) mai noi numite „dark fluid“ sau „FLAIR“ (fluid-attenuated inversion-recovery) au avut ca scop suprimarea LCR deschis din imaginile ponderate T2 putând astfel să pună în evidență mai bine leziunile din PML. Aceste secvențe pot fi înregistrate cu diferite intensități ale câmpului magnetic, inclusiv reduse, utilizând sistemul „Open MR“. RMN de difuzie DWI (diffusion-



**Figura 2.**  
Extinderea leziunilor la 2 luni de la diagnostic la pacientul prezentat în figura 1 (secvențe ponderate T2) (colecția dr. Dan Duiculescu)

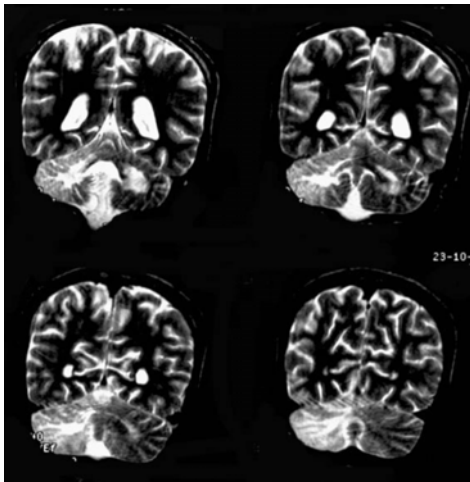
weighted imaging) are ca principiu măsurarea difuziei moleculelor de apă -apa din interiorul unui axon nu poate trece de membrana de mielină și prin urmare va difuza în principal unidirecțional de-a lungul unui grup de fibre. În cazul DWI pot fi decelate modificări în difuzia apei extracelulare furnizând date asupra funcționalității zonei afectate. Administrarea substanței de contrast paramagnetic (Gadolinium) în doze adecvate greutateii corporale are sensibilitate crescută în decelarea țesuturilor vasculare (ex.tumori), contrastul apare hiperintens în imaginile T1 și furnizează indicații asupra perfuziei cerebrale. În cazul pacienților cu

PML administrarea contrastului permite pe de o parte un diagnostic diferențial cu alte patologii (în principal vasculare) modificările clasice din PML nefiind captante. Totuși în cazuri izolate se menționează existența leziunilor cu captarea periferică a substanței de contrast ca și existența efectului de masă care sunt în general asociate cu un prognostic mai bun (72).

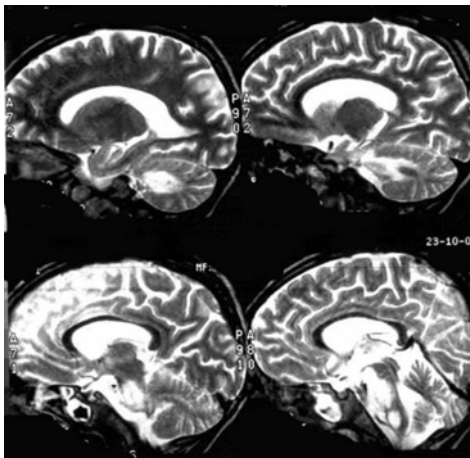
La examene RMN repetate se descrie o zonă de necroză în centrul leziunilor (figura 5) (73). Acest aspect, care nu face parte din descrierile clasice ale PML, poate să ridice probleme importante de diagnostic diferențial cu abcesele cerebrale, iar în cazul pacienților cu infecție HIV, cu toxoplasmoza cerebrală. Implicarea microscopică a substanței cenușii nu este vizibilă la RMN, aceasta apare ca un halou de țesut normal care înconjoară zonele lezate.

Un nou tip de imagini RMN sunt cele de transfer magnetic (MT), care par a fi mult mai sensibile pentru punerea în evidență a procesului de demielinizare din PML, comparativ cu imaginile standard RMN (74). Comparativ cu imaginea clasică RMN, la MT descreșterea semnalului este marcată pentru țesuturile complexe (substanța albă și cea cenușie) și modestă pentru ariile cu conținut fluid (LCR, sânge). MT este o examinare de elecție pentru punerea în evidență a oricărui proces care produce rupturi-discontinuități ale integrității țesuturilor și în mod particular la nivelul tecii de mielină și a axonului (75).

