

Aus dem Bereich Klinische Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

# **Neuropathologische Veränderungen bei SARS-CoV-2-Autopsiefällen**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2023

vorgelegt von: Julian Aaron Stein  
geboren am: 04.12.1998 in Rodalben

Aus dem Institut für Neuropathologie  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Prof. Dr. med. Walter J. Schulz-Schaeffer

Tag der Promotion: 01.03.2024

Dekan: Prof. Dr. med. Michael D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Walter J. Schulz-Schaeffer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Philipp Lepper

***Meinen Eltern, Heidi und Georg, und meiner Schwester Leila gewidmet***

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1	Deutsche Zusammenfassung .....	1
1.2	Abstract.....	2
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>4</b>
2.1	Die COVID-19 Pandemie.....	4
2.2	SARS-CoV-2 und die Coronavirus-Familie.....	4
2.3	COVID-19 – nicht nur eine Atemwegsinfektion.....	6
2.3.1	Cerebrovaskuläre Ereignisse und Gerinnungsstörung.....	7
2.3.2	Entzündliche Veränderungen und Encephalopathie .....	8
2.3.3	Indizien autoimmuner Beteiligung .....	9
2.3.4	Periphere neurologische Störungen .....	10
2.3.5	Long/Post-COVID-Syndrom und bleibende Schäden? .....	10
2.4	Koinfektion und Superinfektion .....	11
2.5	Mögliche Infektionsrouten ins ZNS .....	11
2.5.1	Der hämatogene Infektionsweg.....	12
2.5.2	Der neurogene Infektionsweg.....	13
2.6	COVID-19 in der cerebralen Bildgebung .....	13
2.7	Überblick über bisherige neuropathologische Arbeiten .....	13
2.8	Ziel dieser Studie .....	15
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODIK</b> .....	<b>16</b>
3.1	Materialien .....	16
3.1.1	Immunhistochemische Antikörper .....	16
3.1.2	Materialienliste und Rezepte .....	18

3.1.3	Geräte und Software .....	19
3.2	Gewebeproben .....	20
3.2.1	Kollektivstruktur .....	20
3.2.2	Kontrollgruppe .....	20
3.3	Methoden .....	20
3.3.1	Ablauf der Autopsien .....	20
3.3.2	Aufbereitung der Gewebeproben .....	21
3.3.3	Anfertigung der Leerschnitte .....	21
3.3.4	Entparaffinierung .....	21
3.3.5	Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE).....	22
3.3.6	Grundprinzip immunhistochemischer Färbungen.....	22
3.3.7	Immunhistochemisches Reaktionsprotokoll .....	23
3.3.8	CD68 als Marker der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion .....	25
3.3.9	CD161 und CD163 zur Charakterisierung der Makrophagen-Polarisation.....	25
3.3.10	Suche nach Mikrothromben.....	26
3.3.11	Suche nach axonalem Schaden .....	26
3.3.12	Wird Nekroptose ausgelöst? .....	26
3.3.13	Ist Neddylation beteiligt? .....	27
3.3.14	Testreihe zur Spezifität von SARS-CoV-2-IHC-Antikörpern.....	27
3.3.15	Fremdleistungen.....	27
3.4	Auswertung .....	28
3.4.1	Erstellung eines neuropathologischen Befundes .....	29
3.4.2	Fotodokumentation.....	29
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE UND STATISTIK .....</b>	<b>30</b>
4.1	Tabellarischer Überblick über Kollektiv- und Kontrollgruppe .....	30
4.2	Neuropathologische Befunde der Kollektivgruppe.....	32
4.2.1	Fall 1 .....	32

## Inhaltsverzeichnis

---

4.2.2	Fall 2.....	34
4.2.3	Fall 3.....	37
4.2.4	Fall 4.....	39
4.2.5	Fall 5.....	41
4.2.6	Fall 6.....	44
4.2.7	Fall 7.....	46
4.2.8	Fall 8.....	49
4.2.9	Fall 9.....	51
4.2.10	Fall 10.....	54
4.2.11	Fall 11.....	56
4.2.12	Fall 12.....	58
4.2.13	Fall 13.....	61
4.2.14	Fall 14.....	64
4.2.15	Fall 15.....	67
4.2.16	Fall 16.....	69
4.2.17	Fall 17.....	72
4.3	Neuropathologische Befunde der Kontrollgruppe.....	74
4.3.1	Kontrolle 1.....	74
4.3.2	Kontrolle 2.....	76
4.3.3	Kontrolle 3.....	79
4.3.4	Kontrolle 4.....	81
4.3.5	Kontrolle 5.....	83
4.4	Auswertung der klinischen Daten.....	85
4.5	Auswertung der Läsionsmuster.....	86
4.5.1	COVID-19-assoziiertes CD68-Pattern.....	86
4.5.2	Vergleich der Läsionsmuster von Kollektiv- und Kontrollgruppe.....	87
4.5.3	Keine Korrelation zur Schwere des Krankheitsverlaufs.....	88
4.5.4	Cluster sind assoziiert mit schwererem Läsionsmuster.....	89

4.5.5	Unterscheidet sich das Läsionsmuster bei anderer Todesursache?.....	90
4.5.6	Vergleich der Langzeitbeatmung mit der Influenza-Kontrolle.....	91
4.5.7	Einfluss von Hypoxie und Schaden im Rahmen der CPR.....	91
4.5.8	Bilden sich die Läsionen nach überstandener Infektion zurück?.....	92
4.5.9	Zusammenfassung der Erkenntnisse .....	93
4.6	Identifikation der Makrophagen-Polarisation.....	94
4.7	Makrophagen-Cluster zeigen keine Mikrothromben .....	94
4.8	Kein Hinweis auf axonalen Schaden .....	94
4.9	Kein Hinweis auf Nekroptose.....	95
4.10	Kein Zusammenhang zu Neddylation .....	95
4.11	Spezifität vermarkteter IHC-Antikörper zur Virusdetektion .....	95
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>99</b>
5.1	Kritische Betrachtung der Methodik.....	99
5.1.1	Zusammensetzung der Kollektiv- und Kontrollgruppe.....	99
5.1.2	Ist das Kollektiv repräsentativ?.....	100
5.1.3	Eignung postmortaler Gewebeproben.....	100
5.1.4	Wahl der Immunhistochemie als Detektionsmethode .....	101
5.1.5	Objektivität der Auswertung.....	101
5.2	Kritische Betrachtung der Ergebnisse und Literaturvergleich .....	102
5.2.1	Patientenkollektiv im Vergleich mit anderen Arbeiten .....	102
5.2.2	Mikrogliale Entzündung: Langzeitschäden denkbar? .....	103
5.2.3	Zeigen die Cluster Mikroinfarkte?.....	105
5.2.4	Fehlende Korrelation zur Klinik.....	106
5.2.5	Erstaunliche Parallelen zur schweren Influenza-Infektion .....	106
5.2.6	Zeigen die Post-COVID-Fälle das Korrelat zu Long-COVID? .....	107
5.2.7	Spezifische Pathologie oder überlagert durch Confounder? .....	107

5.2.8	Virusnachweis im ZNS – eine kontroverse Debatte .....	109
5.2.9	Spezifität der Antikörper – ist die Literatur zu unkritisch?.....	110
5.3	Schlussfolgerungen und Perspektive.....	111
5.3.1	COVID-19 ist nicht nur eine Pneumonie.....	111
5.3.2	Long-COVID hat möglicherweise eine Neuropathologie .....	112
5.3.3	Obduktion zum Verstehen neuer Krankheitserreger .....	112
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>114</b>
<b>7</b>	<b>PUBLIKATION / DANKSAGUNG.....</b>	<b>134</b>
7.1	Publikation .....	134
7.2	Danksagung.....	135
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>136</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>137</b>
9.1	Abkürzungsverzeichnis .....	137
9.2	Tabellenverzeichnis .....	139
9.3	Abbildungsverzeichnis .....	139



# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Deutsche Zusammenfassung

Obwohl die vorherrschende Klinik der COVID-19-Erkrankung die Atemwege betrifft, werden häufig neurologische Beschwerden beobachtet. Charakteristische Frühsymptome einer Infektion sind Anosmie und Dysgeusie. Die häufigste schwerwiegende neurologische Komplikation sind cerebrovaskuläre Ereignisse. In der Literatur werden Mikrogliose, Astrogliose und hypoxisch-ischämische Läsionen als häufigste neuropathologische Veränderungen beschrieben. Der direkte Nachweis von SARS-CoV-2 im ZNS ist in bisherigen Studien nur inkonsistent gelungen.

Die vorliegende Dissertation stellt eine neuropathologische Aufarbeitung von 17 in den Jahren 2020 und 2021 am Universitätsklinikum des Saarlandes durchgeführten Autopsien von COVID-19-Patienten dar. Zielsetzung dieser Arbeit war eine neuropathologische Befundung und das Herausarbeiten eines gemeinsamen Läsionsmusters. Zum Einsatz kamen immunhistochemische Nachweismethoden und eine semiquantitative Auswertung durch zwei Untersucher. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die in der Literatur beschriebene Mikroglia-Makrophagen-Aktivierung mit dem lysosomalen Marker CD68 gelegt. Als Referenz wurde eine Kontrollgruppe von fünf Autopsiefällen ohne SARS-CoV-2-Infektion ausgewertet. Ein immunhistochemischer Nachweis von Virusmaterial wurde mit kommerziell erhältlichen Antikörpern angestrebt.

Die neuropathologische und statistische Auswertung ergab folgende Ergebnisse: Die CD68-Immunreaktion zeigte eine Reaktion im ZNS mit einer diffusen mikroglialen und einer perivaskulären Makrophagen-Komponente. Insgesamt war die diffuse Mikroglia-Aktivität im Bereich der Kleinhirnerne am stärksten, gefolgt von der weißen Substanz der corticalen Areale und dem Hirnstamm-Bereich mit den Kerngebieten im Pons. Die COVID-19-Neuropathologie war damit im Besonderen eine Pathologie der weißen Substanz und des Hirnstamms. Die perivaskuläre Komponente folgte der diffusen Mikroglia-Aktivität in der Verteilung, zeigte aber über die Areale hinweg geringere Abweichung in der Intensität. Die Mikroglia-Reaktion mit der perivaskulären Makrophagen- und diffusen Komponente war in den COVID-19-Fällen deutlich erhöht gegenüber der Kontrollgruppe. Es bestand keine eindeutige Korrelation zwischen dem Ausprägungsgrad neuropathologischer Läsionen und der Krankheitsschwere der COVID-19-Infektion. Bei 10 Patienten (ca. 59%) traten Makrophagen-Cluster auf, zumeist ebenfalls in der weißen Substanz des Großhirns und der weißen Substanz des Hirnstamms. Die Cluster-Bildung stellte die Maximalausprägung der Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion dar. Personen, die „mit“ SARS-CoV-2 verstorben waren bei anderer führender Todesursache, zeigten eine

nur unwesentlich geringere Schädigung bei gleichem Läsionsmuster. Der neuropathologische Schaden einer schweren Influenza-Erkrankung mit intensivmedizinischer Behandlung und Beatmung war vergleichbar mit dem Läsionsmuster schwerer COVID-19-Verläufe. Durch Hypoxie verursachte Läsionen waren klar von der COVID-19-assoziierten Pathologie abgrenzbar. Ebenso unterschied sich das COVID-19-assoziierte Läsionsmuster gegenüber kardiopulmonal-reanimierten Kontrollpatienten. Das Läsionsmuster von Post-COVID-Patienten war gegenüber akuten COVID-19-Infektionen geringer. Es gelang kein belastbarer Virusnachweis im zentralen Nervensystem.

## 1.2 Abstract

Although COVID-19 is widely considered a respiratory disease, neurological symptoms are commonly reported. Characteristic early signs of infection are anosmia and dysgeusia, most severe complications include cerebrovascular events. Neuropathological findings in autopsies include microgliosis, astrogliosis and hypoxic-ischemic lesions, according to literature. Detection of nucleic acid or viral proteins of SARS-CoV-2 in the central nervous system has been inconsistent in previous studies.

This dissertation aimed to investigate neuropathological features of 17 COVID-19 patients who died in 2020 and 2021 and were autopsied at Saarland University Medical Center (Homburg, Germany). Goal of this study was to compile neuropathological findings and establish common lesion patterns. Detection was carried out using immunohistochemistry and sections were evaluated in a semiquantitative categorization by two observers. The lysosomal marker CD68 was used to evaluate microglial and macrophage activation, which has been described in literature. For comparison, a control group of SARS-CoV-2 negative patients was analyzed. Detection of viral proteins was attempted through multiple commercially available antibodies for immunohistochemistry.

Neuropathological and statistical analysis yielded the following results: CD68-positive immunoreactivity showed inflammatory activity in the central nervous system with diffuse microglial activity and perivascular macrophage activation. Diffuse microglial activity was most distinct in cerebellar nuclei, followed by white matter areas of the cerebrum and the brain stem surrounding pontine nuclei. COVID-19 neuropathology appeared as a pathology of the white matter and brain stem. Perivascular macrophage activity followed the same distribution but showed less variation in lesion intensity. Microglial activity and perivascular macrophage activation was elevated in COVID-19 patients compared to control patients. There was no correlation between intensity of neuropathological lesions and severity of COVID-19 disease. In 10 patients (ca. 59%), macrophage clusters could be observed, most frequently in the white matter of the cerebrum and the white matter of the brain stem. Formation of clusters was identified as the end

stage of microglial and macrophage activation. Patients that were infected with SARS-CoV-2 but died of other diseases showed slightly less microglia-macrophage activity and the same lesion pattern. Neuropathological damage of a severe Influenza-infection with intensive care treatment and ventilation was comparable to severe COVID-19 neuropathology. Lesion patterns of hypoxia differed substantially from described COVID-19 neuropathology, as did lesion patterns of control patients after cardio-pulmonary reanimation. Microglial and macrophage activation was less pronounced in Post-COVID-19 patients compared to acute infections. Detection of viral material in the central nervous system was inconclusive.

## 2 Einleitung

### 2.1 Die COVID-19 Pandemie

Im Dezember 2019 wurde im chinesischem Wuhan eine ungewöhnliche Häufung an Pneumonien registriert, deren Erreger zunächst nicht identifiziert werden konnte. Im Januar 2020 sequenzierten Zhu et al. schließlich ein neuartiges Coronavirus, severe acute respiratory coronavirus 2 (SARS-CoV-2), als den Erreger der nun COVID-19 genannten Erkrankung [203]. Trotz noch nie zuvor ergriffener Maßnahmen zur Eindämmung des Ausbruches, verbreitete sich das Virus schnell über Landesgrenzen hinweg. Am 11. März 2020 erklärte die WHO bei mehr als 118.000 Fällen in 114 Ländern COVID-19 zur globalen Pandemie [191]. Bis zum Aufkommen der deutlich mildereren Omicron-Variante Ende November 2021, die sich weltweit schnell als dominante Virusvariante etablierte, ergaben sich in Deutschland bis Anfang Dezember 2022 mehr als 229.000 abgeschlossene intensivmedizinische Behandlungsfälle [127,168]. Die Durchseuchung der Bevölkerung ist mit über 36 Millionen bestätigten COVID-19-Infektionen in Deutschland seit Beginn der Pandemie bis Ende November 2022 hoch [169].

### 2.2 SARS-CoV-2 und die Coronavirus-Familie

Corona-Viren (CoV) finden sich weltweit und infizieren sowohl Menschen als auch verschiedenste Tierarten. Nach dem International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) gehören alle CoV zur Subfamilie der Orthocoronaviridae [83]. Man teilt Corona-Viren in vier Genera auf: alpha- und beta-Corona-Viren, die Säugetiere infizieren können, und gamma- und delta-Corona-Viren, deren Wirte Vögel sind [105].

Corona-Viren sind behüllt und beziehen ihre Lipidmembran, in die sie dann ihre eigenen Proteine integrieren, von der Wirtszelle. Charakteristisch für das kronenartige Aussehen bei der Elektronenmikroskopie ist das Spike-Protein [S], welches aus der Membran heraussteht [49,105].

Alle CoV haben ein Genom aus Einzelstrang-RNA mit positiver Polarität. Die codierte Sequenz entspricht also der späteren messenger-RNA (mRNA). CoV haben das größte Genom aller bekannten RNA-Viren [105,190]. Zentrales Enzym zur Replikation der CoV ist die im Genom codierte RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). Sie arbeitet sehr fehleranfällig, weswegen es zu häufigen Mutationen kommt. Dadurch sind im Laufe der Zeit eine große Zahl verschiedener CoV entstanden, die in verschiedenen Wirten replizieren [51,105].

Das Virus-Genom kodiert außerdem vier essenzielle Strukturproteine: Das Nucleocapsid-Protein [N] umgibt das RNA-Genom. Das S-Glykoprotein, das Matrix-Protein [M] und das Envelope-Protein [E] finden sich in der Membran [60,105].

Das S-Glykoprotein auf der Virusoberfläche ist zuständig für die Bindung an den Rezeptor der Wirtszelle, das angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), welches beim Menschen zum Beispiel im Atemwegstrakt zu finden ist [105,177].

CoV sind im Tierreich weit verbreitet. Während viele CoV-Infektionen bei Tieren keinerlei Symptome verursachen, gibt es auch Varianten, die in der Veterinärmedizin von großer Relevanz sind, z. B. das transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) oder das eng verwandte porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), welche schwere Diarrhoen bei Schweinen auslösen. Die klinische Symptomatik bei CoV-Infektion im Tierreich reicht von leichter respiratorischer oder intestinaler Beeinträchtigung bis hin zu systemischen Erkrankungen [105,158].

Insbesondere die SARS-Pandemie in den Jahren 2002 und 2003 hat Forscher dazu veranlasst, vermehrt nach CoV im Tierreich zu fahnden. Dabei kam man zur Erkenntnis, dass die mit Abstand größte Diversität an verschiedenen CoV unter Fledermäusen zirkuliert [48,105]. Drexler et al. kamen in ihrer Übersichtsarbeit zur Hypothese, dass vier der bis dahin sechs bekannten humanen CoV (HCoV), darunter auch das severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) und das middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) ihren Ursprung in Fledermäusen hatten und über einen Zwischenwirt als Zoonose den Menschen erreichten [48].

Das erste humane CoV wurde 1966 von Hamre et al. beschrieben [74]. Zwischenzeitlich konnte man insgesamt vier endemische HCoV identifizieren, die weltweit in der menschlichen Population zirkulieren (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1). Diese HCoV sind verantwortlich für ca. ein Drittel der Fälle einer „common cold“ („grippaler Infekt“) und verursachen in den meisten Fällen eine lediglich milde obere Atemwegssymptomatik (Rhinitis, Laryngitis/Pharyngitis, Otitis media) oder verlaufen gar ganz asymptomatisch [36,43,105].

Spätestens mit Ausbruch der SARS-Pandemie in China in den Jahren 2002 und 2003 änderte sich die wissenschaftliche Einschätzung zur Pathogenität der HCoV im menschlichen Wirtorganismus. Eine genetische Charakterisierung des SARS-Virus durch Drosten et al. zeigte, dass nur noch eine entfernte Verwandtschaft zu bisher bekannten HCoV bestand [50]. Die rund 8000 erkrankten Menschen erlitten zunächst eine Influenza-artige Symptomatik mit Husten und Dyspnoe und in ca. 20% der Fälle einen Progress zur schwerwiegenden Atemwegsinfektion (severe acute respiratory syndrome) [181,183]. Insgesamt unterlagen die Patienten einer Mortalität von ca. 10% [28,35]. Nachdem der SARS-Ausbruch durch ein striktes Test- und Isolationsregime unter Kontrolle gebracht wurde, sind nach 2004 keine neuen Fallberichte mehr erschienen [105].

Im Jahre 2012 verbreitete sich abermals ein neuartiges HCoV, welches beim Menschen ein schwerwiegendes Krankheitsbild auslöste. Zaki et al. gelang der Nachweis des fortan MERS-

CoV genannten Virus aus dem Sputum eines 60-jährigen Mannes, der mit schwerwiegender SARS-artiger Pneumonie in Saudi-Arabien hospitalisiert worden war [198]. Seither wurden ca. 2500 bestätigte MERS-Infektionen gemeldet mit einer Mortalität von ca. 30%. Risikogebiet für das Erleiden einer MERS-CoV-Infektion ist die arabische Halbinsel [57]. Transmissionen finden sowohl durch Mensch-zu-Mensch-Übertragung statt, als auch durch Kontakt zu Dromedaren, deren Population auf der arabischen Halbinsel wohl ein MERS-Reservoir darstellt [105,106].

Über die Jahre wurden von allen sechs bisher bekannten HCoV zunehmend Fallberichte publiziert, bei denen die klinische Symptomatik mehr als nur den Atemwegstrakt betraf. In der Literatur finden sich Berichte von Myokarditis, schwerer Diarrhoe und Meningitis [43,70]. In einigen Fällen konnte auch eine Beteiligung des Zentralen Nervensystems (ZNS) bei HCoV-Infektion nachgewiesen und eine klinische Symptomatik beobachtet werden [5,38,43,59,120,171,197]. Eine neuroinvasive und neurotrope Eigenschaft der HCoV ist daher anzunehmen [43,72].

Das Genom des neuartigen SARS-CoV-2 ähnelt anderen beta-CoV, die unter Fledermäusen zirkulieren [105,203]. Die genetische Übereinstimmung zu SARS-CoV beträgt lediglich 79,5% [105]. Das nächste verwandte CoV, RaTG13, welches unter Fledermäusen zirkuliert, unterscheidet sich in ca. 4% seines genetischen Codes von SARS-CoV-2, wodurch mehrere Jahrzehnte genetischer Divergenz widergespiegelt werden [14,79]. Zum aktuellen Zeitpunkt konnte weder ein Fledermaus-Reservoir, noch ein Zwischenwirt in der Übertragungskette zum Menschen identifiziert werden [79].

## 2.3 COVID-19 – nicht nur eine Atemwegsinfektion

Obwohl die vorherrschende Klinik einer COVID-19-Erkrankung die Atemwege betrifft, werden neurologische Beschwerden häufig beobachtet. Zu den mildereren neurologischen Manifestationen zählen Myalgien, Kopfschmerz und Schwindel [130]. Charakteristisches Frühsymptom einer Infektion ist die Minderung oder der Verlust des Geruchs- und Geschmackssinns (Anosmie und Dysgeusie) [97,114].

Eine Studie von Koh et al. in Singapur ergab, dass schwere neurologische Komplikationen bei jungen ambulant geführten Patienten mit ca. 1% der Fälle sehr selten sind. Mit Abstand am häufigsten wurden cerebrovaskuläre Komplikationen beobachtet. Deutlich seltener berichtet wurden Komplikationen des peripheren Nervensystems wie z. B. das Guillain-Barré-Syndrom, Facialisparesen, entzündliche Erkrankungen wie Enzephalitis und Encephalomyelitis oder autonome Störungen [9,92].

Bei hospitalisierten COVID-19-Patienten sind neurologische Komplikationen deutlich häufiger und assoziiert mit einer schlechteren Prognose. Eine prospektive Studie von Frontera et al.

aus New York City zeigte, dass von 4491 hospitalisierten Patienten 13,5% im Laufe der Infektion neurologische Störungen entwickelten. Die häufigsten Diagnosen waren Enzephalopathie (6,8%), Krampfanfall (1,6%), Schlaganfall (1,9%) und hypoxisch-ischämische Schäden (1,4%). Bei COVID-19-Patienten mit neurologischer Beteiligung war die Mortalität um 38% erhöht [9,65].

Eine prospektive Studie von Fleischer et al. mit 102 infizierten Patienten an der Universitätsklinik Essen ergab, dass 59,8% der Patienten eine neurologische Symptomatik erlitten. Unspezifische neurologische Beeinträchtigungen wie allgemeines Schwächegefühl, kognitiver Abbau und Delir traten bei 24,5% der Teilnehmer auf. Bei 23,5% der Patienten traten schwere neurologische Komplikationen auf, von denen die Hälfte cerebrale Ischämien erlitt. Besonders auffällig war, dass 83,3% dieser schwer neurologisch beeinträchtigten Patienten bereits neurologisch vorerkrankt waren [9,63].

Paterson et al. teilen die neurologische Symptomatik schwer erkrankter COVID-19-Patienten in fünf große Kategorien: Ischämische Schlaganfälle, entzündliche ZNS-Syndrome, Enzephalopathien, periphere neurologische Störungen und sonstige Störungen [134].

### 2.3.1 Cerebrovaskuläre Ereignisse und Gerinnungsstörung

In einer Analyse von Qureshi et al. traten Schlaganfälle im Verlauf einer COVID-19-Infektion bei 1,3% der beobachteten Patienten auf [143]. Bei hospitalisierten Patienten mit schwerem Verlauf nähert sich das Risiko 6% [55,109,116,192]. Obwohl die Komplikation damit insgesamt selten ist, tritt sie deutlich häufiger auf als beispielsweise bei einer Influenza-Infektion, bei der ca. 0,2% der Patienten einen Schlaganfall erleiden [116]. Eine Auswertung publizierter Daten von Nannoni et al. kam zum Ergebnis, dass 87,4% aller Schlaganfälle im Rahmen einer COVID-19-Infektion ischämischer Genese waren [126]. Eine Studie über Schlaganfall-Patienten aus New York von Yaghi et al. zeigte, dass COVID-19-positive Patienten mit Schlaganfall jünger waren, einen höheren NIHSS-Score (19 vs. 8), höhere D-Dimer-Spitzenlevel bei erhöhtem Troponin und insgesamt eine höhere Mortalität (64% vs. 9,3%) aufwiesen [9,192]. Zum selben Ergebnis kam die systematische Übersichtsarbeit von Nannoni et al. [126]. Diese Klinik deckt sich mit neuropathologischen Studien, bei denen in ca. 13% der Autopsien fokale Infarkte nachgewiesen wurden [42,113,114,148,150,164]. Damit ist eine SARS-CoV-2-Infektion mittlerweile als unabhängiger Risikofaktor für das Erleiden eines Schlaganfalls etabliert [7,150].

Im Rahmen einer COVID-19-Infektion kann es zur Hyperkoagulabilität des Blutes mit großen venösen und arteriellen Embolien und Mikrothromben in vielen Organsystemen kommen, wodurch das Überwiegen ischämischer ZNS-Infarkte erklärt werden kann [34,167]. Der genaue Mechanismus dieser Dysbalance zwischen Prokoagulanz und Antikoagulanz ist noch

nicht genau geklärt [150]. Die aktuelle Lehrmeinung ist, dass sich Hyperinflammation und Hyperkoagulabilität gegenseitig verstärken [150,174]. So kommt es bei Infektion zu einer Aktivierung des Komplementsystems und zur massenhaften Ausschüttung des prokoagulatorisch wirksamen Interleukin 6 (IL-6). Neutrophile Granulozyten werden rekrutiert und setzen „neutrophil extracellular traps“ (NETs) aus kondensiertem Chromatin und antimikrobiell-wirksamen Proteinen frei, an denen sich ein Thrombus bilden kann [117,150]. Eine insgesamt überschießende Immunantwort und ein diffuser endothelialer Schaden im Sinne einer Endothelitis, der sich durch erhöhte Konzentration des Von-Willebrand-Faktors objektivieren lässt, trägt zur Mikrothromben-Bildung und zur systemischen mikrovaskulären Dysfunktion bei [34,125,150]. Dieses Krankheitsmodell wird weiter untermauert durch Ergebnisse von Meinhardt et al., die auch Virusprotein in Endothelzellen nachweisen konnten [114].

Levi et al. [98] kamen zum Ergebnis, dass die COVID-19-Koagulopathie am ehesten einer disseminierten intravasalen Gerinnungsstörung (DIC) ähnelt. So kommt es nach einer Studie von Guan et al. [71] bei 46% aller Erkrankungen zu erhöhten D-Dimer-Werten (43% bei mild Erkrankten vs. 60% bei intensivpflichtigen Patienten) [9]. Zhou et al. zeigten die Korrelation zwischen erhöhter D-Dimer-Level und Mortalität [201].

### 2.3.2 Entzündliche Veränderungen und Encephalopathie

Entzündungen des ZNS wie Enzephalitiden und Myelitiden können im Verlauf einer COVID-19-Infektion auftreten. Bei einer Virusinfektion kommt es normalerweise zur Freisetzung antiviraler Zytokine wie Interferon-alpha (IFN-alpha). Wie viele andere Viren auch, scheint SARS-CoV-2 diesen Mechanismus zu unterbinden [150,182]. Stattdessen wird beobachtet, dass die proinflammatorischen Zytokine wie IL-6, IL-10 und der Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-alpha) bei schwer erkrankten Patienten stark erhöht sind, während die IFN-alpha-Level relativ zu schwächer erkrankten Patienten niedriger ausfallen [73,150]. Diese als „Zytokinsturm“ bezeichnete Dysbalance [182] schädigt die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke. Durch die nicht mehr standhafte Barriere könnten dann proinflammatorische Zytokine oder auch das Virus selbst gelangen, wodurch die systemische Inflammation auf das ZNS übergreift [81,114,150]. So konnten Yang et al. bereits nachweisen, dass die Barriere-Zellen des Plexus choroideus, welche die Blut-Liquor-Schranke aufrecht erhalten, die periphere Inflammation in das ZNS weitergeben und sogar aktivierte T-Zellen vom Blut ins Gehirn überwandern können [195].

Encephalopathien manifestieren sich bei COVID-19-Patienten klinisch meist in Form von Delir mit Unruhe und Verwirrtheit. Eine Meta-Analyse von Misra et al. zeigte, dass mehr als ein Drittel der beobachteten COVID-19-Patienten im Alter von über 60 Jahren delirante Symptome zeigen. Bei Vorhandensein von Delir wurde in der Patientengruppe nahezu eine Verdopplung der Mortalität beobachtet [119].



Es wurden Fälle von akuter hämorrhagischer nekrotisierender Enzephalopathie nach COVID-19-Infektion beschrieben. Diese Komplikation kann auch im Rahmen einer Influenza- oder anderen Viruserkrankung auftreten und wurde mit Zytokinsturm und Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke in Verbindung gebracht [140,153].

### 2.3.3 Indizien autoimmuner Beteiligung

Anti-pathogene Antikörper des Immunsystems können kreuzreagieren und an körpereigene Proteine binden. Beispiel einer solchen „post-infektiösen Neuropathie“ ist das Guillain-Barré-Syndrom (GBS), bei dem körpereigene Antikörper die Glykolipide der Myelinscheiden peripherer Nerven markieren und das Immunsystem diese anschließend attackiert und zerstört. In der Literatur sind COVID-19-assoziierte GBS-Verläufe beschrieben, die auch bei sonst asymptomatischen Patienten auftreten können [40,137,150]. Das GBS äußert sich bei COVID-19 Infektion in mimischer Schwäche, symmetrischer schlaffer Tetraparese, Parästhesie des Unterleibs, Ataxie und Ateminsuffizienz [40,108,132,178]. Eine große systematische Übersichtsarbeit mit Zusammenstellung der publizierten Fälle von Abu-Rumeileh et al. zeigte jedoch, dass in allen betrachteten COVID-19-assoziierten Fällen im Liquor kein Nachweis von SARS-CoV-2 RNA gelang und zumeist auch keine Anti-Gangliosid-Antikörper detektierbar waren, wodurch der Kausalzusammenhang zwischen COVID-19 und GBS als nicht gesichert zu werten ist [2,9].

Zum autoimmunen Charakter passt jedoch, dass bei COVID-19-Patienten hochaffine SARS-CoV-2-neutralisierende Antikörper entdeckt wurden, die eine Kreuzreaktion mit körpereigenen Epitopen – unter anderem im Gehirn – aufweisen [94,150]. Vabret et al. verweisen auf Studien, die bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten erhöhte Level an GM-CSF<sup>+</sup>-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen gefunden haben, die unabhängig von SARS-CoV-2 bei inflammatorischen Autoimmunerkrankungen auftreten [150,182].

Autoimmunvermittelte Komplikationen von COVID-19 sind neben dem Guillain-Barré-Syndrom vor allem Autoimmunencephalitiden, die sich zum Beispiel in einem nonkonvulsiven Status epilepticus äußern und Encephalomyelitiden, die der akuten disseminierten Encephalomyelitis (ADEM) ähneln [9,76,199].

Eine Forschergruppe der Charité um Franke et al. konnte eine Reihe von schwer erkrankten COVID-19-Patienten präsentieren, in deren Serum und Liquor antineuronale Antikörper nachweisbar waren. Die Ziel-Antigene waren sowohl intrazelluläre als auch oberflächliche neuronale Proteine, z. B. Yo- und NMDA-Rezeptor, Gefäßendothel, astrozytäre Proteine und das Neuropil von Basalganglien, Hippocampus und Bulbus olfactorius. Die Autoantikörper ähneln damit in ihrer Kreuzreaktivität mit dem ZNS den bereits beschriebenen humanen monoklonalen SARS-CoV-2 Antikörpern [64,94].

### 2.3.4 Periphere neurologische Störungen

SARS-CoV-2 scheint in der Lage zu sein, periphere Nerven zu infiltrieren. Klinisches Korrelat ist vor allem die Verminderung des Geschmacks- und Geruchssinns. Erstaunlicherweise unterscheidet sich die Prävalenz dieser Symptomatik regional: In einer chinesischen Studie berichteten nur ca. 6% der Patienten von olfaktorischer und gustatorischer Dysfunktion [108,109], während Studienteilnehmer in den USA zu 70% und in EU-Ländern zu 85% betroffen waren [97,108,193]. In der Literatur wird diese Symptomatik durch Infektion der olfaktorischen Sinnes- und Stützzellen erklärt [18,99,114,150]. Auch Facialisparesen treten im Zusammenhang mit einer COVID-19-Infektion mit und ohne begleitendem Guillain-Barré-Syndrom auf [84].

Eine SARS-CoV-2-Infektion scheint auch die Skelettmuskulatur zu beeinträchtigen. Eine Auswertung österreichischer hospitalisierter COVID-19-Patienten von Pitscheider et al. kam zum Ergebnis, dass erhöhte Creatinkinase-Werte (CK) als Marker für Muskelfaserschäden bei 27% aller Patienten zu beobachten war. Die CK-Werte korrelierten mit der Erkrankungsschwere, fielen insgesamt jedoch niedriger aus als die Level einer Influenza-Kontrollgruppe [138]. Es gibt jedoch auch Berichte von nekrotisierenden Myopathien im Zusammenhang mit einer COVID-19-Infektion [40,150].

Bei Betrachtung der neuromuskulären Beteiligung, insbesondere der Guillain-Barré-Symptomatik, weisen Abu-Rumeileh et al. darauf hin, dass im Kontext der respiratorischen Insuffizienz und der mechanischen Beatmung intensivpflichtiger COVID-19-Patienten eine „ICU-acquired weakness“ (ICUAW) [9] in Gestalt einer „critical illness neuropathy and myopathy“ nicht sicher von COVID-19-induzierter Pathologie abgegrenzt werden kann [2].

### 2.3.5 Long/Post-COVID-Syndrom und bleibende Schäden?

Bereits früh nach Beginn der Pandemie häuften sich Berichte von Patienten, die nach überstandener SARS-CoV-2-Infektion über anhaltende Beschwerden klagten. Das britische National Institute for Health and Care Excellence (NICE) definiert anhaltende Symptome, die länger als 4 Wochen nach Infektion bestehen, als Long-COVID-Syndrom. Vom Post-COVID-Syndrom wird gesprochen, wenn die Infektion länger als 3 Monate zurückliegt. Dabei scheint die Persistenz der Symptomatik nicht von der Schwere der akuten Erkrankung abzuhängen [39].

Als nicht-neurologische Long-COVID-Symptome beschreibt Berlit belastungsabhängige Beschwerden wie Dyspnoe und Husten sowie Herzrhythmusstörungen [9].

Wichtigstes Symptom von Long-COVID ist aber wohl die chronische Fatigue, die nach Daten des britischen Office for National Statistics (ONS) bei 11,9% der infizierten Patienten auftritt [39,180]. In einer Studie von Townsend et al. berichteten sogar 52,3% der befragten Teilnehmer von persistierender Fatigue 10 Wochen nach Infektion. In dieser Arbeit gab es keine Kor-

relation zwischen Schwere der akuten COVID-19-Erkrankung oder pro-inflammatorischer Labormarker und der späteren Ausprägung der Fatigue, jedoch war eine Kohorte mit Depression und Angsterkrankung in der Vorgeschichte überrepräsentiert [179].

In einer Auswertung neurologischer Langzeitsymptome von Poyraz et al. klagten 44% der Teilnehmer über anhaltende Beschwerden wie Fatigue, Muskelschmerzen, Geruchs- und Geschmacksstörungen, Kopfschmerzen, Konzentrationsstörungen, Tagesschläfrigkeit, Schwindel und Taubheitsgefühle [141].

