

Virus-ähnliche Einschlüsse bei chronischen neuro-muskulären Prozessen*

Elektronenmikroskopische Biopsiefunde von 2 Fällen

F. JERUSALEM, G. BAUMGARTNER und R. WYLER

Neurologische Klinik (Direktor: Prof. Dr. G. Baumgartner)
und Institut für Virologie (Direktor: Prof. Dr. R. Wyler) der Universität Zürich

Eingegangen am 13. August 1971

Virus-Like Inclusions in Chronic Neuromuscular Disorders

Electronmicroscopic Findings of 2 Cases

Summary. Two cases with a slowly progressive neuromuscular disorder of 9—10 years duration, involving distal and proximal as well as girdle and axial muscles, are described. The muscular atrophy was pronounced in the shanks and finger muscles, also swallowing was disturbed. The tendon reflexes were diminished. By electromyography as well as by muscle biopsy we found a neurogenic pattern and besides that pronounced myopathic and also myositic alterations. By electron-microscopy there were found accumulations of filamentous tubules in the nuclei of the muscle fibers and in later stages, after the destruction of the nuclei, also in the sarcoplasm where they formed irregularly arranged groups. Also a great number of x-bodies and myeline bodies could be observed. Like Chou (1968) and some other authors, we presume an infection due to a virus. From the morphological viewpoint there seems to be a real pathogenic effect causing the myopathic and myositic alterations; a contamination is not likely. In contrast to the previously published cases of polymyositis and one chronic myopathy our two cases stem from a basic neurogenic alteration. The serological tests and inoculation of homogenized muscle in cell cultures (only case 2) gave no positive results. The animal inoculation tests are not yet completed.

Key words: Virus-Like Structures — Neuromuscular Syndrome — Myopathy — Myositis.

Zusammenfassung. Bei 2 chronisch-progredienten neuromuskulären Erkrankungen, die nach elektromyographischen und biptisch-histologischen Kriterien neben neurogenen auch myopathische und myositische Komponenten zeigen, wurden elektronenmikroskopisch virusähnliche Strukturen in Kernen und im Sarkoplasma der Muskelfasern gefunden. Sie weisen eine gewisse Ähnlichkeit auf mit denjenigen, die man bei Ortho- und Paramyxovirus-Infektionen findet. Analoge Beobachtungen anderer Autoren wurden bisher bei 4 Polymyositiden und einer chronischen Myopathie gemacht. Die serologischen Reaktionen mit verschiedenen Virusantigenen waren negativ oder ergaben nur niedrige Titer. Die Inokulation von Muskelhomogenat auf Zellkulturen ergab keinen cytopathischen Effekt, und elektronenmikro-

* Prof. Dr. R. Jung zum 60. Geburtstag.

skopisch konnte in den Zellkulturen kein Virus nachgewiesen werden. Die vor 3 Monaten mit Muskelhomogenat inokulierten Mäuse zeigen bisher keine Krankheitssymptome.

Das morphologische Verlaufsspektrum setzt ein mit filamentös tubulären Strukturen in den Kernen zunächst unauffälliger Muskelfasern. Mit ihrer zunehmenden Vermehrung löst sich die Kernstruktur auf, und es entleeren sich die virusverdächtigen Partikel ins Sarkoplasma, wo sie bei weiterer Vermehrung mit einer starken myofibrillären Destruktion und der Bildung zahlreicher Lamellenkörper verbunden sind. Aufgrund morphologischer Kriterien ist anzunehmen, daß die virusähnlichen Strukturen eine pathogenetische Bedeutung haben und es sich nicht um eine belanglose Kontamination handelt.

Schlüsselwörter: Virus-ähnliche Strukturen — Neuromuskuläres Syndrom — Myopathie — Myositis.

Einleitung

Verschiedene subakute und chronische humane und animale Erkrankungen des Zentralnervensystems werden heute auf sog. slow acting virus-Infektionen zurückgeführt (Sigurdsson, 1954). Teilweise, wie bei der subakuten Leukoencephalitis, der Visna und der Maedi, wird diese Interpretation nicht nur durch ihre Übertragbarkeit, sondern auch morphologisch und immunologisch gestützt. Für die Kuru und Jakob-Creutzfeldtsche Erkrankung fehlen bisher immunologische Kriterien. In den letzten Jahren wurden 5 Einzelbeobachtungen bei Polymyositiden und einer chronischen Myopathie (Chou, 1968; Sato et al., 1969; Carpenter et al., 1970; Mastaglia u. Walton, 1970; Sato et al., 1971) publiziert, in denen aufgrund morphologischer Kriterien die Möglichkeit chronischer Virusinfektionen auch des Muskels diskutiert wird. Im folgenden werden zwei eigene Beobachtungen mitgeteilt, die diese Interpretation ebenfalls nahelegen.

Methoden

Die Zubereitung der Präparate für die lichtmikroskopische Untersuchung erfolgte nach üblicher Technik. Für die Elektronenmikroskopie wurde das Gewebe in Osmium-S-Collidin (1%) fixiert, in Araldit eingebettet und mit Uranylacetat (20 min) und Bleinitrat (3 min) kontrastiert. Die Beurteilung erfolgte mittels eines Elektronenmikroskops vom Typ Philips EM 200. Vom Fall 2 konnte bei einer zweiten Muskelbiopsie Muskelhomogenat auf Zellkulturen verimpft und Mäusen inokuliert werden. Eine enzymatische Behandlung der Dünnschnitte erfolgte mit Ribonuclease, Nuclease und Trypsin (Spendlove, 1967).

Kasuistik

Fall 1. Gaston, M., geb. 1894. Nach einer Gastroenteritis 1940 und 1958/1959 Auftreten von Schluckstörungen im Jahre 1962, die nach einer zwischenzeitlichen partiellen Remission jetzt stark ausgeprägt sind. Seit 1964 Schwäche beider Beine mit langsamer Progredienz. Seit 1969 Aufrichten aus sitzender Position nur mit Hilfe der Arme möglich. Ca. seit 1966 zunehmende Schwäche beider Arme und der Schultermuskulatur. Rezidivierende Myalgien. — Neurologisch besteht eine diffuse, besonders in den distalen Extremitätenabschnitten ausgeprägte Muskelatrophie mit

Betonung im Bereich der Ober- und Unterschenkel. Starke Schwäche der Becken- und Beinmuskulatur. Aufrichten vom Liegen und Sitzen ohne Hilfe der Arme nicht möglich. Leichte Schwäche der Ober-, Unterarm- und Handmuskulatur sowie der Rumpf- und Kopfbeuger. Schluckstörungen, keine Atrophie der Zungenmuskulatur, Würgreflex beiderseits träge auslösbar. Eigenreflexe schwach auslösbar. Sensibilität intakt.

Laborbefunde. BSG 11 mm, Gammaglobuline 26 % (N:19), Aldolase 1,5 IE (N:6), CPK unter 1 IE (N:1), LDH 179 IE (N:195), GOT 18 IE (N:13), GPT 11 IE (N:11). Antistreptolysin-O-Titer 100 E (N:200), Latex-Test negativ. Antiglobulinkonsumptions-Test negativ, Immunoglobulin G 22 mg/ml (N:15,4), anti-nucleäre Antikörper auf Kaninchenoesophagus negativ.