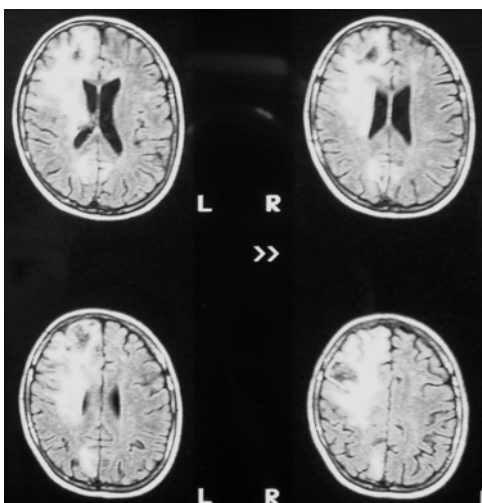
Atât PML cât și encefalopatia HIV sunt asociate cu leziuni de substanță cerebrală, fără efect de masă hiperintense în T2 și FLAIR (fluid attenuated inversion recovery pulse sequence) la RMN (76). Diferențierea PML de encefalopatia HIV se poate face pe baza imaginilor din secvențele ponderate T1 în care leziunile PML apar hipointense iar cele determinate doar de HIV izointense. Această diferențiere devine mai evidentă în cursul examinărilor seriate – unde semnalul hipointens poate indica o infecție agresivă (76). O altă caracteristică a PML este aspectul focal al leziunilor și cel asimetric în cazul leziunilor bilaterale. Leziunile determinate de JC sunt localizate predominant subcortical și implică fibrele arcuate (U), deși poate fi prezentă și afectarea substanței albe cerebeloase și de la nivelul trunchiului cerebral (figura 3, 4). Leziunile produse de CMV, spre deosebire de cele din PML, sunt situate de obicei în apropierea ventriculilor cerebrali, în centrul semioval, precum și periependimar.

**Figura 3.**

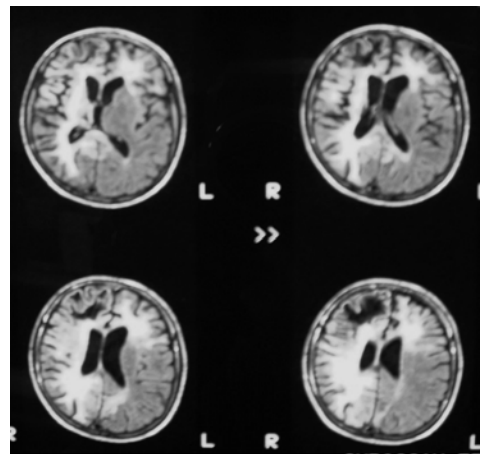
Leziuni demielinizante PML la nivelul emisferului cerebelos drept (colecția dr. Dan Duiculescu)

**Figura 4.**

Leziuni demielinizante PML la nivelul trunchiului cerebral

**Figura 5. A**

Pacient cu PML cu leziune necrotică la nivelul lobului frontal și cu minimă captare a substanței de contrast la nivelul leziunii necrotice, la momentul diagnosticului (A), la 12 luni după aceea

**Figura 5. B**

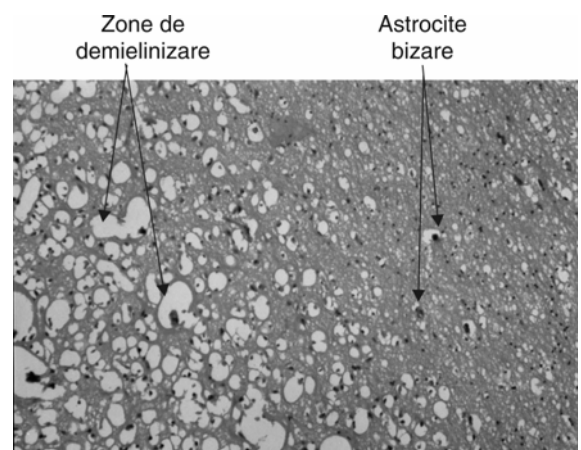
(B) când se remarcă extensia aspectul atrofic (colecția dr. Dan Duiculescu)

### DIAGNOSTICUL POZITIV

Diagnosticul de certitudine în PML se stabilește prin biopsie cerebrală (rar utilizată, mai ales din cauza prognosticului foarte rezervat și a evoluției de obicei rapide a bolii).

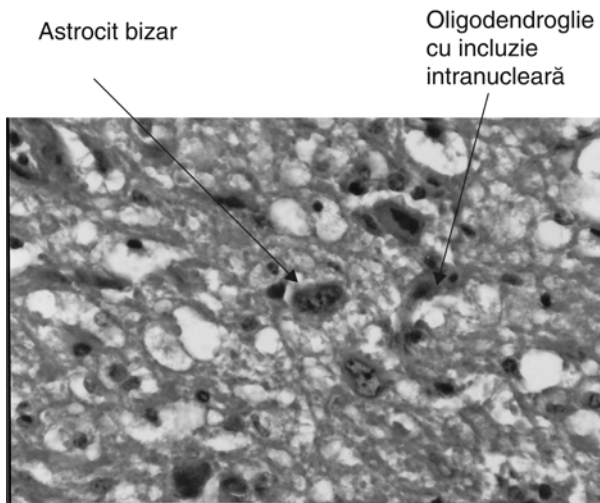
Diagnosticul biptic este dificil dacă mostra de țesut cerebral include doar fragmente din centrul leziunilor demielinizante. În asemenea cazuri este utilă hibridizarea în situ cu probă de ADN viral, pentru că identifică cu mare specificitate celulele infectate, chiar și în probe biptice de foarte mici dimensiuni (77).

Semnele tipice ale PML histologic sunt triada: demielinizare multifocală, oligodendrocite cu nucleii lărgiți și astrocite largi, bizare cu nucleii lobulati hiper cromatici (figura 6 a și b).