In einer Studie von Douaud et al. konnten die Folgen einer durchlebten SARS-CoV-2-Infektion auf das ZNS mittels MRT-Bildgebung objektiviert werden. Die Forscher verglichen die Veränderungen von 401 positiv getesteten Teilnehmern, deren Infektion im Durchschnitt 141 Tage zurücklag, mit einem Vorbefund und stellten die Ergebnisse einer Kontrollgruppe gegenüber. Die Studie ergab drei signifikante Ergebnisse: Es kam zu einer stärkeren Reduktion der Schichtdicke der grauen Substanz und des Gewebekontrasts im parahippocampalen Gyrus und dem orbitofrontalen Cortex, zu stärkeren Markern für Gewebeschaden in Regionen, die funktionell mit dem primären Riechzentrum zusammenhängen und zu einer globalen Abnahme des Gehirnvolumens. Zusätzlich wurden mit den Patienten kognitive Tests durchgeführt, deren Ergebnisse ebenfalls schlechter ausfielen als in der Kontrollgruppe. Alle Ergebnisse blieben auch nach Ausschluss aller Studienteilnehmer, die wegen COVID-19 hospitalisiert wurden, signifikant [47].

## 2.4 Koinfektion und Superinfektion

Eine Meta-Analyse von Musuuza et al. kam zum Ergebnis, dass 19% aller ausgewerteten hospitalisierten und ambulanten COVID-19-Fälle eine zeitgleiche Koinfektion, also der zeitgleiche Nachweis anderer Atemwegserreger bei Erstdiagnose von SARS-CoV-2, und 24% eine erst im Krankheitsverlauf folgende Superinfektion erlitten. Dabei war die Mortalität bei zusätzlicher Infektion signifikant erhöht (odds ratio = 3,31). Während 20% aller ausgewerteten Patienten eine bakterielle Superinfektion erlitten, waren die meisten Koinfektionen viraler Genese (10%). Die Erregerbestimmung ergab, dass koinfizierte COVID-19-Patienten am häufigsten an Influenza Typ A, Influenza Typ B und respiratory syncytial virus (RSV) erkrankten [124].

## 2.5 Mögliche Infektionsrouten ins ZNS

SARS-CoV-2 nutzt – wie die anderen HCoV – das angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), an welches das Spike-Glykoprotein bindet, um humane Zellen zu infizieren [194]. Außerdem wurde nachgewiesen, dass körpereigenes Heparansulfat die Bindung zwischen Spike-Protein und Zelle verbessert [31]. Arbeiten von Daly et. al. und Cantuti-Castelvetri et al. weisen darauf hin, dass SARS-CoV-2 außerdem an das Rezeptorprotein Neurolipin-1 (NRP1) binden kann.

Noch nicht geklärt ist, ob NRP1 als unabhängiger Rezeptor agiert oder eine Bindung nur in Kombination mit ACE2 möglich ist [24,41,150]. Im Gegensatz zu ACE2 ist NRP1 im ZNS in verschiedensten Zellarten, z. B. Endothelzellen, Astrozyten und Mikroglia, sowohl auf mRNA-Ebene als auch als Protein nachweisbar [114,150]. Um anschließend in die Wirtszelle zu gelangen, muss zur Fusion des Virus mit der Zellmembran zuerst das Spike-Protein abgebaut werden. Zwischenzeitlich wurden die transmembrane Serinprotease 2 (TMPRSS2), Cathepsin B und L sowie Furin als daran beteiligte Enzyme identifiziert [81,150].

In der Literatur werden hauptsächlich zwei Eintrittswege von SARS-CoV-2 in das ZNS diskutiert: die hämatogene und die neurogene Route. Eine dritte Infektionsroute über das zervikale und olfaktorische lymphatische System findet bislang weniger Zustimmung [15,150].

### 2.5.1 Der hämatogene Infektionsweg

Der Stoffaustausch zwischen ZNS und Blut wird durch die Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke kontrolliert. SARS-CoV-2-Viruspartikel haben einen Durchmesser von ca. 100 nm und können deswegen die fenestrierten Endothelien der meisten zirkumventrikulären Organe nur durch rezeptorvermittelte Transzytose überqueren [6,150]. Cerebrale Endothelzellen exprimieren sowohl ACE2 als auch NRP1 [150]. Meinhardt et al. gelang in SARS-CoV-2-RNA positiven Gewebeproben der Nachweis des Spike-Proteins im Zytoplasma von Endothelzellen [114]. In einem Fallbericht von Paniz-Mondolfi et al. gelang den Forschern ein elektronenmikroskopischer Nachweis von Viruspartikeln in zytoplasmatischen Vakuolen von Endothelzellen und Neuronen des Frontallappens sowie dort zusätzlich ein PCR-Nachweis viraler Nukleinsäure [133]. Es ist jedoch ebenfalls möglich, dass eine Schädigung und Leckage der Blut-Hirn-Schranke durch den systemischen Zytokinsturm bedingt ist und es so zur neurologischen Symptomatik kommt [81,85,135,150].

Einige Studien weisen darauf hin, dass SARS-CoV-2 die Epithelzellen des Plexus choroideus infiziert [85,135,145,150]. In einer späteren Studie von Yang et al. gelang jedoch kein zuverlässiger Virusnachweis. Auch an der Blut-Liquor-Schranke ist eine Schädigung durch den systemischen Zytokinsturm denkbar, der zur Weitergabe der peripheren Inflammation ins ZNS führt [195].

Ein letzter Mechanismus zur Infektion des ZNS über die hämatogene Route könnte das „leukocyte trafficking“ darstellen. SARS-CoV-2 könnte im infizierten Leukozyten die Blut-Hirn-Schranke überqueren und sich so ins ZNS ausbreiten. Schlüssige Daten zu dieser Hypothese fehlen bislang [81,135].

### 2.5.2 Der neurogene Infektionsweg

Ein verminderter Geruchs- und Geschmackssinn gilt als pathognomonisches Infektionszeichen einer COVID-19-Erkrankung. Auf der Nasenschleimhaut selbst sind die Rezeptoren ACE2 und TMPRSS2 nachweisbar, jedoch hauptsächlich auf Epithelzellen. Die olfaktorischen Neurone zeigen dafür eine deutliche NRP1-Expression [24]. In Zusammenschau mit der Klinik ist es deswegen nicht abwegig, dass das ZNS über retrograden Transport über das olfaktorische System infiziert wird [43,114,150]. Dafür spricht, dass im Mausmodell bereits eine transsynaptische Ausbreitung nach Endozytose und axonalem Transport für HCoV-OC43 und SARS-CoV gezeigt werden konnte [43,150]. Auch eine Ausbreitung über andere Hirnnerven wie den N. trigeminus erscheint plausibel [114].

Erstaunlicherweise ist der direkte Nachweis von SARS-CoV-2 im ZNS bisher nur inkonsistent gelungen. So konnte in manchen Studien zwar SARS-CoV-2 RNA in Hirngewebe und Liquor bei Patienten mit Encephalopathie nachgewiesen werden, jedoch nur in sehr geringen Mengen [81,121,164], während in anderen Fällen, selbst bei Vorhandensein von Entzündungszeichen, im Liquor kein Nachweis gelang [10,81,196]. Solomon et al. vermuten deswegen, dass es sich bei den als infiziert getesteten ZNS-Proben angesichts der schwach-positiven Ergebnisse am ehesten um Artefakte oder Kontamination handeln muss [81,164]. Auch Yang et al. konnten keinen zuverlässigen Virusnachweis reproduzieren und bezweifeln eine direkte Infektion des ZNS [195].

## 2.6 COVID-19 in der cerebralen Bildgebung

Bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten zeigt sich in der cerebralen MRT-Bildgebung oft eine diffuse Leukencephalopathie. Es kommt zu konfluierenden T2-Hyperintensitäten und milden Diffusionsstörungen in der tiefen supratentoriellen und subcorticalen weißen Substanz. Weiterhin scheinen punktförmige Mikrohämmorrhagien im juxtacortikalen Mark und am Corpus callosum typisch [9,144].

## 2.7 Überblick über bisherige neuropathologische Arbeiten

Maiese et al. werteten in einer systematischen Übersichtsarbeit insgesamt 21 Publikationen mit histologischer Analyse von Hirngewebe von 197 COVID-19-Patienten aus. Der häufigste Befund in 37,6% der Fälle war eine Mikroglia-Aktivierung beziehungsweise Mikrogliose mit und ohne Mikroglia-Knoten, gefolgt von hypoxischen Schäden (29,4%) und Astrogliose (26,4%). In 15,7% der Fälle wurden parenchymale oder perivaskuläre inflammatorische Infiltrate vorgefunden. Leptomeningeale Entzündung oder Infiltrate lagen in nur 5,6% der Fälle vor. Entzündungsreaktionen wurden hauptsächlich von Makrophagen und T-Lymphozyten unterhalten. In 10,6% der Fälle wurden Mikrothromben beobachtet, in 15,2% größere ischämische Läsionen. Mikro- und perivaskuläre Blutungen lagen in 12,2% der Fälle vor, dagegen fokal

abgegrenzte hämorrhagische Läsionen in 6,6%. In 28,9% der Fälle gelang am Bulbus olfactorius der Virusnachweis, oder eine entzündliche Reaktion ließ auf Viruspräsenz rückschließen. Die Autoren schlussfolgerten, dass die neuropathologischen Veränderungen bei COVID-19 am ehesten nicht spezifisch für SARS-CoV-2 sind, sondern dem histopathologischen Erscheinungsbild anderer entzündlicher ZNS-Erkrankungen entsprechen [108].

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam die systematische Übersichtsarbeit von Cosentino et al., in dem 45 Publikationen mit 438 Patienten ausgewertet wurden. Sie beobachteten Mikrogliose in 52,5%, Astrogliose in 45,6% und hypoxisch-ischämische Läsionen in 40,8% der Fälle. Ödematöse Veränderungen und hämorrhagische Läsionen waren seltener mit 25,3% bzw. 20,5% der ausgewerteten Patienten. Ein Virusnachweis im ZNS gelang in 41,9% der Fälle in Form von RNA und in 28,3% in Form viraler Proteine. Die Autoren kamen zu drei zentralen Erkenntnissen: Die Detektionsrate von Virusmaterial im ZNS war gleich zwischen Patientengruppen mit und ohne neurologischer Symptomatik (1). Dabei waren ödematöse, hypoxisch-ischämische Läsionen und entzündliche Infiltrate häufiger bei solchen mit neurologischen Störungen (2). Insgesamt war eine neurologische Symptomatik bei älteren Patienten häufiger (3) [37].

Ähnlich wie auch Yang et al. und Solomon et al. bezweifeln Cosentino et al. die Validität der RNA-Nachweise bisheriger Publikationen. In Anbetracht der nur schwach-positiven Signale halten sie eine Kontamination der Proben mit Blut für möglich. Eine erhöhte Konzentration viraler RNA im Blut würde auch erklären, warum bei älteren Patienten in der Betrachtung die Detektion von SARS-CoV-2 RNA häufiger erfolgreich war als der Proteinnachweis [3,37,164].

Es ist wahrscheinlich, dass die entzündliche Mikroglia- und Astrozytenaktivierung lediglich eine Reaktion auf die systemische Inflammation darstellt. Tatsächlich findet sich die knotenartige Mikroglia-Reaktion, die häufig bei COVID-19 aufzutauchen scheint, in ähnlicher Form auch bei anderen viralen Encephalitiden [27,89,104,108]. Mikrogliose und Astrogliose könnten auch eine sekundäre entzündliche Antwort auf Infarkte oder Hämorrhagien in der Umgebung darstellen [102,108]. So konnten zum Beispiel Deigendesch et al. auch keinen signifikanten Unterschied zwischen der Mikroglia-Aktivierung bei COVID-19-Patienten im Vergleich zu septischen Patienten herausarbeiten [42,108].

Auch Cosentino et al. bezweifeln eine Kausalität zwischen Mikrogliose und Astrogliose und SARS-CoV-2-Infektion, weil auch kein Zusammenhang zum Vorhandensein einer neurologischen Klinik herstellbar war. Eine Mikroglia-Aktivierung dient im ZNS zum Beispiel auch der Phagozytose von durch Hypoxie und systemischer Inflammation untergegangener Neurone [3,19,37] und zur Reparatur nach Schädigung [163]. Auffällig war jedoch, dass Mikro- und Astrogliose sowie Einwanderung entzündlicher Zellen am häufigsten im Hirnstamm zu beobachten war, woraus eine gesteigerte Empfindlichkeit der Region gegen inflammatorischen

Stress abgeleitet werden kann, da auch keine Korrelation zum Virusnachweis im Gewebe bestand [37].

Neben der Mikroglia-Aktivierung war in bisherigen Publikationen nach Maiese et al. der wohl prominenteste Befund vaskulärer Genese: Ischämische [21,58,78,87,108,114,147,149,164] beziehungsweise hämorrhagische [21,108,113,114,147,149] Läsionen wurden ebenso wie mikro- und perivaskuläre Hämorrhagien [3,17,21,52,58,87,108,114,164] und Mikrothromben [21,87,90,108,113,164] in der Mehrzahl der Studien beobachtet. Die Autoren weisen diese Phänomene nicht der direkten Infektion, sondern der bei COVID-19 zu beobachtenden Kombination aus Koagulopathie und Zytokinsturm zu [25,33,80,107,108,175]. Dazu passt, dass die Auswertung von Cosentino et al. eine Korrelation zwischen hypoxisch-ischämischen Läsionen und kardiovaskulären Risikofaktoren in der klinischen Vorgeschichte ergab [37].

Zusammenfassend lässt sich aus den bisher umfangreichsten Studien zur Neuropathologie von COVID-19 schlussfolgern, dass eine ZNS-Beteiligung eher nicht durch einen neurotrophen Charakter von SARS-CoV-2 ausgelöst wird, sondern Ergebnis systemischer Hyperinflammation und Hyperkoagulopathie ist.

## 2.8 Ziel dieser Studie

Zielsetzung dieser Arbeit ist die neuropathologische Aufarbeitung der am Universitätsklinikum des Saarlandes durchgeführten Autopsien von COVID-19-Patienten in den Jahren 2020 und 2021. Unter Beachtung der Klinik zu Lebzeiten und eventueller zusätzlich zur SARS-CoV-2-Infektion vorliegender Erkrankungen, sollen neuropathologische Befunde erstellt und deren gemeinsame Läsionsmuster mit einer Kontrollgruppe verglichen werden.

Ein besonderes Augenmerk soll dabei auf die bei COVID-19 zu beobachtende Mikroglia- und Makrophagen-Aktivierung gelegt werden und überprüft werden, ob deren Ausprägung mit der klinischen Schwere der Erkrankung korreliert.

Ferner soll der Frage nachgegangen werden, ob SARS-CoV-2 – wie in der zuvor aufgeführten Literatur kontrovers diskutiert – im zentralen Nervensystem des vorliegenden Autopsiegewebes mittels immunhistochemischer Antikörperreaktionen nachweisbar ist oder nicht.

Mittels immunhistochemischer Methoden (IHC) sollen vorhandene Pathologien markiert und eventuell existentes Virusmaterial im Gewebe nachgewiesen werden. Die Spezifität der im Rahmen dieser Arbeit für den immunhistochemischen Nachweis eingesetzten IHC-Antikörper zum Nachweis von SARS-CoV-2 im Gewebe wird ebenfalls überprüft.

Schlussendliches Ziel ist ein Vergleich der eigenen Erkenntnisse mit dem publizierten Wissensstand und eine kritische Auseinandersetzung mit eventuellen Diskrepanzen.

### 3 Material und Methodik

#### 3.1 Materialien

##### 3.1.1 Immunhistochemische Antikörper

Tabelle 1: Eingesetzte Primärantikörper

Primär-AK	Spezies	Klon	Hersteller	Verdünnung	Vorbehandlung	Zielstruktur
Abcam 3A2	Maus monoklonal	3A2	Abcam, Cambridge, UK Art.-Nr.: ab272420	1:100	TRS pH 6,1 (30 min)	human coronavirus SARS spike glycoprotein
alpha-Synuclein	Maus monoklonal	10D2	Roboscreen Diagnostics, Leipzig, Germany Art.-Nr.: 0102004703	1:1000	Proteinase K (10 min)	human alpha-synuclein, amino acids 119-126 (DPDNEAYE)
APP	Maus monoklonal	22C11	Chemicon International, Temecula, USA Art.-Nr.: MAB348	1:1000	TRS pH 6,1 (30 min)	β-amyloid precursor protein (APP)
Beta-Amyloid	Maus monoklonal	6E10	Zytomed Systems GmbH, Berlin, Germany Art.-Nr.: Z932002-Y	1:1000	Ameisensäure (15 min)	amyloid beta precursor protein binding family A member 2 (APBA2)
CD161	Maus monoklonal	OT11D8	Abcam, Cambridge, UK Art.-Nr.: ab273666	1:2000	TRS pH 9,0 (15 min)	CD161
CD163	Maus monoklonal	10D6	Leica Biosystems Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK Art.-Nr.: NCL-L-CD163	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	CD163
CD3	Maus monoklonal	F7.2.38	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M7254	1:25	TRS pH 9,0 (15 min)	CD3
CD68	Maus monoklonal	PG-M1	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M0876	1:100	TRS pH 9,0 (15 min)	CD68-antigen (makrophagenbeschränkt)
CK20	Maus monoklonal	Ks20.8	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M7019	1:50	TRS pH 9,0 (15 min)	Cytokeratin 20
CK7	Maus monoklonal	OV-TL 12/30	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M7018	1:1500	TRS pH 9,0 (15 min)	Cytokeratin 7
CoV-2-S1A9	Maus monoklonal	1A9	GeneTex, Irvine, USA Art.-Nr.: GTX 632604	1:250	TRS pH 6,1 (30 min)	SARS-CoV-2 spike protein (S2 subunit)



## Material und Methode

GFAP	Maus monoklonal	GF2	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M0761	1:50	TRS pH 9,0 (15 min)	glial fibrillary acidic protein
IL-6	Kaninchen polyklonal	-	Novus Biologicals, Centennial, USA Art.-Nr.: NB600-1131	1:400	TRS pH 6,1 (30 min)	Interleukin-6
MLKL	Kaninchen monoklonal	EPR9514	Abcam, Cambridge, UK Art.-Nr.: ab187091	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	mixed lineage kinase domain like pseudokinase (phospho S358)
MNF-116	Maus monoklonal	MNF116	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M0821	1:500	Proteinase K (10 min)	Cytokeratine 5, 6, 8, 17, 19
NEDD8	Kaninchen polyklonal	-	Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA Art.-Nr.: #2745	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	neuronal precursor cell-expressed developmentally downregulated protein 8
NF	Maus monoklonal	2F11	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M0762	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	Neurofilament
Novus-NC	Kaninchen polyklonal	-	Novus Biologicals, Centennial, USA Art.-Nr.: NB100-56576	1:250	TRS pH 6,1 (30 min)	SARS-CoV-2 nucleocapsid protein
Olig2	Kaninchen monoklonal	EP112	Cell Marque, Rocklin, CA, USA Art.-Nr.: 387R-16	1:50	TRS pH 6,1 (30 min)	Olig2
PF4	Kaninchen monoklonal	EPR7763	Abcam, Cambridge, UK Art.-Nr.: ab129183	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	platelet factor 4
SB-NC	Maus monoklonal	Clone #05	Sino Biological, Peking, China Art.-Nr.: 40143-MM05	1:200	TRS pH 6,1 (30 min)	SARS-CoV nucleocapsid Kreuzreaktivität mit: SARS-CoV-2 nucleocapsid protein
SB-Spike	Kaninchen polyklonal	-	Sino Biological, Peking, China Art.-Nr.: 40150-T62-CoV-2	1:500	TRS pH 6,1 (30 min)	SARS-CoV spike glycoprotein
Tau	Maus monoklonal	AT8	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA Art.-Nr.: MN1020	1:1000	entfällt	hyperphosphorylated tau protein PHF-tau (Ser202/Thr205)
TTF-1	Maus monoklonal	8G7G3/1	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: M3575	1:100	TRS pH 6,1 (30 min)	thyroid transcription factor 1 (TTF1)

Tabelle 2: Eingesetzter Sekundärantikörper

S-AK	Spezies	Enzym	Hersteller	Verdünnung	Entwicklung
EnVision+ System-HRP Rabbit/Mouse	Ziege	Horseradish peroxidase (HRP)	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA Art.-Nr.: K5007	keine	AEC- oder DAB-Chromogen

### 3.1.2 Materialienliste und Rezepte

Tabelle 3: Verwendete Materialien

Produkt	Firma, Artikelnummer
3-Amino-9-ethylcarbazole (AEC), 95%	Thermo Fisher (Kandel) GmbH, Kandel, Germany, Art.-Nr.: B22529
Ameisensäure, 98-100%	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 100264
Aquatex	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 108562
Coverplates	Shandon Coverplate™, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, Art.-Nr.: 72110017
Dako REAL Antibody Diluent	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: S2011
Dako REAL DAB+ Chromogen	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: K5007
Dako REAL Substrate Buffer	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: K5007
Deckgläser	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Germany, Glasdicke 0,13 – 0,16 mm
Einbettkassetten	KABE-Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Germany, Art.-Nr.: 053762)
Eisessig	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany, Art.-Nr. 3738
Entellan	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 107960
Ethanol (99%)	SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Germany, Art.-Nr.: ETO-5000-99-1
Filterpipettenspitzen in 10, 100, 200, 1000 µl Fassungsvermögen	
Formaldehydlösung, 4%-ig	SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Germany, Art.-Nr.: FN-5000-4-1
Glasobjektträger	SuperFrost Plus, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Germany, Art.-Nr.: J1800AMNZ
Isopropanol	SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Germany, Art.-Nr.: ISOPE-5000-100-1
Mayer's Hämalunlösung	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 109249
Mikroreaktionsgefäße in 0,5 ml, 1,5 ml, 2 ml und 5 ml Volumen	
N,N-Dimethylformamid	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 103034
Natriumacetat-Trihydrat	Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art.-Nr.: 106267
Proteinase K	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: S3020
Target Retrieval Solution 10X Concentrate, pH 6,1	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: S1699
Target Retrieval Solution 10X Concentrate, pH 9	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: S2367
TRIS-Puffer	Agilent/Dako, Santa Clara, CA, USA, Art.-Nr.: S3006
Wasserstoffperoxid	Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Germany, Art.-Nr.: 27511
Xylol	Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Germany, Art.-Nr.: 27406

#### Ansetzen der 1%igen Wasserstoffperoxid-Lösung

- 10 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> werden in 300 ml Aqua dest. verdünnt

### Rezept für AEC-Chromogen

- Natriumacetatpuffer 0,1M pH 5,2: Lagerung bei 4° C
  - Lösung A: 5,75 ml Eisessig + 1 l Aqua dest.
  - Lösung B: 13,61 g Natriumacetat-Trihydrat + 1 l Aqua dest.
- AEC-Stammlösung: Lagerung im abgedunkelten Gefäß bei 4° C
  - 4 mg AEC in 1 ml N,N-Dimethylformamid lösen (und auf Vorrat anfertigen)

### Ansetzen der Target Retrieval Solution (TRS)

- Target Retrieval Solution 10X Concentrate, pH 6,1 oder Target Retrieval Solution 10X Concentrate, pH 9 wird im Verhältnis 1:10 mit Aqua dest. verdünnt

### Ansetzen der DAB-Lösung

- Dako REAL DAB+ Chromogen wird im Verhältnis 1:50 mit Dako REAL Substrate Buffer angesetzt

## 3.1.3 Geräte und Software

Tabelle 4: Verwendete Geräte und Software

Produkt	Firma, Artikelnummer
Dampfkocher	Rommelsbacher Elektrohausgeräte GmbH, Dinkelsbühl, Germany, Typ: MD 1000
Durchlichtmikroskop (Befundung)	Olympus, Japan, Typ: BH-2
Durchlichtmikroskop (Fotodokumentation)	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany, Typ: DM 5000B
Durchlichtmikroskop (Fotodokumentation)	Olympus, Japan, Typ: BX 40
Gewebeinfiltrationsautomat	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany, Typ: HistoCore PEARL
Kühlplatte „Blue Cooler“	RWW Medizintechnik, Hallerndorf, Germany
Leica Application Suite (LAS) Version 3.8	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany
Microsoft Excel (Version 16.57)	Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA
Mikrotom	Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Germany, Typ: Manual Mikrotom RM2035
Olympus cellSens Entry	Olympus, Japan
Paraffin-Streckbad	LAUDA-GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Germany, Typ: Paraffin-Streckbad 1052
pH-Meter	VWR International GmbH, Darmstadt, Germany, Typ: pH 1100 L
Präzisionswaage	Sartorius Corporate Administration GmbH, Göttingen, Germany, Typ: ENTRIS6202-1S
Wärmeschrank (55 °C)	Heraeus Instruments, Hanau, Germany, Typ: T6
Wärmeschrank (80 °C)	Heraeus Instruments, Hanau, Germany, Typ: T12
Wasserbecken	

## 3.2 Gewebeproben

Diese Studie ist eine Auswertung von Autopsien, die in den Jahren 2020 und 2021 am Institut für Neuropathologie des Universitätsklinikums des Saarlandes (UKS) in Kooperation mit dem Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie durchgeführt wurden. Zur Durchführung der Studie wurde ein Votum der zuständigen Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes eingeholt (Kenn-Nummer 21/23).

### 3.2.1 Kollektivstruktur

Im Zeitraum von April 2020 bis Juni 2021 wurden insgesamt 17 Autopsien durchgeführt, die das Kollektiv dieser Studie bilden. Kriterium zur Aufnahme in die Studie war eine positive PCR-Testung auf SARS-CoV-2 zu Lebzeiten.

### 3.2.2 Kontrollgruppe

Zum Vergleich der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion mit dem Kollektiv wurde als Negativkontrolle Probenmaterial von fünf Autopsien verwendet, die in den Jahren 2020 und 2021 am Institut für Neuropathologie des UKS durchgeführt wurden und bei denen keine Infektion mit SARS-CoV-2 zu Lebzeiten bekannt war. Weiterhin wurden Gewebeproben von 12 Autopsiefällen, die vor 2020 verstorben sind, als Negativkontrollen zur Bestimmung der Spezifität kommerzieller IHC-Antikörper zum Nachweis von SARS-CoV-2 verwendet.

## 3.3 Methoden

### 3.3.1 Ablauf der Autopsien

Alle Autopsien der Kollektivgruppe wurden durchgeführt unter Beachtung der empfohlenen Vorsichtsmaßnahmen zur Infektionskontrolle des Bundesverbandes deutscher Pathologen in der Fassung vom 01.07.2020 [22] und den Empfehlungen zum Umgang mit SARS-CoV-2-infizierten Verstorbenen des Robert-Koch-Instituts (RKI) vom 03.03.2021 [151]. Alle Teilnehmer trugen als persönliche Schutzausrüstung eine FFP2-Maske zum Atemschutz, Augenschutz in Form von Schutzbrille oder Visier, einen Einweg-Schutzanzug mit chirurgischer Haube und Überschuhen und doppelte chirurgische Handschuhe. Ein eigener Sektionsbereich mit Vorraum wurde zur Verfügung gestellt und die Entlüftungsanlage auf einen adäquaten Luftaustausch angepasst. Auf die Benutzung oszillierender Sägen wurde aus Gründen der Aerosolbildung verzichtet und stattdessen eine Knorpelzange zum Öffnen des Thorax und eine Handsäge zur Eröffnung des Craniums verwendet. Das Gehirn wurde auf Höhe des kranialen Rückenmarks abgesetzt und im Institut aufbereitet. Zusätzlich wurde das Ganglion trigeminale entnommen. Die bei der Autopsie getragene Schutzausrüstung wurde bei Verlassen des Sektionsbereiches verworfen.

### 3.3.2 Aufbereitung der Gewebeproben

Nach zwei bis vier Wochen Fixierungsdauer des Gewebes in 4%-iger Formaldehydlösung erfolgte der Zuschnitt. Zur Erstellung eines aussagekräftigen neuropathologischen Befundes wurden 15 Standardebenen ausgewählt, die für jeden Autopsiefall angefertigt und in Einbettkassetten verstaut wurden. Diese waren: Gyrus frontalis medius, Gyrus cinguli, Gyrus parietalis inferior, Area striata, anteriores Striatum, Basalganglien, Amygdala, Thalamus, Ammons-horn, Kleinhirnwurm, Kleinhirnhemisphäre, Mittelhirn, Pons, Medulla oblongata, Ganglion trigeminale.

Die Proben wurden anschließend entwässert durch Durchlaufen einer Isopropanolreihe mit aufsteigender Konzentration und von Alkoholrückständen befreit durch Abstellen in Xylol.

1. Die Probe durchläuft für je drei Stunden die Isopropanol-Reihe in folgender Konzentration:  
50 % → 70 % → 90 % → 90 % → 90 % → 100 % → 100 % → 100 %
2. Dann wird die Probe für 3 x 2,5 Stunden in Xylol gestellt.

Im letzten Schritt wurden die Proben im Gewebeinfiltrationsautomaten mit erwärmtem, verflüssigtem Paraffin eingebettet und die entstanden Paraffinwachsblöcke durch Abkühlen ausgehärtet.

### 3.3.3 Anfertigung der Leerschnitte

Mit dem Mikrotom wurden Anschnitte der auf ca. -17° C gekühlten Gewebeblöcke mit einer Schichtdicke von 1-3 µm angefertigt. Durch Anfeuchtung in einem erwärmten Paraffin-Streckbad wurden die Gewebeschnitte anschließend auf Glasobjektträger transferiert und danach in einem Wärmeschrank bei 55° C für 12-24 h in Objektträgerschaukeln getrocknet.

### 3.3.4 Entparaffinierung

Für die unmittelbar anschließende HE-Färbung bzw. Immunreaktion wurden die Gewebeschnitte in einer Objektträgerschaukel in einer absteigenden Alkohol-Reihe entparaffiniert und rehydriert.

Folgendes Schema wurde angewandt:

1. Die Gewebeschnitte werden für 10 Minuten im Wärmeschrank bei 80° C aufgewärmt.
2. Die Gewebeschnitte werden für 3 x 5 Minuten in Xylol eingebracht.
3. Durchlaufen einer Isopropanol-Reihe absteigender Konzentrationen für je 2 Minuten:  
100 % → 100 % → 90 % → 80 % → 70 %
4. Anschließend werden die Gewebeschnitte mit Aqua dest. für 3 Minuten gespült.

### 3.3.5 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)

Zunächst wurde von allen Schnittebenen eine HE-Färbung angefertigt, um eine Übersicht zu gewinnen und eventuelle morphologische Auffälligkeiten zu bemerken. Diese Färbemethode basiert auf der Reaktion der beiden Farbstoffe Hämatoxylin und Eosin mit Bestandteilen der Zelle. Hämatoxylin als positiv geladener Farbstoff färbt basophile Strukturen blau, zum Beispiel den Zellkern mit den enthaltenen Nukleinsäuren. Das negativ geladene Eosin färbt alle acidophilen Zellstrukturen wie das Zytoplasma rot [12].

1. Die Gewebeschnitte werden entparaffiniert (s. 3.3.4).
2. Einbringen der Gewebeschnitte in Hämalaun nach Meyer und Inkubation für 8 Minuten mit anschließendem Spülen in Aqua dest.
3. Zur Differenzierung Gewebeschnitte 2-3 x schwenken in 1 % HCl-Alkohol und anschließendes Spülen in Aqua dest.
4. Die Gewebeschnitte nun im laufenden Leitungswasser für 5 Minuten bläuen.
5. Färbung in 0,5 %-iger Eosin, 70%-iger Isopropylalkohol-Lösung für 5 Minuten mit anschließendem Spülen in Aqua dest.
6. Entwässern der Gewebeschnitte in aufsteigender Ethanolreihe (jeweils 4 x schwenken):  
70 % → 80 % → 90 % → 100 %
7. Die Gewebeschnitte durchlaufen für je 2 Minuten Xylol-Bäder und verbleiben bis zum Eindeckeln in Xylol.
8. Eindeckeln der Gewebeschnitte mit dem Eindeckmedium Entellan und Trocknung im Wärmeschrank bei 80 ° C für mindestens 30 Minuten.

Das Färbeergebnis zeigt die Zellkerne blau bis dunkelviolett, das Zytoplasma rosarot und Erythrozyten orange-rot.

### 3.3.6 Grundprinzip immunhistochemischer Färbungen

Die Immunhistochemie basiert auf der Interaktion von Antikörpern mit dem Gewebe und dient dem Nachweis bestimmter zellulärer Antigene durch Bildung einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Zur Herstellung der Antikörper wird einem Wirtsorganismus, in der Regel einer Maus oder Kaninchen, das Antigen injiziert. Das Wirtsimmunsystem produziert daraufhin Antikörper gegen das eingetragene Antigen. Zu unterscheiden sind monoklonale und polyklonale Antikörper. Monoklonale Antikörper werden von einer einzigen Zelllinie produziert und richten sich gegen ein bestimmtes Epitop eines Antigens. Polyklonale Antikörper werden dagegen von verschiedenen Zelllinien produziert und richten sich gegen unterschiedliche Epitope eines Antigens [13].

Die vorherige Fixierung der Gewebeproben mit Formaldehyd hat zur Quervernetzung der Proteine geführt [95]. Bevor eine immunhistochemische Färbung erfolgt, wird deswegen oftmals

eine „Antigen-Demaskierung“, etwa durch Wärmebehandlung in spezieller Pufferlösung, Einbringen in Ameisensäure oder durch Behandlung mit dem Enzym Proteinase K, durchgeführt. In dieser Studie wurde eine indirekte immunhistochemische Färbung mit dem System „Envision“ der Firma Agilent Technologies durchgeführt [156]. Ein enzymmarkierter sekundärer Antikörper bindet dazu an das F<sub>C</sub>-Fragment des primären Antikörpers [122]. Der Sekundärantikörper enthält ein Dextran-Polymer, an das große Mengen des Enzyms Meerrettich-Peroxidase (engl. horseradish peroxidase, HRP) gekoppelt sind. Durch die große Menge Enzym, die pro Antigen-Antikörper-Reaktion in der späteren Färbereaktion umgesetzt wird, werden bereits kleinste Mengen vorhandenen Antigens detektiert [156]. Sekundäre Antikörper werden durch Injektion von Antigenen des Wirtsorganismus des Primärantikörpers in einen anderen Wirt, z. B. eine Ziege, hergestellt. Sie sind somit gegen die Spezies des Primärantikörpers gerichtet. Zur Umsetzung des an den sekundären Antikörper gekoppelten Enzyms wurden in der vorliegenden Studie zwei verschiedene Detektionssysteme verwendet.

### 3.3.7 Immunhistochemisches Reaktionsprotokoll

Alle immunhistologischen Reaktionen wurden gemäß der nachfolgenden Anleitung durchgeführt.

Zunächst erfolgte eine Entparaffinierung und Rehydrierung der Gewebeschnitte durch Durchlaufen der absteigenden Alkoholreihe und Spülen in Aqua dest. (s. 3.3.4).

Anschließend wurden die Gewebeschnitte für 10 Minuten in 1%ige Wasserstoffperoxid-Lösung (s. 3.1.2) eingetaucht, um die zelleigene Peroxidase zu blockieren. Lediglich im Falle der CD68-Immunhistochemie erfolgte die Blockierung der endogenen Peroxidase erst nach der Antigen-Demaskierung und wurde auf 20 Minuten verlängert.

Im nächsten Schritt erfolgte die Vorbehandlung der Gewebeschnitte zur Antigen-Demaskierung. Je nach verwendetem Antikörper wurden die Schnitte in einem Puffer (Target Retrieval Solution, TRS) mit festgelegtem pH aufgekocht und danach 30 Minuten bei Raumtemperatur abgekühlt oder durch Einbringen in Proteinase K oder Ameisensäure (98-100%) bei Raumtemperatur vorbehandelt. Die angewandte Methode ist Kapitel 3.1.1 zu entnehmen. Teilweise konnte auf eine Vorbehandlung verzichtet werden.

Danach wurden Coverplates an die Objektträger ohne Lufteinschlüsse angebracht und mit TRIS-Puffer als Durchlaufkontrolle gespült. Bei korrektem Sitz wurde noch zwei Mal mit Waschpuffer nachgespült. Zwischenzeitlich wurde der Primärantikörper entsprechend Kapitel 3.1.1 mit Antibody Diluent verdünnt. Anschließend wurde der verdünnte Primärantikörper in die Coverplates pipettiert (100 µl pro Objektträger) und für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde drei Mal mit Waschpuffer nachgespült.