Komplementbindungsreaktionen:		Werte am 4.5.1970, am 21.9.1970	
Influenza A	Titer	1:40	1:40
Influenza B	Titer	1:40	1:40
Parainfluenza	Titer	1:10	1 = neg. 2 = 1:10 3 = 1:10
Mumps V	Titer	1:20	1:40
Mumps S	Titer	1:20	1:20
RS		neg.	neg.
Reoviren		neg.	neg.
Adenoviren		neg.	1:20
Ornithose		neg.	1:10
Q-Fieber		neg.	1:10
M. pneumoniae		neg.	1:10
Herpes	Titer	1:40	1:40
Varizellen		neg.	neg.
Masern		neg.	1:20
Cytomegalie		neg.	1:10
LCM		neg.	neg.
Polio 1, 2, 3		neg.	neg.
Echo 9, 30		neg.	6, 9 neg.
Echinokokken		—	neg.
Coxsackie Bl-5, A 9		neg.	Bl-6, A 9 neg.
Kälteagglutination	Titer	1:20	neg.
Agglutination n. Paul Bunnell		neg.	neg.
Hämagglutinationshemmtest			
Rubella	Titer	1:128	1:128

EMG. Die Flexoren der Hand und Finger sowie die Fuß- und Zehenextensoren beiderseits zeigen ausgeprägte myopathische Veränderungen (verkürzte Aktionspotentiale, auf 500–800 μ V erniedrigte Amplituden, polyphasische Potentiale). Dagegen finden sich in den kleinen Fuß- und Handmuskeln beiderseits Hinweise für einen chronischen Denervationsprozeß (verlängerte Aktionspotentiale mit hoher Amplitude, positive Wellen und Fibrillationspotentiale). Motorische Leitgeschwindigkeit des N. tibialis 34 m/sec.

Biopsie des M. tibialis anterior (J. Nr. 4083): Einzelne Areale zeigen eine feldförmig gruppierte volumetrische Atrophie (Abb.1f). Daneben finden sich leichte Kalibervariationen und hypertrophische Fasern bis zu 75 μ sowie vermehrt zentrale Kerne und Spaltbildungen. Zahlreiche, zum Teil vacuoläre degenerative Faser-

veränderungen. Viele Myoblasten und Muskelschläuche. Sehr zahlreiche Rundzellinfiltrate (Abb. 1 g und h). Mittelschwere Zunahme des Endo- und Perimysiums, kleine Fettzellnester.

Diagnostische Beurteilung. Nach klinischen, elektromyographischen und biopatisch-histologischen Kriterien handelt es sich um ein chronisch progredientes, neuromyositisches Syndrom.

Fall 2. Josef, Z. geb. 1943. Seit 1960 Schluckstörungen und eine seither progrediente, initial rechts betonte Schwäche der Beine, später auch der Arme. Nach körperlichen Belastungen Fuß-Schmerzen rechts. — *Neurologisch:* Schluckstörungen und leichte Dysarthrie. Ausgeprägte Atrophien der kleinen Handmuskeln und Unterschenkel. Mittelschwere Parese des Schultergürtels, des M. biceps brachii, der Handextensoren und -flexoren sowie der kleinen Handmuskeln beiderseits. Geringe Schwäche der Rumpfbeuger und -strecker. Mittelschwere Parese der Becken- und Oberschenkelmuskulatur sowie der Fuß- und Zehenstrecker beiderseits. ASR beiderseits fehlend, übrige Eigenreflexe mittelstark positiv. Hirnnerven, Koordination und Sensibilität ungestört.

Laborbefunde. BSG 10 mm, eosinophile Granulozyten 5%, Aldolase 4,8 IE (N:6), CPK 3,6 IE (N:1), LDH 219 IE (N:195), GOT 24 IE (N:13), GPT 30 IE (N:11), PBJ 5,5 gamma-% (N:6,5). Antistreptolysin-O-Titer 100 E (N:200), Latex-Test und Antiglobulinkonsumptions-Test negativ. Elektrolyte, Serumelektrophorese und Immunelektrophorese normal. Im Immunfluoreszenztest keine Antikörper gegen Zellkerne und quergestreifte Muskeln.

Komplementbindungsreaktionen: Werte am 19.9.1970: Influenza A Titer 1:20, Influenza B und Parainfluenza negativ, Mumps V Titer 1:10, Mumps S, RS, Reoviren, Adenoviren, Ornithose, Q-Fieber, M. pneumoniae, Echinokokken negativ. Herpes Titer 1:20, Varizellen Titer 1:10, Masern Titer 1:20, Zytomegalie negativ, LCM negativ, Polio 1, 2, 3 = 1:10, Echo negativ. Coxsackie Bl-5, A9 negativ, B6 = 1:20. Kälteagglutination negativ, Agglutination nach Paul Bunnell negativ, Hämagglutinationshemmtest: Rubella Titer 1:32. Am 18.1.1971 Adenoviren negativ, Echo 9 negativ. Coxsackie Bl-5, A9 negativ, B6 = Titer 1:20. Am 2.7.1971 Masern negativ. Am 8.7.1971 Masern Hämagglutinationshemmtest Titer 1:16.

EMG. Die Unterschenkel- und Fußmuskulatur ergibt das Bild eines chronischen Denervationszustandes mit Fibrillationspotentialen, stellenweise wird jedoch ein myopathisches Muster registriert, das im Bereich der oberen Extremitäten vorherrscht. Nervenleitgeschwindigkeit der oberen und unteren Extremitäten im Bereich der Norm.

Biopsie des M. biceps brachii rechts und links (J. Nr. 4050, Februar 1970 und Januar 1971): Multiple Areale mit kleinherdiger, feldförmig gruppierter, volumetrischer Atrophie (Abb. 1 a und b). Zusätzlich stark ausgeprägte Kalibervariation mit hypertrophischen Fasern und zahlreichen zentralen Kernen (Abb. 1 d). Deutliche teils vacuoläre, degenerative Veränderungen und sehr zahlreiche Regenerate. Multiple Fettzellnester, leichte Zunahme des Bindegewebes. Vereinzelte kleinherdige Rundzellinfiltrate (Abb. 1 c und e).

Das Verimpfen von Muskelhomogenat auf Zellkulturen zeigte keinen cytopathischen Effekt. Elektronenoptisch waren keine virusverdächtigen Partikel in den Zellkulturen nachweisbar. Die Mäuse, denen Muskelhomogenat inokuliert wurde, sind bisher frei von Krankheitserscheinungen (Beobachtungsdauer 3 Monate)

Biopsie des N. suralis (J. Nr. 4037): Keine pathologischen Veränderungen, insbesondere kein Hinweis für neurale Muskelatrophie.

Diagnostische Beurteilung. Nach klinischen, elektromyographischen und biopatisch-histologischen Kriterien handelt es sich um ein chronisch progredientes neuromyopathisches Syndrom.