**Figura 6.**

Imagini de leziuni histologice tipice PML pe fragment necrotic cerebral [prin amabilitatea dr. Petronela Ionescu – Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” București (87)]

A – fragment de cortex, colorat Hemalaun-eozina, obiectiv 10x, microscopie optică, demielinizare: zone de pierdere completă sau incompletă a mielinei (zone optice goale) cu relativă prezervare a axonilor



**Figura 6.**

*B – fragment de cortex, colorație Hemalaun-eozina, microscopie optică x 40, oligodendroglia cu incluzii intranucleare (celulele sunt de 3-4 ori mai mari decât cele normale; nucleul este distrus cu prezența de incluzie virală eozinofilică, amorfă, amfofilică), astrocite bizare mari de 2-3 ori normalul cu nucleu mare, lobulat sau neregulat*

O metodă cu bune rezultate este asocierea evidențierii prin PCR a JCV în LCR cu imagistica RMN (78).

Examenul LCR este util în excluderea altor afecțiuni, dar analiza de rutină a LCR nu constituie un criteriu de diagnostic și în general reflectă modificări comune pacienților cu infecție HIV. LCR prezintă un număr redus de elemente (sub 20/mmc), cu medie de 7 elemente/mmc, iar albuminorahia poate fi crescută la peste 50% dintre pacienți (4). Se mai poate consemna și hipoglicorahie, toate aceste modificări nefiind concordante cu modificările LCR produse de infecția HIV ca atare (79,80).

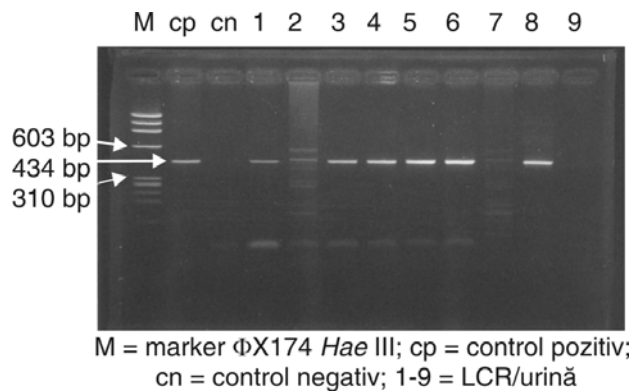
JCV nu a fost cultivat și nu s-au identificat antigene virale în LCR. Detecția prezentei intratecale a anticorpilor are o sensibilitate de 67% și o specificitate de 99% la pacienții cu PML și fără infecție HIV (81).

Valoarea diagnostică a analizei LCR a apărut odată cu utilizarea tehnicilor PCR de detecție a virusului JC, având o sensibilitate de 43-92% (valorile scăzute se datorează tendinței JCV de a se cantona departe de ventriculii cerebrali) și o specificitate de 92-100% (82-84). Aceste valori sunt dependente de primer-ii utilizați (82). Valoarea predictivă a tehnicii PCR pentru JCV din LCR se apropie de 90%.

Sensibilitatea scăzută a metodei se datorează faptului că virusul este localizat în principal intracelular și puțini virioni sunt prezenți liberi în LCR. Specificitatea crescută însă a permis utilizarea

acestei metode ca alternativă la biopsia cerebrală. Rata rezultatelor fals negative se situează în jur de 25% ceea ce înseamnă că un rezultat negativ nu exclude diagnosticul și că în aceste cazuri ar fi necesară repetarea puncției lombare sau efectuarea unei biopsii cerebrale. Determinări semicantitative ale ADN JCV din LCR au fost corelate cu supraviețuirea și pot fi utilizate pentru monitorizarea progresiei infecției sau al eventualului răspuns la intervențiile terapeutice, în completarea evaluărilor clinice și radiologice (85).

În cadrul Clinicii de Boli Infecțioase „dr. Victor Babeș“, Dr. Gratiela Tardei a utilizat un test PCR „în house“ (de casa) (figura 7) pentru polyomavirus. Pragul de sensibilitate al testului nu a fost evaluat dar teoretic poate fi apreciat la cateva sute de copii/PCR, specificitatea este 100% pentru banda de 434 bp. Testul este strict calitativ, intensitatea benzilor nu trebuie interpretată cantitativ sau semicantitativ (86).



**Figura 7.**  
*Electroforeza ADN amplificat în PCR „de casă“ pentru polyomavirus (prin amabilitatea dr. Gratiela Târdei – Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș“ București)*

În absența investigațiilor mai sus menționate, legate de evidențierea JCV, am elaborat în cadrul clinicii (87) o definiție de caz pentru diagnosticul prezumtiv de PML, care are la bază a) criteriile clinice: pacienți afebrili cu tulburări neurologice focale, instalate insidios și cu evoluție rapidă; b) criteriile imagistice: leziuni unice sau multiple, localizate în substanța albă, cu semnal scăzut în T1 și accentuat în T2, fără edem perilezional, fără efect de masă, cu captare inconstantă a substanței de contrast.

**Diagnosticul diferențial** al PML se face cu o serie de alte afecțiuni ale SNC:

- encefalopatia HIV, al cărei tablou la debut seamănă cu cel al PML, dar evoluția este mai lentă, iar modificările imagistice nu au corespondent clinic. În plus, în cazul encefala-

lopatiei HIV, leziunile sunt mai difuze, bilaterale de la debut și fără semnal diminuat în T1.