Im nächsten Schritt wurde der Sekundärantikörper Envision in die Coverplates pipettiert (100 µl pro Objektträger) und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde erneut drei Mal mit Waschpuffer nachgespült.

Zur Umsetzung des an den sekundären Antikörper gekoppelten Enzyms wurden zwei verschiedene Detektionssysteme verwendet:

Zur Darstellung der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion mit dem Antikörper CD68 sowie zum Nachweis von Virusprotein mit spezifischen Antikörpern (Abcam 3A2, SB-NC, CoV-2-S1A9, SB-Spike, Novus-NC) wurde 3-Amino-9-Ethylcarbazol-Chromogen (AEC-Chromogen) als Detektionssystem verwendet. Zunächst wurden 4 ml AEC-Stocklösung mit 56 ml Natriumacetatpuffer 0,1 M bei pH 5,2 gemischt (s. 3.1.2) und 20 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dazugegeben, kurz geschwenkt und dann filtriert. Die Gewebeschnitte wurden dann in einer Küvette mit der gefilterten AEC-Lösung für 15-20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Entsorgung der AEC-Lösung im Giftmüll wurde die Farbreaktion durch Spülen mit entmineralisiertem Wasser beendet. Anschließend erfolgte eine Gegenfärbung der Gewebeschnitte durch kurzes Eintauchen in Mayer's Hämalaun für ca. 5 Sekunden und Spülen in entmineralisiertem Wasser. Danach wurden die Gewebeschnitte unter lauwarmem Leitungswasser 5 Minuten lang gebläut und wieder in Aqua dest. überführt und gespült. Die Gewebeschnitte wurden dann mit wässrigem Eindeckmedium (Aquatex) benetzt und mit Objektträgergläsern versehen. AEC färbt markierte Strukturen rotbraun mit einem besonders farbintensiven Rotton.

Zur Darstellung eventuell zusätzlich vorhandener Pathologie, insbesondere neurodegenerativer Prozesse, wurde 3-3'-Diaminobenzidin (DAB) als Chromogen verwendet. Dieses färbt markierte Strukturen ebenfalls braun. Diese Farbreaktion wurde in einer „feuchten Kammer“ durchgeführt. Dazu wurden die Gewebeschnitte jeweils mit 200 µl angesetzter DAB-Lösung (s. 3.1.2) bedeckt und für 7 Minuten, oder bis makroskopisch eine Farbreaktion sichtbar war, inkubiert. Anschließend wurden die Gewebeschnitte in Aqua dest. überführt und mehrfach gespült. Nun erfolgte eine Gegenfärbung durch kurzes Eintauchen in Mayer's Hämalaun für ca. 5 Sekunden und Spülen in entmineralisiertem Wasser. Danach wurden die Gewebeschnitte unter lauwarmem Leitungswasser 5 Minuten lang gebläut und wieder in Aqua dest. überführt und gespült. Durch Durchlaufen der aufsteigenden Ethanolreihe (s. 3.3.5) wurden die Gewebeschnitte anschließend dehydriert. Nun wurden die Objektträger aus dem Xylol mit dem Eindeckmedium Entellan benetzt und mit Objektträgergläsern versehen.

In beiden Fällen wurden die Objektträger anschließend im Wärmeschrank für mindestens 10 Minuten bei 80° C getrocknet.



### 3.3.8 CD68 als Marker der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion

Für jeden Fall wurde neben den HE-Färbungen von jeder Standardebene mit Ausnahme des Ganglion trigeminale ebenso eine CD68-Immunreaktion erstellt. CD68 (Synonym: Macrosialin) ist ein stark glykosyliertes Glykoprotein und wird in Makrophagen und anderen verwandten Zellen des mononukleär-phagozytären Systems (MPS), z. B. der Mikroglia, exprimiert [29].

Im ZNS übernimmt die Mikroglia einen Großteil der Immunantwort. Sie wird deshalb in der Literatur gerne als „brain macrophage“ bezeichnet. Ungefähr 10% aller Zellen im zentralen Nervensystem werden zur Mikroglia gezählt. Sie ist verantwortlich für die Beseitigung von absterbenden Zellen, pathogener Mikroorganismen, Proteinaggregaten und überflüssiger neuraler Strukturen. Außerdem ist sie entscheidender Modulator der Neuroinflammation als Hauptproduzent proinflammatorischer Zytokine [32].

Im Ruhezustand sind Mikroglia-Zellen länglich und verzweigt mit zahlreichen Fortsätzen. Diese bewegen sich permanent, um ihre umgebenden Neurone, Astrozyten und Blutgefäße abzutasten und auf Schaden zu überprüfen. Bei kleineren Schäden umschließen die Fortsätze das geschädigte Gewebe und phagozytieren es. Im hochgradig aktivierten Zustand bei größerem zentralnervösem Schaden wandelt sich die Mikroglia in eine amöboide Form mit großem Zellkörper und verkürzten Fortsätzen. Sie bewegt sich dann zum Läsionsort und beginnt dort die Phagozytose und proinflammatorische Aktivität [32]. Der lysosomale Marker CD68 ist in diesem Zustand stark exprimiert [113].

Zusätzlich zur Mikroglia finden sich im ZNS außerdem langlebige Makrophagen in den Meningen, dem Plexus choroideus und dem perivaskulären Spaltraum, die von primitiven Progenitorzellen abstammen [32,69]. Im entzündlichen Milieu wandern außerdem aus dem Knochenmark stammende Makrophagen über die Blut-Hirn-Schranke in das ZNS ein [32,136].

Durch Markierung des lysosomalen Markers CD68 werden alle Zellen des mononukleär-phagozytären Systems (MPS) detektiert, sowohl meningeale, als auch über die Blutbahn eingewanderte Makrophagen und im Besonderen aktivierte, phagozytierende Mikroglia. Damit zeigt CD68 das breite Spektrum der Immunantwort auf entzündliche Prozesse im ZNS.

### 3.3.9 CD161 und CD163 zur Charakterisierung der Makrophagen-Polarisation

Aktivierte Makrophagen entwickeln verschiedene funktionelle Eigenschaften abhängig von inflammatorischen Stimuli der Umgebung. Die aktuelle Lehrmeinung unterteilt M1- und M2-Makrophagen [154]. Makrophagen der M1-Polarisation werden als pro-inflammatorische Subpopulation beschrieben, weil sie zur Elimination von Pathogenen inflammatorische Zytokine sezernieren und Stickstoffmonoxid (NO) produzieren [111,154,162]. Der Oberflächenmarker

CD161 korreliert positiv mit der Infiltration von M1-Makrophagen und negativ mit der M2-Population [202]. M2-Makrophagen haben anti-entzündliche Eigenschaften und assistieren bei der Wundheilung und der Bereinigung abgestorbener Zellen [62,154,162]. Die M2-Population kann zu weiten Teilen durch den Oberflächenmarker CD163 detektiert werden [154].

In der vorliegenden Studie wurden von Standardebenen mit besonders ausgeprägter Makrophagen-Aktivität in der CD68-Immunreaktion exemplarisch CD161- und CD163-Immunreaktionen angefertigt und ausgewertet.

### 3.3.10 Suche nach Mikrothromben

Ebenso wurden exemplarisch von Standardebenen mit besonders ausgeprägter perivaskulärer Makrophagen-Aktivität und CD68-Clustern Immunreaktionen mit Antikörper gegen Interleukin-6 (IL-6) und Plättchenfaktor-4 (PF4) durchgeführt. In der Literatur werden Mikrothrombosen im Rahmen von COVID-19 als Folge der systemischen Inflammation mit Endotheliopathie und Koagulopathie diskutiert. Interleukin-6 wirkt prokoagulatorisch und unterstützt die Plättchenaggregation und Thrombenbildung [23]. Plättchenfaktor-4 wird bei der Thrombozytenaggregation freigesetzt und wirkt prokoagulatorisch durch Hemmung des Antithrombins [53]. Weiterhin konnten Zheng et al. zeigen, dass das SARS-CoV-2 Spike Protein kompetitiv an das Heparansulfat der endothelialen Glykokalix bindet und so Antithrombin und Heparin Kofaktor II inhibiert, wodurch die COVID-19-Koagulopathie verstärkt wird [82,200].

### 3.3.11 Suche nach axonalem Schaden

In der neuropathologischen Diagnostik entzündlich-demyelinisierender Läsionen und axonalem Schaden im Rahmen der Multiplen Sklerose und ähnlichen Erkrankungen werden die Marker Neurofilament (NF),  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein (APP) und Olig2 häufig eingesetzt [123]. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden von einzelnen Standardebenen mit besonders ausgeprägter CD68-positiver Mikrogliareaktion und Makrophagen-Clustern in der weißen Substanz NF-, APP- und Olig2-Immunreaktionen angefertigt.

### 3.3.12 Wird Nekroptose ausgelöst?

Nekroptose ist eine programmierte Nekrose von Zellen, die Caspase-unabhängig verläuft und deswegen auch unter Einfluss viraler Caspase-Inhibitoren ablaufen kann [131,184]. Es handelt sich also um einen Pathway zum Zelltod, der auch unter Virusbefall ablaufen und somit die Virusreplikation eindämmen kann [184]. Endstrecke der Kaskade bildet die Phosphorylierung des Proteins MLKL (mixed lineage kinase domain like pseudokinase), welches anschließend in Membranen und Organellen eingebaut wird und diese permeabel macht [172,188]. Bei COVID-19-Patienten mit intensivmedizinischem Krankheitsverlauf konnten Ruskowski et al. erhöhte Plasmakonzentrationen von Proteinen, die der Nekroptose-Kaskade zuzurechnen sind,

unter anderem MLKL, nachweisen [155]. Im Rahmen dieser Studie wurde exemplarisch von Standardebenen mit besonders starker CD68-positiver Mikroglia-Reaktion eine MLKL-Immunreaktion angefertigt.

### 3.3.13 Ist Neddylation beteiligt?

Als „Neddylation“ bezeichnet man die reversible posttranslationale Modifikation durch kovalente Konjugation des Peptids NEDD8 (neuronal precursor cell-expressed developmentally downregulated protein 8) an Zielproteine, um deren Stabilität, Lokalisation, Aktivität oder Funktion zu beeinflussen [1,56,161]. Der Neddylation-Pathway wird aktiviert bei zellulärem Stress, zum Beispiel viraler Infektion oder Entzündung und verändert dann die Zusammensetzung und Funktion von Immunzellen [75,103,161,204]. Die Überaktivierung des Neddylation-Pathways ist assoziiert mit neuronaler Apoptose, Autophagie und Tumorgenese [77]. Im Rahmen dieser Studie wurde exemplarisch von Standardebenen mit besonders starker CD68-positiver Mikroglia-Reaktion eine NEDD8-Immunreaktion angefertigt.

### 3.3.14 Testreihe zur Spezifität von SARS-CoV-2-IHC-Antikörpern

Zur Beurteilung der Spezifität der vermarkteten Antikörper zur Detektion von SARS-CoV-2 in der Immunhistochemie wurden von fünf ausgewählten Autopsiefällen aus der Kollektivgruppe und von allen fünf Kontrollfällen jeweils folgende Standardebenen verwendet: Gyrus frontalis medius, Kleinhirnhemisphäre, Pons, Ganglion trigeminale, Thalamus.

Zusätzlich wurden von 12 weiteren Autopsiefällen, die vor 2020 verstorben sind, Gewebeproben als Negativkontrolle verwendet.

Zum Einsatz kamen die IHC-Antikörper Abcam 3A2, SB-NC, CoV-2-S1A9, SB-Spike und Novus-NC mit den in 3.1.1 beschriebenen Verdünnungen und Vorbehandlungen.

### 3.3.15 Fremdleistungen

Das Anfertigen der Leerschnitte und die immunhistochemischen Färbungen der beauftragten Diagnostik zur Ermittlung neuropathologischer Confounder erfolgte durch das Fachpersonal des Instituts für Neuropathologie des Universitätsklinikums des Saarlandes.

### 3.4 Auswertung

Die Auswertung erfolgte gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. med. W. Schulz-Schaeffer am Durchlichtmikroskop. Die Fälle wurden einzeln begutachtet und von jeder Standardebene zunächst der HE-Schnitt zur Detektion morphologischer Auffälligkeiten beurteilt. Bei Anhalt auf neurodegenerative Veränderung wurde dann Routinediagnostik beauftragt und ausgewertet:

Zur Ermittlung neuropathologischer Confounder wurden Infarktareale, lymphozytäre Infiltrate und neurodegenerative Veränderungen näher untersucht. Die Beta-Amyloid-Pathologie wurde nach dem CERAD Amyloid-Plaquescore [118] ausgewertet. Die Tau-Pathologie wurde eingeteilt in Stadien nach Braak et al. [16].

Im nächsten Schritt wurde von jeder Standardebene eine CD68-Immunreaktion ausgewertet. Dabei wurden die Ausprägung der Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion in verschiedenen Arealen der Standardebenen hinsichtlich zweier Aspekte beurteilt:

1. Das Vorhandensein diffuser aktivierter Mikroglia im Gewebe.
2. Das Vorhandensein perivaskulärer Makrophagen im Gewebe.

Die semiquantitative Bewertung der Ausprägung beider Merkmale erfolgte gemäß folgender Einteilung der Intensität, ähnlich der Auswertung von Yang et al. [195]. Zwischen den Stufen wurden zusätzlich halbe Punkte vergeben.

*Tabelle 5: Einteilung des semiquantitativen Scorings*

0	keine Veränderung
1	gering = erkennbare Mikrogliose, atypisch für gesundes Gewebe
2	mäßig = Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion entsprechend pathologischem Prozess
3	ausgeprägt = ausgeprägter Entzündungsprozess, z. B. Makrophagen- oder Mikroglia-Cluster

Bei Vorhandensein eventueller Confounder, z. B. eines älteren Infarkts, in der auszuwertenden Standardebene, wurden Areale bewertet, die nicht von der Störvariable betroffen waren oder deren Läsionsmuster nicht in der Bewertung berücksichtigt.

Insgesamt wurden 10 Areale mit markanter Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion zur graphischen Auswertung ausgewählt: Die weiße Substanz des Gyrus frontalis medius (G. front. med. WM), die weiße Substanz des anterioren Cingulums (ant. Cingulum WM), das Putamen auf Höhe des anterioren Striatums (Putamen (ant. Striatum)), die Amygdala, die weiße Substanz in Nähe des Ammonshorns auf Höhe des Corpus geniculatum laterale (Ammonshorn WM), die weiße Substanz der Kleinhirnhemisphäre (KHH WM), die Kleinhirnerkerne (KH Nuclei), die weiße Substanz des Pons (Pons WM), die Kerngebiete des Pons (Pons Nuclei) und die Pyramidenbahn auf Höhe des Mittelhirns (Pyramidenbahn MH).

Ein neuropathologischer Läsionsscore („NP Läsionsscore“) wurde gebildet: Dieser konnte im Falle der summierten Läsionspattern Werte zwischen 0 und 6, im Falle einer Einzelauswertung von perivaskulärer Makrophagen-Aktivität bzw. diffuser aktivierter Mikroglia-Reaktion Werte zwischen 0 und 3 annehmen.

Es wurden Liniendiagramme erstellt mit den betrachteten Arealen auf der X-Achse und dem neuropathologischen Läsionsscore mit dargestellter Spannweite der Einzelwerte auf der Y-Achse. Dabei erfolgte die Gruppeneinteilung nach klinischen Merkmalen.

Hinsichtlich der Beurteilung der Spezifität der SARS-CoV-2-IHC-Antikörper wurde die Auswertung vereinfacht. Reaktionsmuster, die die Antikörper bei Gewebeschnitten der Kollektivgruppe zeigten, wurden fotografisch dokumentiert und deren Auftreten in Gewebeschnitten der Kontrollgruppe überprüft.

Die statistische Auswertung dieser Studie und die grafische Darstellung der Ergebnisse wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Version 16.57) erstellt.

### 3.4.1 Erstellung eines neuropathologischen Befundes

Von jedem Fall in der Kollektiv- und Kontrollgruppe wurde anschließend ein neuropathologischer Befund erstellt. Dieser beinhaltet einen kurzen Überblick über die Krankengeschichte, makropathologische Auffälligkeiten bei Autopsie und Zuschnitt, histomorphologische Auffälligkeiten in der HE-Färbung, Ergebnisse eventuell angeforderter Routine-Diagnostik und die Verteilung der CD68-positiven Makrophagen und Mikroglia im Gewebe.

### 3.4.2 Fotodokumentation

Die Fotoabbildungen dieser Arbeit wurden an einem Durchlichtmikroskop der Firma Leica (Modell DM 5000B) mit Kameraaufsatz und der begleitenden Software (Leica Application Suite, Version 3.8.0) und an einem Durchlichtmikroskop der Firma Olympus (Modell BX 40) mit Kameraaufsatz und der begleitenden Software (Olympus cellSens Entry) aufgenommen.

## 4 Ergebnisse und Statistik

### 4.1 Tabellarischer Überblick über Kollektiv- und Kontrollgruppe

Tabelle 6: Überblick über die Kollektivgruppe

Fall	Geschlecht	Alter	Krankheitsschwere	Todesursache	Komorbidityäten	Neuropathologische Confounder
F 1	männlich	87 Jahre	NCU, O <sub>2</sub> -Therapie	Superinfizierte interstitielle Pneumonie	Art. Hypertonie	Cerebrale Amyloidangiopathie, B&B III
F 2	männlich	55 Jahre	ICU, Beatmung (26 Tage), ECMO (9 Tage)	Sepsis mit Multiorganversagen bei interstitieller Pneumonie	Diabetes mellitus, Art. Hypertonie	Septische Embolien im Cingulum
F 3	männlich	68 Jahre	ICU, Beatmung (20 Tage), Sepsis	Superinfizierte interstitielle Pneumonie	Art. Hypertonie	Disseminierte Mikroembolien, CERAD C, B&B I
F 4	männlich	60 Jahre	ICU, Beatmung (41 Tage), ECMO (30 Tage), Sepsis	Superinfizierte interstitielle Pneumonie	Ex-Nikotinabusus	Kleinhirn-Oberwurm-Atrophie
F 5	männlich	79 Jahre	Hospitalisierung nach CPR, ICU, Beatmung (18 Tage), Sepsis, Nierenversagen, prolongiertes Psychosyndrom	Superinfizierte interstitielle Pneumonie, dilatative Kardiomyopathie	Art. Hypertonie, KHK, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie, schwere Arteriosklerose	Rinden- und kavitäre Defekte, hypoxische Encephalopathie, Gliose
F 6	weiblich	96 Jahre	milde Bronchitis, 10 Wochen post-COVID gestorben	Pyelonephritis und Urosepsis	Herzrhythmusstörungen	Starke Arteriosklerose mit Status cribrosus, perimortale globale Hypoxie, B&B III
F 7	männlich	69 Jahre	ICU, Beatmung (21 Tage), ECMO (16 Tage), lichtstarre Pupillen vor Tod	Interstitielle Pneumonie, dilatative Kardiomyopathie	Art. Hypertonie, Vorhofflimmern	Keine
F 8	männlich	57 Jahre	ICU, Beatmung (1 Tag), ECMO (1 Tag)	Interstitielle Pneumonie, hypovolämischer Schock	Art. Hypertonie, Vorhofflimmern	Akute perimortale Hypoxie
F 9	weiblich	69 Jahre	in häuslicher Quarantäne nach positivem Test bei Symptombefreiheit, erfolgreiche CPR	Hypovolämischer Schock bei akuter Aortendissektion	Art. Hypertonie, systemische Vasculitis mit Glucocorticoid-Therapie	Arteriosklerose, akute perimortale Hypoxie
F 10	männlich	89 Jahre	In häuslicher Quarantäne mit milder Symptomatik	Herz-Kreislauf-Versagen bei hypertropher Kardiomyopathie	Hypertrophe Kardiomyopathie	Arteriosklerose, Infarktmarkierungen, CERAD B, B&B III
F 11	männlich	84 Jahre	in häuslicher Quarantäne mit milder Symptomatik	Interstitielle Pneumonie und Sepsis	Schwere Arteriosklerose	Cerebrale Amyloidangiopathie, CERAD B, B&B V
F 12	weiblich	74 Jahre	Zufallsbefund bei Routine-Testung vor Autopsie, Patientin war nicht hospitalisiert	Interstitielle Pneumonie in Kombination mit massiver Tumorkachexie	Art. Hypertonie, KHK, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Z. n. Myokardinfarkt und Apoplex, Nikotinabusus, terminales Lungen-Ca.	Arteriosklerose mit Status cribrosus, corticale Mikroinfarkte, cerebrale Amyloidangiopathie, B&B III, Metastase des Lungenkarzinoms frontoparietal links, akute perimortale Hypoxie

## Ergebnisse

F 13	männlich	72 Jahre	ICU, Beatmung (1 Tag), Sepsis, erfolgreiche CPR	Infektiös-toxisches Herz-Kreislaufversagen bei superinfizierter interstitieller Pneumonie	Bronchiales Plattenepithel-Ca., Diabetes mellitus	V. a. frühes Stadium corticobasaler Degeneration (CBD)
F 14	weiblich	87 Jahre	NCU, milde Symptomatik	Infektiös-toxisches Herz-Kreislaufversagen	Herzinsuffizienz, 2-Gefäß-KHK, Z. n. Myokardinfarkt, Art. Hypertonie	Kavitäre Defekte, Arteriosklerose, CERAD 0, B&B III
F 15	männlich	61 Jahre	ICU, Beatmung (66 Tage), ECMO (48 Tage), Sepsis, akutes Nierenversagen, CPR	interstitielle Pneumonie mit bakterieller Superinfektion, Herz-Kreislaufversagen	Adipositas, Spinalkanalstenosen	Arteriosklerose, B&B I
F 16	männlich	81 Jahre	NCU, unbekannter Verlauf	Infektiös-toxisches Herz-Kreislaufversagen, interstitielle Pneumonie	Schwere pAVK, Myokardhypertrophie	Arteriosklerose, Kleinhirn-Oberwurm-Atrophie, cerebrale Amyloidangiopathie, CERAD B, B&B III, perimortale Hypoxie
F 17	weiblich	87 Jahre	NCU, gestorben 4-5 Wochen post-COVID an anderer Ursache	akutes Leberversagen nach Hüft-OP	Demenzielles Syndrom, Osteoporose, Trigeminusneuralgie	Arteriosklerose mit Status cribrosus/lacunaris, perimortale Hypoxie

**Legende:** F = Fall, NCU = normal care unit, Art. Hypertonie = Arterielle Hypertonie, B&B = Einteilung der Tau-Pathologie in Stadien nach Braak et al. [16], ICU = intensive care unit, ECMO = extracorporeal membrane oxygenation, CPR = cardio-pulmonale Reanimation, KHK = koronare Herzkrankheit, PCR = polymerase chain reaction, CERAD = Amyloid-Plaque Score nach dem Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD) [118], Z. n. = Zustand nach, Ca. = Carcinom, pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit, OP = Operation

*Tabelle 7: Überblick über die Kontrollgruppe*

Fall	Geschlecht	Alter	Krankheitsschwere	Todesursache	Komorbiditäten	Neuropathologische Confounder
K 1	männlich	66 Jahre	ICU, Beatmung (38 Tage), Sepsis, Multiorganversagen	Schwere superinfizierte interstitielle Pneumonie (Influenza)	KHK, Vorhofflimmern, Kardiomyopathie, Nikotin- und Alkoholabusus	Kleinhirn-Oberwurm-Atrophie
K 2	männlich	70 Jahre	NCU, Hospitalisierung wegen AZ-Verschlechterung	Fulminante Lungenarterienembolie	Art. Hypertonie, 3-Gefäß-KHK, Z. n. Nieren-Tx. bei ADPKD, DLBCL	Arteriosklerose mit Status cribrosus/lacunaris, mehrere kavitäre Defekte, Mikroinfarkte
K 3	männlich	66 Jahre	NCU	Tumorkachexie	Metastasiertes Prostata-Ca.	Mehrere Mikroinfarkte, Arteriosklerose mit Status lacunaris
K 4	männlich	55 Jahre	ICU, Sepsis, CPR	Fulminante Lungenarterienembolie	Adipositas per magna, Diabetes mellitus, Art. Hypertonie	Arteriosklerose mit Status cribrosus, mehrere Infarkte
K 5	weiblich	47 Jahre	präklinische CPR, ICU, Beatmung (1 Tag), Hirnödem, Multiorganversagen	Hypovolämisches Herz-Kreislaufversagen bei hämorrhagischer Ösophagusgastritis	Alkoholabusus, Anämie, Adipositas per magna	Kleinhirn-Wurm-Atrophie, Status cribrosus, perimortale globale Hypoxie

**Legende:** K = Kontrolle, ICU = intensive care unit, KHK = koronare Herzkrankheit, NCU = normal care unit, AZ-Verschlechterung = Verschlechterung des Allgemeinzustands, Art. Hypertonie = Arterielle Hypertonie, Z. n. = Zustand nach, Tx. = Transplantation, ADPKD = autosomal dominant polycystic kidney disease, DLBCL = diffuse large B-cell lymphoma, Ca. = Carcinom, CPR = cardio-pulmonale Reanimation

## 4.2 Neuropathologische Befunde der Kollektivgruppe

### 4.2.1 Fall 1

Der 87-jährige Patient mit arterieller Hypertonie wurde erstmals drei Wochen vor Tod positiv auf SARS-CoV-2 mittels PCR getestet. Er entwickelte eine superinfizierte interstitielle Pneumonie. Es erfolgte keine Beatmung, jedoch eine nicht-invasive Sauerstofftherapie. Neurologische Auffälligkeiten wurden nicht berichtet. Der Patient verstarb unerwartet im Krankenhaus. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 30 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Autopsie ergab als Todesursache eine superinfizierte interstitielle Pneumonie. Im ZNS ist makroskopisch eine geringe Arteriosklerose zu erkennen. Die Cella media ist vergrößert, das Hinterhorn dilatiert, links mehr als rechts. Das Ammonshorn ist auf beiden Seiten atrophiert.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung sind G. frontalis medius, G. parietalis inferior und occipitaler Cortex unauffällig. Im G. cinguli finden sich einige pigmentspeichernde, perivaskuläre Makrophagen. Es zeigen sich keine Zeichen für neurodegenerative Veränderungen. In der CD68-Immunreaktion findet sich in allen corticalen Schnitten gering bis mäßige meningeale Makrophagen-Aktivität. Cortical sind die perivaskuläre und diffuse Mikroglia-Reaktivität gleichermaßen gering bei deutlicherer regionaler Mikroglia-Aktivierung in der weißen Substanz. Im Mark überwiegt eine diffuse Mikroglia-Reaktion. In der Beta-Amyloid-Immunreaktion sind nur vereinzelte diffuse, jedoch keine senilen Plaques zu erkennen. Meningeale und corticale Gefäßanschnitte zeigen im frontalen und parietalen Cortex Amyloid-Ablagerungen.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien zeigen im HE-Schnitt keine Auffälligkeiten. Die CD68-Immunreaktion markiert in Putamen, Claustrum und insbesondere dem Pallidum stärkere perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Reaktionen als in der Inselrinde. Verglichen mit den corticalen Arealen fällt eine heftige diffuse Mikroglia-Reaktion in den absteigenden Bahnen mit Foci im anterioren Striatum und den Basalganglien auf.

**Amygdala:** Bereits im HE-Schnitt der Amygdala fallen Neurone mit Tangles auf. Diese sind mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. In der CD68-Immunreaktion zeigt die Amygdala jeweils mäßige diffuse Mikroglia- und perivaskuläre Makrophagen-Aktivierung auf insgesamt höherem Niveau als in den angrenzenden corticalen Arealen.

**Thalamus:** Auch in den hypothalamischen Arealen finden sich im HE-Schnitt Tangles. Diese sind mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. Die CD68-Immunreaktion markiert jeweils geringe perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Aktivität im Thalamus und Ncl. subthalamicus bei verhältnismäßig stärkerer Beteiligung der weißen Substanz.



**Ammonshorn:** Im HE-Schnitt finden sich im Ammonshorn Neurone mit granulovakuolärer Degeneration. Die CD68-Immunreaktion markiert in Ammonshorn und temporalem Cortex nur jeweils geringe perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Aktivität, während in der angrenzenden weißen Substanz eine heftige diffuse Mikroglia-Reaktion bei mäßiger perivaskulärer Beteiligung zu beobachten ist. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert neurofibrilläre Tangles in CA3, CA1 und in geringem Maße parahippocampal. In der Beta-Amyloid-Immunreaktion reagieren erneut Amyloid-Ablagerungen in meningealen und corticalen Gefäßen. Ein Nachweis von alpha-Synuclein gelingt nicht.

**Kleinhirn:** Sowohl Kleinhirnwurm als auch -hemisphäre zeigen keine Auffälligkeiten in der HE-Übersicht. In der CD68-Immunreaktion findet sich in den corticalen Arealen erneut deutlich geringeres Signal verglichen mit der heftigen diffusen Mikroglia-Aktivierung in der weißen Substanz. Der Kleinhirn-Kernbereich sticht mit stärkster diffuser Mikroglia- und perivaskulärer Makrophagen-Aktivität deutlich hervor. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert keine Tangles in der Kleinhirnhemisphäre.

**Mittelhirn:** Bereits in der HE-Übersicht finden sich Tangles in den Augenmuskelkernen und in der Substantia nigra. Diese sind mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Augenmuskelkernen und der Substantia nigra nur geringe Mikroglia-Aktivität, während sich in den absteigenden Bahnen verhältnismäßig stärkere diffuse Mikroglia- und Makrophagen-Aktivität zeigt.

**Hirnstamm:** Im HE-Schnitt des Pons finden sich Tangles im Locus coeruleus und Tectum, die ebenfalls mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv sind. Auch einzelne Ponsneurone zeigen Tau-Tangles. Die CD68-Immunreaktion zeigt jedoch in allen Kerngebieten und in der weißen Substanz nur sehr schwache Mikroglia-Aktivität.

### **Interpretation:**

In der CD68-Immunreaktion dominiert durchweg die diffuse Mikroglia-Reaktion in der weißen Substanz gegenüber der Mikroglia-Aktivität in den Rindenschichten. Die stärkste Mikroglia- und Makrophagen-Aktivierung findet sich im Kleinhirn, auch innerhalb der Kernbereiche.

An zusätzlicher Pathologie liegt eine cerebrale Amyloidangiopathie mit meningealer und corticaler Beteiligung und eine Tau-Pathologie entsprechend Braak & Braak III vor.

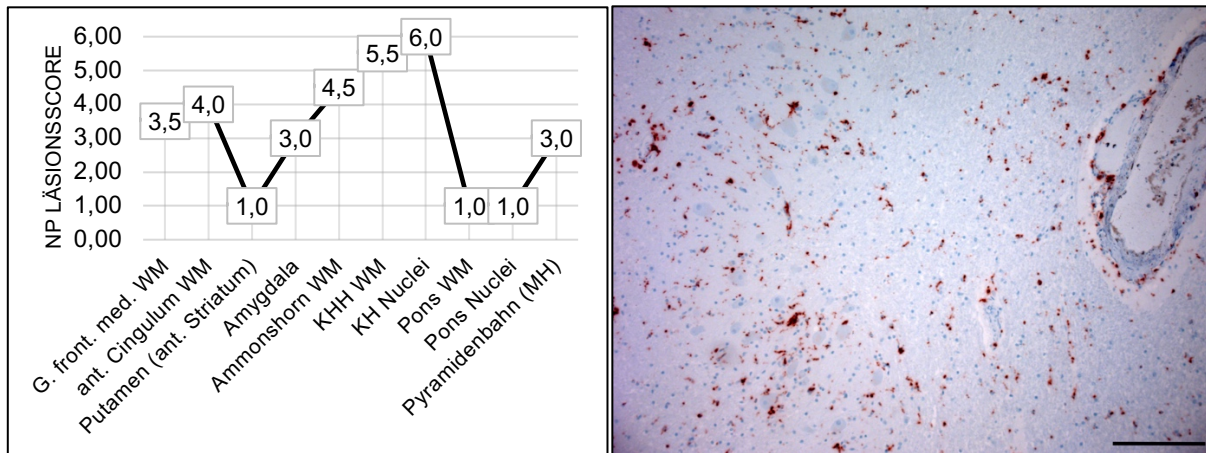


Abbildung 1: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 1

Abbildung 2: Bild (rechts) - Kleinhirnkerne von Fall 1 mit starker diffuser Mikroglia- und starker perivaskulärer Makrophagen-Reaktion (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.2 Fall 2

Der 55-jährige Patient mit bekannter arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus wurde 40 Tage vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 mittels PCR getestet. Er entwickelte Fieber und Husten und wurde 26 Tage vor Tod aufgrund einer interstitiellen Pneumonie hospitalisiert. Insgesamt erfolgte über 26 Tage eine mechanische Beatmung, davon die letzten 9 Tage unterstützt durch extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO). Im Verlauf traten Komplikationen in Form von generalisiertem tonisch-klonischem Anfall, mechanischem Ileus und Herzrhythmusstörungen auf. Der Patient verstarb schließlich an einer Sepsis mit Multiorganversagen bei interstitieller Pneumonie. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 42 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

In der makroskopischen Übersicht ist bereits eine mäßige bis deutliche Arteriosklerose zu erkennen. Die Liquorräume sind nicht erweitert, die Meningen weißlich verfärbt und verdickt. Das Ammonshorn ist relativ klein, der Kleinhirn-Oberwurm atrophiert. Im Marklager ist eine deutliche Blutstauung zu beobachten.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung des G. frontalis medius findet sich kein Anhalt für neurodegenerative Veränderungen, jedoch glomeruloide Gefäßproliferation. Die CD68-Immunreaktion markiert eine sehr starke Makrophagen-Aktivierung in den Meningen und mäßige bis starke perivaskuläre Makrophagen-Cluster in der weißen Substanz mit starker diffuser Mikroglia-Reaktion, im Cortex dagegen schwächeres perivaskuläres und diffuses Signal. Im HE-Schnitt des Cingulum liegt oberflächlich eine cortikale Nekrose angrenzend an den G. superior mit akut

untergehenden Nervenzellen vor. Die CD68-Immunreaktion zeigt ein ähnliches Muster wie im G. frontalis medius mit stärkerem Signal in der weißen Substanz, hier auch mit zwei großen Cluster-Arealen im Mark. Im Ischämiegebiet markiert die CD68-Immunreaktion eine starke diffuse Mikroglia-Aktivierung. Auch im G. parietalis inferior und der Area striata bestätigt sich die Makrophagen-Verteilung mit Betonung der weißen Substanz.

**Basalganglien:** In der HE-Übersicht ist eine Arteriosklerose im Mediastromgebiet zu erkennen bei sonst unauffälligem Befund im anterioren Striatum und den Basalganglien. Die CD68-Immunreaktion zeigt kräftigere diffuse mikrogliale und perivaskuläre Makrophagen-Aktivität in Putamen, Pallidum und Caudatus-Kopf, verglichen mit eher geringem Signal im frontobasalen Cortex. In der Inselrinde sind Makrophagen- und Mikroglia-Aktivität nur mäßig ausgeprägt.

**Amygdala:** In der HE-Färbung fallen eine massive Arteriosklerose und Gliose auf. Die CD68-Immunreaktion markiert mäßige perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Reaktion.

**Thalamus:** Bei unauffälligem Befund in der HE-Färbung zeigt sich im Thalamus selbst sehr wenig perivaskuläre und keine diffuse mikrogliale Reaktion, in der angrenzenden Pyramidenbahn jedoch starke perivaskuläre Aktivität mit starker diffuser Mikroglia-Aktivität und Makrophagen-Clustern.

**Ammonshorn:** In der HE-Färbung besteht kein Anhalt für neurodegenerative Erkrankung bei gutem Nervenzellbesatz und keine Anzeichen für Hypoxie. In der weißen Substanz zeigen sich in der HE-Färbung bereits Makrophagen-Cluster. Die CD68-Immunreaktion markiert lediglich schwache perivaskuläre Makrophagen-Aktivität im Ammonshorn bei mäßig bis starker perivaskulärer und diffuser mikroglialer Reaktion der angrenzenden weißen Substanz. Dort finden sich vereinzelte Makrophagen-Cluster.

**Kleinhirn:** Sowohl Kleinhirnwurm als auch -hemisphäre sind im HE-Schnitt unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert mäßig bis starke Makrophagen-Aktivität in den Meningen. Cortical findet sich nur je geringes diffuses und perivaskuläres Signal, während sich in der weißen Substanz ein stärkeres, insbesondere diffuses mikrogliales Muster zeigt. Besonders viel Aktivität liegt im Kleinhirnkerngebiet vor mit sehr starker diffuser Mikroglia-Aktivierung.