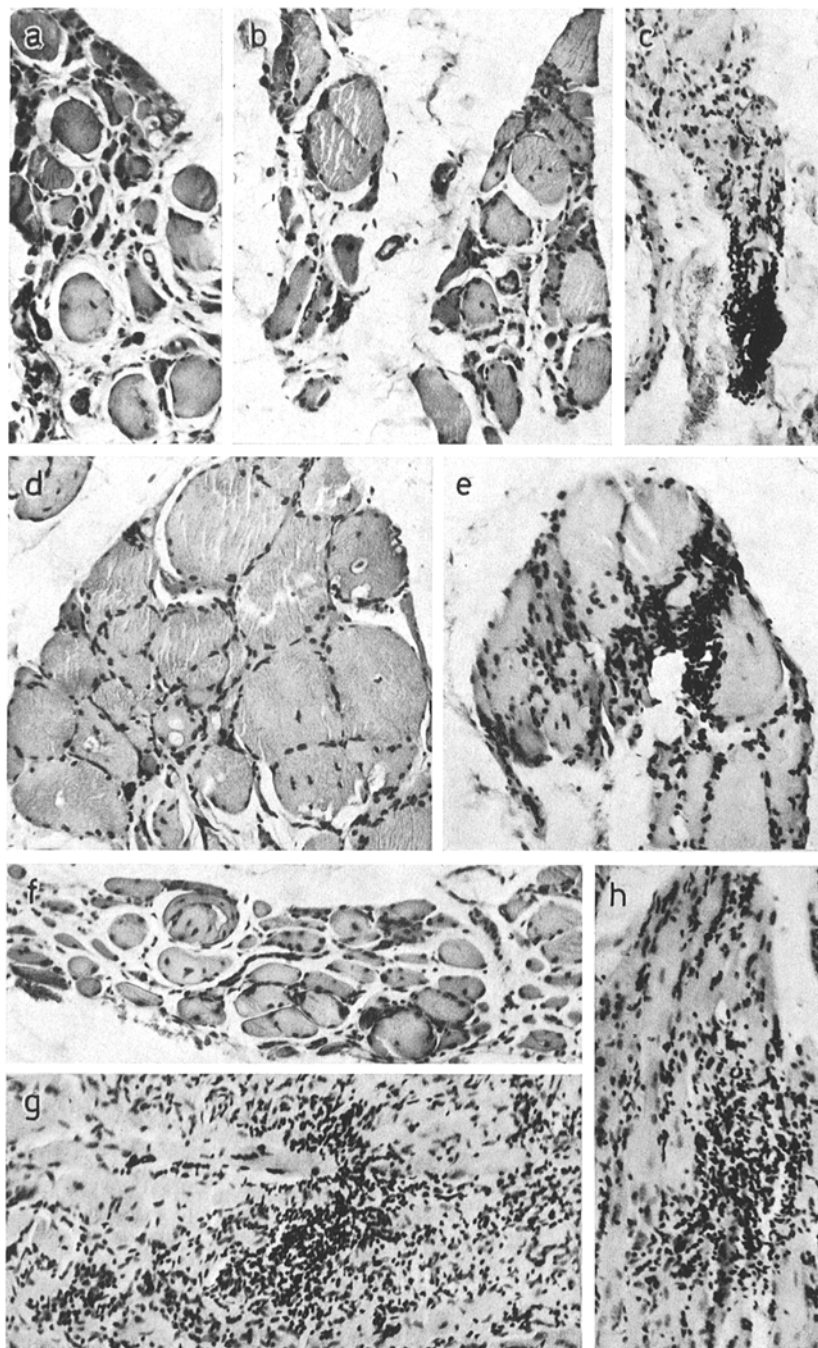


Abb. 1a—h

Elektronenmikroskopische Biopsiebefunde

Die Besprechung der ultrastrukturellen Ergebnisse und speziell der virusverdächtigen Strukturen kann aufgrund weitgehend identischer Befunde der Muskelbiopsien für beide Fälle gemeinsam erfolgen. Beim Fall 2 (Josef Z.), der nach einem Intervall von 11 Monaten ein zweites Mal biopsiert werden konnte, finden sich die virusverdächtigen Strukturen in beiden Biopsien.

Die initialen Veränderungen zeigen sich in Kernen von Muskelfasern mit vollkommen erhaltener oder nur geringfügig veränderter myofibrillärer Struktur (Abb. 2 und 3). In den betroffenen Kernen sind ungewöhnliche, vorwiegend zur Längsachse der Kerne in Gruppen parallel angeordnete Filamente eingeschlossen. Selten findet man auch quergetroffene Filamente (Abb. 2b). Mit zunehmender Häufung dieser filamentösen Einschlüsse zeigt sich eine starke Alteration der Kernstruktur mit bizarren Verformungen und variablen Kernvacuolen (Abb. 4 und 5). In diesem Stadium lagern die Filamente nicht mehr parallel, sondern ungeordnet. Die sie einschließende Kernstruktur ist stellenweise unterbrochen, so daß eine Kommunikation des filamenthaltigen Binnenraumes des Kernes mit dem Sarkoplasma besteht (Abb. 4 und 5). In diesen stark destruierten Kernen und Kerntrümmern lagern gewöhnlich von 2 Membranen eingeschlossene, rundliche bis längsovale Gebilde. Sie enthalten zentral ein fein- oder grobgranuläres, stark kontrastiertes Material, das von einem schwach kontrastierten Saum umgeben ist (Abb. 4 und 5). Andere Vacuolen enthalten rundliche, 180–210 Å kalibrige Partikel (Abb. 4) oder multiple, kalibervariable, „leere“ membrangebundene Einschlüsse (Abb. 5). Zusätzlich finden sich in zahlreichen, sonst unauffällig erscheinenden Kernen intakter Muskelfasern kleine, im Vergleich zum Nucleolus stärker kontrastierte Granulähäufchen. Nur einmal kamen rundliche, schwach kontrastierte, homogen bis feingranulierte Kernkörperchen mit einem hellen, schmalen Saum zur Darstellung. Große Kernvacuolen (Abb. 5a) erschienen lichtoptisch als Einschlußkörperchen.

Abb. 1a–h. Lichtmikroskopische Biopsiebefunde mit neurogenen, myopathischen und myositischen Veränderungen. Fall 2, Josef Z., J. Nr. 4050 und 4329. a und b kleine, hochgradig volumetrisch atrophisierte Muskelfasergruppen als Ausdruck einer neurogenen Atrophie. c und e kleinherdige Rundzellinfiltrate. d deutliche Kalibervariation mit hypertrophischen Fasern, zentralen Kernen und Vacuolen als Ausdruck eines myopathischen Gewebssyndroms. Fall 1, Gaston M., J. Nr. 4083. f hochgradig volumetrisch atrophisierte Muskelfasern, die andeutungsweise in Gruppen lagern, sowie zusätzlich eine leichte Kalibervariation mit zentralen Kernen als Ausdruck neurogener und myopathischer Veränderungen. g und h Rundzellinfiltrate als Ausdruck einer deutlichen myositischen Krankheitskomponente. Vergröße-

rung: einheitlich 135×

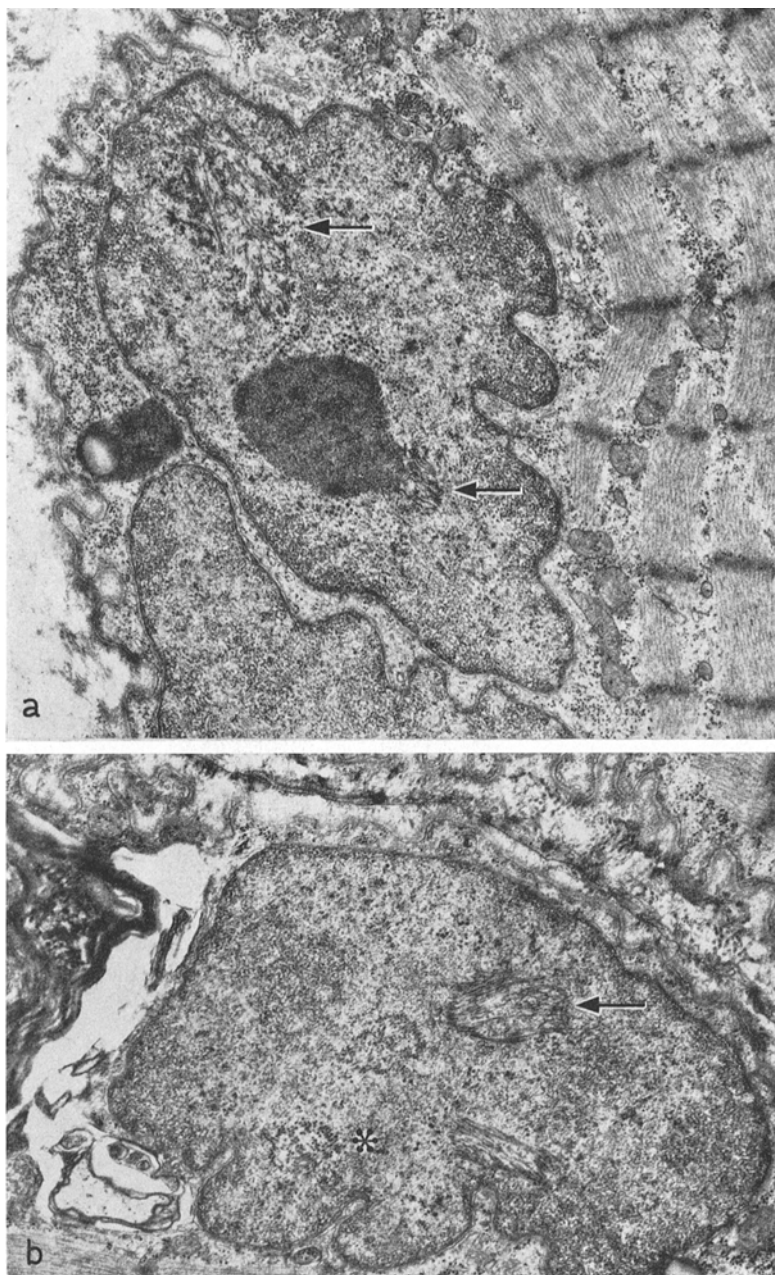


Abb.2. a Vorwiegend parallel angeordnete Filamentgruppen (\rightarrow) in subsarkolemmal gelagerten Muskelfaserkernen. b Quergetroffene Filamentgruppe (*). J. Nr. 4083/719/741. Vergrößerung: 10700 \times