- alte afecțiuni care evoluează cu semne neurologice de focar: abcesele toxoplasmozice și limfoamele primare ale SNC, dar la care caracteristicile RMN fac diferența.
- infecții demielinizante la nivel cerebral: cu virusul citomegalic și virusul varicelo-zosterian (HHV3), unde diagnosticul diferențial se face prin tabloul clinic și examenul LCR.

## EVOLUȚIE

Durata supraviețuirii este de obicei mai mică de 6 luni, în medie 4 luni (4), mai ales în lipsa tratamentului ARV, iar prognosticul este foarte rezervat.

Evoluțiile cele mai lungi au fost înregistrate la pacienții care aveau imunitate bună la momentul diagnosticului PML și la pacienții naivi care au primit pentru prima dată HAART la debutul PML (88,89). Factorii asociați cu evoluții mai lungi au fost: nivele indetectabile de ADN JCV în LCR, CD4 peste 300/mm<sup>3</sup>, apariția PML ca prima boală indicatoare SIDA, și captarea periferică de substanță de contrast la examinarea RMN (85,90-92). Mortalitatea prin PML la pacienții cu SIDA raportată de CDC în perioada 1990-2000 a fost de 0,72%. Datele cuprinse în două studii pe cohorte de pacienți adulți în SUA și Italia indică o scădere a incidenței PML de la introducerea HAART, dar nu dispariția acesteia (93-95). Totodată, au fost raportate recent un număr de 3 cazuri de pacienți cu PML nou diagnosticată la pacienți cu tratament HAART cu nivele plasmatiche reduse de HIV-1 ARN înaintea instalării simptomatologiei PML (96).

## TRATAMENT

Chiar și în lipsa HAART s-au raportat ameliorări spontane ale PML (97,98), iar la ora actuală există date care susțin ferm faptul că HAART ameliorează supraviețuirea în PML (24). Sunt indicate substanțele care pătrund în SNC, din clasa inhibitorilor nucleozidici de revers-transcriptază: ZDV, 3TC, D4T, ABC, DDI; dintre NNRTI se indică: NVP, EFV iar dintre IP: INV și conform unor date recente și Kaletra (99). S-a demonstrat că HAART determină dispariția JCV în LCR la pacienții tratați corespunzător. Se pare că după dispariția JCV, tratamentul HAART are și un rol protector împotriva recăderilor, prin întreținerea răspunsului CD4 JC-specific. Astfel, HAART a

devenit modalitatea standard de abordare terapeutică la pacienții cu PML. Uneori PML poate apărea și la pacienții care sunt sub HAART. Pe de altă parte, unii pacienți nu prezintă o ameliorare a simptomatologiei neurologice în ciuda unui răspuns imunologic și virologic favorabil și susținut la HAART. Sindromul inflamator de reconstituție imuna (IRIS), caracterizat printr-o creștere a răspunsului inflamator la anumiți agenți infecțioși la pacienții care răspund favorabil la HAART, a fost descris recent la pacienții cu PML (96).

Sunt în curs de evaluare tratamentele cu cidofovir (substanță care în vitro inhibă polimeraza virală) și cu topotecan (care inhibă replicarea în vitro a virusului) (100-103). Citozinarabinozida (activă în vitro) este ineficace în vivo (104,105). Rezultatele tratamentului cu alfa-interferon sunt modeste (106).

Electroforeza ADN amplificat în PCR „de casa” pentru polyomavirus; gel de agaroză (2%) cu marker de greutate moleculară (M), control pozitiv (cp) și control negativ (cn), urmate de 9 teste efectuate unor pacienți HIV pozitivi: ADN extras din LCR total în liniile 1-3- și 7-9, și ADN extras din urini sterile bacteriologic în liniile 4-6. Se observa banda de 434 bp în liniile 1-8, cu semnificatia de test PCR pozitiv. Linia 9 corespunde unui test PCR negativ. În liniile 2 și 7 se observa numeroase benzi de ADN de greutăți moleculare diferite, ele corespunzând unor amplificări nespecifice în ADN cromozomial extras din celulele prezente în LCR.

PCR-ul a fost efectuat într-un volum final de 50 ml, din care 10 ml de suspensie ADN de testat și 40ml de PCR mix, continand 2u Taq polymerase, 5mL tampon PCR x 10, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 pmol fiecare primer, 200 mM din fiecare dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). Primerii utilizați se aliniază în gena VP2 a polyoma-virusurilor JC și BK și au avut următoarele secvențe: primerul sens (PoE1s): 5' – GGA GGA GTA GAA GTT CTA GAA – 3' și primerul antisens (PoE2as): 5' – TCT GGG TAC TTT GTY CTG TA – 3'. Fragmentul amplificat a avut 434 bp iar diferențele de secvența între cele două virusuri polyoma sunt semnificative, putând fi evidențiate prin hibridizare cu sonde specifice sau prin secvențiere. Secvența specifică JC este: GCT TAA CCT TCA TGC AGG GTC ACA; iar secvența specifică BK este: GAT GAA TGT GCA CTC TAA TGG TCA. Pentru extracția ADN s-a utilizat 250-1000 mL LCR sau urină și ADN obținut a fost suspendat în 50-100 ml diluent din care s-au utilizat în reacția PCR 10ml, astfel că ADN utilizat în fiecare test PCR provine din 50-200 ml LCR sau urină.