**Mittelhirn:** In der HE-Übersicht ist das Mittelhirn unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert nur geringes Signal in der Substantia nigra bei erneut starkem Kontrast zu mäßiger perivaskulärer und diffuser Mikroglia-Aktivierung in den absteigenden Bahnen mit Ausbildung von Makrophagen-Clustern.

**Hirnstamm:** Pons und Medulla oblongata erscheinen im HE-Schnitt unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Kerngebieten wie dem Locus coeruleus nur wenig Signal, während die Bahngebiete ein mäßiges perivaskuläres und diffuses Muster mit Makrophagen-Clustern aufweisen.

**Interpretation:**

Die bekannte arterielle Hypertonie spiegelt sich in der corticalen glomeruloiden Gefäßproliferation wider. Die im Cingulum oberflächlich gelegene cortikale Nekrose ist vereinbar mit einer Sepsis-Embolie. Dem Patientenalter entsprechend findet sich kein Anhalt für neurodegenerative Veränderungen.

Die CD68-Immunreaktion zeigt ein auffälliges Muster mit stärkerer mikroglialer und Makrophagen-Reaktion in der weißen Substanz verglichen mit corticalen Arealen und häufiger Bildung von großen Makrophagen-Clustern in den Leitungsbahnen, sowohl im Großhirn als auch im Hirnstamm.

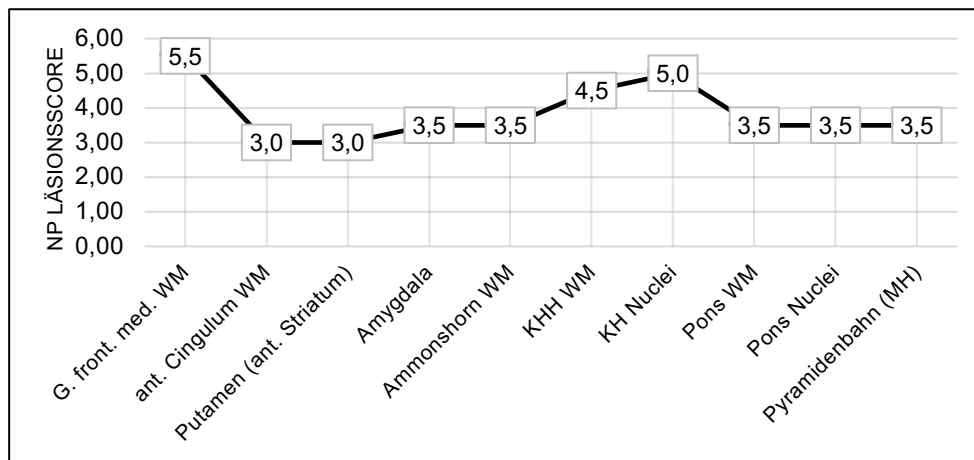


Abbildung 3: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 2

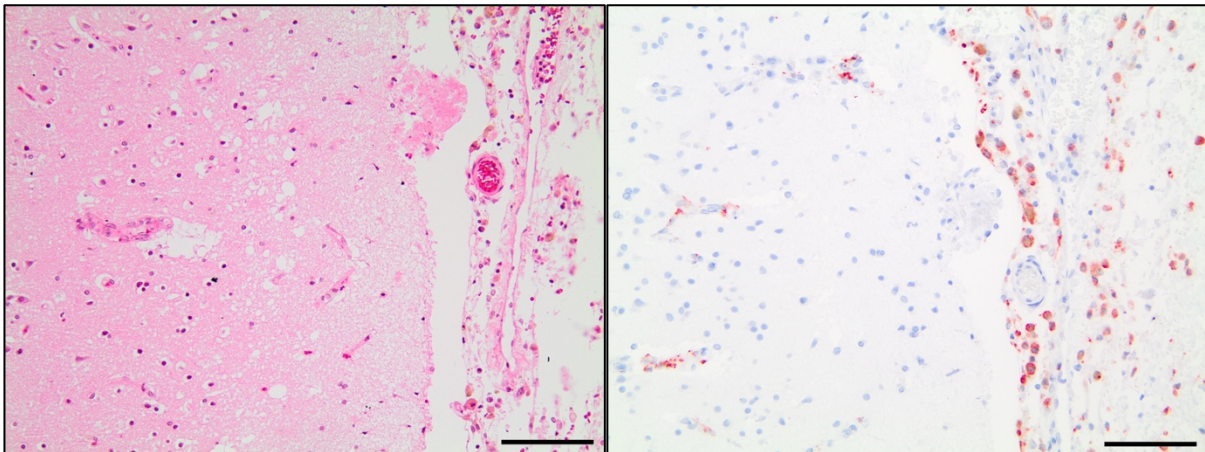


Abbildung 4: Bild (links) – Meningeale Makrophagen-Infiltration im G. frontalis medius von Fall 2 (HE-Färbung, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

Abbildung 5: Bild (rechts) - Meningeale Makrophagen-Infiltration im G. frontalis medius von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

### 4.2.3 Fall 3

Der 68-jährige Patient mit bekannter arterieller Hypertonie wurde 23 Tage vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet bei Fieber und Husten. Die Hospitalisierung erfolgte 20 Tage vor Tod. Bei respiratorischer Verschlechterung musste noch am selben Tag eine maschinelle Beatmung etabliert werden. Im Verlauf entwickelte der Patient eine Sepsis bei Candida-Pneumonie und Herzrhythmusstörungen. Neurologische Symptome wurden nicht berichtet. Letztendlich verstarb der Patient an einer superinfizierten interstitiellen Pneumonie. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 40 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Das Gehirn ist von sehr weicher Konsistenz. Eine Arteriosklerose ist nicht zu erkennen, ebenso keine Liquorstauung. Im Mark fallen starke Gefäßinjektionen mit fokal erkennbaren disseminierten Mikroembolien auf. Die Meningen sind zart. Das Marklager erscheint im Bereich des Claustrums etwas glasig. Der kaudale Bereich des Ammonshorns ist bräunlich verfärbt.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Im HE-Schnitt finden sich im G. frontalis medius und G. cinguli zahlreiche diffuse corticale und mäßig viele neuritische Plaques. Diese sind in der Beta-Amyloid-Immunreaktion reaktiv. Die CD68-Immunreaktion markiert in allen vier Großhirnarealen ausgeprägte Makrophagen-Cluster in der weißen Substanz, am stärksten ausgeprägt im G. frontalis medius. Bei gering bis mäßiger perivaskulärer und diffuser Mikroglia-Makrophagen-Aktivität der corticalen Bereiche ist in der weißen Substanz zusätzlich zu den auftretenden Makrophagen-Clustern stärkere diffuse Mikroglia zu erkennen. Die Meningen zeigen in allen Großhirnarealen nur mäßige Makrophagen-Aktivierung. Eine anti-Tau-Immunreaktion des G. frontalis medius zeigt kein Signal.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum erscheint im HE-Schnitt unauffällig. In den Basalganglien finden sich Gefäßwandmineralisationen. Verglichen mit dem Signal in den Großhirnarealen zeigt sich in Putamen und Pallidum eine nur geringe perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Aktivität in der CD68-Immunreaktion. Die absteigenden Bahnen bleiben weitgehend unbeteiligt. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert einige Tangles im Ncl. basalis Meynert.

**Amygdala:** In der Amygdala finden sich im HE-Schnitt zahlreiche senile Plaques. In der weißen Substanz zum Übergang in Richtung Basalganglien liegt ein fokaler Gewebedefekt. Die Beta-Amyloid-Immunreaktion markiert viele diffuse, auch perivaskuläre Amyloid- und einige neuritische Plaques. Es gelingt kein Nachweis einer Lewy-Pathologie in der alpha-Synuclein-Färbung. In der CD68-Immunreaktion zeigt sich nur eine geringe Mikroglia-Reaktion.

**Thalamus:** In der HE-Übersicht ist der Thalamus unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in Thalamus, Ncl. subthalamicus und Hypothalamus nur geringe Mikroglia-Reaktion.

**Ammonshorn:** Das Ammonshorn erscheint im HE-Schnitt unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in Ammonshorn und temporalem Cortex nur je gering diffuse Mikroglia- und perivaskuläre Makrophagen-Aktivität bei stärkerem Signal mit Makrophagen-Clustern in der weißen Substanz. Auch meningeal finden sich zahlreiche aktivierte Makrophagen. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert einzelne Tangles in CA1 bei sonst unauffälligem Befund. Auch die Beta-Amyloid-Immunreaktion markiert nur in der CA1-Region einzelne neuritische Plaques, sonst viele diffuse Plaques im entorhinalen Cortex. Es gelingt kein Nachweis von alpha-Synuclein-Aggregaten.

**Kleinhirn:** Kleinhirnwurm und Kleinhirnhemisphäre erscheinen im HE-Schnitt unauffällig. Bei geringer perivaskulärer Beteiligung im Cortex überwiegt in beiden Schnitten die Aktivität in der weißen Substanz. Im Kernbereich der Kleinhirnhemisphäre markiert die CD68-Immunreaktion starke diffuse Mikroglia-Aktivität bei mäßiger bis starker perivaskulärer Makrophagen-Aktivität. In der umgebenden weißen Substanz verstärkt sich das perivaskuläre Signal bei gleichbleibender diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Mittelhirn:** Im HE-Schnitt erscheint das Mittelhirn unauffällig. In der CD68-Immunreaktion findet sich in der Substantia nigra oder den Augenmuskelkernen nur geringe perivaskuläre Makrophagen- und diffuse Mikroglia-Aktivität bei erneut stärkerem Signal in den absteigenden Bahnen.

**Hirnstamm:** Bereits im HE-Schnitt sind in der weißen Substanz zwei große Demarkationen zu erkennen, die sich in der CD68-Immunreaktion als Makrophagen-Cluster markieren. Das Mark zeigt im Vergleich zur weißen Substanz der Großhirnareale dennoch nur geringe bis mäßige perivaskuläre und diffuse Makrophagen- und Mikroglia-Aktivität, die Kerngebiete zeigen nur ein geringes Signal.

### **Interpretation:**

Erneut ist die Mikroglia-Makrophagen-Reaktion der weißen Substanz mit großen Makrophagen-Clustern stärker ausgeprägt als die Veränderungen in Rindenarealen. Die weiße Substanz des Kleinhirns mit den Kleinhirnkernen zeigt insgesamt die stärkste diffuse Mikroglia-Aktivität.

Die neurodegenerative Diagnostik ergibt hinsichtlich der Beta-Amyloid-Pathologie ein Stadium CERAD C, hinsichtlich der Tau-Pathologie ein Stadium Braak & Braak I.

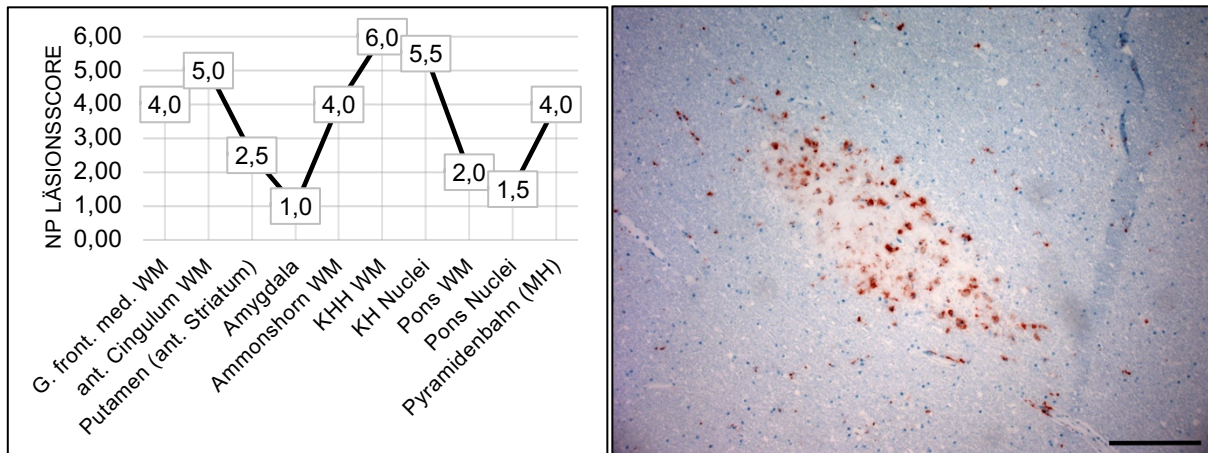


Abbildung 6: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 3

Abbildung 7: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im occipitalen Cortex von Fall 3 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.4 Fall 4

Bei einem 60-jährigen Patienten wird 50 Tage vor Tod erstmals Fieber beobachtet. Die erste positive Testung auf SARS-CoV-2 erfolgt 47 Tage vor Ableben. Der Patient war ehemaliger Raucher mit 30 pack-years. Eine stationäre Einweisung erfolgte 46 Tage, die Etablierung einer mechanischen Beatmung 41 Tage vor Tod. Im Krankheitsverlauf wurde keine neurologische Symptomatik beschrieben. Der Patient entwickelte eine Sepsis mit superinfizierter interstitieller Pneumonie. Insgesamt erfolgte über 30 Tage eine Versorgung mit ECMO. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 68 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Der Befund ist unauffällig, bis auf eine deutliche Kleinhirnwurm-Atrophie, die nicht Oberwurm-betont ist.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte sind in der HE-Übersicht unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert erneut stärkere perivaskuläre und diffuse Mikroglia-Aktivität der weißen Substanz verglichen mit Rindenarealen. Es finden sich jedoch keine Makrophagen-Cluster.

**Basalganglien:** Im HE-Schnitt sind anteriores Striatum und Basalganglien unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Kerngebieten und im Mark durchweg nur gering bis mäßige Mikroglia-Aktivität.

**Amygdala:** Im HE-Schnitt der Amygdala zeigen sich keine Auffälligkeiten. Bei einem geringen perivaskulären Makrophagen-Pattern findet sich in der CD68-Immunreaktion fast keine diffuse mikrogliale Aktivität.



**Thalamus:** Der Thalamus ist im HE-Schnitt morphologisch unauffällig. Thalamus und Ncl. subthalamicus zeigen in der CD68-Immunreaktion ein nur minimales perivaskuläres und diffuses Reaktionsmuster.

**Ammonshorn:** Im HE-Schnitt des Ammonshorns finden sich einige Tangles. Diese sind mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. Die CD68-Immunreaktion markiert in Ammonshorn und temporalem Cortex nur geringe diffuse Mikroglia-Aktivität, während in der weißen Substanz eine heftige Mikroglia-Aktivierung bei geringer perivaskulärer Komponente zu beobachten ist.

**Kleinhirn:** Die HE-Färbungen von Kleinhirnwurm- und -hemisphäre zeigen lediglich einen leicht verminderten Purkinje-Zellbesatz. In corticalen Arealen findet sich in beiden Schnitten in der CD68-Immunreaktion nur sehr wenig Signal. Die weiße Substanz zeigt zwar relativ zum Cortex stärkeres Signal, jedoch ist insbesondere das diffuse Mikroglia-Signal sehr schwach.

**Mittelhirn:** Der HE-Schnitt des Mittelhirns ist unauffällig. Die Kerngebiete zeigen in der CD68-Immunreaktion nur geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität bei sehr schwachem diffusem Mikroglia-Signal. Relativ dazu ist die Mikroglia-Aktivierung in den absteigenden Bahnen mit mäßig bis kräftigem Signal stärker.

**Hirnstamm:** Im HE-Schnitt ist der Pons unauffällig. In der Medulla oblongata finden sich in Nähe zum Ncl. n. trigemini bereits in der HE-Färbung sichtbare Makrophagen-Cluster. In der CD68-Immunreaktion bestätigt sich eine mäßige diffuse Mikroglia-Aktivität im Hirnnerven-Kernbereich mit ebenfalls mäßiger perivaskulärer Komponente, während die Mikroglia-Aktivität in den absteigenden Bahnen nur eine geringe Ausprägung zeigt.

### **Interpretation:**

Erneut dominiert in der CD68-Immunreaktion die Mikroglia-Aktivierung in der weißen Substanz gegenüber corticalen Arealen. Anders als in bisherigen COVID-19-Autopsien zeigt die weiße Substanz im Kleinhirn wenig Mikroglia-Makrophagen-Aktivität. Stattdessen liegt der Fokus der Pathologie in den Kernbereichen des Hirnstamms, etwa den Nuclei des Pons.

Die neurodegenerative Diagnostik liefert keinen pathologischen Befund.



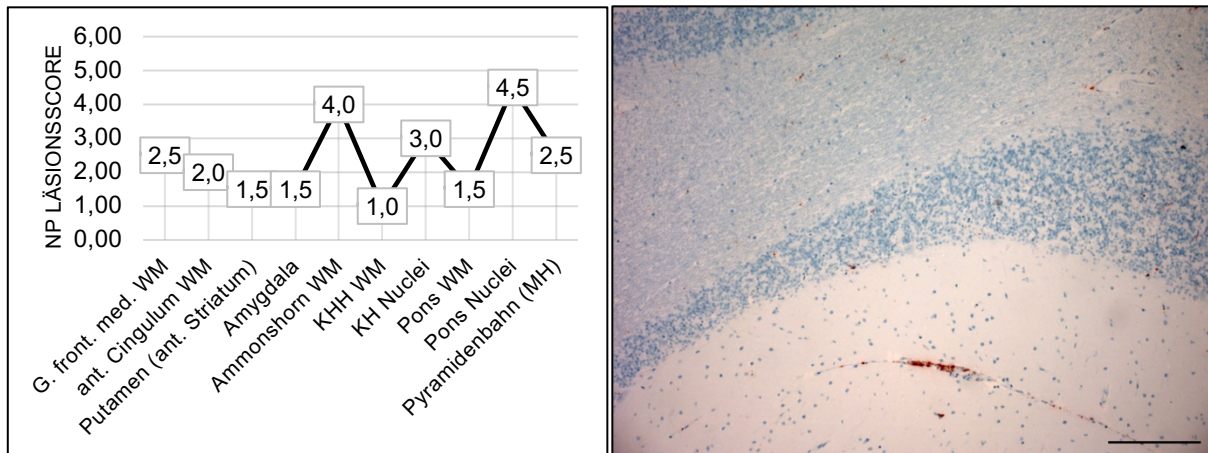


Abbildung 8: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 4

Abbildung 9: Bild (rechts) – Geringe Mikroglia-Reaktion im Mark des Kleinhirns von Fall 4 (CD68-Immunreaktion, 10-fache Vergrößerung, Maßstab = 200 µm)

#### 4.2.5 Fall 5

Der 79-jährige Patient berichtete zwei Wochen vor Hospitalisierung erstmals von thorakalen Schmerzen. Im Verlauf erfolgte erst eine positive, dann eine negative Testung auf SARS-CoV-2. Bekannte Vorerkrankungen waren arterielle Hypertonie mit koronarer Herzkrankheit (KHK) und Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und schwere Arteriosklerose. Die Hospitalisierung erfolgte nach Kreislaufstillstand und Reanimation 24 Tage vor Tod. Der Patient entwickelte eine superinfizierte interstitielle Pneumonie mit konsekutiver Sepsis und Nierenversagen. Die Beatmungsentwöhnung war verlängert bei vermutetem prolongiertem Psychosyndrom. Die Beatmungstherapie wurde bis 6 Tage vor Tod fortgesetzt. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 34 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Bereits makroskopisch ist eine schwere Arteriosklerose und eine dilatative Kardiomyopathie zu erkennen. In den Basalganglien rechts und dem Ncl. caudatus links liegen kavitätäre Defekte vor. Weitere Gewebedefekte finden sich im G. frontalis medius, dem Corpus mamillare, der Zen-tralregion und dem lateralen occipitalen Cortex rechts.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In den HE-Färbungen der corticalen Anschnitte finden sich glomeruloide Gefäßproliferationen und perivaskuläre Auflockerungen. Im Anschnitt des G. frontalis medius zeigt sich ein Rindeninfarkt. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Rindenarealen des G. frontalis medius und der Area striata eine starke Mikroglia-Reaktion mit Foci-Bildung im Rahmen einer Rindennekrose. Im Cingulum und dem G. parietalis inferior ist in der weißen Substanz die diffuse

und perivaskuläre Aktivität stärker ausgeprägt als in den corticalen Arealen. In den Meningen ist in allen Anschnitten nur schwache Makrophagen-Aktivität zu erkennen.

**Basalganglien:** In der HE-Färbung finden sich im anterioren Striatum erneut glomeruloide Gefäße und arteriosklerotisch veränderte Anschnitte der A. cerebri media. Im Anschnitt der Basalganglien liegt im Pallidum ein Infarkt mit Fasergliose und ein weiterer Mikroinfarkt im Putamen vor. Einzelne Gefäßwandanschnitte sind mineralisiert. Die CD68-Immunreaktion markiert lediglich in den Meningen und im frontobasalen Cortex geringe Aktivität. Im Putamen, dem Ncl. caudatus und dem Pallidum läuft dagegen eine ausgeprägte diffuse Mikroglia-Reaktion ab mit Wolken kleiner kondensierter Makrophagen. Die perivaskuläre Makrophagen-Aktivierung ist schwächer ausgeprägt. Auch in der Pyramidenbahn findet sich eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion.

**Amygdala:** Im HE-Schnitt ist in der Amygdala eine astrozytäre Gliose bei relativem Erhalt der Nervenzellen zu erkennen. Die CD68-Immunreaktion bestätigt eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion bei geringer perivaskulärer Makrophagen-Aktivität.

**Thalamus:** Auch in der HE-Übersicht der thalamischen Areale ist eine astrozytäre Gliose zu erkennen. Im Ncl. subthalamicus finden sich viele pigmentierte Makrophagen und ebenfalls Gliose. Die CD68-Immunreaktion markiert sowohl im Thalamus als auch im Ncl. subthalamicus eine starke diffuse Mikroglia-Makrophagen-Reaktion. Im Ncl. subthalamicus sind dabei die Makrophagen weniger pigmentiert und immunreaktiver. Die Pyramidenbahn zeigt eine ebenso kräftige Mikroglia-Reaktion bei stärkerer perivaskulärer Makrophagen-Aktivität.

**Ammonshorn:** In der HE-Färbung ist in der CA1-Region ein deutlicher hypoxischer Nervenzellverlust und Gliose zu erkennen. Im transentorhinalen Cortex zeigt sich eine laminäre Rindennekrose. Die CD68-Immunreaktion markiert perivaskuläre Makrophagen im Hypoxieareal. Die weiße Substanz zeigt relativ zum Ammonshorn deutlich weniger Signal mit nur geringer diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Kleinhirn:** Im HE-Schnitt des Kleinhirnwurms sind die Purkinje-Zellen deutlich ausgedünnt. In der Kleinhirnhemisphäre zeigt sich eine deutlich aktivierte Bergmann-Glia. Bei geringer meningealer Makrophagen-Aktivität markiert die CD68-Immunreaktion eine starke, fleckförmige corticale Mikroglia-Einwanderung bei nur geringer perivaskulärer Makrophagen-Aktivität. In den Kleinhirnkernen findet sich das gleiche Muster. In der weißen Substanz ist in beiden Schnitten nur geringes Signal auszumachen.

**Mittelhirn:** In der HE-Färbung ist eine Mikroglia-Reaktion in der Substantia nigra zu erkennen. Die CD68-Immunreaktion markiert eine nur sehr geringe diffuse und perivaskuläre Mikroglia-Makrophagen-Aktivität in den Kerngebieten bei mäßigem diffusem und perivaskulärem Signal in den absteigenden Bahnen.

**Hirnstamm:** Pons und Medulla sind in der HE-Färbung unauffällig. Lediglich im Ncl. n. hypoglossi sind die Neurone leicht rarifiziert. Die CD68-Immunreaktion markiert in der Umgebung der Ponsneurone eine stärkere diffuse Mikroglia-Aktivität als in der weißen Substanz. In der Medulla oblongata findet sich sowohl in der weißen Substanz als auch in den Kerngebieten nur noch sehr geringes Signal.

**Interpretation:**

Insgesamt liegt eine hypoxische Encephalopathie mit deutlichem Nervenzellverlust und ausgeprägter Gliose vor. Zeichen für akute Hypoxie finden sich im hypoxischen Nervenzellverlust in der CA1-Region des Ammonshorns, in diversen Rindennekrosen und der ausgedünnten Purkinje-Zell-Schicht mit aktivierter Bergmann-Glia im Kleinhirn.

Die kardiovaskulären Vorerkrankungen lassen sich nachvollziehen: Die glomeruloide Gefäßproliferation und perivaskuläre Auflockerung in den Großhirnarealen ist Hinweis für eine chronische arterielle Hypertonie. Die rarifizierte Neuronendichte im Ncl. n. hypoglossi deutet auf chronische Hypoxie im Rahmen kardiovaskulärer Ereignisse hin.

Die Makrophagen-Reaktivität unterscheidet sich teilweise von der bisher beschriebenen COVID-19-Pathologie. Es handelt sich nicht um die bekannten Makrophagen-Cluster in der weißen Substanz, sondern um wolkenartig verteilte kondensierte Makrophagen in den Basalganglien, die einen älteren hypoxischen Schaden zeigen. Gleiches gilt für die pigmentspeichernden perivaskulären Makrophagen im Ammonshorn. Insgesamt findet sich – der klinischen Vorgeschichte geschuldet – in corticalen Arealen stärkere Makrophagen-Aktivität. Lediglich im Ncl. subthalamicus lässt sich ein etwas weniger pigmentiertes Defektareal ausmachen, welches später als die anderen beschriebenen Schäden entstanden ist.

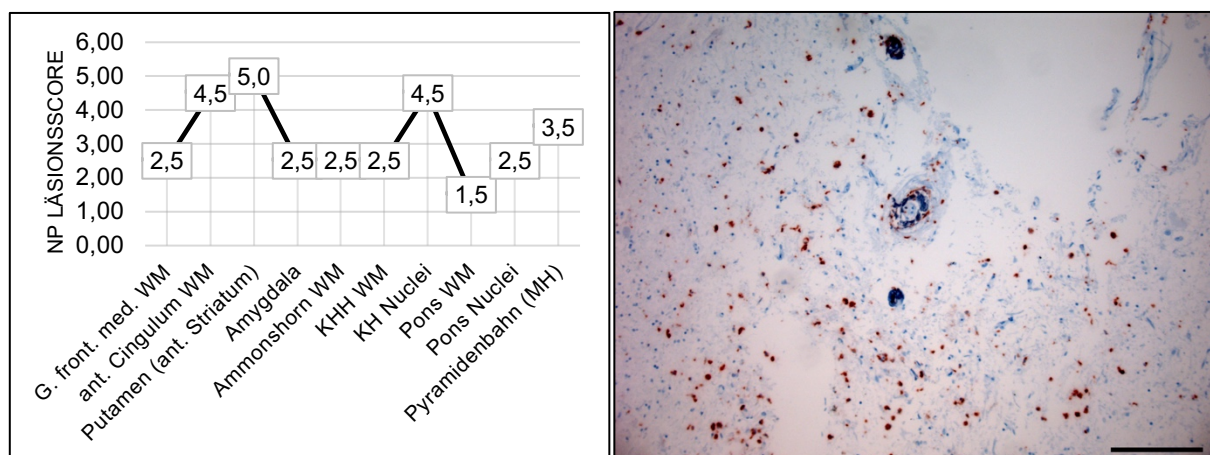


Abbildung 10: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 5

Abbildung 11: Bild (rechts) – Wolkenartige Makrophagen im Infarktareal der Basalganglien von Fall 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.6 Fall 6

Die 96-jährige Patientin wurde 10 Wochen vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Es wurde lediglich von milden Symptomen einer Bronchitis berichtet. Eine neurologische Beeinträchtigung wurde nicht beschrieben. An Vorerkrankungen waren lediglich Herzrhythmusstörungen bekannt. Die Patientin verstarb an einer Urosepsis nach Pyelonephritis bei Nephrolithiasis. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 44 Stunden.

##### **Makropathologische Veränderungen:**

Im makroskopischen ZNS-Befund ist keine Arteriosklerose zu erkennen. Die Liquorräume sind nicht erweitert. Der Befund ist insgesamt unauffällig.

##### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die HE-Färbungen der corticalen Anschnitte zeigen Mottenfraß-artige perivaskuläre Auflockerungen in der weißen Substanz bei wandverdickten Gefäßen. Im Anschnitt des G. cinguli ist eine Demyelinisierung um das Ventrikelsystem zu beobachten. Weiterhin zeigen sich sowohl im Cingulum als auch in der Area striata die corticalen Neurone sehr eosinophil. In der CD68-Immunreaktion ist die diffuse Mikroglia-Aktivität in den corticalen Arealen auf geringem Niveau stets gleich oder stärker als in der weißen Substanz bei überwiegendem perivaskulärem Makrophagen-Signal. Lediglich in der Area striata sind Bereiche in der weißen Substanz mit mäßig bis starker diffuser Mikroglia-Aktivität zu finden. In den Meningen ist in allen corticalen Anschnitten nur schwache bis mäßige Makrophagen-Aktivität auszumachen. Im G. parietalis inferior ist eine Thrombosierung meningealer Gefäße zu beobachten, die jedoch bereits komplett revaskularisiert ist. Die Beta-Amyloid-Immunreaktion im Cingulum zeigt keine Auffälligkeiten.

**Basalganglien:** Im anterioren Striatum und den Basalganglien finden sich in der HE-Färbung deutliche arteriosklerotische Veränderungen im Stromgebiet der A. cerebri media. Um die Gefäße der Basalganglien kommt es zu perivaskulärer Auflockerung. Einzelne Gefäßanschnitte zeigen außerdem Mineralisationen in der Gefäßwand. Die CD68-Immunreaktion markiert in der Inselrinde und dem frontobasalen Cortex nur sehr geringe Mikroglia-Aktivität. Putamen, Pallidum und Ncl. caudatus zeigen eine mäßig bis starke diffuse Mikroglia-Reaktion bei nur geringer perivaskulärer Makrophagen-Aktivierung. In den Bahnsystemen ist nur sehr geringes Signal auszumachen.

**Amygdala:** Die HE-Färbung der Amygdala zeigt eine Auflockerung der Gewebematrix mit Mikrovakuolisierung und geringer Gliose. Der Nervenzellbesatz ist nicht vermindert. In der CD68-Immunreaktion findet sich geringes diffuses Mikroglia-Signal bei gering bis mäßiger perivaskulärer Makrophagen-Aktivierung.

**Thalamus:** Die HE-Färbung des Thalamus ist unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in Thalamus und Ncl. subthalamicus nur sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität. Im Ncl. subthalamicus wird keine diffuse Mikroglia markiert. In den absteigenden Bahnen ist ein nur geringes perivaskuläres Makrophagen-Pattern bei sehr geringer diffuser mikroglialer Aktivität zu erkennen.

**Ammonshorn:** Die HE-Färbung des Ammonshorns zeigt eine granulovakuoläre Degeneration und Tangles. Diese sind teilweise mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. In der Beta-Amyloid-Immunreaktion werden nur wenige diffuse Plaques im temporalen Cortex markiert. Im Marklager kommt es zu perivaskulären Auflockerungen bei hyalinisierten Gefäßwänden. Das Rindenband ist verschmälert. Die CD68-Immunreaktion markiert in Meningen, Ammonshorn, temporalem Cortex und der weißen Substanz gleichermaßen nur sehr geringe perivaskuläre und diffuse Mikroglia-Makrophagen-Aktivität.

**Kleinhirn:** In der HE-Färbung zeigen Kleinhirnwurm und -hemisphäre erneut perivaskuläre Auflockerungen. Die Rindenschicht ist altersgerecht verschmälert. Die CD68-Immunreaktion markiert in der Rinde nur sehr geringes Signal bei stärkerer perivaskulärer und diffuser Mikroglia-Makrophagen-Aktivität in der weißen Substanz. Das Kleinhirn-Kerngebiet sticht heraus mit mäßiger diffuser und perivaskulärer Reaktivität.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. In den Kerngebieten markiert die CD68-Immunreaktion ein nur sehr geringes diffuses und perivaskuläres Pattern. Stärkere, aber ebenfalls nur geringe Mikroglia-Aktivität findet sich in den absteigenden Bahnen.

**Hirnstamm:** Im HE-Schnitt des Pons ist der Anschnitt der A. basilaris arteriosklerotisch verändert. Im abgehenden N. trigeminus ist ein entzündliches Infiltrat zu erkennen. In den Ponsneuronen befindet sich ein umschriebener Herd aus pigmentierten Makrophagen. Einzelne Tangles sind im Locus coeruleus zu finden. Diese sind mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv. Die Medulla oblongata ist im HE-Schnitt unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert sowohl im Pons als auch in der Medulla oblongata in den Kerngebieten mehr diffuse mikrogliale Aktivität als in der weißen Substanz. Der in den Ponsneuronen beschriebene Herd zeigt ältere, pigmentierte Makrophagen mit umgebender starker diffuser Mikroglia-Reaktion. In der weißen Substanz und der Pyramidenbahn ist in beiden Schnitten nur mäßig diffuse Mikroglia-Aktivität auszumachen.

### **Interpretation:**

Insgesamt liegt eine starke Arteriosklerose vor mit wandverdickten Gefäßen, etwa in den corticalen Anschnitten, und perivaskulärer Auflockerung. In den Basalganglien ist sogar ein Status cribrosus zu beobachten.

Weiterhin gibt es Anzeichen auf perimortale globale Hypoxie, z. B. eosinophile Neurone in der Area striata. In der CA1-Region des Ammonshorns waren jedoch keine hypoxischen Neurone sichtbar.

Wie in bisherigen COVID-19-Autopsien besteht auch hier wieder eine Betonung der Mikroglia-Makrophagen-Aktivierung in der weißen Substanz relativ zu den Rindenarealen im Kleinhirn. In den Kleinhirnkernen findet sich erneut starke Aktivität. Der in den Ponsneuronen beschriebene Herd mit pigmentierten Makrophagen und heftiger Mikroglia-Reaktion ähnelt COVID-19-assoziierten Makrophagen-Clustern.

Die Diagnostik auf neurodegenerative Erkrankungen ergab eine Tau-Pathologie entsprechend Braak & Braak III.

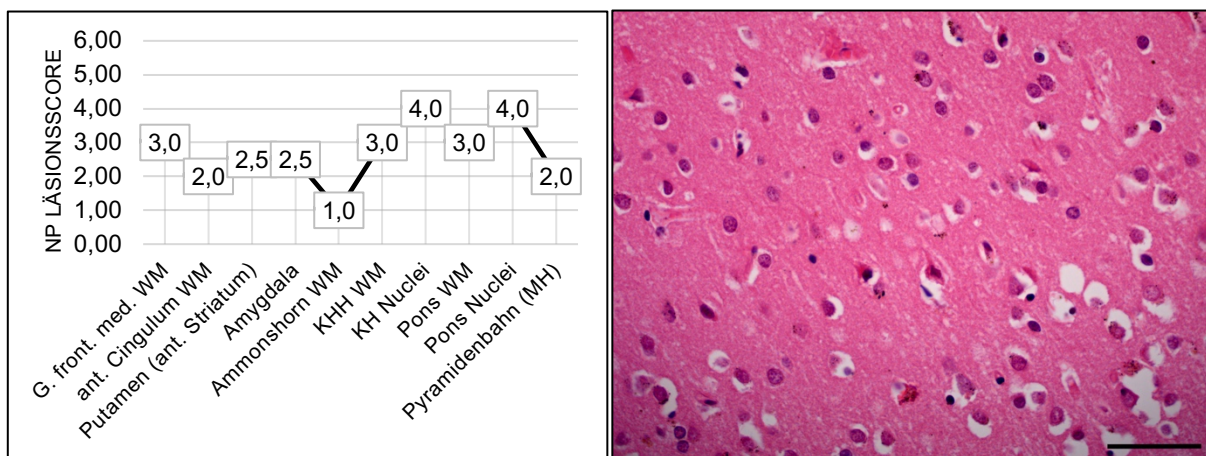


Abbildung 12: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 6

Abbildung 13: Bild (rechts) – Eosinophile hypoxische Neurone in der Area striata von Fall 6 (HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)

#### 4.2.7 Fall 7

Der 69-jährige Patient wurde 26 Tage vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 durch PCR getestet. Die initiale Symptomatik bestand aus Dyspnoe und Husten. In der Patientengeschichte waren eine arterielle Hypertonie und Vorhofflimmern bekannt. Die Hospitalisierung erfolgte 22 Tage vor Tod wegen respiratorischer Insuffizienz bei interstitieller Pneumonie mit bakterieller Superinfektion. Insgesamt wurde der Patient 21 Tage mechanisch beatmet und erhielt 16 Tage eine unterstützende ECMO-Therapie. Vier Tage vor Tod erfolgte die letzte positive Testung auf SARS-CoV-2. Drei Tage vor Tod wurden lichtstarre Pupillen beobachtet, jedoch ohne ischämische Läsionen in der kranialen Bildgebung. Die Postmortalzeit vor Autopsie beträgt 48 Stunden.

### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache eine interstitielle Pneumonie in Kombination mit dilativer Kardiomyopathie. Makroskopisch ist das Gehirn unauffällig.

### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte erscheinen in der HE-Übersichtfärbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Meningen in allen Anschnitten nur geringe Makrophagen-Aktivität. Im Cingulum, dem G. parietalis inferior und der Area striata ist in den Rindenschichten stärkere mikrogliale Aktivität auszumachen als in der weißen Substanz bei Dominanz der perivaskulären Makrophagen-Aktivität. Lediglich im G. frontalis medius findet sich eine mäßige bis starke diffuse Mikrogliareaktion in der weißen Substanz.

**Basalganglien:** Im HE-Schnitt sind anteriores Striatum und die Basalganglien unauffällig. In der CD68-Immunreaktion findet sich in frontobasalem Cortex und Riechhirn keine diffuse mikrogliale Aktivität. Auch in der Inselrinde wird nur sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität markiert. Die kreuzenden Bahnen, Pallidum und Putamen zeigen nur geringe diffuse Mikroglia-Aktivität bei Überwiegen der perivaskulären Makrophagen-Reaktion. Lediglich in der weißen Substanz im anterioren Striatum ist mäßige diffuse mikrogliale Aktivität feststellbar.

**Amygdala:** Die Amygdala erscheint im HE-Schnitt unauffällig. Bei geringer diffuser Mikroglia-Aktivität in der Amygdala selbst markiert die CD68-Immunreaktion eine starke perivaskuläre Makrophagen-Reaktion in der weißen Substanz bei mäßiger diffuser Mikroglia-Aktivierung.

**Thalamus:** Der Thalamus erscheint im HE-Schnitt unauffällig. In der CD68-Immunreaktion ist im Corpus mamillare und im Hypothalamus die geringe bis mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion stärker ausgeprägt als die nur geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivierung, während in den absteigenden Bahnen die geringe bis mäßige Makrophagen-Aktivität überwiegt.

**Ammonshorn:** In der HE-Färbung finden sich keine Auffälligkeiten im Ammonshorn. In der CD68-Immunreaktion wird eine mäßige perivaskuläre und diffuse Mikroglia-Makrophagen-Aktivität markiert. Der temporale Cortex und die umgebende weiße Substanz zeigen etwas schwächere, ebenfalls gleichstarke Pattern.

**Kleinhirn:** Bis auf einige Corpora amyloacea ist das Kleinhirn unauffällig in den HE-Schnitten. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine mäßige Makrophagen-Aktivität in den Meningen und nur sehr schwache diffuse mikrogliale und perivaskuläre Makrophagen-Reaktion in den Rindenschichten. Relativ dazu findet sich ein erhöhtes Signal in der weißen Substanz und den Kleinhirnkern-Bereichen mit gering bis mäßiger diffuser und perivaskulärer Mikroglia-Aktivierung.



**Mittelhirn:** Im HE-Schnitt erscheint das Mittelhirn unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in der Substantia nigra eine geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivierung bei schwacher diffuser mikroglialer Aktivität. Periventrikulär und im Bereich der Augenmuskelkerne zeigt sich eine starke diffuse Mikroglia-Aktivierung bei gering bis mäßiger Makrophagen-Aktivität. In den absteigenden Bahnen sind beide Komponenten nur schwach ausgeprägt.

**Hirnstamm:** In Pons und Medulla oblongata sind in der HE-Übersicht viele Corpora amylacea in den absteigenden Bahnen auszumachen. Die Neurone im Ncl. n. hypoglossi erscheinen zentral reduziert. In der CD68-Immunreaktion zeigt sich in der weißen Substanz und den absteigenden Bahnen eine nur sehr schwache diffuse Mikroglia-Aktivität und teilweise keine perivaskuläre Makrophagen-Reaktion. In den Hirnnervenkernen findet sich dagegen eine sehr starke Mikroglia-Reaktion mit satten Makrophagen-Clustern bei mäßiger perivaskulärer Makrophagen-Reaktion.

**Interpretation:**

Es findet sich kein Anhalt für eine neurodegenerative Erkrankung. Hinsichtlich der CD68-Verteilung ergibt sich ein ähnliches, aber schwächeres Bild als bei vorherigen Befunden: Die weiße Substanz zeigt stärkeres Signal als Rindenschichten. Während vergleichsweise geringe Mikroglia-Aktivität im Kleinhirnmark und -kernegebiet zu erkennen ist, finden sich die bekannten Cluster in den Kerngebieten im Hirnstamm und erstaunlich kräftige diffuse Mikroglia-Aktivität im Mittelhirn.

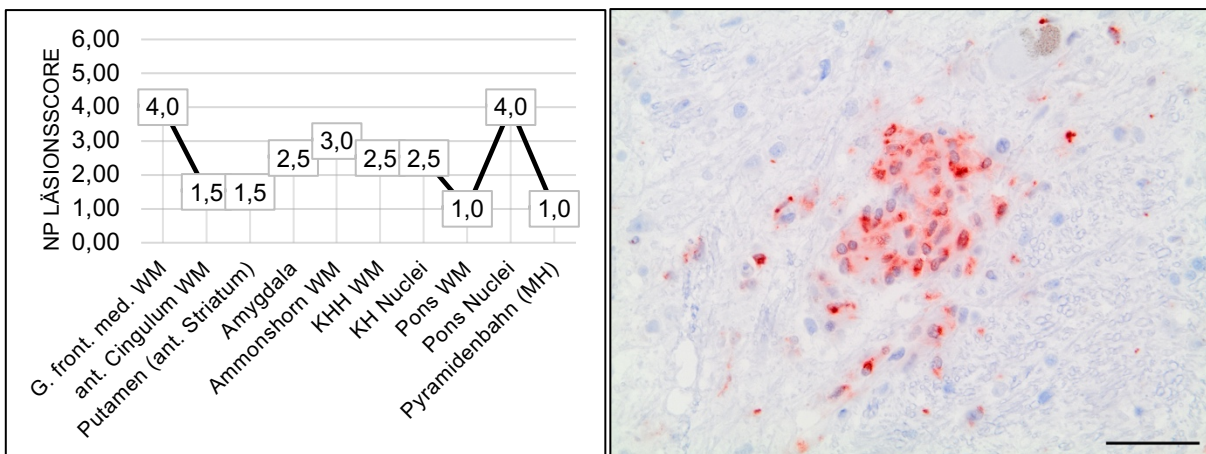


Abbildung 14: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 7

Abbildung 15: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im Ncl. tractus solitarii von Fall 7 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)



#### 4.2.8 Fall 8

Der 57-jährige Mann befand sich in häuslicher Quarantäne wegen SARS-CoV-2-Infektion. Der Zeitpunkt der ersten positiven Testung war unbekannt. An Vorerkrankungen bestand eine arterielle Hypertonie und Vorhofflimmern. Die Hospitalisierung erfolgte wegen zunehmender Dyspnoe bei interstitieller Pneumonie. Es wurden keine neurologischen Auffälligkeiten berichtet. Bei Aufnahme wurde initial mit einer Sauerstofftherapie begonnen. In der ersten Nacht im Krankenhaus kam es jedoch zu weiter zunehmender respiratorischer Insuffizienz und es bestand eine Indikation zur ECMO-Therapie. Der Patient verstarb in der Aufnahmenacht.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die makroskopische Obduktion ergab als Todesursache eine interstitielle Pneumonie in Kombination mit hypovolämischem Schock. Die Körperorgane wurden nach Entnahme mittels PCR positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Makroskopisch war das Gehirn unauffällig.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung sind die corticalen Anschnitte unauffällig, abgesehen von einer glomeruloiden Gefäßproliferation in den oberen Rindenschichten. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Meningen nur geringe bis mäßige Makrophagen-Aktivität. In den Rindenschichten sind diffuse Mikroglia-Aktivität und perivaskuläre Makrophagen-Reaktion durchweg geringer ausgeprägt als in der weißen Substanz. Dort dominiert bei mäßig bis starkem diffusem Mikroglia-Signal eine starke perivaskuläre Makrophagen-Reaktion. Es finden sich keine Makrophagen-Cluster.

**Basalganglien:** Die Basalganglien und das anteriore Striatum sind in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert im Putamen lediglich eine sehr schwache perivaskuläre Makrophagen-Aktivierung bei fehlender diffuser Mikroglia-Reaktion. In der weißen Substanz ist eine schwache diffuse Mikroglia-Reaktion erkennbar. Am stärksten, jedoch insgesamt ebenfalls schwach ausgeprägt, ist das Signal beider Komponenten um den Ncl. caudatus.

**Amygdala:** Auch die Amygdala ist in der HE-Färbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert keine diffuse mikrogliale und nur sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität.

**Thalamus:** Die Standardregion zur Auswertung fehlt.

**Ammonshorn:** Das Ammonshorn zeigt in der HE-Färbung ziegelrote Neurone mit verdämmernden Zellkernen in der CA1-Region. Die CD68-Immunreaktion markiert im Ammonshorn nur sehr geringe diffuse mikrogliale Aktivität bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Makrophagen-Reaktion. Im Mark findet sich ein umgekehrtes Bild mit nur geringem perivaskulärem Makrophagen-Signal und stärkerer Mikroglia-Aktivierung.

**Kleinhirn:** Das Kleinhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Meningen nur mäßige Besiedlung mit Makrophagen. In den corticalen Anschnitten findet sich nur geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität, aber keine diffuse Mikroglia-Reaktion. Im Vergleich zu den bisherigen COVID-19-Autopsien ist im Marklager eine nur sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität und ein geringer perivaskulärer Makrophagen-Saum feststellbar. Ein ebenso verhältnismäßig schwaches Signal findet sich in den Kleinhirnkernen.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in der Substantia nigra ein geringes perivaskuläres Makrophagen-Signal bei fehlender diffuser Mikroglia. In den Augenmuskelkernen findet sich eine stärkere, geringe bis mäßige Makrophagen-Aktivität bei immerhin geringer diffuser Mikroglia-Reaktion. Deutlich stärkeres Signal findet sich in den absteigenden Bahnen mit mäßiger bis starker diffuser Mikroglia-Aktivität und starkem perivaskulärem Makrophagen-Saum.

**Hirnstamm:** Im Pons findet sich in der HE-Färbung im Locus coeruleus ein einzelnes Tangle, welches mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv ist. Die Medulla oblongata ist morphologisch unauffällig. Im Pons markiert die CD68-Immunreaktion in der weißen Substanz jeweils nur geringe perivaskuläre und diffuse Aktivität, während in den Kerngebieten ein mäßig bis starkes perivaskuläres Makrophagen-Pattern bei sehr geringer diffuser Aktivität vorliegt. Auch in der Medulla findet sich in den Kerngebieten ein stärkeres Signal als in der weißen Substanz. Der Ncl. cuneatus zeigt starke diffuse Mikroglia-Aktivität und Makrophagen-Cluster bei mäßiger perivaskulärer Beteiligung.

### **Interpretation:**

Im Ammonshorn finden sich diffuse Hypoxiezeichen in der CA1-Region. Die glomeruloide Gefäßproliferation in den corticalen Schnitten weist auf chronischen arteriellen Hypertonus hin. Es finden sich keine Anzeichen für neurodegenerative Erkrankungen.

Hinsichtlich der COVID-19-assoziierten Mikroglia-Makrophagen-Pathologie liegt erneut ein Fokus auf der weißen Substanz verglichen mit Rindenschichten. Im Kleinhirn findet sich dabei erstaunlich geringe Aktivität, jedoch in ausgeprägtem Maße in den absteigenden Bahnen und den Kerngebieten im Hirnstamm.

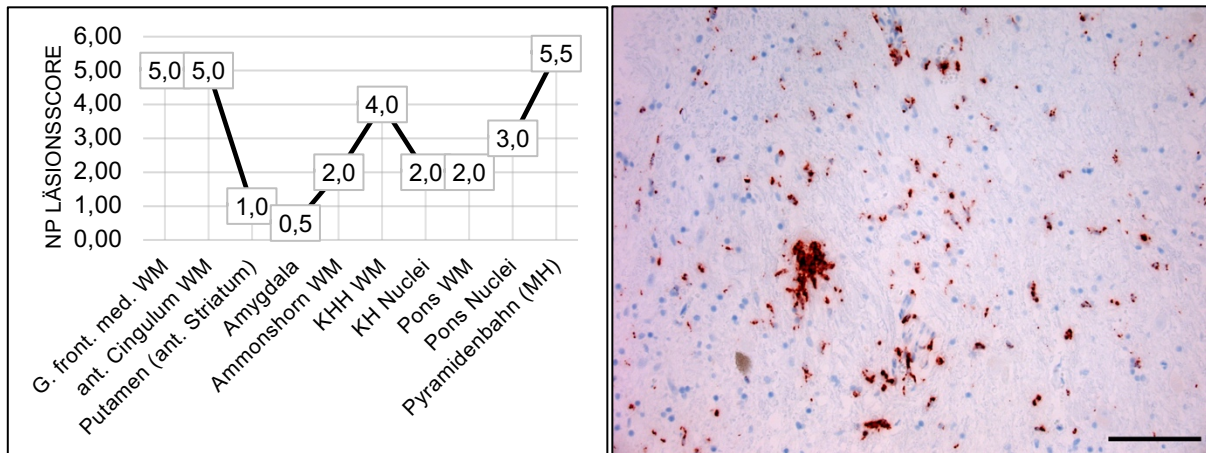


Abbildung 16: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 8

Abbildung 17: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im Ncl. cuneatus von Fall 8 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.9 Fall 9

Die 69-jährige Patientin wurde einige Tage vor Tod zufällig positiv auf SARS-CoV-2 getestet und befand sich bei Symptombefreiheit in häuslicher Quarantäne. An Vorerkrankungen bestand eine arterielle Hypertonie und eine systemische Vaskulitis mit immunsuppressiver Glucocorticoid-Therapie. Die Patientin wurde von Angehörigen bewusstlos zuhause aufgefunden. Eine kardiopulmonale Reanimation verlief erfolglos. Eine erneute SARS-CoV-2-PCR bei Eintreffen im Krankenhaus war positiv. Die Postmortalzeit vor Autopsie beträgt 58 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Nach Obduktion wurde als Todesursache ein hypovolämischer Schock bei akuter Aortendissektion festgestellt.

Makroskopisch ist eine mäßige Arteriosklerose in den Carotiden zu erkennen. Die Liquorräume sind nicht erweitert. Die Ammonshörner erscheinen beidseits klein. Parietooccipital sind die Marklager blutgestaut, ebenso der Thalamus. Das Putamen ist bläulich verfärbt.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In den HE-Färbungen der corticalen Areale fällt eine glomeruloide Gefäßproliferation auf. Im G. parietalis inferior sind Plaques zu erkennen, die sich in der Beta-Amyloid-Immunreaktion als einige diffuse mit einzelnen neuritischen Plaques markieren. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine sehr geringe Makrophagen-Aktivität in den Meningen, abgesehen vom G. cinguli mit mäßiger meningealer Makrophagen-Besiedlung. In der weißen Substanz ist eine geringe

bis mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion auszumachen. In den Rindenschichten ist dagegen zu-  
meist eine sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität festzustellen. Besonders im G.  
parietalis inferior ist die diffuse Mikroglia häufig assoziiert mit beta-Amyloid-Plaques.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien sind in der HE-Färbung mor-  
phologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in angeschnittenen Meningen resi-  
duelle kondensierte Makrophagen mit absorbiertem Pigment. Am Bulbus olfactorius ist eine  
geringe bis mäßige Mikroglia-Reaktion zu erkennen. Die frontobasalen corticalen Anschnitte  
und die Inselrinde zeigen ein nur sehr schwaches diffuses und perivaskuläres Signal. Sowohl  
die Kerngebiete in den Basalganglien als auch die kreuzenden Bahnen zeigen durchweg ein  
schwaches perivaskuläres und diffuses Signal.

**Amygdala:** Die Amygdala erscheint in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. In der  
CD68-Immunreaktion sind perivaskuläre und diffuse Komponente nur gering ausgeprägt.

**Thalamus:** Auch der Thalamus ist in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-  
Immunreaktion markiert in den hypothalamischen Arealen nur sehr schwaches perivaskuläres  
und diffuses Signal. In den absteigenden Bahnen findet sich eine schwache diffuse Mikroglia-  
Reaktion.

**Ammonshorn:** Im Ammonshorn finden sich ziegelrote Neurone mit verdämmernden Zellker-  
nen in der CA1-Region und vereinzelt granulovakuoläre Degenerationen. Die CD68-Immunre-  
aktion markiert sowohl im Ammonshorn selbst, als auch in der umgebenden weißen Substanz  
ein nur sehr geringes perivaskuläres Signal bei fehlender diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Kleinhirn:** Kleinhirnwurm und -hemisphäre erscheinen in der HE-Färbung morphologisch un-  
auffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine nur geringe meningeale Makrophagen-Aktivität.  
In den Rindenschichten findet sich kein diffuses und nur sehr geringes perivaskuläres Signal.  
Das Marklager zeigt eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion bei gering bis mäßiger perivasku-  
lärer Makrophagen-Besiedlung mit kleinen Foci. Die Kleinhirnkerne zeigen sehr starke diffuse  
Mikroglia und mäßige perivaskuläre Makrophagen-Besiedlung.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. In den Augenmuskelkernen zeigt  
die CD68-Immunreaktion nur geringes perivaskuläres und diffuses Signal. Im Vergleich stär-  
kere diffuse Mikroglia-Aktivierung findet sich in den absteigenden Bahnen bei geringem peri-  
vaskulärem Makrophagen-Signal.

**Hirnstamm:** Pons und Medulla oblongata zeigen lediglich arteriosklerotische Veränderungen  
in der HE-Färbung. In der CD68-Immunreaktion zeigen die Kerngebiete im Pons und die ab-  
steigenden Bahnen eine mäßig bis starke diffuse Mikroglia-Reaktion bei mäßigem perivasku-  
lärem Makrophagen-Besatz. In den Hirnstammkernen der Medulla oblongata, z. B. dem Ncl.

olivaris inferior, findet sich dagegen nur geringe perivaskuläre und sehr schwache diffuse Aktivität.

**Interpretation:**

Die chronische arterielle Hypertonie spiegelt sich in der glomeruloiden Gefäßproliferation wider. Auch arteriosklerotische Veränderungen lassen sich histologisch nachweisen. Die durchgeführte neurodegenerative Diagnostik ergibt zwar einen Nachweis von vereinzelt neuritischen beta-Amyloid-Plaques, welche jedoch einem altersgerechten Normalbefund entsprechen. Im Ammonshorn finden sich untergehende Neurone als Zeichen für akute perimortale Hypoxie.

Hinsichtlich der CD68-Diagnostik zeigt sich ein für bisherige COVID-19-Autopsien typisches, wenn auch abgeschwächtes Muster mit stärkerer Mikroglia-Makrophagen-Aktivität in der weißen Substanz verglichen mit Rindenschichten und einem verstärkten Signal in Kleinhirn und Pons.

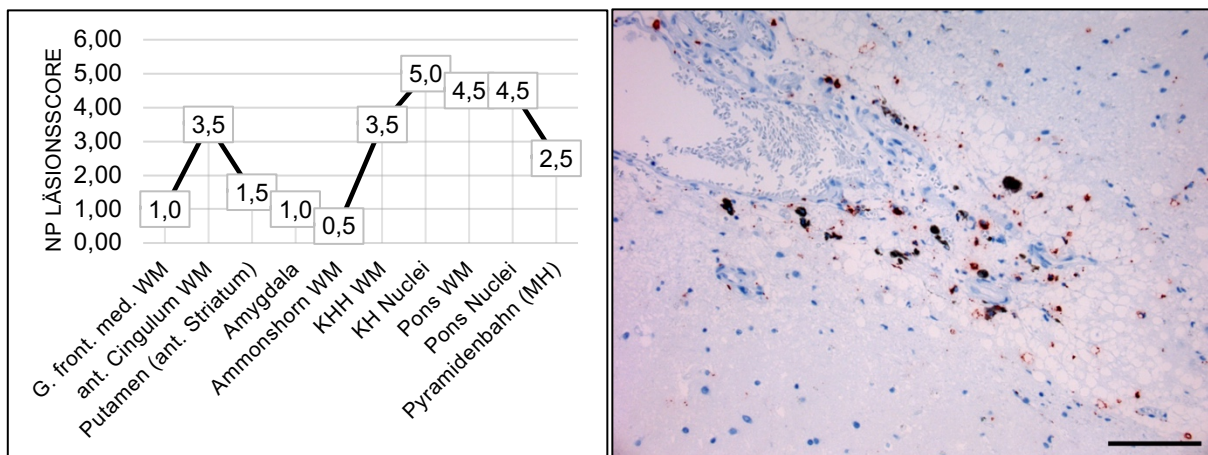


Abbildung 18: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 9

Abbildung 19: Bild (rechts) – Residuelle kondensierte Makrophagen in den Meningen von Fall 9 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.10 Fall 10

Der 89-jährige Patient mit hypertropher Kardiomyopathie wurde drei Tage vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 mittels PCR getestet. Es wurde von einer milden Symptomatik ohne neurologische Auffälligkeit berichtet. Der Patient verstarb in der Häuslichkeit. Die Postmortalzeit vor Autopsie beträgt 20 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein Herz-Kreislauf-Versagen bei hypertropher Kardiomyopathie. Am Gehirn findet sich eine nur sehr geringe Arteriosklerose mit kleineren Plaques und Hyalinisierungen in der A. cerebri media. Die Liquorräume sind erweitert. Thalamus und Kleinhirnwurm sind relativ klein. Kaudal des linken Ncl. ruber findet sich eine kleine Infarktmarkierung.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung der corticalen Schnitte finden sich glomeruloide Gefäßproliferationen und eine ausgedünnte weiße Substanz mit Mikromineralisationen. Im G. frontalis medius und der Area striata fallen gehäuft Plaques auf. In der Beta-Amyloid-Immunreaktion werden im Cingulum und dem frontalen Cortex gering bis mäßig viele neuritische und überwiegend diffuse Plaques markiert. Der Nachweis von alpha-Synuclein-Ablagerungen gelingt nicht. Die CD68-Immunreaktion zeigt nur geringe Makrophagen-Aktivität in den Meningen. In den Rindenschichten überwiegt ein geringes bis mäßiges perivaskuläres Makrophagen-Signal gegenüber der sehr geringen diffusen Mikroglia. In der weißen Substanz ist dagegen geringe bis mäßige diffuse Mikroglia und schwächere perivaskuläre Makrophagen-Aktivität feststellbar.

**Basalganglien:** Die HE-Färbung des anterioren Striatums und der Basalganglien zeigt Arteriosklerose der angeschnittenen Media-Äste mit Wandfibrosierung und eine geringe Gliose im Marklager um den Caudatus-Kopf. Die CD68-Immunreaktion markiert am Eintritt des Bulbus olfactorius, im frontobasalen Cortex und an der Inselrinde nur sehr geringe diffuse Mikroglia und schwache perivaskuläre Makrophagen-Aktivität. Die Kerngebiete der Basalganglien und die kreuzenden Bahnen zeigen ein geringes perivaskuläres und diffuses Signal. Am Caudatuskopf findet sich subependymal ein kleiner perivaskulärer Makrophagen-Cluster.

**Amygdala:** Bis auf viele Corpora amylacea ist die Amygdala im HE-Schnitt unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert nur geringe meningeale Makrophagen-Aktivität und sehr geringe diffuse Mikroglia bei geringem perivaskulärem Makrophagen-Besatz.

**Thalamus:** Der Thalamus ist in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den hypothalamischen und den thalamischen Arealen jeweils geringe diffuse und perivaskuläre Aktivität. In der Pyramidenbahn findet sich mäßig bis starke diffuse Mikroglia und perivaskuläre Makrophagen-Aktivität.

**Ammonshorn:** Das Ammonshorn ist in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die Beta-Amyloid-Immunreaktion markiert ab CA1 mäßig viele neuritische Plaques. Ein Nachweis von alpha-Synuclein-Ablagerungen gelingt nicht. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert transenthorinal viele neuritische Plaques, jedoch wenige Tangles. Die CD68-Immunreaktion zeigt im Ammonshorn eine geringe bis mäßige diffuse Mikroglia bei gleichstarker perivaskulärer Makrophagen-Aktivität. In der umgebenden weißen Substanz dominiert das mäßige bis starke perivaskuläre Signal gegenüber der mäßigen diffusen Mikroglia. Vom perivaskulären Makrophagen-Saum ausgehend findet sich ein einzelner Cluster. Die Meningen zeigen eine mäßige Makrophagen-Besiedlung.

**Kleinhirn:** Kleinhirnwurm und -hemisphäre sind in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine mäßige meningeale Makrophagen-Aktivität. In der weißen Substanz ist nur geringe bis mäßige perivaskuläre und diffuse Aktivität auszumachen, während im Kleinhirn-Kerngebiet eine mäßige Mikroglia-Reaktion vorliegt.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist abgesehen von einer Mikrovakuolisierung der Matrix um die Substantia nigra in der HE-Färbung unauffällig. In der CD68-Immunreaktion sind Substantia nigra und Augenmuskelkerne von mäßiger Mikroglia-Reaktion betroffen bei gering bis mäßiger perivaskulärer Aktivität, während in den absteigenden Bahnen weniger perivaskuläre Makrophagen und dafür eine stärkere diffuse Mikroglia zu beobachten ist.

**Hirnstamm:** In der HE-Färbung sind Pons und Medulla oblongata unauffällig. In der CD68-Immunreaktion sind die Pons-Neurone von mäßiger bis starker Mikroglia umgeben bei schwächerer perivaskulärer Reaktion. In der umgebenden weißen Substanz sind Mikroglia-Reaktion und perivaskuläre Makrophagen nur mäßig ausgeprägt, jedoch finden sich isolierte kleine Makrophagen-Cluster. Die absteigenden Bahnen und die Hirnstammkerne in der Medulla oblongata sind praktisch frei von diffuser und perivaskulärer CD68-Aktivität.

### **Interpretation:**

Die beobachtete glomeruloide Gefäßproliferation und Rarifizierung der weißen Substanz ist Folge chronischer arterieller Hypertonie. Die neurodegenerative Diagnostik ergibt hinsichtlich der beta-Amyloid-Pathologie ein Stadium CERAD B, hinsichtlich der Tau-Pathologie ein Stadium Braak & Braak III.

Hinsichtlich der COVID-19-assoziierten CD68-Aktivität überwiegt erneut die diffuse Mikroglia in der weißen Substanz deutlich gegenüber den Rindenschichten. Im Mark des Ammonshorns und im Hirnstamm liegen erneut Makrophagen-Cluster. In der weißen Substanz des Kleinhirns und in den Kleinhirnkernen findet sich wenig Signal verglichen mit vorherigen Befunden.

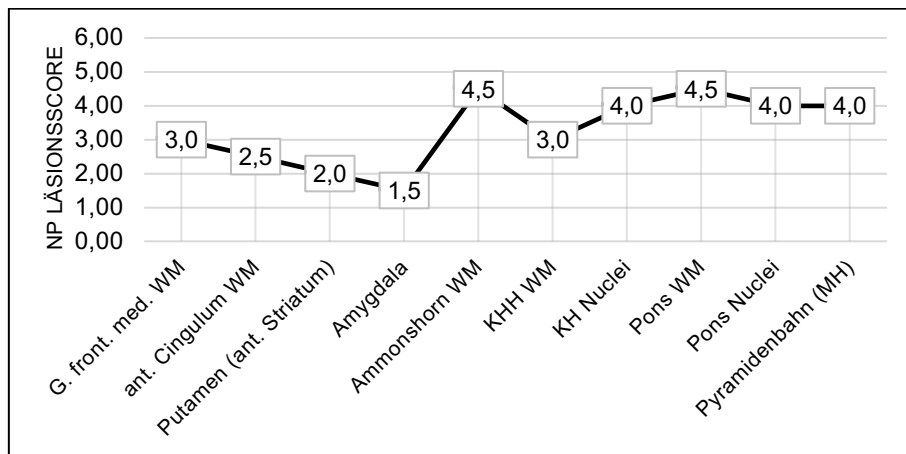


Abbildung 20: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 10

#### 4.2.11 Fall 11

Der 84-jährige Patient wurde 9 Tage vor Tod bei Fieber positiv auf SARS-CoV-2 mittels PCR getestet. Es erfolgte keine Hospitalisierung. Es wurde keine neurologische Symptomatik berichtet. An Vorerkrankungen waren eine schwere Arteriosklerose der großen Gefäße mit infra-renalem Aortenersatz nach Aneurysma bekannt. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 36 Stunden. Eine PCR-Testung vor Autopsie verlief negativ.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache eine interstitielle Pneumonie mit Sepsis. Der makroskopische ZNS-Befund ist unauffällig. Die Liquorräume sind normal weit.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In den HE-Färbungen der corticalen Anschnitte fällt eine glomeruloide Gefäßproliferation in den Rindenschichten und vergrößerte perivaskuläre Spalträume bei verdickten Gefäßwänden im Mark auf. Besonders im occipitalen Cortex sind bereits in der HE-Färbung Plaques zu erkennen, die in der beta-Amyloid-Immunreaktion um die meningealen, corticalen und kapillären Gefäße der unteren Rindenschicht gemeinsam mit diffusen Plaques markiert werden. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert nur mäßig viele neuritische Plaques im frontalen Cortex. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine mäßige bis starke meningeale Makrophagen-Besiedlung. Im frontalen Cortex und dem Cingulum ist in den Rindenschichten eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Aktivität zu beobachten, während im G. parietalis inferior und dem occipitalen Cortex die diffuse Reaktion nur wenig bis mäßig ausfällt. In der weißen Substanz ist in allen Anschnitten starke diffuse Mikroglia-Aktivität auszumachen mit ebenfalls starker perivaskulärer Makrophagen-Komponente.



**Basalganglien:** In den HE-Färbungen von Basalganglien und anteriorem Striatum fallen die Gefäßanschnitte wegen ihrer unregelmäßigen Wandstruktur und der perivaskulären Auflockerung auf. Im Putamen sind Gefäßwandmineralisationen zu beobachten. Die CD68-Immunreaktion markiert im frontobasalen Cortex und der Inselrinde nur geringe Mikroglia-Aktivität. Ebenso wenig diffuses Signal und perivaskuläre Makrophagen-Reaktion finden sich in den kreuzenden Bahnen. Im Ncl. caudatus ist eine mäßige Mikroglia-Reaktion mit Makrophagen-Clustern zu beobachten. Pallidum, Putamen und die absteigenden Bahnen zeigen mäßig bis viel diffuse Mikroglia bei schwächerer perivaskulärer Beteiligung.

**Amygdala:** In der HE-Färbung der Amygdala sind perivaskuläre Plaques zu erkennen. Die CD68-Immunreaktion zeigt nur geringe diffuse und perivaskuläre Aktivität, während im umgebenden Mark eine mäßige Mikroglia-Reaktion zu beobachten ist.

**Thalamus:** Der Thalamus ist im HE-Schnitt morphologisch unauffällig. In der CD68-Immunreaktion findet sich in hypothalamischen und thalamischen Arealen eine mäßige Mikroglia-Reaktion bei geringer perivaskulärer Makrophagen-Beteiligung.

**Ammonshorn:** Das Ammonshorn zeigt in der HE-Färbung bereits Plaques und Tangles in der CA1-Region. Die Beta-Amyloid-Immunreaktion markiert Plaques im Endblatt und zeigt eine kapilläre Amyloid-Einlagerung. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert im Endblatt ebenfalls Tangles und diverse Plaques. Die CD68-Immunreaktion zeigt im Ammonshorn fast nur diffuse Mikroglia, welche Plaque-assoziiert ist. In den angrenzenden corticalen Arealen findet sich weniger Signal als in der umgebenden weißen Substanz mit geringer bis mäßiger diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Kleinhirn:** Kleinhirnhemisphäre und -wurm sind in der HE-Färbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Meningen eine mäßige bis starke Makrophagen-Besiedlung. Während sich in den Rindenschichten erneut fast kein diffuses Signal findet, ist in der weißen Substanz eine starke Mikroglia-Aktivierung mit mäßiger perivaskulärer Komponente zu erkennen. In den Kleinhirnkernen verstärken sich das diffuse Signal und die perivaskuläre Komponente. Vereinzelt sind dort Cluster-Formationen zu beobachten.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. In der Substantia nigra markiert die CD68-Immunreaktion nur geringe diffuse Aktivität, während in den Augenmuskelkernen eine starke Mikroglia-Reaktion mit mäßiger perivaskulärer Komponente abläuft. Verglichen mit den Augenmuskelkernen ist die diffuse Mikroglia-Reaktion in der Pyramidenbahn geringer.

**Hirnstamm:** In der HE-Färbung ist der Hirnstamm unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion in den Ponsneuronen und eine ebenso starke Mikroglia-Aktivität mit starker perivaskulärer Komponente und Makrophagen-Clustern in der

weißen Substanz. Die Beta-Amyloid-Immunreaktion markiert in den Hirnstammkernen kapilläre Plaques. Die alpha-Synuclein-Immunreaktion zeigt keine Ablagerungen.

**Interpretation:**

Die chronische arterielle Hypertonie spiegelt sich in der glomeruloiden Gefäßproliferation und der perivaskulären Auflockerung des Marks wider. Die neurodegenerative Diagnostik ergibt hinsichtlich der beta-Amyloid-Pathologie ein Stadium CERAD B und hinsichtlich Tau-Pathologie ein Stadium Braak & Braak V.

In der CD68-Immunreaktion findet sich in der weißen Substanz erneut kräftigeres Signal als in den Rindenschichten. Die kräftigste diffuse Mikroglia-Aktivität ist auch hier in den Kernbereichen des Kleinhirns und der angrenzenden weißen Substanz auszumachen. Makrophagen-Cluster sind im Hirnstamm und dem Ncl. caudatus der Basalganglien zu beobachten.

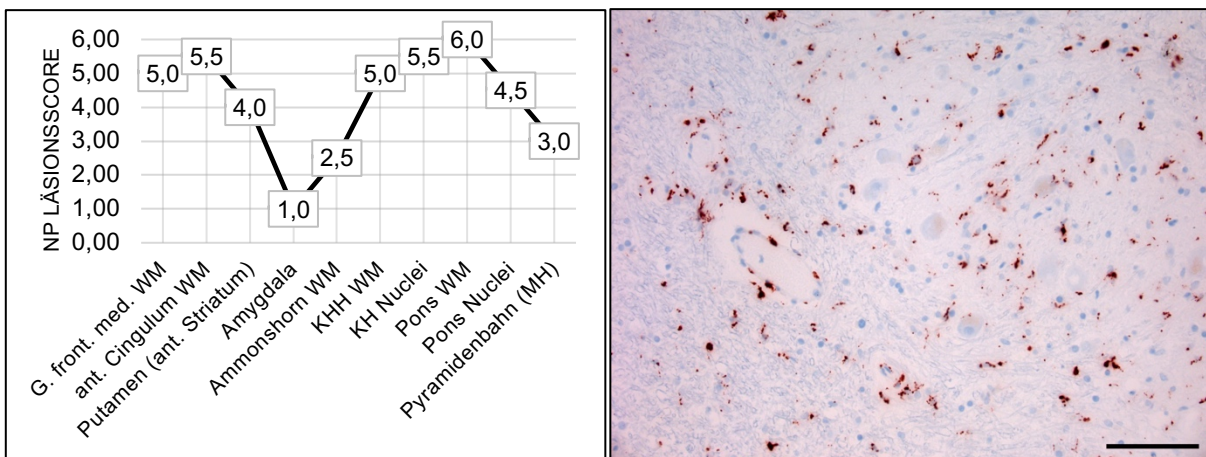


Abbildung 21: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 11

Abbildung 22: Bild (rechts) – Starke diffuse Mikroglia-Reaktion in den Kleinhirnkernen von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

**4.2.12 Fall 12**

Die 74-jährige Patientin verstarb in der Häuslichkeit ohne berichtete klinische COVID-19-Symptomatik. Eine PCR-Untersuchung vor Autopsie war zufällig positiv. An Vorerkrankungen waren eine arterielle Hypertonie, eine koronare Herzkrankheit mit Z. n. Myokardinfarkt, ein Diabetes mellitus und ein terminales Lungenkarzinom bei Nikotinabusus bekannt. Die Postmortalzeit vor Autopsie beträgt 70 Stunden.

**Makropathologische Veränderungen:**

Die Autopsie ergab als Todesursache eine interstitielle Pneumonie in Kombination mit massiver Tumorkachexie bei progredientem Lungenkarzinom.