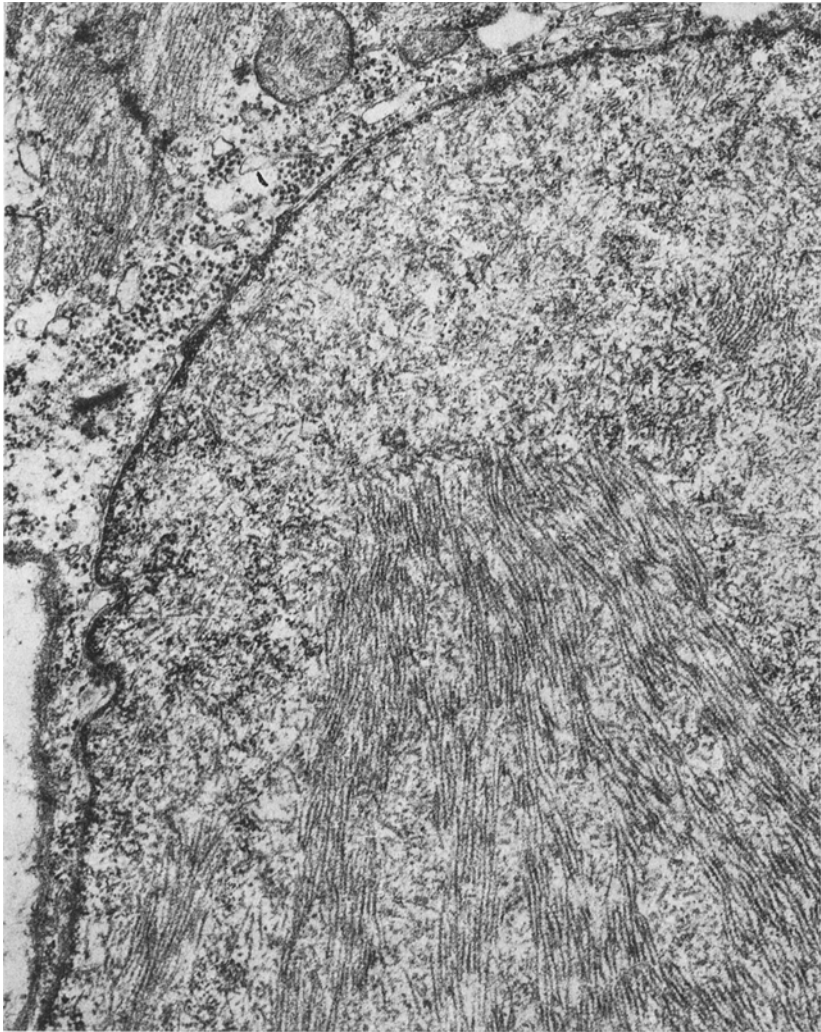


Abb. 3. Parallel angeordnete Filamentgruppen, die eine Periodizität erkennen lassen in einem subsarkolemmal gelegenen Muskelfaserkern. J. Nr. 4050/451. Vergrößerung 25180 \times

Dieselben Filamente, wie sie bisher in den Kernen beschrieben wurden, finden sich auch im Sarkoplasma, und zwar sowohl in stark atrophischen als auch in normal kalibrigen Fasern (Abb. 6). Solche Muskelfasern zeigen stets myofibrilläre Destruktionen. Die Plasma- und Basalmembranen erscheinen unauffällig. In einzelnen Fasern sind 40—60% der Myo-

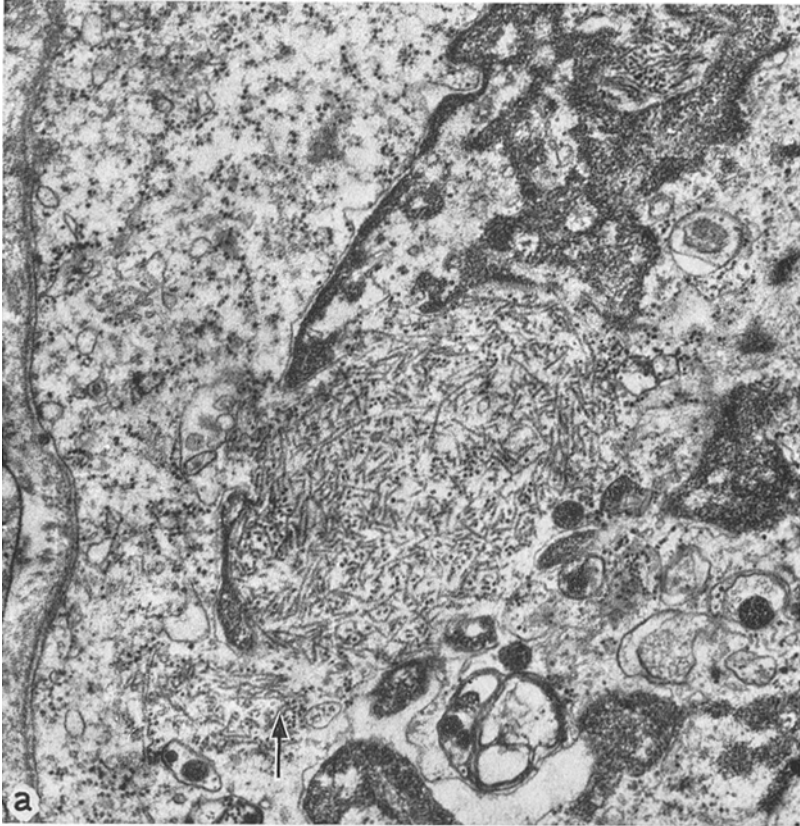


Abb.4. a Stark destruiertter Kern einer erheblich degenerativ geschädigten Muskelfaser mit einer unregelmäßigen Anhäufung von Filamenten, die sich stellenweise ins Sarkoplasma entleeren (\uparrow). J. Nr. 4083/686. Vergrößerung: 25180 \times
b Stark destruiertter Kern einer Muskelfaser, die nur noch Reste des myofibrillären Apparates erkennen läßt. Nr. 4083/682. Vergrößerung: 10700 \times