## BIBLIOGRAFIE

1. **Berger JR, Major EO** – Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Semin Neurol* 1999; 19:193-200,
2. **Henson JW, Louis DN** – Edward Peirson Richardson Jr (1918-1998) and the discovery of PML. *J Neuroviral* 1999; 5:325-326)
3. **Åstrom KE, Mancall EL, Richardson EP Jr.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Brain* 1958;81:93-127
4. **Berger JR, Pall L, Lanska D et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with HIV infection. *J Neuroviral* 1998;4:59-68
5. **Miller JR, Barrett RE, Britton CB et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy in a male homosexual with T-cell immune deficiency. *N Engl J Med* 1982; 307:1436-1438
6. **Gottlieb MS, Schroff R, Sranker HM et al.** – Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. *N Engl J Med* 1981;305:1425-1431
7. **Masur H, Michelis MA, Greene JB et al.** – An outbreak of community-acquired pneumocystis carinii pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med* 1981;305:1439-1444.
8. **Siegal FP, Lopez C, Hammer GS et al.** – Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. *N Engl J Med* 1981;305:1431-1438
9. **Padgett BI, ZuRhein GM, Walker DL et al.** – Cultivation of papovavirus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet* 1971;1:1257-1260
10. **Major EO, Amemiya EE, Tornatore CS, et al.** – Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin Microbiol* 1992;5:49-73
11. **Gardner SD, MacKenzie E, Smith C et al.** – Prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *J Clin. Pathol* 1984;37:578-586
12. **Gardner SD, Field AM, Coleman DV et al.** – New human papovavirus (BK) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971;1:1253-1257
13. **Agostini HT, Ryschewitsch CF, Mory R et al.** – JC virus (JCV) genotypes in brain tissue from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) and in urine from controls without PML: increased frequency of JCV type 2 in PML. *J Infect Dis.* 1997 Jul;176(1):1-8
14. **Feigenbaum L, Khalili K, Major EO, et al.** – Regulation of the host range of human papovavirus JCV. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:3695-3698
15. **Sala M, Vartanian JP, Kousignian P et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus type 1-infected patients: absence of correlation between JC virus neurovirulence and polymorphisms in the transcriptional control region and the major capsid protein loci. *Journal of General Virology* 82(Pt 4): 899-907, 2001
16. **Maschke M, Kastrop O, Esser S, et al.** – Incidence and prevalence of neurological disorders associated with HIV since the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69:376-380
17. **Jellinger KA, Setinek U, Drlicek M, et al.** – Neuropathology and general autopsy findings in AIDS during the last 15 years. *Acta Neuropathol* 2000; 100:213-220
18. **Berger JR, Major EO:** – Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Semin Neurol* 1999; 19:193-200
19. **Welch K, Morse A, and the Adult Spectrum of Disease Project in New Orleans:** – The clinical profile of end-stage AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS Patient Care and STDs* 2002; 16:75-81
20. **Chowdhury M, Kundu M, Khalili K.** – GA/GC-rich sequence confers Tat responsiveness to human neurotropic virus promoter, JCV, in cells derived from central nervous system. *Oncogene* 1993 Apr; 8 (4): 887-92
21. **Holman RC, Janssen RS, Buehler JW, et al.** – Epidemiology of progressive multifocal leukoencephalopathy in the United States: analysis of national mortality and AIDS surveillance data. *Neurology* 1991 Nov; 41 (11): 1733-6
22. **Berger JR, Kasovitz B, Post JD, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with human immunodeficiency virus infection: a review of the literature with a report of sixteen cases. *Ann Intern Med* 1987 Jul; 107 (1): 78-87
23. **Dworkin MS, Wan PC, Hanson DL, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy: improved survival of human immunodeficiency virus-infected patients in the protease inhibitor era. *J Infect Dis* 1999 Sep; 180 (3): 621-5
24. **Albrecht H, Hoffmann C, Degen O, et al.** – Highly active antiretroviral therapy significantly improves the prognosis of patients with HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *AIDS* 1998;9:1149-1154
25. **Fong IW, Toma E.** – The natural history of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1995 May; 20: 1305-10
26. **Whiteman MLH, Post MJD, Berger JR, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy in 47 HIV-seropositive patients: neuroimaging with clinical and pathologic correlation. *Radiology* 1993 Apr; 187 (1): 233-40
27. **Tassie JM, Gasnault J, Bentata M, et al.** – Survival improvement of AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy in the era of protease inhibitors. *AIDS* 1999 Oct 1; 13 (14): 1881-7
28. **Taguchi F, Kajoka J, Miyamura T.** – Prevalence rate and age of acquisition of antibodies against JC virus and Bk virus in human sera. *Microbiol Immunol* 1982;26:1057-1064
29. **M Safak, E Major, K Khalili,** – Human polyomavirus, JCV and progressive multifocal leukoencephalopathy. In Gendelman, H.E., Grant, I., Everall, I., Lipton, S.A., and Swindells, S. (Eds.) *The Neurology of AIDS*, 2nd edition. 2005, London, Oxford University Press, p 461-474
30. **JR Berger, BA Cohen,** – Opportunistic infections of the nervous system in AIDS , In Gendelman, H.E., Grant, I., Everall, I., Lipton, S.A., and Swindells, S. (Eds.) *The Neurology of AIDS*, 2nd edition. 2005, London, Oxford University Press, p 491-495
31. **Koralnik IJ, Du Pasquier RA, Letvin NL.** – JC virus-specific cytotoxic T lymphocytes in individuals with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Virol* 2001 Apr; 75 (7): 3483-7
32. **Power C, Kong PA, Crawford TO, et al.** – Cerebral white matter changes in acquired immunodeficiency syndrome dementia: Alteration of the blood-brain-barrier. *Ann Neurol* 1993;34:339-350
33. **Hofman FM, Dohadwala MM, Wright AD, et al.** – Exogenous tat protein activates central nervous system-derived endothelial cells. *J Neuroimmunol* 1994 Oct; 54 (1-2): 19-28
34. **Valle LD, Croul S, Morgello S et al.** – Detection of HIV-1 Tat and JCV capsid protein, VP1, in AIDS brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neuroviral.* 2000 Jun;6(3):221-8
35. **Mossakowski MJ, Zeiman IB.** – Pathomorphological variations of the AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Folia Neuropathol* 2000; 38 (3): 91-100
36. **Aksamit Aj, Proepr J.** – JC virus replicates in primary adult astrocytes culture. *Ann Neurol* 1988;24:471
37. **Major EO, Vacante DA.** – Human fetal astrocytes in culture support growth of the neurotropic human polyomavirus, JCV. *J Neuropathol Exp Neurol* 1989;48:425-436
38. **Wroblewska Z, Wellish M, Gilden D.** – Growth of JC virus in human brain cell cultures. *Arch Virol* 1980;65:141-148
39. **Rhiza HJ, Bornkamm G, ZurHausen H.** – Seroepidemiological studies and serologic response to viral infection. *Med Microbiol Immunol* 1978;165:73-92
40. **Frisque RJ, Martin JD, Padgett BI et al.** – Infectivity of the DNA from four isolates of JCV. *J Virol* 1979;32:476-482
41. **White FA, Ishaq M, Stoner GL, et al.** – JC virus DNA is present in many human brain samples from patients without progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Virol* 1992;66:5726-5734
42. **Buckle GJ, Godec MS, Rubi JU, et al.** – Lack of JC viral genomic sequences in multiple sclerosis brain tissue by polymerase chain reaction. *Ann Neurol* 1992;32(6):829-831
43. **Perrons C, Fox J, Lucas S, et al.** – Detection of polyomaviral DNA in clinical samples from immunocompromised patients: Correlation with clinical disease. *J Infect* 1996;32:205-209
44. **Kornalik IJ, Boden D, Mai VX, et al.** – JC virus DNA load in patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 1999;52:253-260
45. **Atwood WJ, Amemiya K, Traub R, et al.** – Interaction of the human polyomavirus, JCV, with human B-lymphocytes. *Virology* 1992;190:716-723
46. **Sumner C, Shinohara T, Durham L, et al.** – Expression of multiple classes of the nuclear factor-1 family in the developing human brain: differential expression of two classes of NF-1 genes. *J Neuroviral* 1996;2:87-100