Bei makroskopischer Inspektion des ZNS fällt links frontoparietal eine 3 cm x 2,7 cm x 2,1 cm große, scharf abgegrenzte Raumforderung mit zentraler Nekrose und Perifokalödem auf. Links lateral im anterioren Striatum liegt ein kleiner kavitärer Defekt von 3 mm Durchmesser. Die angeschnittenen Abschnitte von A. basilaris und A. vertebralis zeigen eine deutliche Arteriosklerose. Die Äste der A. cerebri media sind dagegen weniger stark verändert. Die beiden Ammonshörner, der Kleinhirnwurm und der Hirnstamm wirken etwas verkleinert.

### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die HE-Färbungen der corticalen Anschnitte zeigen eine gewisse perivaskuläre Auflockerung sowohl in Rindenarealen als auch der weißen Substanz. Im G. frontalis medius sind die oberen Rindenschichten in der Nähe eines Mikroinfarkts vakuolisiert. Die CD68-Immunreaktion markiert in allen Anschnitten nur wenige Makrophagen in den Meningen. Während die Rindenschichten eine nur geringe oder keine diffuse Mikroglia-Reaktion zeigen, ist im Mark insgesamt mäßige Mikroglia-Aktivität feststellbar. Im G. frontalis medius markiert die CD68-Immunreaktion infarktbedingt bereits in den Rindenschichten Makrophagen-Cluster, die jedoch fokal begrenzt sind. In der weißen Substanz findet sich eng umschrieben eine Wallersche Degeneration der entsprechenden U-Fasern. Die beta-Amyloid-Immunreaktion markiert im G. frontalis medius diffuse corticale und meningeale perivaskuläre Plaques. Die anti-Tau-Immunreaktion mit dem Antikörper AT8 und die alpha-Synuclein-Immunreaktion zeigen keine Ablagerungen. Die GFAP-Immunreaktion zeigt eine deutliche Gliose, die aber im Bereich der Mikroinfarkt-assoziierten Areale schwächer ist.

**Basalganglien:** Die HE-Färbung des anterioren Striatums und der Basalganglien zeigt einen kleinen abgekapselten Infarkt mit Fasergliose im Kopf des Ncl. caudatus mit umgebenden hypoxischen Schäden. Die Gefäßwände sind verdickt und insgesamt liegt ein Status cribrosus vor, insbesondere im Putamen. In der Inselrinde und dem Ncl. basalis Meynert finden sich vereinzelte diffuse Plaques, die in der beta-Amyloid-Immunreaktion markiert werden. Die Basalganglien selbst sind ausgespart. Die anti-Tau- und alpha-Synuclein-Immunreaktionen zeigen keine Ablagerungen. Hinsichtlich der CD68-Verteilung findet sich frontobasal und in der Inselrinde nur sehr geringe diffuse Mikroglia und ein ebenso schwaches perivaskuläres Pattern. Ebenso unauffällig sind die Kerngebiete der Basalganglien. Im Infarktareal sind reichlich abgeblasste Schaumzellen zu sehen. Lediglich in der Capsula interna markiert sich ein ausgeprägt diffuses Mikroglia-Makrophagen-Infiltrat.

**Amygdala:** Die Amygdala zeigt in der HE-Färbung Neuronen mit Einschlüssen und periventriculär reichlich Corpora amylacea. Die anti-Tau-Immunreaktion mit dem Antikörper AT8 markiert fokal in der Amygdala einzelne Tangles. Die beta-Amyloid-Immunreaktion im angrenzenden temporalen Cortex markiert meningeale und corticale Amyloid-Ablagerungen in den Gefäßen, einzelne neuritische und mäßig diffuse Plaques. In der CD68-Immunreaktion findet sich

in der Amygdala selbst eine nur geringe diffuse Mikroglia-Reaktion und ein ebenso schwaches perivaskuläres Signal bei kräftiger diffuser Mikroglia im angrenzenden temporalen Marklager.

**Thalamus:** Der Thalamus zeigt in der HE-Färbung eine Reduktion hypothalamischer Nervenzellen mit begleitender Gliose. Aufgrund des geringen Signals in der CD68-Immunreaktion handelt es sich vornehmlich um eine astrozytäre Komponente. Im anterioren Thalamus findet sich eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion mit geringer perivaskulärer Komponente. In den absteigenden Bahnen demarkiert sich ein großes Infiltrat.

**Ammonshorn:** In der HE-Färbung des Ammonshorns ist eine hypoxische Schädigung mit ziegelroten Neuronen in der CA1-Region zu erkennen. Die beta-Amyloid-Immunreaktion markiert am Subiculum, entorhinal und parahippocampal eine mäßige Dichte diffuser und einige senile Plaques. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert in der CA1-Region zahlreiche Tangles. Die Synuclein-Immunreaktion bleibt negativ. In der CD68-Immunreaktion findet sich am Ammonshorn selbst nur geringes Signal. Das umgebende Marklager zeigt dagegen eine kräftige Mikroglia-Reaktion bei geringer perivaskulärer Komponente.

**Kleinhirn:** Die HE-Färbungen von Kleinhirnwurm und -hemisphäre zeigen einen rarifizierten Purkinje-Zellbesatz bei proliferierter Bergmann-Glia. Das Mark erscheint unruhig. Die CD68-Immunreaktion markiert dagegen erstaunlich wenig Signal. Im Mark und den Kleinhirnkern-Bereichen lässt sich nur eine geringe diffuse Mikroglia-Reaktion mit ebenso geringer perivaskulärer Komponente erkennen. Auch in den Rindenschichten bleibt das perivaskuläre Signal gleich stark.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der Substantia nigra ein nur geringes perivaskuläres Signal, während im Bereich der Augenmuskelkerne mäßige diffuse Mikroglia-Aktivität dominiert. In den absteigenden Bahnen findet sich ein sauber abgegrenztes Infiltrat als Wallersche Degeneration.

**Hirnstamm:** In der HE-Färbung sind Pons und Medulla oblongata morphologisch unauffällig. In der CD68-Immunreaktion ist die perivaskuläre Makrophagen-Aktivität und die diffuse Mikroglia-Reaktion gleichstark und unterscheidet sich nicht zwischen Kerngebieten und den absteigenden Bahnen. Lediglich im Bereich der Hirnnervenkerne in der Medulla oblongata sind vereinzelt kleine Foci zu beobachten bei kräftigerem perivaskulärem Signal.

**Raumforderung frontoparietal links:** In der HE-Färbung ist eine scharf begrenzte, rundkernige Raumforderung mit zentraler Nekrose zu erkennen. Immunhistochemisch gelingt ein Nachweis von MNF116 und CK7, jedoch kein Signal in der CK20-Immunreaktion. TTF1 ist schwach positiv. Es handelt sich um eine Metastase eines Adenokarzinoms der Lunge.

**Interpretation:**

Insgesamt dominiert neben dem progredienten Tumorleiden mit cerebraler Metastase des Adenokarzinoms der Lunge eine vaskuläre Problematik. Es finden sich corticale Mikroinfarkte mit Wallerscher Degeneration über das gesamte beobachtete Bahnsystem. Die kardiovaskuläre Vorgeschichte lässt sich an den verdickten Gefäßwänden mit perivaskulärer Auflockerung bis hin zum Status cribrosus in den Basalganglien nachvollziehen. Die ziegelroten Neurone in der CA1-Region des Ammonshorns weisen auf akute perimortale Hypoxie hin.

Die neurodegenerative Diagnostik ergibt eine cerebrale Amyloidangiopathie mit bereichsweise corticaler Affektion und eine Tau-Pathologie im Stadium Braak & Braak III.

In der CD68-Immunreaktion ist das bisherige COVID-19-assoziierte Läsionsmuster nur teilweise nachzuvollziehen. Die geringe Affektion des Kleinhirns bei vorliegender Veränderung in der HE-Färbung lässt eher einen anderen Confounder vermuten. Zum bisherigen Läsionsmuster passt, dass im Hirnstamm vereinzelt Foci, wenn auch keine großen Makrophagen-Cluster, detektiert werden konnten. Auch die mittels GFAP aufgezeigte unspezifische Gliose im Cortex ist im Infarktareal schwächer und damit eher COVID-19 zuzuordnen.

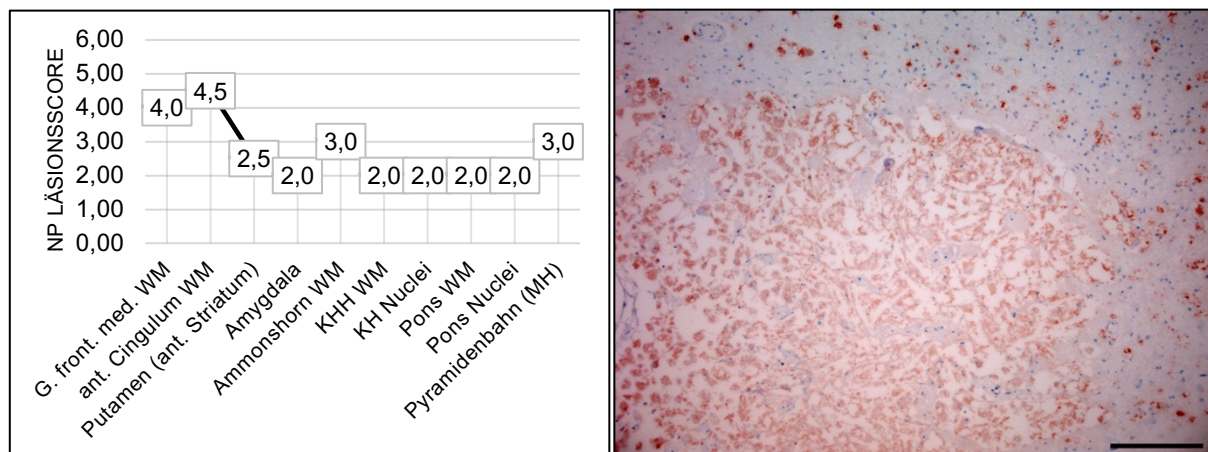


Abbildung 23: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 12

Abbildung 24: Bild (rechts) – Abgeblasste Makrophagen im Infarktareal des Ncl. caudatus von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.13 Fall 13

Der 72-jährige Patient wurde 6 Tage vor Tod hospitalisiert und mittels PCR erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Bei Verschlechterung erfolgte die Aufnahme auf Intensivstation. Eine neurologische Symptomatik wurde nicht berichtet. In der Patientenhistorie war ein bronchiales Plattenepithelkarzinom mit Z. n. Lappenresektion und ein Diabetes mellitus bekannt. Im stationären Verlauf entwickelte der Patient eine Superinfektion der Pneumonie und Sepsis.

In der Sterbenacht kam es zu einem plötzlichen Sättigungseinbruch und fulminanter Hämoptoe. Es erfolgte eine Intubation und 90-minütige erfolglose kardiopulmonale Reanimation. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 30 Stunden.

### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein infektiös-toxisches Herz-Kreislaufversagen bei superinfizierter interstitieller Pneumonie.

Der ZNS-Befund zeigt keine arteriosklerotischen Veränderungen und keine Erweiterung der äußeren und inneren Liquorräume, jedoch deutliche Gefäßinjektionen im Mark. Das Ammonshorn, der Kleinhirnwurm und der Hirnstamm erscheinen insgesamt etwas klein.

### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung der corticalen Anschnitte fallen glomeruloide Kapillaren mit vergrößertem perivaskulärem Spaltraum auf. Die CD68-Immunreaktion zeigt im G. frontalis medius und dem Cingulum eine starke, im occipitalen Cortex eine geringere meningeale Makrophagen-Besiedlung. Erneut ist in den Rindenschichten das perivaskuläre und diffuse Muster nur gering bis mäßig ausgeprägt, während in der weißen Substanz aller corticaler Anschnitte starke diffuse Mikroglia-Aktivität bei mäßiger perivaskulärer Beteiligung zu beobachten ist. In der weißen Substanz um die Area striata sind vereinzelte Makrophagen-Cluster zu erkennen.

**Basalganglien:** Die HE-Färbungen von anteriorem Striatum und den Basalganglien zeigen in Putamen und Pallidum Gefäßwandmineralisationen. Die perivaskulären Spalträume sind deutlich erweitert, die weiße Substanz um das Pallidum beginnend aufgelockert. Mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 sind einzelne Tangles in der Inselrinde immunreaktiv. In den Basalganglien selbst findet sich kein Signal, jedoch wenige Tangles im Ncl. basalis Meynert und unmittelbar benachbart in der Fortsetzung der Capsula externa ein Tau-positiver glialer Fokus. In der CD68-Immunreaktion zeigen Putamen und Pallidum eine kräftigere perivaskuläre Komponente bei nur geringer Mikroglia-Aktivität. In den absteigenden Bahnen und auch in der Pyramidenbahn ist die perivaskuläre Komponente geringer bei starker diffuser Aktivität.

**Amygdala:** In der HE-Färbung der Amygdala ist eine reaktive astrozytäre Gliose und ein perivaskuläres lymphozytäres Infiltrat zu erkennen. In der anti-Tau-Immunreaktion werden einzelne Tangles und Astrozyten-Plaques markiert. Die alpha-Synuclein-Immunreaktion zeigt keine Ablagerungen. In der CD68-Immunreaktion markiert sich die Gliose nicht. Bei geringer diffuser mikroglialer Aktivität in der Amygdala selbst dominiert das Signal in der umgebenden weißen Substanz mit starker diffuser Mikroglia bei geringer perivaskulärer Aktivität.

**Thalamus:** Die HE-Färbung des Thalamus ist unauffällig. Es gelingt kein Nachweis von beta-Amyloid-, Tau- oder Synuclein-Ablagerungen. In der CD68-Immunreaktion ist im Ncl. caudatus

fast keine diffuse mikrogliale Aktivität nachweisbar. In den angrenzenden absteigenden Bahnen dominiert dagegen mäßige bis starke Mikroglia-Aktivität gegenüber dem geringen perivaskulären Makrophagen-Signal.

**Ammonshorn:** Im Ammonshorn ist in der HE-Färbung ein Mikroinfarkt in der CA1-Region zu erkennen. Es gelingt kein Nachweis von beta-Amyloid-, Tau- oder Synuclein-Ablagerungen. Die CD68-Immunreaktion markiert im Ammonshorn selbst nur sehr wenig Aktivität, während in der umgebenden weißen Substanz eine starke Mikroglia-Reaktion dominiert.

**Kleinhirn:** In den HE-Schnitten von Kleinhirnwurm und -hemisphäre ist eine Bergmann-Gliose und ein „état glacé“ (Zeichen postmortalen Autolyse) zu erkennen. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine starke Besiedlung der Meningen mit Makrophagen. Während in den Rindenschichten erneut fast kein Signal zu erkennen ist, läuft in der weißen Substanz eine kräftige diffuse Mikroglia-Reaktion ab. Bei ebenso kräftiger diffuser Mikroglia verstärkt sich die perivaskuläre Komponente in den Kleinhirnkernen. Insgesamt ist ein Gradient von weniger Beteiligung territorial zu stärkerer diffuser Mikroglia-Reaktion in Richtung Schädelbasis ersichtlich.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn ist in der HE-Färbung unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Kernbereichen nur geringe diffuse und perivaskuläre Aktivität. In den absteigenden Bahnen ist dagegen eine starke diffuse Mikroglia-Aktivierung bei ebenso starkem perivaskulärem Makrophagen-Besatz zu beobachten.

**Hirnstamm:** Pons und Medulla oblongata sind in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der weißen Substanz des Pons erneut viel diffuses Signal bei geringerer perivaskulärer Komponente und insgesamt weniger Aktivität in den Kerngebieten. In der Medulla oblongata findet sich in den absteigenden Bahnen ebenfalls mehr Aktivität als in den Hirnnervenkernen.

### **Interpretation:**

Erneut überwiegt in der CD68-Immunreaktion die diffuse Mikroglia-Reaktion in der weißen Substanz gegenüber Rindenschichten. Vereinzelt sind die bereits bekannten Makrophagen-Cluster im Mark zu beobachten. Abermals ist das Läsionsmuster in der weißen Substanz des Kleinhirns und den Kleinhirnkernen besonders stark ausgeprägt.

Die glomeruloide Gefäßproliferation in Kombination mit vergrößerten perivaskulären Spalträumen und Auflockerungen der weißen Substanz, etwa in den corticalen Anschnitten und besonders in den Basalganglien, lassen auf einen chronischen arteriellen Hypertonus schließen. Gefäßwandmineralisationen im Pallidum sind häufig Folge einer perinatalen Infektion.

Die beschriebene Verteilung von Tau-Tangles könnte Hinweis auf ein frühes Stadium einer corticobasalen Degeneration (CBD) sein.



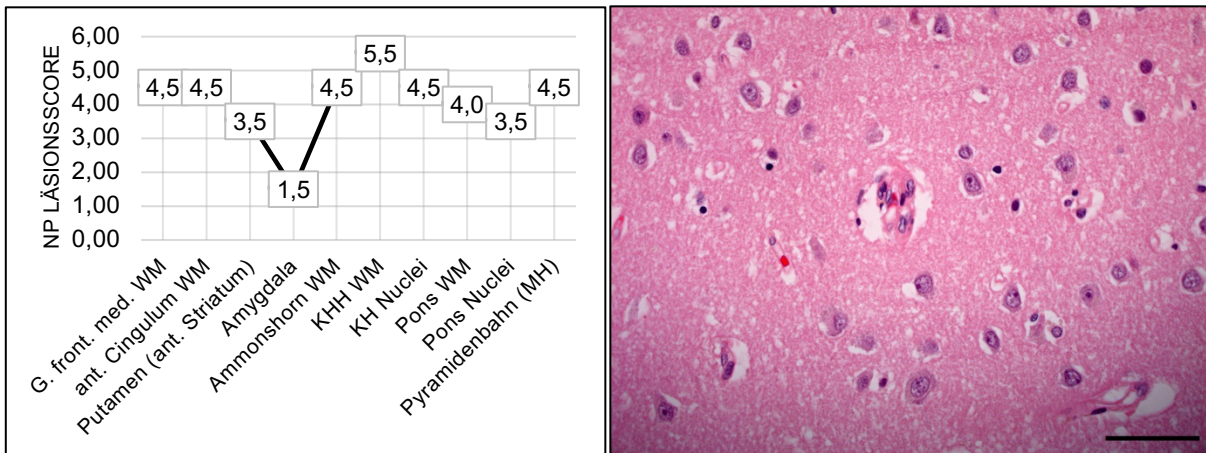


Abbildung 25: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 13

Abbildung 26: Bild (rechts) – Glomeruloide Gefäßproliferation im G. frontalis medius von Fall 7 (HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)

#### 4.2.14 Fall 14

Die 87-jährige Patientin wurde 15 Tage vor Tod mit Fieber hospitalisiert und erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Eine neurologische Symptomatik wurde nicht berichtet. Folgende Vorerkrankungen waren bekannt: schwere Herzinsuffizienz, 2-Gefäß-KHK und Z. n. Myokardinfarkt sowie arterielle Hypertonie. Eine maschinelle Beatmung wurde nicht durchgeführt. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 48 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein infektiös-toxisches Herzkreislaufversagen bei Herzinsuffizienz.

Die makroskopische ZNS-Inspektion zeigt mäßig erweiterte Liquorräume, insbesondere dilatierte Hinterhörner. Ammonshorn, Basalganglien und Kleinhirnwurm erscheinen eher klein. Auch der Cortex der Kleinhirnhemisphäre ist schmal. Am rechten Caudatus-Kopf liegt ein kleiner cavitärer Defekt von 3 mm Durchmesser bei insgesamt inhomogenem Farbverlauf der weißen Substanz im Areal. Ein weiterer Defekt von 2 mm Durchmesser liegt im linken Thalamus. Das occipitale Marklager zeigt kleine Flecken, die rechts stärker als links ausgeprägt sind. Im Thalamus und den Basalganglien ist eine deutliche Gefäßzeichnung zu beobachten.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** In der HE-Färbung zeigen die corticalen Anschnitte keinen Anhalt für neurodegenerative Erkrankung bei gutem Nervenzellbesatz. Die Gefäßwände erscheinen insgesamt etwas verdickt. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Meningen durchweg einen geringen Makrophagen-Besatz. Das Signal in den Rindenschichten ist erneut schwächer als im Marklager, wo



allerdings die perivaskuläre Makrophagen-Aktivität gegenüber der diffusen Mikroglia dominiert. Im Cingulum werden in der weißen Substanz einzelne Makrophagen-Cluster markiert.

**Basalganglien:** Die HE-Färbungen von anteriorem Striatum und Basalganglien zeigen Gefäßanschnitte mit arteriosklerotischer Veränderung und perivaskulärer Aufhellung. Im Pallidum sind die Gefäßwände vereinzelt mineralisiert. In der CD68-Immunreaktion stechen die weiße Substanz des anterioren Striatums mit mäßiger Mikroglia-Reaktion und der frontobasale Cortex mit der Capsula extrema heraus. Beide Areale weisen eine ebenso starke perivaskuläre Makrophagen-Reaktion auf. Die restlichen Kerngebiete und Bahnen zeigen eine nur geringe Affektion. Die anti-Tau-Immunreaktion zeigt keine Ablagerungen.

**Amygdala:** In der HE-Färbung ist die Amygdala unauffällig. Auch in der CD68-Immunreaktion ist die perivaskuläre Komponente nur gering ausgeprägt bei sehr schwacher diffuser Mikroglia.

**Thalamus:** Die HE-Färbung des Thalamus ist unauffällig. Auch die CD68-Immunreaktion zeigt nur geringes diffuses und perivaskuläres Signal. Die anti-Tau-Immunreaktion weist keine Ablagerungen nach.

**Ammonshorn:** Im Ammonshorn zeigt die HE-Färbung bereits intraneuronale Tangles. In den Anschnitten wirkt die Intima verdickt. Die anti-Tau-Immunreaktion markiert deutliche neuronale Plaques in der CA1-Region und einzelne Threads in CA3 und CA4. In der entorhinalen und parahippocampalen Region findet sich vereinzelt Signal bei starker Affektion des transentorhinalen Cortex. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine nur sehr geringe Mikroglia-Aktivierung im Ammonshorn und dem angrenzenden temporalen Cortex. Relativ stärkeres, aber insgesamt immer noch geringes Signal findet sich in den Meningen und der umgebenden weißen Substanz.

**Kleinhirn:** In den HE-Schnitten von Kleinhirnwurm und -hemisphäre wirkt das Stratum moleculare teilweise ausgedünnt bei rarifiziertem Purkinje-Zellbesatz. Insgesamt wirkt die Rindenschicht gliotisch verändert. Auch im Mark ist eine kleinzellige Komponente auszumachen. Eine CD3-Immunreaktion der Kleinhirnhemisphäre markiert diffuse gefäßbegleitende Lymphozyten mit Akzentuierung um die Kleinhirnkernbereiche im Mark. Eine GFAP-Immunreaktion zeigt diffuse astrozytäre Gliose im gesamten Kleinhirn. In der CD68-Immunreaktion sind die Meningen im Kleinhirnwurm mäßig, in der Hemisphäre kräftig mit Makrophagen besiedelt. Die Rindenschicht zeigt eine geringe perivaskuläre Komponente bei sehr geringer diffuser Aktivität. In der weißen Substanz sind diffuse Mikroglia- und perivaskuläre Makrophagen-Aktivität mäßig ausgeprägt bei Vorhandensein einzelner Makrophagen-Cluster. Im Kleinhirnkernbereich ist die Mikroglia-Reaktion nochmals stärker.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn zeigt in der HE-Färbung auffällige Tangles in den Augenmuskelkernen, die mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv sind. In der CD68-Immunreaktion ist

in der Substantia nigra eine diffuse Mikroglia-Reaktion zu beobachten. Die Augenmuskelkerne zeigen ein gering bis mäßiges perivaskuläres Muster bei geringer diffuser Mikroglia-Aktivität. In den absteigenden Bahnen findet sich mehr Signal mit mäßiger diffuser und perivaskulärer Komponente.

**Hirnstamm:** Pons und Medulla oblongata zeigen in den HE-Färbungen erneut deutliche arteriosklerotische Veränderungen der angeschnittenen A. basilaris. Im Locus coeruleus lassen sich keine Tangles ausmachen. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion mit Clustern in den Ponsneuronen beidseits bei schwächerer diffuser Aktivität in der weißen Substanz. Dort dominiert die perivaskuläre Komponente.

**Interpretation:**

Die kardiovaskulären Vorerkrankungen lassen sich an den arteriosklerotisch veränderten Gefäßwänden mit verdickter Intima und den vergrößerten perivaskulären Spalträumen nachvollziehen. Die perivaskulären Mineralisationen im Pallidum können Ausdruck einer perinatalen Infektion sein. Die neurodegenerative Diagnostik ergibt eine Tau-Pathologie im Stadium Braak & Braak III bei CERAD 0.

Hinsichtlich der COVID-19-assoziierten CD68-Diagnostik zeigt sich das bereits bekannte Muster erneut: In der weißen Substanz ist die Mikroglia-Makrophagen-Aktivität deutlich stärker als in Rindenarealen. Vereinzelt kommt es sogar zur Bildung von Clustern. Im vorliegenden Fall ist dabei das Kleinhirn besonders affiziert, indem zusätzlich eine lymphozytäre Komponente nachweisbar ist. Die GFAP-Immunreaktion zeigt eine astrozytäre Gliose im gesamten Kleinhirn über die Rinden-Mark-Grenze hinaus, auch wenn Cluster dort nur in der weißen Substanz zu erkennen sind. Auch die Cluster-Bildung in den Ponsneuronen scheint ein sich wiederholendes Muster zu sein. In den absteigenden Bahnen findet sich erstaunlich wenig Signal.

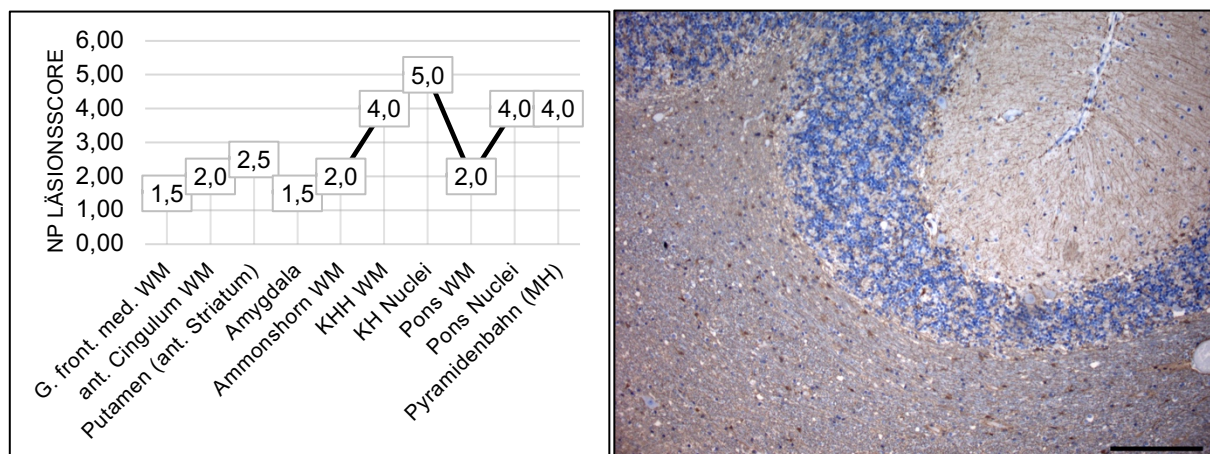


Abbildung 27: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 14

Abbildung 28: Bild (rechts) – Diffuse astrozytäre Gliose im Vermis cerebelli von Fall 14 (GFAP, 10-fache Vergrößerung, Maßstab = 200 µm)

#### 4.2.15 Fall 15

Der 61-jährige Mann wurde 68 Tage vor Tod mit Hämoptoe und Dyspnoe bei schlechter Oxygenierung hospitalisiert und mittels PCR positiv auf SARS-CoV-2 getestet. An Vorerkrankungen bestanden eine Adipositas und operierte Spinalkanalstenosen. Nach Entwicklung eines schweren ARDS mit bakterieller Superinfektion und septischem Multiorganversagen wurde 66 Tage vor Tod eine maschinelle Beatmung eingeleitet. Ab Tag 60 vor Tod erfolgte eine Unterstützung durch veno-venöse ECMO (vv-ECMO) mit bis zum Ableben insgesamt 12 Tagen Pause. Der Patient entwickelte ein akutes Nierenversagen und Dialysepflicht ab Tag 50 vor Tod. Die letzte positive PCR-Testung wurde 37 Tage vor Tod durchgeführt. In Sedierungsfenstern war der Patient wach, teilorientiert, aber deutlich agitiert. Am Todestag kam es zur frustranen kardiopulmonalen Reanimation. Die Postmortalzeit vor Autopsie beträgt 24 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein hypoxisches Herzkreislaufversagen und eine bakterielle Superinfektion bei interstitieller Pneumonie.

In der makroskopischen ZNS-Übersicht finden sich arteriosklerotische Plaques in der A. basilaris. Die Liquorräume sind nicht erweitert. Im Mark finden sich deutliche Gefäßinjektionen occipital links, beidseits im Thalamus und am Hirnstamm.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Färbung einen guten Nervenzellbesatz. Das Cingulum ist gliotisch verändert und im G. parietalis inferior zeigt die Übersichtsfärbung bereits ein älteres pigmentiertes Makrophagen-Infiltrat. Die CD68-Immunreaktion markiert eine sehr starke Mikroglia-Reaktion in den Rindenschichten und der weißen Substanz, besonders akzentuiert im Mark des G. frontalis medius und des Cingulums. Die perivaskuläre Makrophagen-Reaktion bleibt konstant im mäßigen Bereich. In der weißen Substanz des Cingulums und des G. parietalis inferior liegen mehrere Makrophagen-Cluster. Die meningeale Makrophagen-Aktivität ist trotz der heftigen Affektion der grauen und weißen Substanz nur mäßig.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien zeigen in der HE-Übersicht lediglich vergrößerte perivaskuläre Spalträume. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der weißen Substanz erneut eine sehr starke Mikroglia-Reaktion bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Komponente. In den Kerngebieten der Basalganglien und in den absteigenden Bahnen findet sich im Vergleich nur geringes bis mäßiges Signal.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Färbung morphologisch unauffällig. Auch die CD68-Immunreaktion zeigt nur eine mäßige bis starke perivaskuläre Makrophagen-Reaktion bei sehr geringer Mikroglia-Aktivität.

**Thalamus:** In der HE-Übersicht des Thalamus fällt bereits ein Infiltrat im Bereich der absteigenden Bahnen auf. Die CD68-Immunreaktion zeigt stärkere diffuse Aktivität in den hypothalamischen Arealen als im Thalamus selbst. In den absteigenden Bahnen sind Makrophagen-Cluster mit erneut heftigster diffuser Mikroglia-Reaktion bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Komponente zu erkennen.

**Ammonshorn:** Das Ammonshorn ist in der HE-Übersicht morphologisch unauffällig und zeigt keinen Anhalt für neurodegenerative Prozesse. Eine anti-Tau-Immunreaktion markiert nur vereinzelte Tangles in der CA1-Region. In der CD68-Immunreaktion ist auch im Ammonshorn selbst eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion nachweisbar bei geringer perivaskulärer Komponente. Im Vergleich ist aber die Mikroglia-Reaktion in der umgebenden weißen Substanz erneut stärker. In Meningen und dem temporalen Cortex findet sich nur geringes Signal.

**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm ist unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert eine geringe bis mäßige meningeale Makrophagen-Aktivität. Erneut findet sich in den Rindenarealen nur sehr wenig Signal, während insbesondere im Mark eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion mit geringerer perivaskulärer Makrophagen-Beteiligung markiert wird. Das stärkste diffuse Signal, jedoch ohne Cluster-Bildung, findet sich erneut in den Kleinhirnkerngebieten.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn zeigt in der HE-Färbung Tangles in der Substantia nigra, welche mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv sind. Eine alpha-Synuclein-Immunreaktion zeigt keine Ablagerungen. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Kerngebieten des Mittelhirns eine starke diffuse Mikroglia-Aktivierung bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Komponente. Die absteigenden Bahnen zeigen nur geringes Signal.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons fallen Tangles im Locus coeruleus auf, die mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv sind. Auch im Bereich des Tectums gelingt der Nachweis von Tau-Ablagerungen. Die Medulla oblongata ist morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion markiert stärkste diffuse Mikroglia in den Kerngebieten des Pons bei geringer bis mäßiger perivaskulärer Komponente. In den absteigenden Bahnen findet sich ebenso starkes diffuses Signal, jedoch zeigen sich keine Cluster.

### **Interpretation:**

Der schwere Krankheitsverlauf spiegelt sich auch im ZNS-Befund wider. Die corticalen Anschnitte zeigen eine auffallend starke Mikroglia-Reaktion der unteren Rindenschichten, auch wenn die Mikroglia-Makrophagen-Aktivität in der weißen Substanz erneut dominiert. Makrophagen-Cluster finden sich im Mark der corticalen Anschnitte und in den absteigenden Bahnen. Auch das Ammonshorn zeigt eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion. Ein Zusammenhang

mit der langen Beatmungsdauer und der frustranen kardiopulmonalen Reanimation ist anzunehmen, auch wenn kein Anhalt für akute präfinale Hypoxie besteht.

Weitere Befunde sind geringe arteriosklerotische Veränderungen und vergrößerte perivaskuläre Spalträume, häufig nach langjähriger arterieller Hypertonie. Die neurodegenerative Diagnostik ergab eine Tau-Pathologie im Stadium Braak & Braak I.

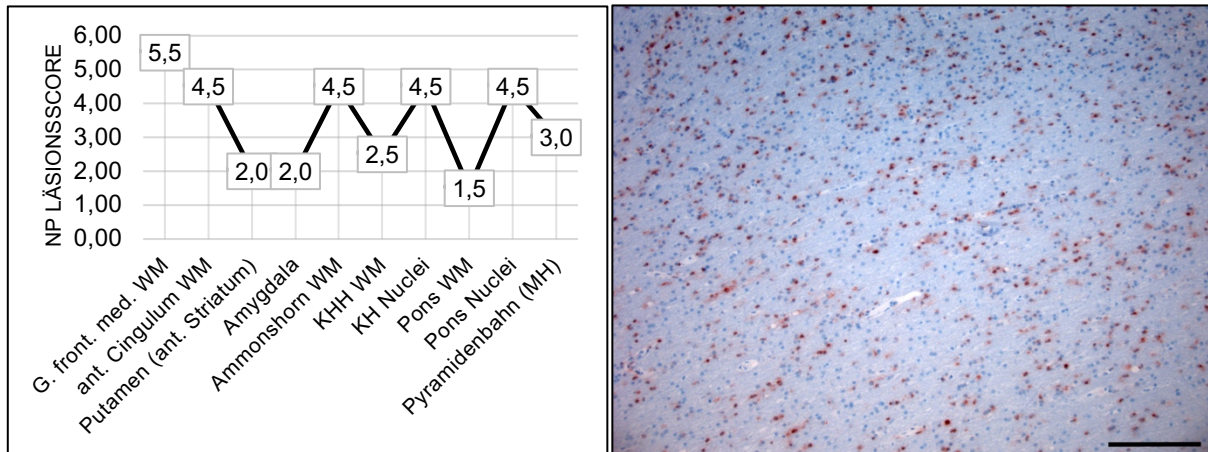


Abbildung 29: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 15

Abbildung 30: Bild (rechts) – Sehr starke diffuse Mikroglia-Reaktion im Mark des Cingulums von Fall 15 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.2.16 Fall 16

Der 81-jährige Mann wurde 29 Tage vor Tod hospitalisiert und positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Der Krankheitsverlauf ist unbekannt. Bei dem Patienten waren eine schwere periphere arterielle Verschlusskrankheit sowie eine Myokardhypertrophie bekannt. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 72 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein infektiös-toxisches Herzkreislaufversagen bei interstitieller Pneumonie.