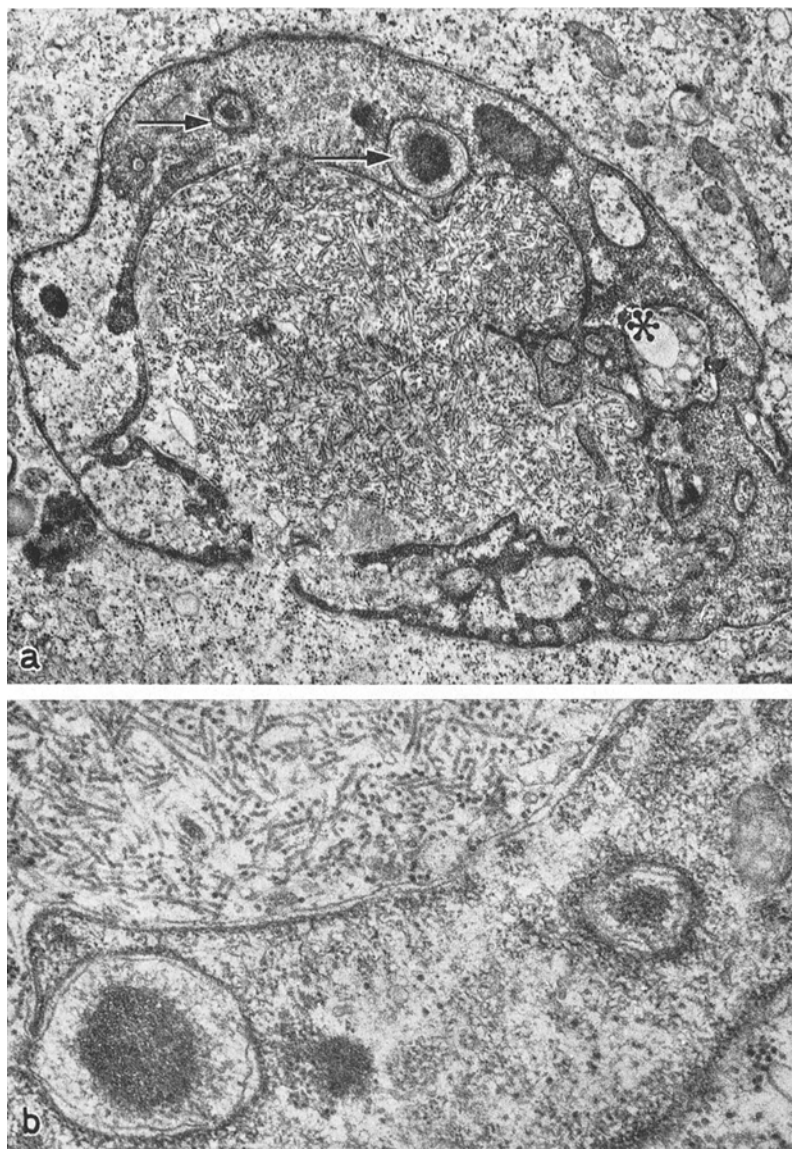


Abb. 5a und b. Muskelfaserkern mit einem großen Einschußkörperchen, das gefüllt ist mit Filamentstrukturen. In den peripheren Kernarealen lagern von 2 Membranen eingeschlossene rundliche bis längsovale Körperchen. Sie enthalten zentral ein fein- oder grobgranuläres, stark kontrastiertes Material, das von einem schwach kontrastierten Saum umgeben ist (\rightarrow). Andere Vacuolen enthalten multiple kalibervariable, „leere“ membrangebundene Einschlüsse (*). J. Nr. 4083/681. Vergrößerung: a 10700 \times ; b 25180 \times

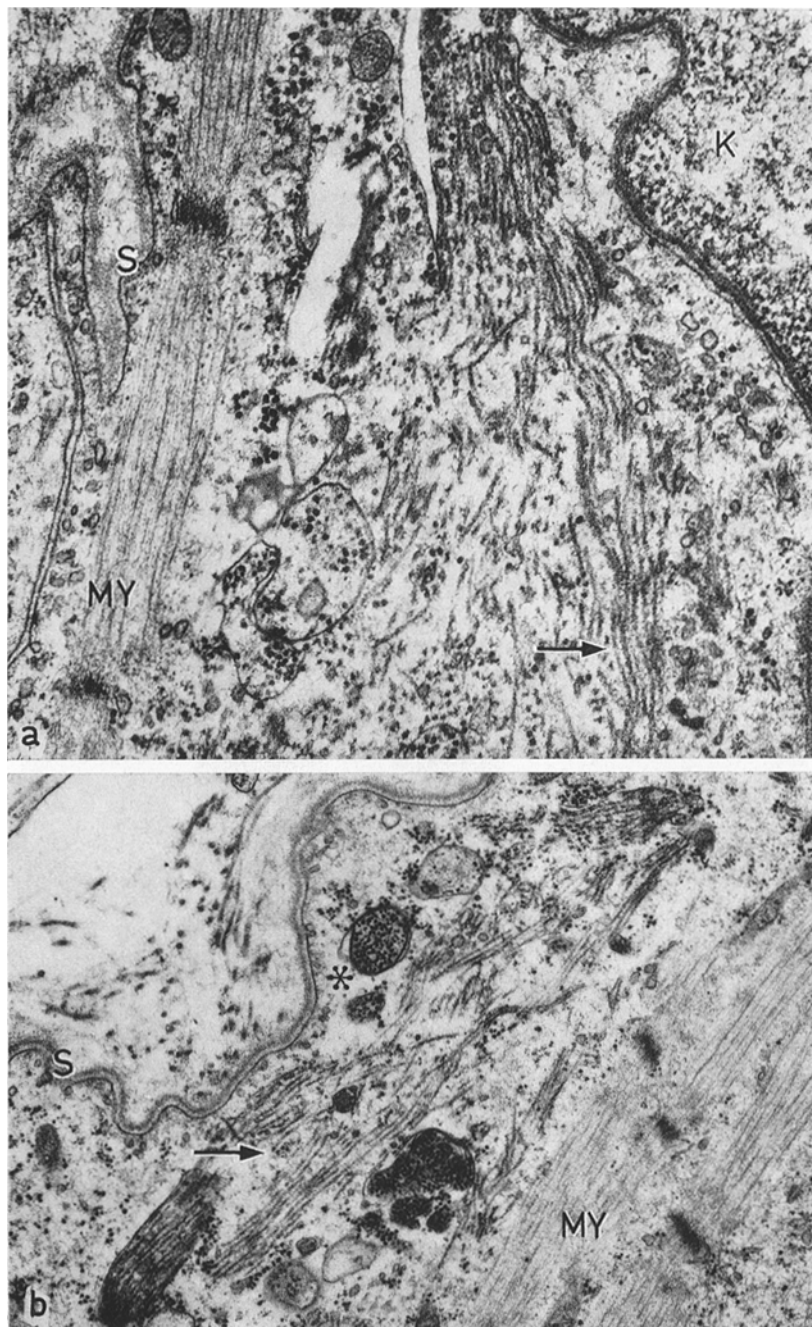


Abb.6a und b

fibrillen verlustig und durch bizarre Lamellenkörper und Haufen der beschriebenen Filamente ersetzt (Abb. 7). Derartige Areale sind licht-optisch als Vacuolen sichtbar (Abb. 1d). Bei geringen myofibrillären Veränderungen lagern die Filamente vorwiegend parallel, während sie bei fortgeschrittenen Destruktionen ungeordnet sind. Bemerkenswert ist das Vorkommen von sehr zahlreichen, bizarren Lamellenkörperchen in der Umgebung der sarkoplasmatischen Filamentaggregate (Abb. 7). Zwischen und insbesondere in unmittelbarer Nachbarschaft zu den erwähnten Filamenten finden sich zahlreiche $0,1-1,2\ \mu$ große, meistens mit einer einzelnen Membran abgegrenzte, rundliche bis längsovale Körper, die mit $200-300\ \text{\AA}$ kalibrigen Partikeln in unregelmäßiger Anordnung gefüllt sind (X-Körperchen; Abb. 6, 7, 8). Bei einzelnen der in den X-Körperchen eingeschlossenen Partikeln ist ein zentraler Hohlraum zu erkennen, andere sind balloniert aufgetrieben (Abb. 8). In Serienschnitten konnten wir uns davon überzeugen, daß es sich bei diesen Partikeln um sphärische Gebilde und nicht um filamentös tubuläre Strukturen handelt. Teilweise enthalten auch die Lamellenkörper entsprechende Partikel wie die X-Körperchen. Nach den in Abb. 8 dargestellten Strukturen erscheint es möglich, daß einzelne X-Körperchen filamentöses Material enthalten. Die im Kern und Sarkoplasma dargestellten Filamente erreichten eine Länge bis zu $1,6\ \mu$, der Durchmesser mißt $160-200\ \text{\AA}$ bei den längsgetroffenen Exemplaren und quer etwa $200-250\ \text{\AA}$. Mehrfach ist eine zentrale $40-60\ \text{\AA}$ messende Aufhellung und gelegentlich im Längsschnitt eine Periodizität zu erkennen (Abb. 9). Danach ist anzunehmen, daß es sich um eine mikrotubuläre filamentöse Struktur handelt.