47. **Weber F, Goldmann C, Kramer M, et al.** – Cellular and Humoral Immune Response In Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Ann Neurol*. 2001;49:636-642
48. **Sweet TM, Del Valle L, Khalili K.** – Molecular biology and immunoregulation of human neurotropic JC virus în CNS. *J Cell Physiol* 2002; 191:249-256
49. **Del Valle L, Croul S, Morgello S, et al.** – Detection of HIV-1 Tat and JVC capsid protein, VP1, in AIDS brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol* 2000; 6:221-228
50. **Paul R, Cohen R, Navia B, et al.** – Relationships between cognition and structural neuroimaging findings in adults with human immunodeficiency virus type-1. *Neurosci Biobehav Rev* 2002; 26:353-359
51. **Willoughby E, Price RW, Padgett BL, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML): In vitro cell-mediated immune responses to mitogens and JC virus. *Neurology* 1980;30:256-262
52. **Du Pasquier RA, Clark KW, Smith PS et al.** – JCV- specific cellular immune response correlates with a favorable clinical outcome in HIV-infected individuals with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol* 2001; 7 (4): 318-22
53. **Bacellar H, Munoz A, Miller EN, et al.** – Temporal trends în the incidence of HIV-1-related neurologic disease: Multi-center AIDS Cohort Study, 1985-1992. *Neurology* 1994 44:1892-1900
54. **Hofman FM, Dohadwala MM, Wright AD, et al.** – Exogenous tat protein activates central nervous system-derived endothelial cells. *J Neuroimmunol* 1994;54:19-28
55. **Sasseville VG, Newman WA, Lackner AA, et al.** – Elevated vascular cell adhesion molecule-1 în AIDS encephalitis induced by simian immunodeficiency virus. *Am J Pathol* 1992;141:1021-1030
56. **Tada H, Rappaport J, Lashgari M, et al.** – Trans-activation of the JC virus late promoter by the Tat protein of the type 1 human immunodeficiency virus în glial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:3479-3483
57. **von Einsiedel RW, Fife TD, Aksamit AJ, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în AIDS: A clinicopathological study and review of the literature. *J Neurol* 1993;240:391-406
58. **Marshall DW, Brey RL, Cahill WT, et al.** – Spectrum of cerebrospinal fluid findings în various stages of human immunodeficiency virus infection. *Arch Neurol* 1988;45:954-958
59. **Angelini L, Pietrogrande MC, Delle Piane MR et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în a child with hyperimmunoglobulin E recurrent infection syndrome and review of the literature. *Neuropediatrics*. 2001 Oct;32(5):250-5
60. **Araujo AP, Pereira HS, Oliveira RH et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în a child with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Arq Neuropsiquiatr*. 1997 Mar;55(1):122-5.
61. **Morriss MC, Rutstein RM, Rudy B et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în an HIV-infected child. *Neuroradiology*. 1997 Feb;39(2):142-4.
62. **Vandersteenhoven JJ, Dbaibo G, Boyko OB et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în pediatric acquired immunodeficiency syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 1992 Mar;11(3):232-7
63. **Hugoencq C, Lethel V, Chambost H et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy revealing AIDS în a 13-year-old girl. *Arch Pediatr* 2002; 9 (1):32-5
64. **Duiculescu D, Ene L, Radoi R, et al.** – High prevalence of neurological complications in a romanian pediatric AIDS patients cohort, HIV Infection and the Central Nervous System: Developed and Resource Limited Settings, Abstract book, p64, Frascati-Rome Italy, 11-13 June 2005
65. **Duiculescu D, Oprea C, Ungureanu E, et al.** – Cerebral Complications in HIV-1 Infected Children, 3<sup>rd</sup> International Workshop On Immunology And Infectious Diseases, Napoli, Italia, 8-10 Jun 2004
66. **Brooks BR, Walker DL.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurol Clin* 1984;2:299-313
67. **Omerud LD, Rhodes RH, Gross SA, et al.** – Ophthalmologic manifestations of acquired immune deficiency syndrome-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ophthalmology* 1996;103:899-906
68. **Sweeney BJ, Manji H, Miller RF, et al.** – Cortical and subcortical JC virus infection: two unusual cases of AIDS associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:994-997
69. **Bauer W, Chamberlin W, Horenstein S.** – Spinal demyelination în progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 1969;19:287-288
70. **Wong MC, Suite ND, Labar DR.** – Seizures în human immunodeficiency virus infection. *Arch Neurol* 1990;47:640-642