In der makroskopischen ZNS-Befundung ist das Gehirn bereits sehr weich und deutlich blutgestaut. Der Kleinhirn-Oberwurm ist deutlich atrophiert.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Färbung verdickte Gefäßwände und perivaskuläre Plaques. Im occipitalen Cortex ist in der unteren Rindenschicht der Sehrinde ein kapilläres Budding zu beobachten. Die beta-Amyloid-Immunreaktion zeigt im G. frontalis medius meningeale und corticale Amyloid-Einlagerungen in den Gefäßwänden und auch senile

Plaques mäßiger Dichte. Im occipitalen Cortex sind auch die Kapillaren mit Amyloid-Plaques markiert. Die CD68-Immunreaktion markiert frontal und occipital mäßige, im Cingulum und parietal geringe Makrophagen-Besiedlung der Meningen. Lediglich im occipitalen Cortex erreicht die diffuse Mikroglia fokal ein mäßiges Niveau.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien zeigen in der HE-Übersicht deutliche perivaskuläre Auflockerungen. Die Gefäße sind umgeben von pigmentspeichernden Makrophagen und teilweise sind die Gefäßwände mineralisiert. Im Putamen ist ein perivaskuläres Infiltrat zu erkennen. Die CD68-Immunreaktion markiert an diesem Gefäßanschnitt abgeblasste perivaskuläre Makrophagen. Die Meningen sind ebenfalls stark besiedelt von pigmentspeichernden Makrophagen. Frontobasal und in der Inselrinde überwiegt eine geringe bis mäßige Mikroglia-Aktivität, die sich in der weißen Substanz und den absteigenden Bahnen auf ein mäßiges Niveau verstärkt. In den Kernbereichen der Basalganglien zeigt sich nur eine geringe diffuse Mikroglia-Aktivierung. Die beta-Amyloid-Immunreaktion markiert mäßige diffuse Plaques.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Übersicht morphologisch unauffällig. In der CD68-Immunreaktion dominiert eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion bei schwächerer perivaskulärer Aktivität.

**Thalamus:** Die Standardregion zur Auswertung fehlt.

**Ammonshorn:** In der CA1-Region des Ammonshorns zeigt die HE-Übersicht ziegelrote Neurone mit abgeblassten Zellkernen. Außerdem sind Plaques zu erkennen. Die beta-Amyloid-Immunreaktion markiert kapilläre Amyloid-Einlagerungen mit Budding und diffuse Plaques. Der anti-Tau-Antikörper AT8 markiert lediglich in CA1 einzelne Tangles. In der CD68-Immunreaktion findet sich in den Meningen nur schwache Makrophagen-Aktivität. Das Ammonshorn selbst und der temporale Cortex zeigen beide geringe diffuse und perivaskuläre Mikroglia- und Makrophagen-Aktivität. In der weißen Substanz läuft eine mäßige bis starke diffuse Mikroglia-Reaktion bei geringer perivaskulärer Beteiligung ab.

**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm zeigt wandstarke Gefäße und eine Texturveränderung in Form von Mikrovakuolisierung des Stratum moleculare. Die CD68-Immunreaktion markiert eine starke meningeale Makrophagen-Besiedlung bei nur geringer perivaskulärer Aktivität im Cortex. In der weißen Substanz ist eine mäßig starke diffuse Mikroglia-Reaktion zu beobachten bei schwachem perivaskulärem Signal. In den Kleinhirnkernen findet sich eine starke diffuse Mikroglia-Reaktion bei mäßiger perivaskulärer Beteiligung.

**Mittelhirn:** In der HE-Übersicht ist der Anschnitt der A. basilaris im Mittelhirn stark arteriosklerotisch verändert. Substantia nigra, Augenmuskelkerne und die absteigenden Bahnen zeigen in der CD68-Immunreaktion ein etwa gleiches Signal mit geringer bis mäßiger diffuser Mikroglia-Reaktion bei geringer perivaskulärer Makrophagen-Aktivität.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata sind einzelne Tangles im Locus coeruleus und arteriosklerotische Veränderungen an Gefäßanschnitten zu beobachten. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Hirnnerven-Kernbereichen eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion bei geringerer perivaskulärer Komponente. In der weißen Substanz ist ein schwächeres diffuses Signal feststellbar.

**Interpretation:**

Insgesamt finden sich deutliche arteriosklerotische Veränderungen der intracerebralen Gefäße mit vergrößerten perivaskulären Spalträumen. Weiterhin liegt eine cerebrale Amyloidangiopathie auf meningealer, corticaler und kapillärer Ebene vor. Hinsichtlich der beta-Amyloid-Pathologie liegt ein Stadium CERAD B, hinsichtlich der Tau-Pathologie ein Stadium Braak & Braak III vor.

Die hypoxischen Neurone im Ammonshorn und die Texturveränderung im cerebellären Cortex sind Anzeichen für perimortale Hypoxie.

Die deutlichen perivaskulären Makrophagen-Infiltrate, etwa im Putamen, sind eher assoziiert mit Beta-Amyloid-Plaques und entsprechen nicht dem bisher beschriebenen Läsionsmuster. Sehr wohl ähnelt aber das Reaktionsmuster im Kleinhirn und dem Hirnstamm mit diffuser Mikroglia-Affektion der Kerngebiete der COVID-19-assoziierten Pathologie.

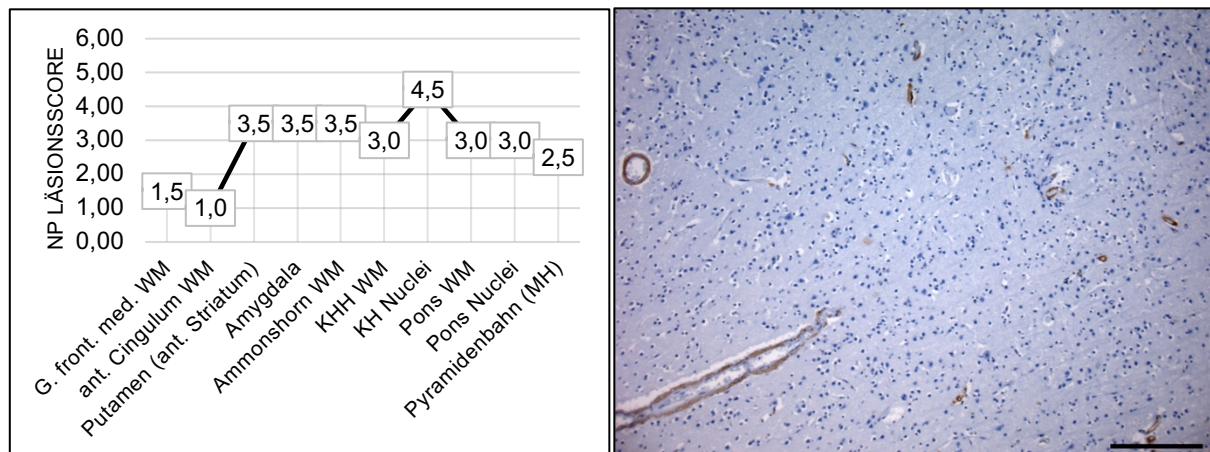


Abbildung 31: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 16

Abbildung 32: Bild (rechts) – Cerebrale kapilläre Amyloidangiopathie im occipitalen Cortex von Fall 16 (Beta-Amyloid-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)



#### 4.2.17 Fall 17

Die 87-jährige Patientin mit demenziellem Syndrom erlitt eine COVID-19-Infektion und wurde hospitalisiert. Die erste positive PCR-Testung erfolgte ca. 4-5 Wochen vor Tod. Weiterhin waren Osteoporose und Trigeminusneuralgie in der Patientengeschichte bekannt. Eine erneute Hospitalisierung erfolgte 8 Tage vor Tod aufgrund eines intramuskulären Abszesses am linken Oberschenkel, der operativ versorgt wurde. Postoperativ verschlechterte sich der Allgemeinzustand in den Folgetagen. Die Patientin verstarb mit einem Ikterus bei massiv erhöhten Leberwerten.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein akutes Leberversagen nach Hüft-OP bei deutlichem Ikterus der Skleren, Haut und Meningen. Der ZNS-Befund ist makroskopisch bis auf deutliche Arteriosklerose im Bereich der Carotiden und der A. cerebri media unauffällig.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Färbung lediglich eine perivaskuläre Auflockerung und leichte Gliose in der weißen Substanz. Die CD68-Immunreaktion markiert in Rindenschichten und Mark nur geringe, teilweise sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität bei abschnittsweise etwas stärkerem perivaskulärem Makrophagen-Saum im Mark. Die beta-Amyloid-Immunreaktion im occipitalen Cortex markiert Amyloid-Plaques in nur geringer Dichte.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien zeigen in der HE-Übersicht erneut deutliche perivaskuläre Auflockerung im Mark, im Bereich des Ncl. caudatus bilden sich sogar kleine Lacunen. Die CD68-Immunreaktion zeigt nur sehr geringe Mikroglia-Aktivität frontobasal und in der Inselrinde. Auch in den kreuzenden Bahnen und der Pyramidenbahn ist nur geringe perivaskuläre und diffuse Aktivität auszumachen. Im Putamen und Pallidum liegt um die perivaskulären Auflockerungen ein mäßiger bis starker pigmentspeichernder Makrophagen-Saum bei mäßiger diffuser Reaktion.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Übersicht unauffällig und zeigt in der CD68-Immunreaktion nur sehr geringes diffuses und perivaskuläres Signal.

**Thalamus:** Im Thalamus sind die Gefäßanschnitte in der HE-Übersicht arteriosklerotisch verändert. Die CD68-Immunreaktion zeigt nur sehr geringe Mikroglia-Aktivität.

**Ammonshorn:** In der CA1-Region des Ammonshorns sind die Neurone in der HE-Färbung ziegelrot verfärbt mit pyknotischen Zellkernen. Es findet sich morphologisch kein Anhalt für neurodegenerative Pathologie. Auch die CD68-Immunreaktion zeigt sowohl im Ammonshorn selbst als auch im temporalen Cortex und der umgebenden weißen Substanz ein sehr geringes diffuses und perivaskuläres Signal.



**Kleinhirn:** In der HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm wirkt die Rindenschicht verschmälert und die weiße Substanz gliotisch verändert. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der weißen Substanz eine geringe bis mäßige Mikroglia-Reaktion mit geringer perivaskulärer Komponente bei sehr geringem diffusem Signal in den Rindenschichten. Um die Kleinhirnerkerne ist eine mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion markiert.

**Mittelhirn:** In der HE-Übersicht des Mittelhirns fällt die Substantia nigra mit deutlicher Mikroakuolisierung auf. In der CD68-Immunreaktion zeigt sich in den Kerngebieten ein je geringes perivaskuläres und diffuses Signal. In den absteigenden Bahnen wird bei geringer diffuser Mikroglia das perivaskuläre Signal schwächer.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata zeigt die A. basilaris eine deutliche Gefäßfibrosierung mit lymphozytärer Reaktion. In der CD68-Immunreaktion findet sich im Gebiet der Hirnnervenkerne nur geringe perivaskuläre und diffuse Aktivität, im Mark weniger Signal. Im Tectum markiert sich eine mäßige bis starke Mikroglia-Reaktion.

**Interpretation:**

Am ehesten handelt es sich um eine vaskuläre Demenz mit Status cribrosus und beginnender Lakunen-Bildung in den Basalganglien. Es bestehen deutliche arteriosklerotische Veränderungen. Die Diagnostik auf konkurrierende neurodegenerative Erkrankung bleibt ohne pathologischen Befund bei nur geringer und altersgerechter Amyloid-Plaque-Dichte im Cortex. Ersichtlich an untergehenden ziegelroten Neuronen in der CA1-Region des Ammonshorns kann von einer terminalen Hypoxie ausgegangen werden.

Es zeigt sich eine nur milde COVID-19-assoziierte CD68-Pathologie ohne Makrophagen-Cluster und stärkere Mikroglia-Reaktionen. Erneut ist eine stärkere diffuse Mikroglia-Reaktion im Bereich der Kleinhirnerkerne festzustellen.

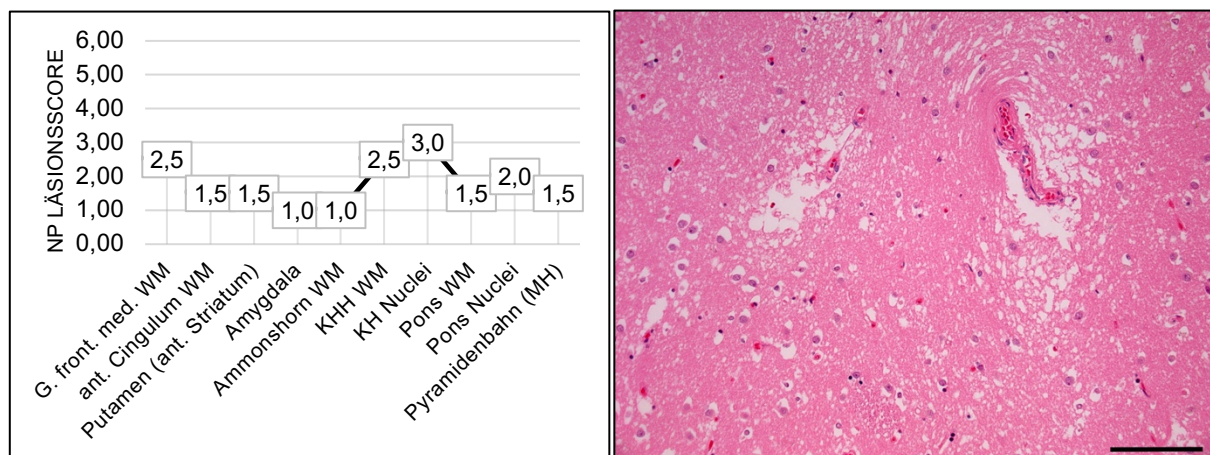


Abbildung 33: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 17

Abbildung 34: Bild (rechts) – Status cribrosus im anterioren Striatum von Fall 17 (HE-Färbung, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

## 4.3 Neuropathologische Befunde der Kontrollgruppe

### 4.3.1 Kontrolle 1

Der 66-jährige Patient wurde 39 Tage vor Tod mit gastrointestinaler Symptomatik und Diarrhoe hospitalisiert. Es erfolgte eine positive Testung auf Influenza bei zweifacher negativer Testung auf SARS-CoV-2. Der Patient entwickelte eine virale Pneumonie mit bakterieller Superinfektion. Es wurde keine neurologische Symptomatik beschrieben. Eine mechanische Beatmung musste 38 Tage vor Tod etabliert werden. Der Patient litt unter folgenden Vorerkrankungen: KHK und Vorhofflimmern bei Kardiomyopathie, Nikotin- und Alkoholabusus. Im Therapieverlauf kam es zur Sepsis mit Multiorganversagen. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 66 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Makroskopisch ist keine Arteriosklerose und keine Erweiterung der Liquorräume zu erkennen. Auffällig ist eine Verfärbung des Marklagers wie bei einem Myelinverlust frontocaudal links, frontoparietal rechts, temporal beidseits, am linken Ammonshorn und occipital rechts mehr als links (am ehesten Fixierungsartefakt). Der Kleinhirnwurm ist eher klein.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Im G. frontalis medius findet sich im HE-Schnitt lediglich eine glomeruloide Gefäßproliferation. Die restlichen corticalen Areale sind unauffällig bei gutem Nervenzellbesatz. Die CD68-Immunreaktion markiert durchweg nur geringe Makrophagen-Aktivität in den Meningen. In den Rindenschichten überwiegt der geringe perivaskuläre Anteil gegenüber dem diffusen Mikroglia-Signal. In der weißen Substanz ist relativ zur Rinde mehr Mikroglia-Aktivität auszumachen. Es findet sich durchweg ein mindestens mäßiges, im occipitalen Cortex sogar starkes diffuses Mikroglia-Signal – jedoch ohne Makrophagen-Cluster. Ein Myelinverlust ist nicht auszumachen.

**Basalganglien:** Im HE-Schnitt ist das anteriore Striatum unauffällig. Die Basalganglien zeigen Gefäßwandmineralisationen im Pallidum und perivaskuläre Auflockerungen. In der CD68-Immunreaktion wird eine sehr starke diffuse Mikroglia-Reaktion in der Inselrinde markiert. Die kreuzenden Bahnen und die Pyramidenbahn zeigen alle eine starke Mikroglia-Aktivität bei gering bis mäßiger perivaskulärer Makrophagen-Ansiedlung. Putamen, Pallidum und Ncl. caudatus zeigen das gleiche Muster.

**Amygdala:** Die Amygdala ist im HE-Schnitt unauffällig. In der CD68-Immunreaktion markiert sich ein mäßiges perivaskuläres und nur gering stärkeres diffuses Signal. In der weißen Substanz findet sich ein nur noch abgeblasster reaktiver Makrophagen-Cluster.

**Thalamus:** In der HE-Übersicht des Thalamus fallen erneut perivaskuläre Auflockerungen und Gliose auf. In der CD68-Immunreaktion zeigen sich pigmentierte perivaskuläre Makrophagen-Manschetten. In den absteigenden Bahnen findet sich eine heftige Mikroglia-Reaktion bei mäßiger perivaskulärer Beteiligung.

**Ammonshorn:** Im HE-Schnitt des Ammonshorns findet sich ein einzelnes Tangle, der mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 nicht immunreaktiv ist. In der CD68-Immunreaktion ist im temporalen Cortex, dem Ammonshorn und der angrenzenden weißen Substanz nur mäßige perivaskuläre und diffuse Aktivität feststellbar.

**Kleinhirn:** In der HE-Färbung erscheint der Kleinhirnwurm atrophiert. Das Stratum moleculare ist verschmälert bei erhaltenem Purkinje-Zellbesatz. Die Kleinhirnhemisphäre ist unauffällig. Die Meningen sind in der CD68-Immunreaktion mäßig mit Makrophagen besiedelt. In den Rindenschichten findet sich mäßig viel perivaskuläres und diffuses Signal, mehr als bei COVID-19-Patienten. Erneut überwiegt ein stärkeres diffuses und perivaskuläres Signal in der weißen Substanz und den Kleinhirnkernbereichen.

**Mittelhirn:** Das Mittelhirn erscheint im HE-Schnitt unauffällig. Die Substantia nigra und die Augenmuskelkerne zeigen in der CD68-Immunreaktion fast kein diffuses Signal, bei geringem perivaskulärem Makrophagen-Besatz. Auch die absteigenden Bahnen zeigen ein nur geringes diffuses Mikroglia-Pattern.

**Hirnstamm:** In der HE-Färbung erscheinen die Kerngebiete im Pons ausgedünnt. Im linken Locus coeruleus findet sich ein Tangle, der nicht mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv ist. In der Medulla oblongata ist der rechte Ncl. n. hypoglossi deutlich ausgedünnt. In den Kerngebieten findet sich eine astrozytäre Gliose um einen Herd in Nähe des rechten Ncl. n. trigemini. In der CD68-Immunreaktion des Pons ist in den Kerngebieten mehr Mikroglia-Aktivität als im Mark auszumachen. Mit Ausnahme eines Makrophagen-Clusters in Höhe des Trigemini-Kerngebietes zeigt sich auch in der Medulla oblongata in den Kerngebieten und im Mark nur geringes bis mäßiges Signal.

### **Interpretation:**

Die glomeruloide Gefäßproliferation im Cortex deutet auf eine chronische arterielle Hypertonie hin. Auch der ausgedünnte Neuronenbesatz im Ncl. n. hypoglossi ist typisch für kardial erkrankte Patienten mit chronischer Hypoxie. Die Gefäßwandmineralisationen im Pallidum sind Indiz für eine frühkindlich stattgehabte Infektion. Die Kleinhirn-Oberwurm-Atrophie ist charakteristisch für chronischen Alkoholabusus. Ein Myelinverlust ist nicht auszumachen.

Trotz des schweren Krankheitsverlaufs mit Sepsis finden sich im Unterschied zum COVID-19-Kollektiv nur wenige frische Makrophagen-Cluster, sondern überwiegend ältere, bereits pig-

mentspeichernde Makrophagen-Infiltrate. Diese deuten auf länger zurückliegenden Gewebeschaden hin. Weiterhin unterschiedlich ist, dass im vorliegenden Fall auch in den Rindenschichten eine kräftigere diffuse Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion auszumachen ist, etwa im Kleinhirn.

Die Diagnostik auf neurodegenerative Erkrankungen lieferte keinen pathologischen Befund.

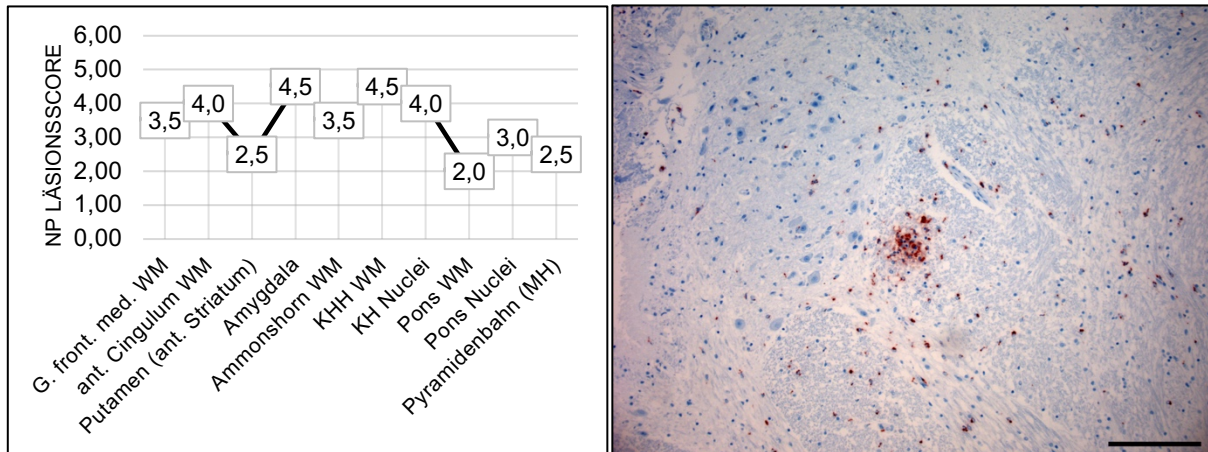


Abbildung 35: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 1

Abbildung 36: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster in der Nähe des Ncl. n. trigemini von Kontrolle 1 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.3.2 Kontrolle 2

Es handelte sich um einen 70-jährigen Patienten mit arterieller Hypertonie und 3-Gefäß-KHK, Z. n. Nephrektomie beidseits und Nierentransplantation bei adulter polyzystischer Nierenerkrankung (ADPKD) und diffus großzelligem B-Zell-Lymphom unter Chemotherapie. Im Rahmen einer Hospitalisierung wegen Verschlechterung des Allgemeinzustandes verstarb der Patient unerwartet. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 24 Stunden.

##### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein kardiopulmonales Versagen bei fulminanter Lungenarterienembolie beidseits sowie klinischer Infektkonstellation.

Bei der makroskopischen ZNS-Inspektion fällt eine deutliche Arteriosklerose der A. basilaris auf. In der A. cerebri media liegt lediglich eine Wandfibrose vor. Die Liquorräume sind nicht erweitert. In den Basalganglien und dem Thalamus sind „Stippchen“-artige Gefäßinjektionen in der weißen Substanz zu erkennen. Im vorderen rechten Putamen liegt ein cavitärer Defekt von 3 mm Durchmesser. Weitere lakunäre Kavitäten liegen im Putamen auf Höhe des linken Corpus mamillare und im Thalamus auf Höhe des rechten Corpus geniculatum laterale.

### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Übersicht eine glomeruloide Gefäßproliferation bei Unregelmäßigkeiten der Gefäßwand. Morphologisch besteht kein Anhalt für neurodegenerative Pathologie. Die CD68-Immunreaktion zeigt geringe Makrophagen-Aktivität in den Meningen. In den Rindenschichten ist das Signal durchweg gering oder sehr gering. In der weißen Substanz überwiegt eine insgesamt ebenfalls geringe perivaskuläre Makrophagen-Komponente gegenüber dem diffusen Mikroglia-Signal.

**Basalganglien:** Das anteriore Striatum und die Basalganglien zeigen in der HE-Färbung einen älteren Infarkt mit Fasergliose im Caudatuskopf. Das Infarktareal ist durchzogen von Gefäßen und beinhaltet nur noch wenige kondensierte Makrophagen. Periventrikulär und an den großen Gefäßen sind Mikromineralisationen zu beobachten. Im Pallidum sind auch die kapillären Gefäßanschnitte mineralisiert. Perivaskulär kommt es zu Aufhellungen entsprechend einem Status lacunaris an zwei Lokalisationen im Putamen und an einer Stelle im Pallidum. Die CD68-Immunreaktion zeigt im Ncl. caudatus ein nur geringes perivaskuläres Signal bei sehr schwacher diffuser Komponente. Im Infarktareal liegen nur noch wenige kondensierte Makrophagen. Die Pyramidenbahn und die kreuzenden Bahnen sind teilweise frei von diffuser Aktivität und zeigen eine ebenfalls nur sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität. Auch in der Inselrinde ist nur sehr wenig Signal auszumachen. Im Putamen und Pallidum ist die perivaskuläre Komponente immerhin gering bis mäßig. Im Putamen ist die Mikroglia geringfügig aktiviert um ein kleines Infarktareal mit alten pigmentspeichernden Makrophagen.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Übersicht unauffällig. Bei gering bis mäßiger perivaskulärer Komponente findet sich ein nur geringes Mikroglia-Signal in der CD68-Immunreaktion.

**Thalamus:** Im Thalamus liegt im ventral-lateralen Bereich ein frischer Infarkt mit untergehenden Neuronen bei erhaltener Matrix. Die CD68-Immunreaktion zeigt im Thalamus selbst eine geringe perivaskuläre Komponente bei sehr geringer diffuser Aktivität. Im Infarktareal ist eine Mikroglia-Reaktion markiert. In den absteigenden Bahnen ist ein immerhin geringes diffuses Signal zu erkennen.

**Ammonshorn:** In der HE-Übersicht des Ammonshorns sind deutliche Mineralisationen der kapillären Gefäßwände am Ammonshornknie zu erkennen. Die Meningen, der Cortex, die weiße Substanz und das Ammonshorn selbst sind in der CD68-Immunreaktion gleichermaßen nur sehr gering affiziert.

**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm ist unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt geringe bis mäßige meningeale Makrophagen-Aktivität. Die Rindenschicht ist im Kleinhirnwurm nahezu frei von Signal, während in der Hemisphäre eine geringe perivaskuläre Komponente zu beobachten ist. In der weißen Substanz ist eine mäßige diffuse

Mikroglia- und teilweise ebenso starke perivaskuläre Makrophagen-Aktivität auszumachen. Der Kleinhirnkernbereich zeigt ein mäßiges perivaskuläres Signal bei nur geringer diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Mittelhirn:** Die HE-Färbung des Mittelhirns ist unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in Substantia nigra und den Augenmuskelkernen ein nur sehr geringes diffuses Signal, aber in beiden Kerngebieten vereinzelt Neuronophagien. Das diffuse Signal wird in den absteigenden Bahnen etwas stärker, bleibt aber gering.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata fällt lediglich im linken Locus coeruleus ein einzelnes Tangle auf, welches mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv ist. Der Zellbesatz im Ncl. n. hypoglossi erscheint ausgedünnt. Die CD68-Immunreaktion markiert in den Hirnnerven-Kernbereichen ein jeweils geringes perivaskuläres und diffuses Signal. Das umgebende Mark ist nahezu frei von Signal.

**Interpretation:**

Es zeigen sich mehrere Infarkte im anterioren Striatum und den Basalganglien bei deutlicher Arteriosklerose und Status cribrosus bzw. lacunaris. Im Thalamus liegt ein frischer perimortaler Infarkt vor. Weiterhin auffällig sind prominente Gefäßwandmineralisationen in den Basalganglien und dem Ammonshorn, hinweisend z. B. auf frühkindliche Infektion.

Die CD68-Immunreaktion markiert durchweg nur geringe Aktivität, abgesehen von der wie in COVID-19-Fällen stärker affizierten weißen Substanz im Kleinhirn. Es finden sich – trotz vorhandener Infarkte – keine COVID-19-assoziierten Makrophagen-Cluster.

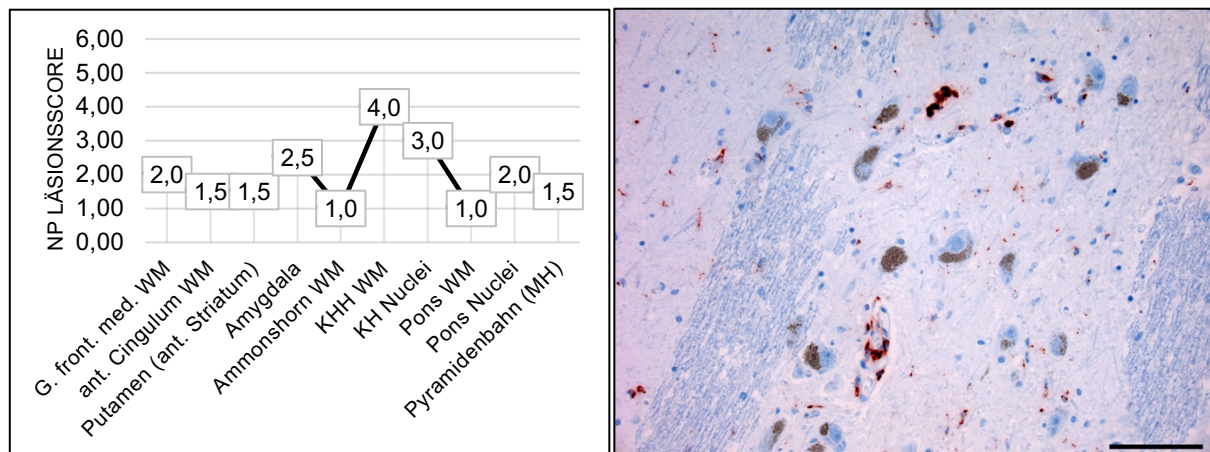


Abbildung 37: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 2

Abbildung 38: Bild (rechts) – Neuronophagien in der Substantia nigra von Kontrolle 2 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)

### 4.3.3 Kontrolle 3

Es handelte sich um einen 66-jährigen Patienten mit metastasiertem Prostata-Karzinom mit palliativem Behandlungskonzept. Im Rahmen einer Hospitalisierung verstarb der Patient.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache eine Tumorkachexie bei metastasiertem Prostata-Karzinom.

Das Gehirn ist sehr blass. Es finden sich keine arteriosklerotischen Veränderungen. Die Liquorräume sind nicht erweitert. Ammonshorn und Hirnstamm wirken verkleinert. Occipital rechts findet sich ein 5 mm x 4 mm großer Herdbefund. Der Plexus choroideus ist mineralisiert.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Übersicht ein gelegentliches glomeruloides Gefäßmuster. Die CD68-Immunreaktion markiert einen nur sehr geringen bis geringen meningealen Makrophagen-Besatz. Sowohl die Rindenschichten als auch die weiße Substanz zeigen eine nur sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität bei teilweise schwachem perivaskulärem Makrophagen-Signal.

**Basalganglien:** In der HE-Färbung des anterioren Striatums findet sich im Bereich des Ncl. caudatus ein Mikroinfarkt mit alten, pigmentierten Makrophagen. In den Basalganglien sind ebenfalls etliche pigmentierte Makrophagen diffus verteilt. Die perivaskulären Spalträume sind moderat vergrößert bei verdickten Gefäßwänden. Die CD68-Immunreaktion zeigt durchweg ein nur sehr geringes Signal. Lediglich im Bereich des Ncl. caudatus verläuft eine kleine Straße mit alten pigmentspeichernden Makrophagen und geringer bis mäßiger diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Amygdala:** Die Amygdala zeigt in der HE-Übersicht vereinzelte perivaskulär liegende pigmentierte Makrophagen. Periventrikulär liegt ein kleines Infarktreal. Die CD68-Immunreaktion markiert keine diffuse Mikroglia und eine nur geringe perivaskuläre Komponente.

**Thalamus:** Der Thalamus ist in der HE-Übersicht unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in thalamischen und hypothalamischen Arealen und im Corpus mamillare ein sehr geringes diffuses und ebenso geringes perivaskuläres Signal.

**Ammonshorn:** In der HE-Übersicht des Ammonshorns fallen im transentorhinalen Cortex bereits Plaques auf, die mit dem anti-Tau-Antikörper AT8 immunreaktiv sind. Die beta-Amyloid-Immunreaktion markiert diffuse Plaques im temporalen Cortex. Die CD68-Immunreaktion zeigt nur sehr geringe Aktivität im Ammonshorn selbst bei gering bis mäßigem diffusem Signal in der weißen Substanz. In den Meningen und dem temporalen Cortex ist ebenfalls nur geringe Makrophagen- und Mikroglia-Aktivität auszumachen.



**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm ist unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in den Meningen mäßige bis starke Makrophagen-Aktivität. In der Rinde findet sich im Kleinhirnwurm kein, in der Hemisphäre ein nur sehr geringes perivaskuläres und diffuses Signal. In der weißen Substanz ist eine immerhin geringe Aktivität auszumachen. Im Kleinhirnkernbereich liegt ein frischer Makrophagen-Herd bei geringer bis mäßiger diffuser Mikroglia-Reaktion.

**Mittelhirn:** In der HE-Färbung des Mittelhirns fällt eine Mikrovakuolisierung der Substantia nigra auf. Die CD68-Immunreaktion markiert dort etliche alte, pigmentierte Makrophagen bei geringer diffuser Mikroglia-Reaktion. In den Augenmuskelkernen findet sich etwas schwächeres Signal. In den absteigenden Bahnen ist fast keine diffuse Aktivität bei schwacher perivaskulärer Komponente auszumachen.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata sind Locus coeruleus und die restlichen Kerngebiete unauffällig. Die Kerngebiete des Pons zeigen in der CD68-Immunreaktion eine geringe diffuse Mikroglia-Reaktion, die jedoch stärker ist als das sehr geringe Signal in der weißen Substanz.

**Interpretation:**

Es handelt sich um einen ZNS-Befund mit mehreren Mikroinfarkten, arteriosklerotischen Gefäßwänden und perivaskulärer Auflockerung im beginnenden Status lacunaris in den Basalganglien. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine geringe Aktivität und markiert größtenteils Infarkt-assoziierte ältere Makrophagen. Auffallend ist ein frischer Makrophagen-Herd im Kleinhirnkernbereich, der jedoch kleiner ist als die bekannten COVID-19-assoziierten Cluster.

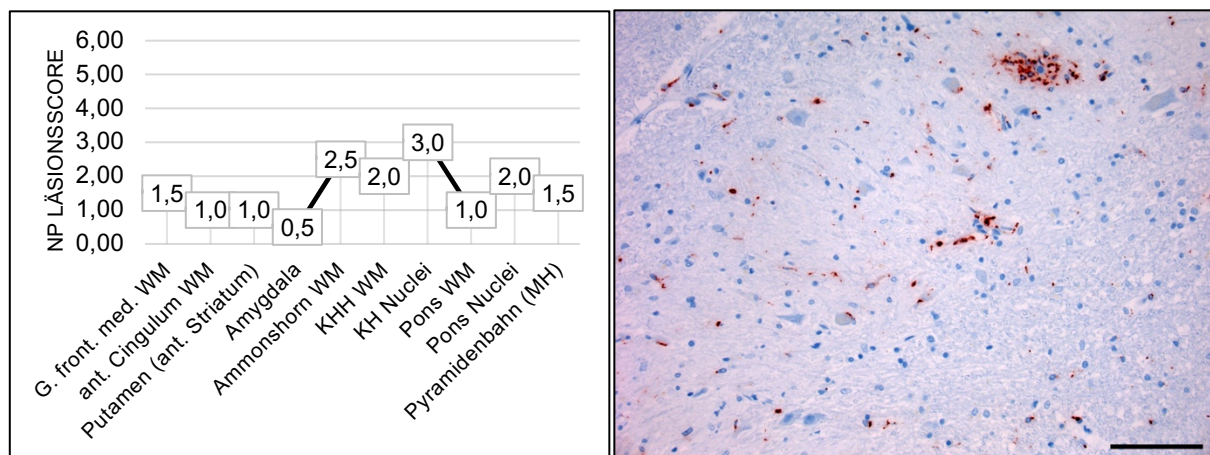


Abbildung 39: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 3

Abbildung 40: Bild (rechts) – Makrophagen-Herd im Bereich der Kleinhirnkernkerne von Kontrolle 3 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)



#### 4.3.4 Kontrolle 4

Es handelte sich um einen 55-jährigen Patienten mit Diabetes mellitus, Adipositas per magna und arterieller Hypertonie. Die stationäre Aufnahme erfolgte notfallmäßig 10 Tage vor Tod wegen schwerstem diabetischem Fußsyndrom rechts mit ausgeprägter Gangrän. Initial wurde eine Nekrosektomie und Fazienspaltung durchgeführt. Aufgrund einer konsekutiven Sepsis kam es zur Amputation des Oberschenkels 9 Tage vor Tod. Am Todestag berichtete der Patient über ein thorakales Druckgefühl und Dyspnoe. Er wurde zunehmend kreislaufinstabil. Nach 60 Minuten frustraner kardiopulmonaler Reanimation wurde der Tod festgestellt. Die Postmortalzeit vor Autopsie betrug 72 Stunden.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein kardiopulmonales Versagen bei fulminanter Lungenarterienembolie beidseits. Der ZNS-Befund zeigt eine deutliche Arteriosklerose mit Fibrosierung der großen Gefäße und Plaques in A. carotis communis und A. basilaris. Das Ammonshorn ist etwas verkleinert. Im linken G. temporalis superior findet sich im Marklager eine 8 mm x 2 mm große Läsion. Außerdem fällt eine deutliche Blutstauung auf.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte sind in der HE-Übersicht unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine sehr geringe, abschnittsweise geringe meningeale Makrophagen-Aktivität. In den Rindenschichten findet sich durchweg allenfalls sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität. In der weißen Substanz dominiert ein schwaches perivaskuläres Signal. Lediglich im Mark des G. parietalis inferior liegen zwei Foci mit umgebender mäßiger diffuser Mikroglia-Reaktion.