Myofibrilläre Destruktionen finden sich in der Nachbarschaft der oben geschilderten tubulären Filamente, aber auch in Fasern, die keine derartigen Strukturen enthalten. Im Fall 1 zeigt sich häufig ein „smearing“ des Z-Streifens. Im Fall 2 wurden zahlreiche kleine „rods“ beobachtet. Die Mitochondrien sind stellenweise gehäuft und formvariabel bis zu Riesenmitochondrien. Die Vesikel des sarkoplasmatischen Reticulums sind teilweise dilatiert und vermehrt. Im Sarkoplasma lagern neben zahlreichen Lamellenkörperchen Lipidpartikel und Lipofuszin. Die Plasma- und Basalmembranen erscheinen normal. Satellitenzellen wurden mehrfach beobachtet.

Diskussion

Die in 2 Fällen neuro-muskulärer Erkrankungen bei insgesamt 3 Muskelbiopsien elektronenmikroskopisch intranucleär und intrasarko-

Abb. 6a und b. Vorwiegend parallel angeordnete, virusähnliche Filamentgruppen (→) im Sarkoplasma von Muskelfasern mit einer leichten bis mittelschweren myofibrillären Degeneration. Myofibrillen (MY), Kern (K), Sarkolemm (S), X-Körperchen (*). a J. Nr. 4083/731, b J. Nr. 4083/744. Vergrößerung: a $25180\times$; b $17800\times$

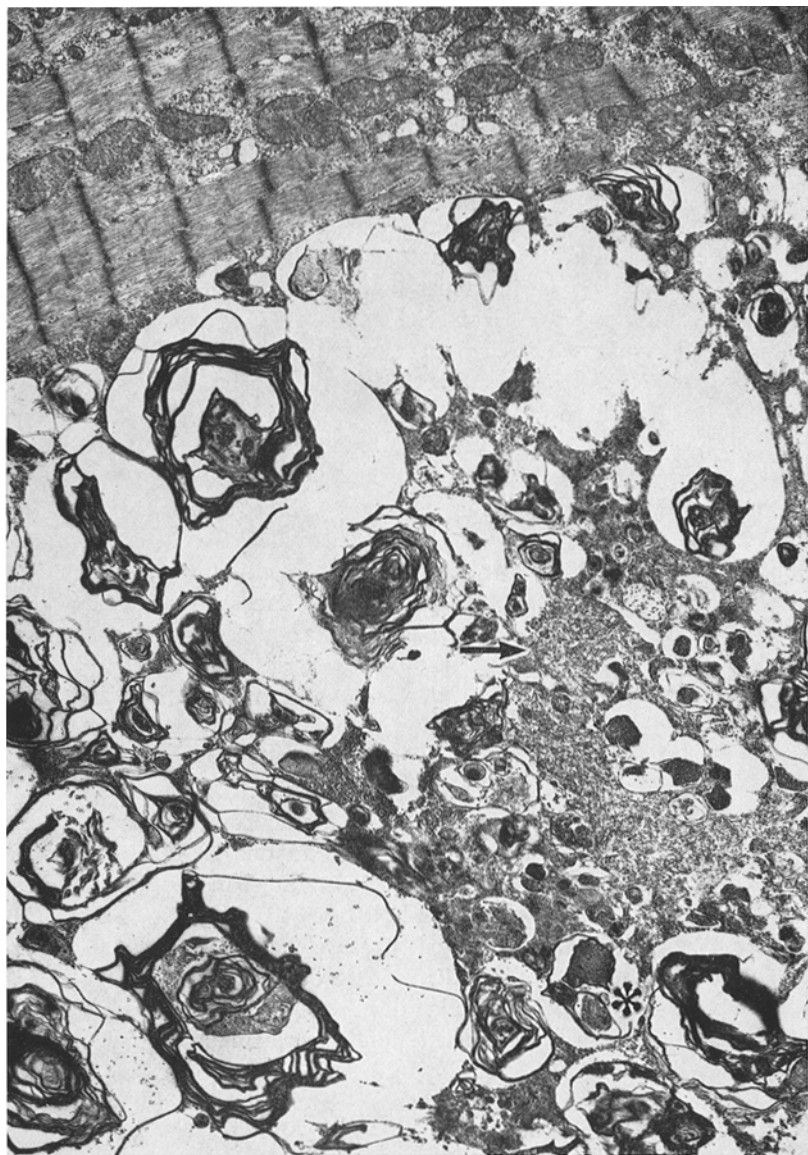


Abb. 7. Anhäufung von virusähnlichen Filamenten (→) mit multiplen X-Körperchen (*) und zahlreichen Lamellenkörperchen in einer weitgehend destruierten Muskelfaser. Derartige Areale erscheinen lichtoptisch als vacuoläre Degeneration. J. Nr. 4229/323. Vergrößerung 6587 ×

Abb. 8. Ca. 200 Å kalibrige Partikel in Gruppen, umgeben von einer oder mehreren Membranen „X-Körperchen“. Stellenweise ist eine zentrale Aufhellung in den Partikeln sichtbar (→), einzelne von ihnen sind balloniert (*). Filamentöse Strukturen in engem Kontakt mit einem X-Körperchen (X). J. Nr. 4329/316. Vergrößerung: 25180 ×