71. **Duiculescu D, Radoi R, Ene L, et al.** – Particular features of progressive multifocal leukoencephalopathy în HIV-1-infected children, 3<sup>rd</sup> IAS Conference, Rio de Janeiro, Brazil 24-27 July 2005
72. **Whiteman ML, Post MJ, Berger JR.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în 47 HIV-seropositive patients: neuroimaging with clinical and pathologic correlation. *Radiology* 1993;187:233-240
73. **Thurnher MM, Thurnher SA, Muhlbauer B et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în AIDS: initial and follow-up CT and MRI. *Neuroradiology* 1997; 39 (9): 611-8
74. **Hurley R A., Ernst T, Khalili K, Del Valle L, et al.** – Identification of HIV-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15:1-6, February 2003
75. **Doussset V, Brochet B, Vital A, et al.** – Lysolecithin-induced demyelination în primates: preliminary in vivo study with MR and magnetization transfer. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995; 16:225-231
76. **Post MJ, Yiannoutsos C, Simpson D, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy în AIDS: are there any MR findings useful to patient management and predictive of patient survival? *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20:1896-1906
77. **Hulette CM, Downey BT, Burger PC.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy. Diagnosis by in situ hybridization with a biotinylated JC virus DNA probe using an automated Histomatic Code-On slide stainer. *Am J Surg Pathol*. 1991 Aug;15(8):791-7
78. **Major EO, Curfman BL.** – Viral-induced demyelination leading to progressive multifocal leukoencephalopathy: The involvement of both immune and nervous system target cells. În: Remington J, Peterson PK, eds. *Defense of the brain*. Cambridge, MA: Blackwell Science, 1997:305-321
79. **Katz RL, Alappattu C, Glass JP, et al.** – Cerebrospinal fluid manifestations of the neurologic complications of human immunodeficiency virus infection. *Acta Cytol* 1989;33:233-244
80. **Elovaara I, Iivanainen M, Valle S-L, et al.** – CSF protein and cellular profiles în various stages of HIV infection related to neurological manifestations. *J Neurol Sci* 1987;78:331-342
81. **Knowles WA, Luxton RW, Hand JF, et al.** – The JC virus antibody response în serum and cerebrospinal fluid în progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clinical Diagnostic Virology* 1995;4:183-194
82. **Weber T, Turner RW, Frye S, et al.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy diagnosed by amplification of JC virus-specific DNA from cerebrospinal fluid. *AIDS* 1994;8:49-57
83. **Fong IW, Britton CV, Luinstra KK, et al.** – Diagnostic value of detecting JC virus DNA în cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Clin Microbiol* 1995;33:484-486
84. **McGuire D, Barhite S, Hollander H, et al.** – JC virus DNA în cerebrospinal fluid of human immunodeficiency virus-infected patients: Predictive value for progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol* 1995;37:395-399
85. **Yiannoutsos CT, Major EO, Curfman B, et al.** – Relation of JC virus DNA în the cerebrospinal fluid to survival în acquired immunodeficiency syndrome patients with biopsy proven progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol* 1999;45:816-8219
86. **Whiley, D.M., MacKay. I.M., Sloots, T.P.** – Detection and Differentiation of Human Polyomaviruses JC and BK by LightCycler PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39: 4357-4361
87. **Radoi R, Duiculescu D., Ene L, et al.** – Leucoencefalopatia Multifocala Progresiva diagnostic de prezumtie la copiii cu infectie HIV-1, *Craiova Medicala* 2004, Vol 6, Supl 3, p. 92-93
88. **Antinori A, Cingolani A, Lorenzini P et al.** – Clinical epidemiology and survival of progressive multifocal leukoencephalopathy în the era of highly active antiretroviral therapy: data from the Italian Registry Investigative Neuro AIDS (IRINA). *J Neurovirol* 2001; 7 (4): 364-8
89. **Polis M, Suzman D, Yoder C, et al.** – Suppression of cerebrospinal fluid HIV burden în antiretroviral naive patients on potent four-drug antiretroviral regimen; *AIDS* 2003; 17: 1167-72
90. **Berger JR, Levy RM, Flomenhoff D et al.** – Predictive factors for prolonged survival în acquired immunodeficiency syndrome-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol* 1998;44:341-349
91. **Taoufik Y, Gasnault J, Karaterki A et al.** – Prognostic value of JC virus load în cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Infect Dis* 1998;178:1816-1820

92. **Giudici B, Vaz B, Bossolasco S et al.** – Highly Active Antiretroviral Therapy and Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: Effects on Cerebrospinal Fluid Markers of JC Virus Replication and Immune Response. *Clin Infect Dis*. 2000;30:95-99
93. **Ammassari A, Cingolani A, Pezzotti P, et al.** – AIDS-related focal brain lesions in the era of highly active antiretroviral therapy. *Neurology*. 2000 Oct 24;55(8):1194-200
94. **Sacktor N.** – The epidemiology of human immunodeficiency virus-associated neurological disease in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Neurovirol*. 2002 Dec;8 Suppl 2:115-21.
95. **Gray F, Chretien F, Vallat-Decouvelaere, AV, Scaravilli F.** – The Changing Pattern of HIV Neuropathology in the HAART Era JNEN: *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*: Volume 62(5) May 2003 p 429-440
96. **Berenguer J, Miralles P, Arrizabalaga J et al.** – Clinical course and prognostic factors of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in patients treated with Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis* 2003; 36(8):1047-1052
97. **Bauer WR, Turel AP Jr, Johnson KP.** – Progressive multifocal leukoencephalopathy and cytarabine: Remission with treatment. *JAMA* 1973;226:174-176
98. **Fiala M, Cone LA, Cohen N, et al.** – Responses of neurologic complications of AIDS to 39-azido-39-deoxythymidine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine. I. Clinical features. *Rev Infect Dis* 1988;10:250-256
99. **Capparelli EV, Holland D, Okamoto C, et al.** – HNRC Group: Lopinavir concentrations in SCF exceed the 50% inhibitory concentration for HIV. *AIDS*. 2005 Jun 10;19(9):949-52
100. **Kerr DA, Chang CF, Gordon J et al.** – Inhibition of human neurotropic virus (JCV) DNA replication in glial cells by camptothecin. *Virology* 1993;196:612-618
101. **Razonable RR, Aksamit AJ, Wilson JW.** – Cidofovir treatment of multifocal leucoencephalopathy in a patient with highly active antiretroviral therapy. *Mayo Clin Proc* 2001; 76 (11):1171-5
102. **Gasnault J, Kousignian P, Kahraman M.** – Cidofovir in AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: A monocenter observational study with clinical and JC virus load monitoring. *J Neurovirol* 2001; 7 (4): 375-81
103. **De Luca A, Giancola ML, Ammassari A.** – Potent anti-retroviral therapy with or without cidofovir for AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: extended follow-up of an observational study. *J Neurovirol* 2001; 7 (4): 364-8
104. **Hou J, Major EO.** – The efficacy of nucleoside analogs against JC virus multiplication in a persistently infected human fetal brain cells line. *J Neurovirol* 1998;4:451-456
105. **Levy RM, Major E, Ali MJ et al.** – Convection-enhanced intraparenchymal delivery (CEID) of cytosine arabinoside (AraC) for the treatment of HIV-related progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *J Neurovirol* 2001; 7 (4): 382-5
106. **Huang SS, Skolasky RL, Dal Pan GJ, et al.** – Survival prolongation in HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy treated with alpha-interferon: an observational study. *J Neurovirol* 1998;4:324-332