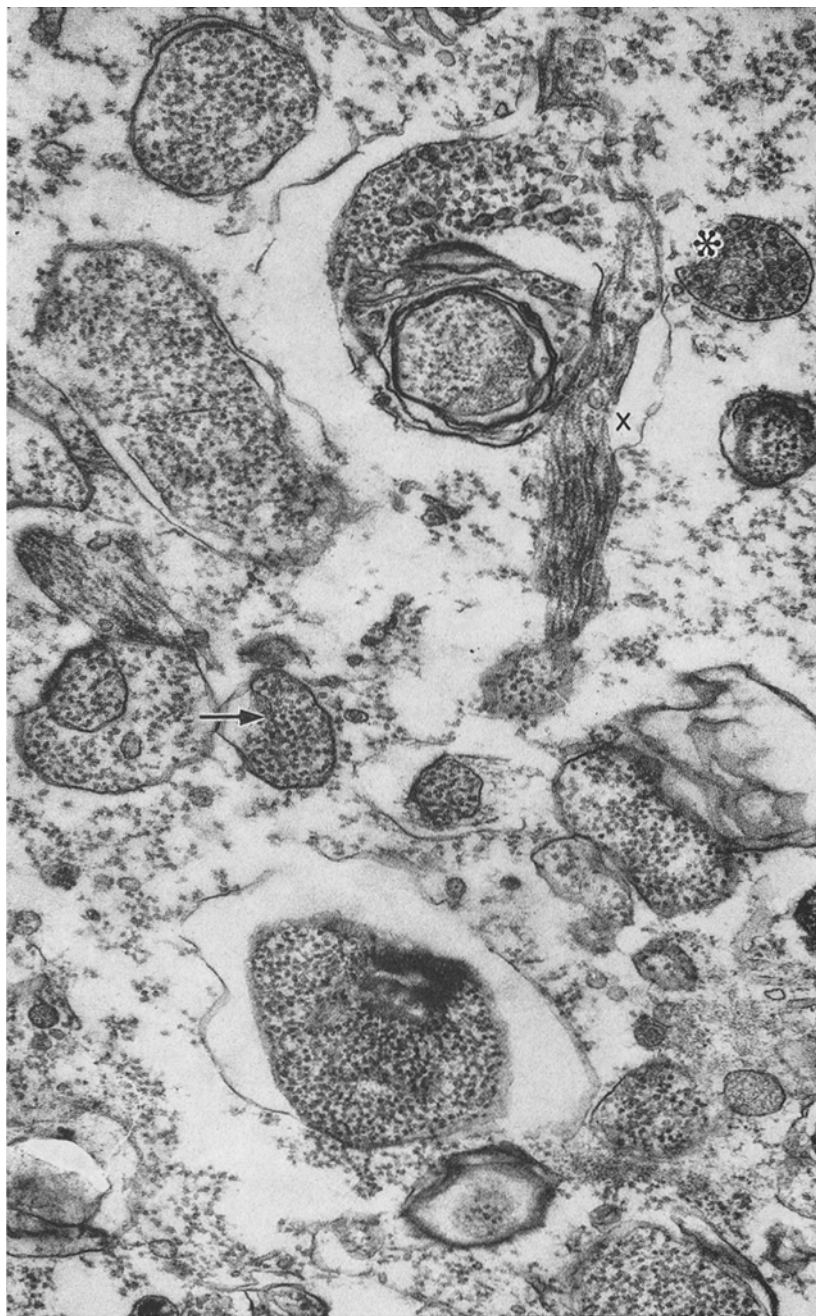


Abb. 8

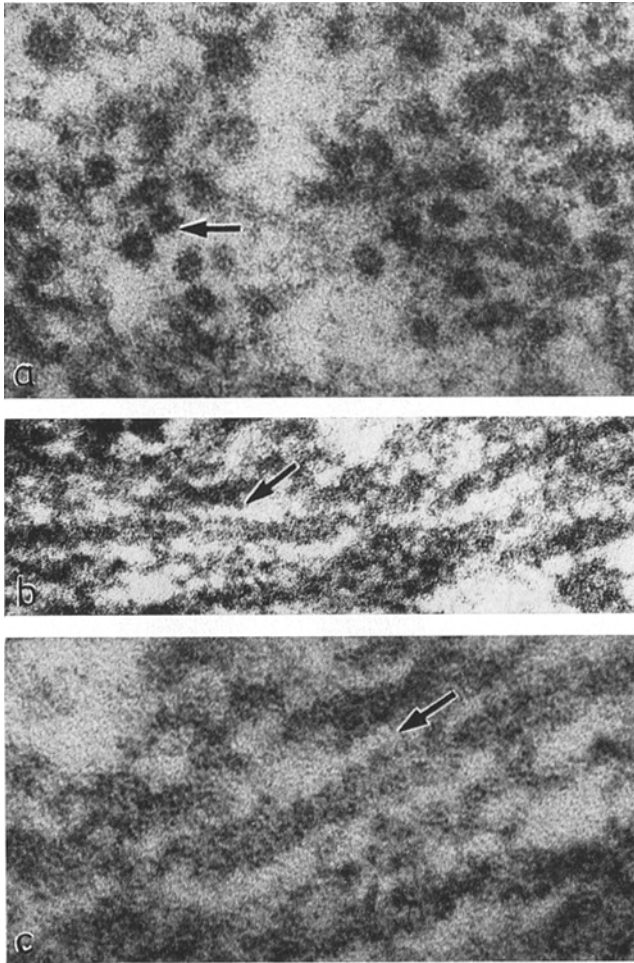


Abb.9. a—c Einzelne quergetroffene, virusähnliche Filamente mit einem Durchmesser von 200—250 Å aus einem vorwiegend längsgetroffenen Filamentbündel. Eine zentrale, ca. 50 Å kalibrige Aufhellung der Struktur ist zu erkennen (←). J. Nr. 4083/710. Vergrößerung 177 200 ×. b und c Längsgetroffene Filamente mit einem Durchmesser von 160—200 Å. Eine zentrale Aufhellung und marginale Periodik ist stellenweise zu erkennen (←). J. Nr. 4083/732. Vergrößerung b 144 500 × c 289 000 ×

plasmatisch dargestellten filamentösen Strukturen ergeben aufgrund ihrer mikrotubulären Form mit wahrscheinlich periodisch gestalteter Oberfläche den Verdacht auf eine Virusinfektion. Ähnliche mikrofilamentöse Strukturen fanden sich nach Inoculation von Masernviren in Zell-

kulturen bei der subakuten sklerosierenden Leukoencephalitis (Kallman et al., 1959; Tawara, 1965) und bei der Jakob-Creutzfeldtschen Erkrankung (Bouteille et al., 1965; Sever u. Zeman, 1968; Zeman, 1970). Jedoch weisen die Filamente bei Masernvirus-Infektion nicht die unregelmäßige Kontrastierung auf wie bei den hier beschriebenen Fadenstrukturen, welche dadurch stellenweise eine spindelförmige Gliederung erhalten. Nach morphologischen Kriterien ist auch der Aufbau aus Ribonucleoprotein-Einheiten nicht gesichert, zumal den Filamenten eine eindeutig feststellbare Periodizität fehlt. Nur stellenweise ist eine periodische Strukturierung der Filamentaußenflächen zu erkennen (Abb. 3 und 9). Eine gewisse Hohlstruktur kann dagegen nachgewiesen werden (Abb. 9). Unser Versuch, durch Behandlung mit Proteasen und Nucleasen Klarheit über die Zusammensetzung der Filamente zu erhalten, ergab keine verlässlichen Ergebnisse. Bemerkenswert ist, daß weder im Cytoplasma noch auf der Zelloberfläche reife Viruspartikel gefunden wurden, was jedoch zu erwarten wäre, wenn man von der Annahme ausgeht, daß die Kernfilamente unreifes Virusstrukturmaterial oder virusinduziertes Material darstellen. Aber auch Wear et al. (1968) fanden nach Infektion von Mäusen mit Masernvirus keine reifen Virionen, was wahrscheinlich auf einer partiellen Unterdrückung der Infektion durch Antikörper beruht (Horta-Barbosa et al., 1969). Diese einschränkenden Bemerkungen müssen berücksichtigt werden, wenn man die beschriebenen Strukturen nach morphologischen Kriterien als virusinduziert bezeichnet. Vergleichend zu erwähnen sind besonders filamentöse Strukturen in Zellen, welche mit Ortho- oder Paramyxoviren infiziert wurden (Barry u. Mamy, 1970).

Mit den unsrigen vergleichbare, möglicherweise virusbedingte Strukturen sind bereits von Chou (1968), Sato et al. (1969), Mastaglia u. Walton (1970), Carpenter et al. (1970) und Sato et al. (1971) bei insgesamt 4 Polymyositiden und einer chronischen Myopathie beobachtet worden. Die von uns und einem Teil der genannten Autoren durchgeführten Komplementbindungsreaktionen und Hämagglutinations-Hemmteste mit verschiedenen Virusantigenen, speziell auch Masern, Mumps und Parainfluenza, zeigten keine hohen Titer. Auch die Inoculation von Muskelhomogenat unseres Falles 2 auf Affennieren und Humanfibroblasten ergab keinen zytopathischen Effekt, und ultrastrukturell waren in den Zellkulturen keine Viren nachweisbar. Von entsprechend negativen Virusnachweisergebnissen berichten auch Sato et al. (1969) und Sato et al. (1971). Derartige negative Befunde schließen jedoch eine Virusinfektion bzw. virusähnliche Infektion nicht aus, wie z. B. die Erfahrungen bei der virologischen Untersuchung der subakuten sklerosierenden Leukoencephalitis und der Jakob-Creutzfeldtschen Erkrankung gezeigt haben (Gibbs u. Gajdusek, 1970; Zeman, 1970), wo erst spezielle

Kulturverfahren und die Inoculation bei Schimpansen erfolgreich waren. Unsere vor 3 Monaten inoculierten Mäuse zeigen bisher keine Krankheitszeichen.

In Übereinstimmung mit Chou (1968) und Sato et al. (1969) finden wir die virusverdächtigen Filamente zunächst in Kernen weitgehend normal erscheinender Muskelfasern (Abb. 2 und 3). Erst bei fortgeschrittener Kerndestruktion und Übertritt der Filamente vom Kern ins Sarkoplasma (Abb. 4, 5 und 6) zeigt sich eine zunehmende myofibrilläre Destruktion sowohl in stark atrophischen wie auch in normalkalibrigen Fasern. Dieses mehrfach bestätigte myopathologische Verlaufsspektrum und das Vorkommen einer massiven myofibrillären Destruktion in Arealen mit „Virusfilamenten“ und zahlreichen X-Körperchen und Lamellenkörpern (Abb. 7) lassen annehmen, daß es sich um einen echten pathogenen Effekt und nicht um eine belanglose Kontamination handelt. Lichtmikroskopisch sind die Kerneinschlüsse nur selten sichtbar. Die sarkoplasmatischen Filamentaggregate mit zahlreichen X-Körperchen und Lamellenkörpern kommen dagegen lichtmikroskopisch als Vacuolen gut zur Darstellung (Abb. 1d). Derartige Vacuolen fanden sich sehr häufig auch bei dem von Carpenter et al. (1970) beschriebenen Fall. Die erwähnten X-Körperchen (Abb. 8) fanden wir unter 117 elektronenmikroskopisch untersuchten Myopathien nur bei diesen 2 „virusbedingten“ Fällen¹. Wir sind der Auffassung, daß es sich um eine spezifische, mit den virusverdächtigen Filamenten in Zusammenhang stehende Struktur handelt, zumal ähnliche Formationen auch bei der subakuten sklerosierenden Leukoencephalitis zu finden sind (Herndon u. Rubinstein, 1968; Abb. 7). Ähnliche, jedoch morphologisch unterscheidbare Strukturen finden sich im Muskel lediglich bei der Pompeschen Krankheit in Form von lysosomal gebundenen Glykogenhaufen.

Die Bedeutung der kleinen intranucleären Granulähäufchen ist umstritten. Derartige Strukturen wurden auch bei der subakuten sklerosierenden Leukoencephalitis (Zu Rhein u. Chou, 1968) und anderen, zum Teil oncogenen Virusinfektionen gefunden (Grieshaber et al., 1969). Man könnte danach annehmen, daß diese Kernkörperchen mit einem frühen Stadium der intranucleären Virusentwicklung in Beziehung stehen. Wir haben gelegentlich jedoch auch derartige, stark kontrastierte granuläre Kernkörperchen bei andersartigen Myopathien ohne sonstige Hinweise auf eine mögliche Virusinfektion gefunden.

Als klinische Diagnose der bisher mitgeteilten 5 Muskelerkrankungen mit filamentös-tubulären, virusähnlichen Strukturen wurde in 4 Fällen Polymyositis (Chou, 1968; Sato et al., 1969; Mastaglia u. Walton, 1970; Sato et al., 1971) und einmal chronische Myopathie (Carpenter et al.,

¹ Ein dritter Fall ist in Bearbeitung.

1970) angegeben. Die diagnostische Zuordnung der beiden hier geschilderten Fälle ist nicht eindeutig. Klinisch erinnern sie an eine spinale Muskelatrophie. Das frühe Auftreten von Schluckstörungen in beiden Fällen macht diese Zuordnung aber wenig wahrscheinlich, und aufgrund der weiteren elektromyographischen und bioptischen Untersuchungen trifft diese Diagnose nicht zu. Danach ist im Gegensatz zu den bisher publizierten Fällen mit ähnlichen ultrastrukturellen Befunden auch kein rein myositisches bzw. myopathisches, sondern ein neuro-myositisches bzw. neuro-myopathisches Syndrom anzunehmen. Die myopathischen bzw. myositischen Veränderungen sind so ausgeprägt, daß man keine Begleitmyopathie bei neurogener Schädigung (Haase u. Shy, 1960; Mittelbach, 1966; Mumenthaler, 1970) annehmen kann. Eine primär gemeinsame Erkrankung sowohl der Neurone wie der Muskelfasern ist morphologisch und elektromyographisch wahrscheinlicher. Dieser ungewöhnlichen Kombination entspricht der ebenso ungewöhnliche elektronenmikroskopische Befund. Ob eine kausale Beziehung oder lediglich eine zufällige Kontamination vorliegt, können wir zur Zeit nicht sicher entscheiden. Aus oben diskutierten Gründen halten wir aber das kausale Moment im Sinne einer chronischen Virus-Infektion zunächst für wahrscheinlicher.

Literatur

- Barry, R. D., Mamy, B. W. J.: The biology of large RNA viruses. London-New York: Academic Press 1970.
- Bouteille, M., Fontaine, C., Vedrenne, Cl., Delarue, J.: Sur un cas d'encéphalite subaigue à inclusions. Etude anatomo-clinique et ultrastructurale. *Rev. neurol.* **113**, 454—458 (1965).
- Carpenter, S., Karpati, G., Wolfe, L.: Virus-like filaments and phospholipid accumulation in skeletal muscle. *Neurology (Minneap.)* **20**, 889—902 (1970).
- Chou, S. H.: Myxovirus-like structures and accompanying nuclear changes in chronic polymyositis. *Arch. Path.* **86**, 649—658 (1968).
- Gibbs, C. J., Gajdusek, D. C.: Characterization and nature of viruses causing subacute spongiform encephalopathies. VI. Internationaler Kongreß für Neuropathologie, S. 779—801. Paris: Masson et Cie. 1970.
- Grieshaber, E., Pedio, G., Rüttner, J. R.: On plasmacytoma-oncogenesis of mice. V. Viruses and virus related structures in HIPA tumour. *Path. et Microbiol. (Basel)* **34**, 86—97 (1969).
- Haase, G. R., Shy, G. M.: Pathological changes in muscle biopsies from patients with peroneal muscular atrophy. *Brain* **83**, 631—637 (1960).
- Herndon, R. M., Rubinstein, L. J.: Light and electron microscopy observations on the development of viral particles in the inclusions of Dawson's encephalitis (subacute sclerosing panencephalitis). *Neurology (Minneap.)* **18**, 8—18 (1968).
- Horta-Barbosa, L., Fuccilla, D. A., London, W. T., Jabbour, J. T., Zeman, W., Sever, J. L.: Isolation of measles virus from brain cell cultures of two patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **132**, 272—277 (1969).
- Kallman, F., Adams, J. M., Williams, R. C., Imagawa, D. T.: Fine structure of cellular inclusions in measles virus infections. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 379—382 (1959).

- Mastaglia, F. L., Walton, J. N.: Coxsackie virus-like particles in skeletal muscle from a case of polymyositis. *J. neurol. Sci.* **11**, 593—599 (1970).
- Mittelbach, F.: Die Begleitmyopathie bei neurogenen Atrophien. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Mumenthaler, M.: Myopathy in neuropathy. In: *Muscle diseases*, pp. 585—598. ed. J. N. Walton, N. Canal, and G. Scarlato. Amsterdam: Excerpta Medica 1970.
- Sato, T., Walker, D. L., Peters, H. A., Reese, H. H., Chou, S. M.: Myxovirus-like inclusion bodies in chronic polymyositis: electron microscopic and viral studies. *Trans. Amer. neurol. Ass.* **94**, 339—341 (1969).
- — — — — Chronic polymyositis and myxovirus-like inclusions. *Arch. Neurol. (Chic.)* **24**, 409—418 (1971).
- Sever, J. L., Zeman, W.: Serological studies of measles and subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology (Minneap.)* **18**, 95—97 (1968).
- Sigurdsson, B.: Observations on three slow infections of sheep. *Brit. vet. J.* **110**, 255—307 (1954).
- Spendlove, R. S.: Microscopic techniques. In: *Methods in virology*, Vol. III. ed. K. Maramorosch, H. Koproski. New York-London: Academic Press 1967.
- Tawara, J.: Fine structure of filaments in dog kidney cell cultures infected with measles virus. *Virology* **25**, 322—327 (1965).
- Wear, D. J., Rabin, E. R., Richardson, L. S., Rapp, F.: Virus replication and ultrastructural changes after induction of encephalitis in mice by measles virus. *Exp. molec. Path.* **9**, 405—417 (1968).
- Zeman, W.: Observations on the propagation and isolation of viruses from slow infections of the human brain. VI. Internationaler Kongress für Neuropathologie, pp. 845—849. Paris: Masson et Cie. 1970.
- Zu Rhein, G., Chou, S. M.: Subacute sclerosing panencephalitis. Ultrastructural study of a brain biopsy. *Neurology (Minneap.)* **18**, 146—158 (1968).

PD. Dr. F. Jerusalem
Oberarzt der Neurologischen
Universitätsklinik
Kantonsspital, Rämistr. 100
CH-8006 Zürich/Schweiz