**Basalganglien:** In der HE-Färbung des anterioren Striatums und der Basalganglien sind die Gefäßwände hyalinisiert und verdickt. Die umgebende weiße Substanz ist perivaskulär deutlich aufgelockert. Die längsgeschnittenen Gefäßabschnitte sind arteriosklerotisch verändert. Im Pallidum finden sich Mineralisationen. Die CD68-Immunreaktion markiert eine im HE-Schnitt nicht detektierte thrombembolische Ischämiezone im Caudatuskopf. In den Meningen, dem frontobasalen Cortex und der Inselrinde findet sich nur sehr geringe perivaskuläre Aktivität ohne diffuse Mikroglia-Reaktion.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Übersicht unauffällig. Auch die CD68-Immunreaktion zeigt nur sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität.

**Thalamus:** Der Thalamus ist in der HE-Übersicht unauffällig. In der CD68-Immunreaktion zeigt sich kein diffuses Muster bei nur sehr geringer perivaskulärer Aktivität im Corpus mamillare.

**Ammonshorn:** In der HE-Übersicht des Ammonshorns sind die perivaskulären Spalträume deutlich erweitert. Die Gefäßanschnitte am Ammonshornknie sind mineralisiert. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine Mikroglia-Reaktion um diese Mineralisationen. Insgesamt findet sich nur sehr geringes diffuses und perivaskuläres Signal.

**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm ist unauffällig. In den Meningen zeigt die CD68-Immunreaktion geringe bis mäßige Makrophagen-Aktivität. In den Rindenschichten findet sich ein nur sehr geringes perivaskuläres Signal, jedoch keine diffuse Aktivität. Die weiße Substanz zeigt eine geringe bis mäßige diffuse Mikroglia-Reaktion. Im Kleinhirnkernbereich ist stärkeres Signal feststellbar mit mäßiger diffuser Mikroglia-Aktivität.

**Mittelhirn:** Die HE-Färbung des Mittelhirns ist unauffällig. Die Augenmuskelkerne und die Substantia nigra zeigen in der CD68-Immunreaktion ein schwaches perivaskuläres Signal. In den absteigenden Bahnen ist das perivaskuläre Signal schwach bis mäßig. Durchweg findet sich nur sehr geringe diffuse Mikroglia-Aktivität.

**Hirnstamm:** In der HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata finden sich keine morphologischen Auffälligkeiten. Die CD68-Immunreaktion zeigt lediglich in den Nuclei des Pons ein schwaches bis mäßiges diffuses Signal. In der weißen Substanz ist weniger diffuse Aktivität feststellbar. Im Bereich des unteren Ncl. olivaris inferior am Übergang zum Mark liegt ein kleines Hypoxieareal mit mäßiger diffuser Mikroglia-Reaktion.

**Interpretation:**

Es liegt eine Arteriosklerose mit Status cribrosus in den Basalganglien vor. Weiterhin finden sich mehrere Infarktherde, z. B. im G. parietalis inferior und den Basalganglien. Es besteht kein Anhalt für neurodegenerative Erkrankungen. Die CD68-Immunreaktion markiert nur geringes Signal. Erneut zeigen die Kleinhirnkernkerne eine deutliche diffuse Mikroglia-Reaktion.

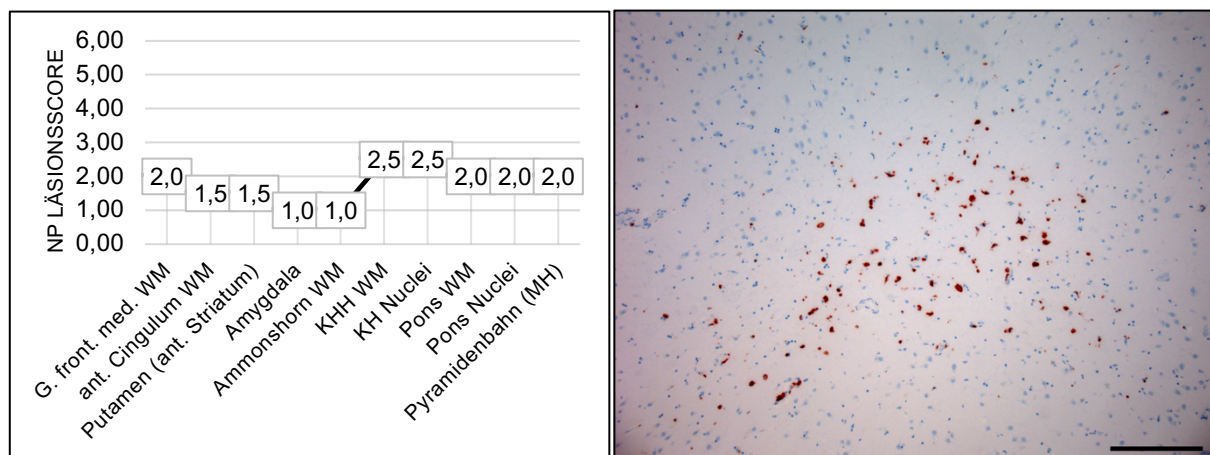


Abbildung 41: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 4

Abbildung 42: Bild (rechts) – Ischämiezone im Ncl. caudatus von Kontrolle 4 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

#### 4.3.5 Kontrolle 5

Es handelte sich um eine 47-jährige Patientin mit bekanntem Alkoholabusus, Anämie und Adipositas. Aktuell war die Patientin an einer hämorrhagischen Gastritis erkrankt und einen Tag vor Tod nach heftigem Erbrechen kollabiert. Eine Laienreanimation und anschließende Reanimation durch den Notarzt wurde durchgeführt mit Rückkehr eines Spontankreislaufs nach 30 Minuten. Eine Bildgebung im Schockraum zeigte kleine periphere Lungenarterienembolien, ein Hirnödem und Infiltrate nach vermutlicher Aspiration. Im Verlauf erfolgten unter Beatmung Bluttransfusionen bei oberer und unterer gastrointestinaler Blutung. Die Patientin verstarb schließlich an Multiorganversagen.

#### **Makropathologische Veränderungen:**

Die Obduktion ergab als Todesursache ein hypovolämisches Herz-Kreislaufversagen bei hämorrhagischer Ösophagitis und Gastritis. Der makroskopische ZNS-Befund ist unauffällig. Der Kleinhirnwurm wirkt etwas atrophiert bei insgesamt kleinem Hirnstamm.

#### **Histopathologischer Befund:**

**Cortex:** Die corticalen Anschnitte zeigen in der HE-Übersicht einzelne absterbende Nervenzellen. In der CD68-Immunreaktion ist meningeal nur sehr wenig Makrophagen-Aktivität zu erkennen. In den Rindenschichten ist lediglich ein sehr geringes perivaskuläres, jedoch kein diffuses Signal auszumachen. Im Mark ist das perivaskuläre Signal etwas stärker bei fehlender diffuser Mikroglia-Komponente. Die Makrophagen sind größtenteils pigmentiert.

**Basalganglien:** In der HE-Färbung der Basalganglien fallen deutlich erweiterte perivaskuläre Spalträume auf. In der CD68-Immunreaktion überwiegt ein geringes perivaskuläres Makrophagen-Signal bei nur sehr geringer diffuser Mikroglia-Reaktion.

**Amygdala:** Die Amygdala ist in der HE-Übersicht unauffällig. Bei nur sehr geringer perivaskulärer Aktivität fehlt das diffuse Signal gänzlich in der CD68-Immunreaktion.

**Thalamus:** Der Thalamus zeigt in der HE-Übersicht eine Gliose. In der CD68-Immunreaktion sind die hypothalamischen Areale gänzlich frei von Signal, im Corpus mamillare, dem Thalamus und den absteigenden Bahnen findet sich eine sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Reaktion.

**Ammonshorn:** In der HE-Übersicht des Ammonshorns fallen ziegelsteinrote Neurone mit sich auflösenden Zellkernen in der CA1-Region auf. Die CD68-Immunreaktion zeigt lediglich sehr geringe perivaskuläre Makrophagen-Aktivität und einige alte pigmentspeichernde Makrophagen im Mark. Weder im Ammonshorn selbst noch im temporalen Cortex oder dem Mark findet eine diffuse Mikroglia-Reaktion statt.

**Kleinhirn:** Die HE-Übersicht von Kleinhirnhemisphäre und -wurm zeigt einen „état glacé“ in Form einer Autolyse der Körnerzellen. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der Rinde und in den Meningen nur sehr geringe Aktivität. Auch in der weißen Substanz finden sich lediglich pigmentspeichernde perivaskuläre Makrophagen. Im Kleinhirnkernbereich fehlt die diffuse Mikroglia-Aktivität komplett.

**Mittelhirn:** Die HE-Färbung des Mittelhirns ist morphologisch unauffällig. Die CD68-Immunreaktion zeigt in der Substantia nigra ein geringes diffuses und perivaskuläres Signal. Auch in den absteigenden Bahnen bleibt die Mikroglia-Aktivität gering.

**Hirnstamm:** Die HE-Übersicht des Pons und der Medulla oblongata ist unauffällig. In der CD68-Immunreaktion finden sich im Kerngebiet des Pons mäßig viele, jedoch alte und kondensierte perivaskuläre Makrophagen bei geringem diffusem Signal. Der Locus coeruleus und die weiße Substanz sind größtenteils frei von Signal. Auch in der Medulla oblongata findet sich lediglich im Hirnnervenkerbereich ein sehr geringes diffuses Pattern.

**Interpretation:**

Es handelt sich um einen ZNS-Befund mit vaskulärer Pathologie und Status cribrosus in den Basalganglien. Größtenteils alte pigmentspeichernde Makrophagen liefern Hinweise auf länger zurückliegende Schädigung, z. B. im Rahmen eines Hirnödems. Die klinisch beschriebene perimortale Hypoxie lässt sich anhand absterbender Neurone im Ammonshorn und in corticalen Anschnitten nachvollziehen. Es besteht kein Anhalt für neurodegenerative Erkrankungen. Die CD68-Immunreaktion zeigt ein durchweg sehr geringes Signal. Auch die COVID-19-assoziierten Läsionsorte wie die Kleinhirnkerne oder die weiße Substanz im Kleinhirnwurm und Hirnstamm zeigen viel geringere oder gänzlich fehlende diffuse Mikroglia-Aktivität.

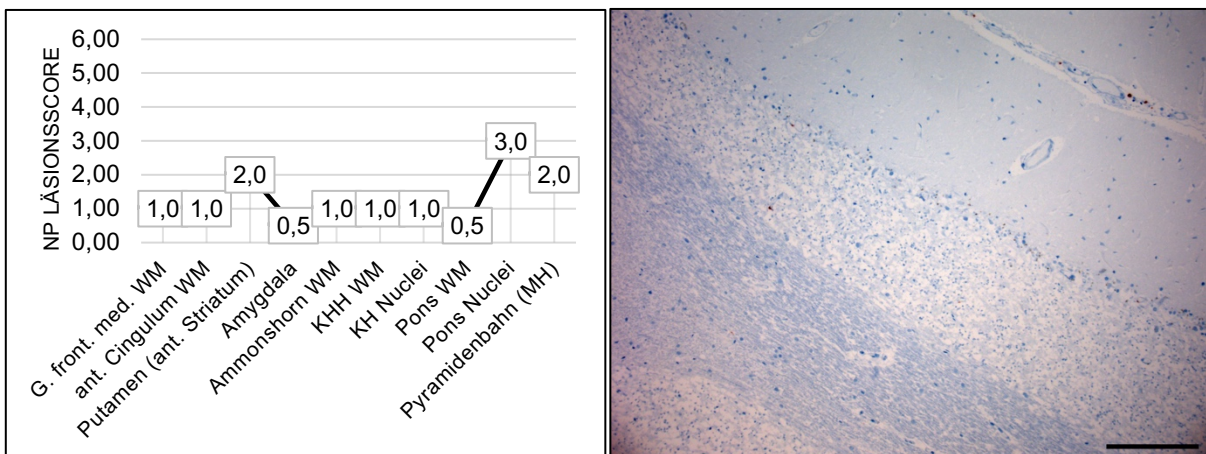


Abbildung 43: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 5

Abbildung 44: Bild (rechts) – Nur sehr geringe Mikroglia-Aktivität im Vermis cerebelli von Kontrolle 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

## 4.4 Auswertung der klinischen Daten

Die Kollektivgruppe war im Durchschnitt 75 Jahre, die Kontrollgruppe 60,8 Jahre alt. In beiden Gruppen waren mehr männliche (Kollektivgruppe: 12, Kontrollgruppe: 4) als weibliche Patienten vertreten.

Immerhin 6 Patienten (ca. 35,5%) aus dem COVID-19-Kollektiv wurden über einen längeren Zeitraum (im Durchschnitt 32 Tage) beatmet, bei weiteren 2 Patienten wurde eine Beatmung unmittelbar vor Ableben etabliert. In der Kontrollgruppe findet sich zum Vergleich mit dieser Kohorte ein ebenfalls langzeitbeatmeter Patient (38 Tage) mit schwerer Influenza-Pneumonie.

Bei 4 Patienten (ca. 23,5%) aus der COVID-19-Gruppe wurde eine kardiopulmonale Reanimation (CPR) durchgeführt. Für die Kontrollgruppe wurden zwei Fälle ausgewählt, die ebenfalls reanimiert wurden.

Bei insgesamt 8 Patienten (ca. 47%) aus dem COVID-19-Kollektiv war die charakteristische interstitielle Pneumonie zum Todeszeitpunkt superinfiziert oder es entwickelte sich im Krankheitsverlauf eine Sepsis.

Bei nur 4 Patienten aus dem Kollektiv wurde von einer neurologischen Symptomatik im Krankheitsverlauf berichtet, in der Kontrollgruppe bei keinem. Diese waren: generalisiert-tonischer Krampfanfall (1), prolongiertes Psychosyndrom bzw. verlängerte Beatmungsentwöhnung (1), lichtstarre Pupillen (1), Agitation in Sedierungsfenstern (1).

Bei weiteren 4 Patienten verlief die COVID-19-Infektion mit nur milder Symptomatik in der Häuslichkeit ab, davon ergab sich ein Fall zufällig durch PCR-Testung vor Autopsie. Ebenfalls 4 Patienten wurden mit nur milder Symptomatik auf Normalstation (NCU) aufgenommen.

Bei 2 Patienten des Kollektivs war die SARS-CoV-2-Infektion bereits überstanden und die Hospitalisierung erfolgte aus anderem Grund.

Alle Patienten aus der COVID-19-Kohorte hatten mindestens eine kardiovaskuläre Vorerkrankung bzw. einen Risikofaktor, z. B. arterielle Hypertonie (9 Patienten, ca. 53%), koronare Herzkrankheit bzw. periphere arterielle Verschlusskrankheit (5 Patienten, ca. 29,5%) oder ehemaligen bzw. andauernden Nikotinabusus (2 Patienten, ca. 12%). Insgesamt 4 Patienten (ca. 23,5%) waren Diabetiker.

Anhand des klinischen Krankheitsverlaufs und der bei der Autopsie festgestellten führenden Todesursache kann angenommen werden, dass in der Kollektivgruppe 4 von 17 Patienten (ca. 23,5%) nicht an, sondern mit COVID-19 verstorben sind. Sie wiesen nämlich keine typischen Symptome einer schweren oder kritischen COVID-19-Erkrankung entsprechend der Kriterien des Robert Koch-Instituts wie eine interstitielle Pneumonie auf und bedurften keiner Organunterstützung oder Vasopressoren-Gabe [61].

## 4.5 Auswertung der Läsionsmuster

### 4.5.1 COVID-19-assoziiertes CD68-Pattern

Über die bereits beschriebenen COVID-19-Fälle der Kollektivgruppe hinweg bildeten sich zwei Pattern in der CD68-Immunreaktion aus, die allen Fällen gemein sind: einerseits die perivaskuläre Makrophagen-Infiltration und andererseits eine diffuse Mikroglia-Reaktion.

Abbildung 45 zeigt die diffuse Mikroglia im COVID-19-Kollektiv. Hellrötlich hinterlegt ist die Spannweite der vergebenen Werte. Als rote durchgängige Linie ist der Mittelwert über alle COVID-19-Fälle in den verschiedenen Arealen dargestellt. Es fällt auf, dass in allen Arealen außer der Amygdala und den absteigenden Bahnen in mindestens einem Fall der Maximalwert vergeben wurde. Insgesamt ist die diffuse Mikroglia-Aktivität über die Fälle gemittelt im Bereich der Kleinhirnerkerne am stärksten, gefolgt von der weißen Substanz der corticalen Areale und dem Hirnstamm-Bereich mit den Kerngebieten im Pons.

Das perivaskuläre Pattern folgt der diffusen Verteilung weitgehend, zeigt aber über die Areale hinweg geringere Abweichung in der Intensität (s. Abb. 46). Auch hier sind die weiße Substanz der corticalen Anschnitte und das Kleinhirn mit Mark und Kernbereich stärker betroffen als die restlichen ausgewerteten Areale.

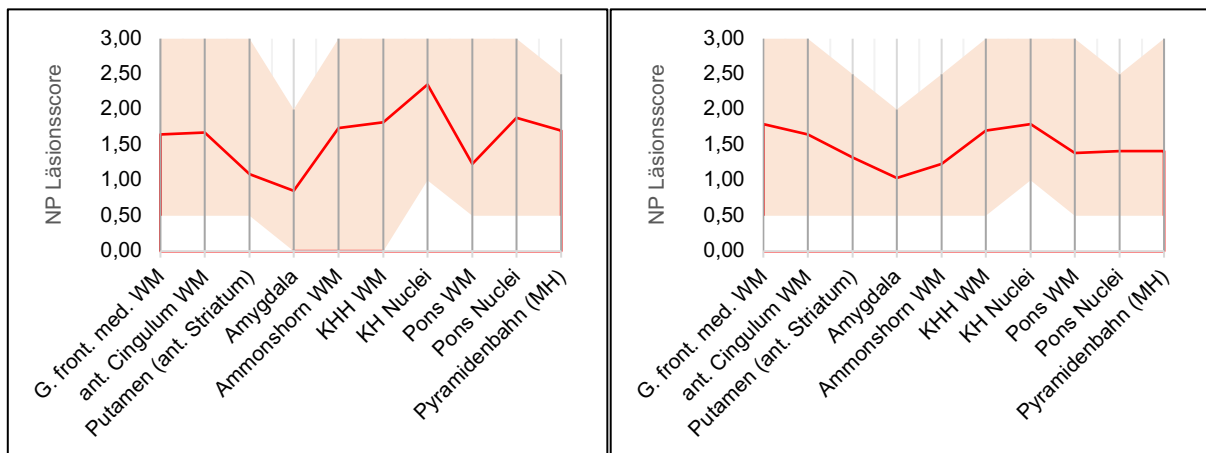


Abbildung 45: Liniendiagramm (links) - Diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe

Abbildung 46: Liniendiagramm (rechts) - Perivaskuläres Läsionsmuster der Kollektivgruppe

Die aufsummierte Auswertung beider Pattern verdeutlicht den Fokus der Läsionen erneut (s. Abb. 47). Die COVID-19-Neuropathologie der vorliegenden Fälle scheint eine Pathologie der weißen Substanz im Allgemeinen sowie des Hirnstamms und Kleinhirns zu sein. Eine Struktur, die sich sowohl im perivaskulären als auch diffusen Läsionsmuster und daher ebenso in der Summe als gering verändert erweist, ist die Amygdala mit ihren Kerngebieten.

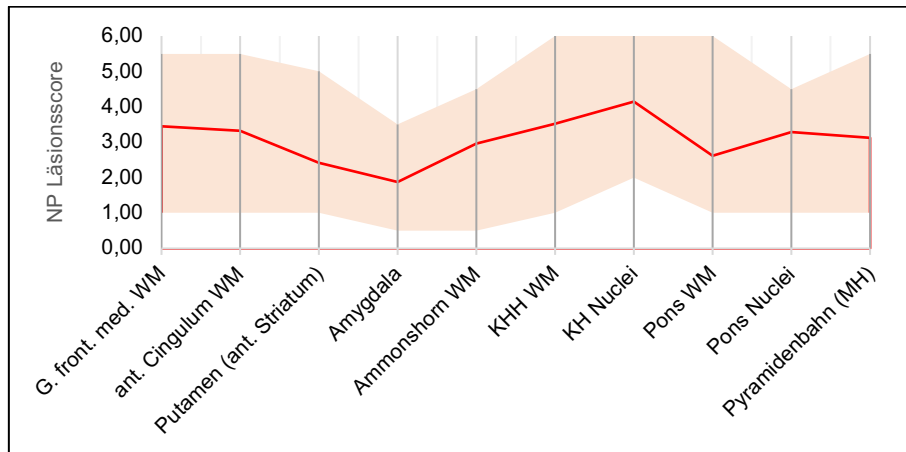


Abbildung 47: Liniendiagramm – Perivaskuläres und diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe aufsummiert

#### 4.5.2 Vergleich der Läsionsmuster von Kollektiv- und Kontrollgruppe

Im Vergleich zur COVID-19-Kollektivgruppe ist die diffuse Mikroglia-Aktivierung in der Kontrollgruppe durchweg niedriger. Die vergleichende Abbildung der diffusen Scores in Abbildung 48 zeigt, dass für die Kontrollgruppe, die hellblau hinterlegt ist, in keinem Areal der Maximalwert vergeben wurde. Bei Betrachtung der Mittelwerte der Kontrollgruppe (blaue Linie) findet sich erneut im Bereich der weißen Substanz und der Kerngebiete des Kleinhirns die stärkste Mikroglia-Reaktion, jedoch auf deutlich schwächerem Niveau als in der Kollektivgruppe. Die weiße Substanz der corticalen Areale zeigt dagegen im Mittelwert geringes Signal.

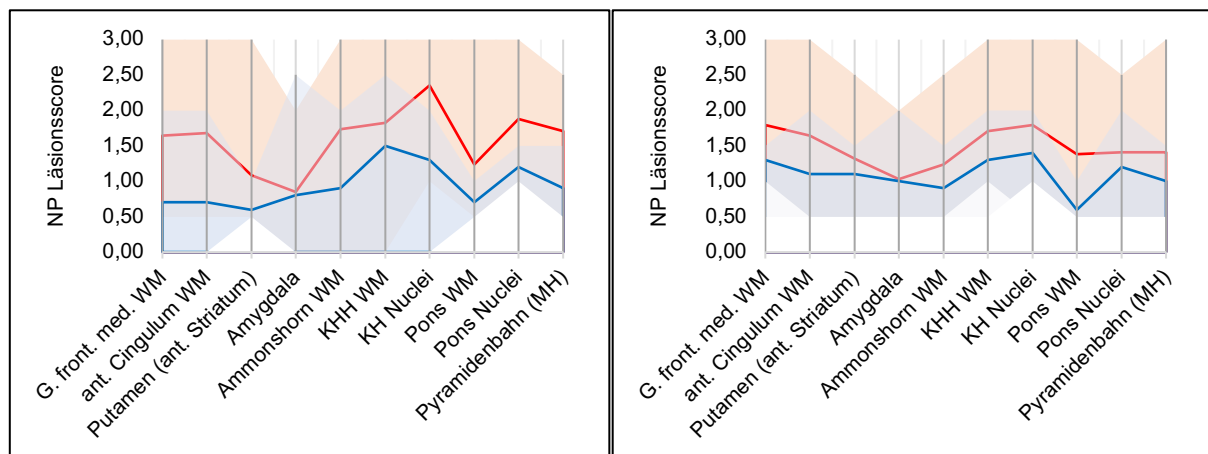


Abbildung 48: Liniendiagramm (links) - Diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau)

Abbildung 49: Liniendiagramm (rechts) - Perivaskuläres Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau)

Die Betrachtung der perivaskulären Läsionsmuster der beiden Gruppen in Abbildung 49 bestätigt den Eindruck erneut, dass die perivaskuläre Makrophagen-Komponente der diffusen Mikroglia-Reaktion in der Ausprägung ähnelt, aber weniger stark variiert. Auch beim perivaskulären Pattern wurde in der Kontrollgruppe in keinem Areal der Maximalwert vergeben.

In der aufsummierten Gegenüberstellung der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau) in Abbildung 50 wird insgesamt deutlich, dass die Makrophagen- und Mikroglia-Aktivität in den COVID-19-Fällen – abgesehen von der Amygdala – durchweg deutlich erhöht gegenüber der Kontrollgruppe ist. Neben den Mittelwerten ist auch die Spannweite der vergebenen Scores in der Kollektivgruppe deutlich größer. In den bereits beschriebenen Fokusstellen der Pathologie, etwa im Bereich des Kleinhirns und der weißen Substanz des Hirnstamms, wurde in der COVID-19-Kollektivgruppe teilweise die maximale aufsummierte Punktzahl vergeben. In der Amygdala überwiegt dagegen die Spannweite vergebener Werte der Kontrollgruppe.

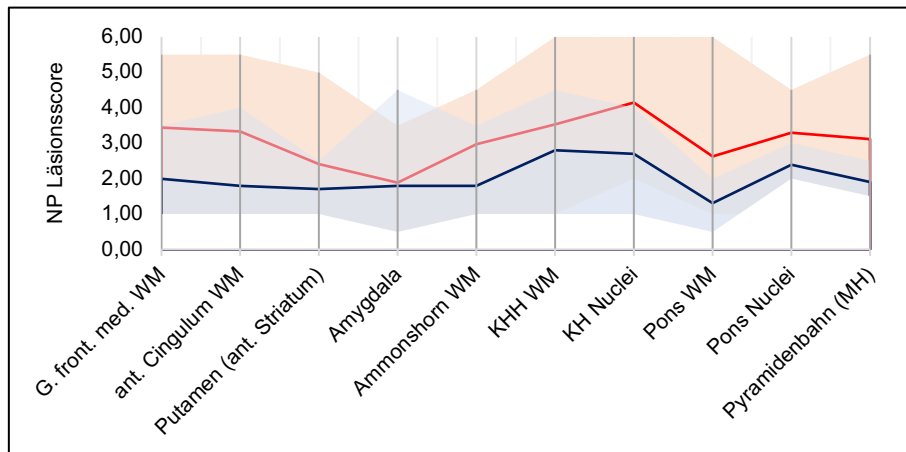


Abbildung 50: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau)

#### 4.5.3 Keine Korrelation zur Schwere des Krankheitsverlaufs

Es stellte sich nun die Frage, ob die Ausprägung des neuropathologischen Läsionsmusters abhängig von der klinischen Schwere der COVID-19-Erkrankung ist. Die COVID-19-Kohorte wurde zu diesem Zweck in Patienten mit „schwerem“ und „leichtem“ Krankheitsverlauf aufgeteilt. Als „schwere“ Erkrankung wurde definiert, dass die Patienten intensivmedizinisch behandelt werden mussten und zumindest kurzzeitig invasiv beatmet waren (Fälle 2, 3, 4, 5, 7, 8, 13 und 15). Diese Patienten sind nach Definition des National Institutes of Health (NIH) als „kritisch krank“ einzuordnen [128]. Die restlichen Fälle wurden als „leichte“ Erkrankung klassifiziert, da sie entweder gar nicht hospitalisiert oder auf Normalstation (NCU) untergebracht waren. In Abbildung 51 wird ersichtlich, dass keine deutliche Korrelation zur klinischen Krankheitsschwere besteht. Während in der Kohorte der „schwer“ Erkrankten das Läsionsmuster in der corticalen weißen Substanz im Mittelwert überwiegt, zeigen die „leicht“ Erkrankten eine ausgeprägte Pathologie in den Kleinhirn-Arealen und dem Hirnstamm.



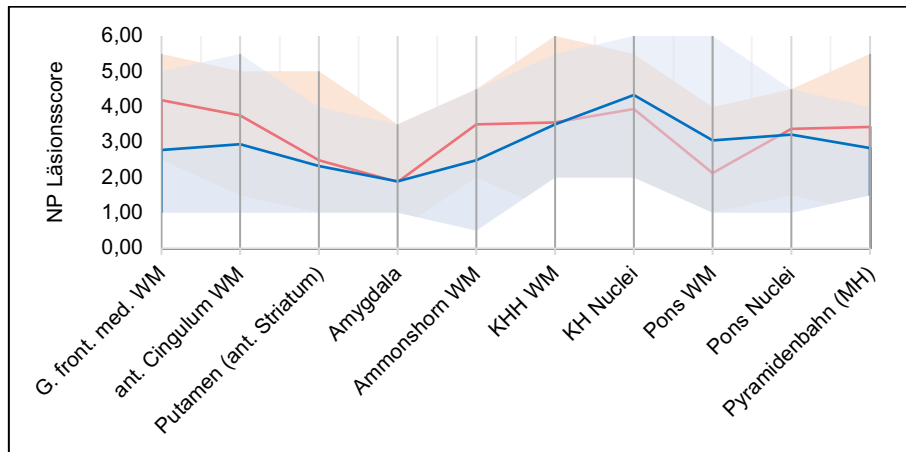


Abbildung 51: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der „schweren“ (rot) versus „leichten“ (blau) COVID-19-Verläufe

#### 4.5.4 Cluster sind assoziiert mit schwererem Läsionsmuster

Ein weiteres gehäuftes Pattern sind Makrophagen-Cluster, die bei 10 Patienten (Fälle 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15) des COVID-19-Kollektivs (ca. 59%) detektiert wurden. Diese traten zumeist in der weißen Substanz auf (8 Fälle), darunter am häufigsten im Mark der Großhirn-areale (n = 6), gefolgt von der weißen Substanz des Hirnstamms (n = 5), der Capsula interna bzw. Pyramidenbahn (n = 3) und dem Mark des Kleinhirns (n = 1). Außerdem wurden mehrmals Cluster in Kerngebieten des Hirnstamms (n = 4), in den Basalganglien (n = 1) und den Kleinhirnkernen (n = 1) beobachtet. Dabei war das Auftreten der Makrophagen-Cluster nicht mit einem „schweren“ Krankheitsverlauf assoziiert.

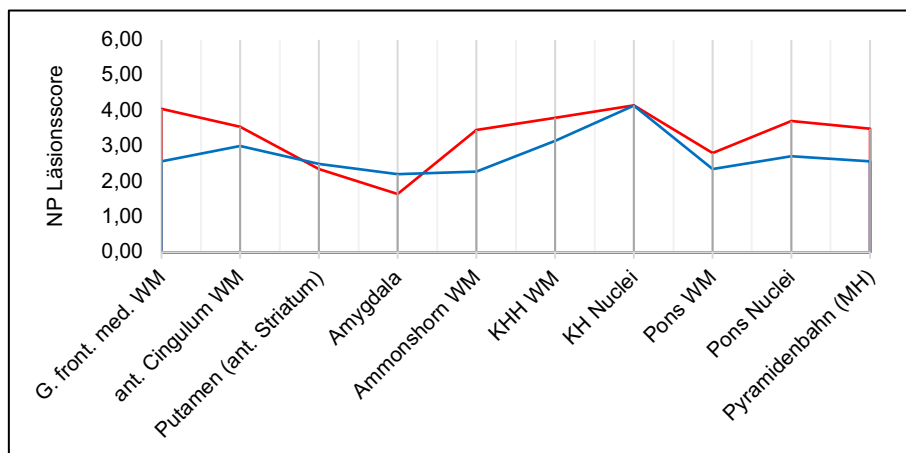


Abbildung 52: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19 Fälle mit (rot) versus ohne (blau) CD68-positiven Clustern

In Abbildung 52 sind die Mittelwerte des summierten Läsionsmusters aller COVID-19-Fälle mit Clustern (rot) aufgetragen gegen die übrigen Fälle der Kohorte (blau). Es wird ersichtlich, dass an den Lokalisationen mit häufiger Cluster-Bildung, nämlich der weißen Substanz in allen ausgewerteten Arealen und den Kerngebieten im Hirnstamm, das Läsionsmuster im Mittel deutlich oberhalb der restlichen COVID-19-Fälle liegt. Es kann daher angenommen werden, dass die

Cluster-Bildung ein fortgeschrittenes Stadium der Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion darstellt.

#### 4.5.5 Unterscheidet sich das Läsionsmuster bei anderer Todesursache?

Als nächstes wurde verglichen, ob sich das Läsionsmuster unterscheidet bei Patienten, die zwar mit SARS-CoV-2 infiziert waren, aber nach Ergebnis der Obduktion und in Zusammenschau mit der klinischen Krankengeschichte eher „mit“ der Infektion als „an“ COVID-19 verstorben sind. Dazu wurden 4 Fälle (Fälle 6, 9, 10 und 17) aus dem COVID-19-Kollektiv, bei denen keine typische interstitielle Pneumonie als Autopsiebefund festgestellt wurde und die nach klinischen Angaben asymptomatisch oder „mild“ nach Kriterien der NIH [128] erkrankt waren, mit der oben beschriebenen Gruppe „schwerer“ Krankheitsverläufe verglichen. Fall 6 verstarb an einer Sepsis nach Pyelonephritis und war bereits 10 Wochen vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden. Fall 9 war bei anamnestischer Symptombefreiheit in häuslicher Quarantäne und wurde mit akuter Aortendissektion bewusstlos aufgefunden. Fall 10 litt an bekannter hypertropher Kardiomyopathie und verstarb an Herz-Kreislauf-Versagen drei Tage nach positiver SARS-CoV-2-Testung mit nur leichtem Husten in der Häuslichkeit. Fall 17 wurde ca. 4-5 Wochen vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet und verstarb im Rahmen einer erneuten Hospitalisierung an akutem Leberversagen nach einer Operation an der Hüfte.

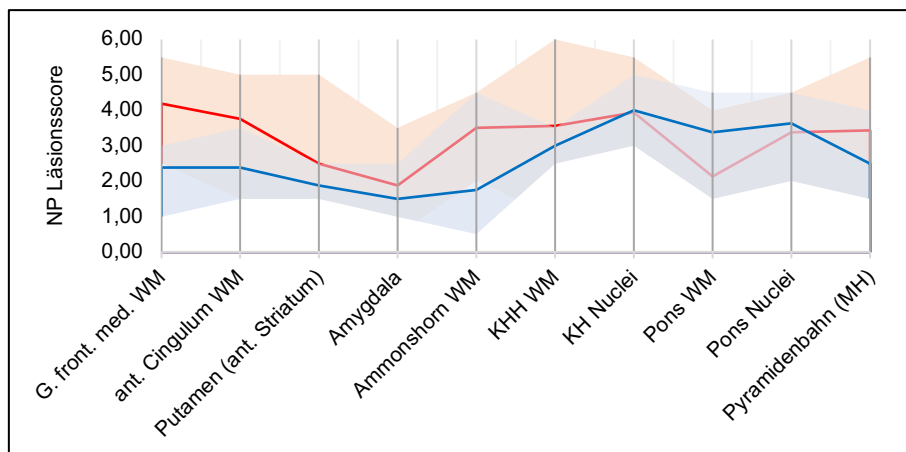


Abbildung 53: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der „an“ (rot) versus „mit“ (blau) SARS-CoV-2 verstorbenen Patienten

Die aufsummierten Läsionsmuster der beiden Gruppen zeigen abermals kein eindeutiges Bild. In der „mit“ SARS-CoV-2 verstorbenen Gruppe wurden zwar weitestgehend geringere Maximalwerte vergeben und auch der Mittelwert verläuft größtenteils niedriger, jedoch zeigen die Kleinhirnkern und der Hirnstamm erneut eine kräftigere Mikroglia-Makrophagen-Reaktion. Die Tatsache, dass die corticale weiße Substanz wie auch im Vergleich der „schwer“ Erkrankten mit „leicht“ Erkrankten bei den „mit“ SARS-CoV-2 Verstorbenen geringer affiziert ist, lässt

vermuten, dass diese Läsionen eventuell mit langer intensivmedizinischer Behandlung assoziiert sind.

#### 4.5.6 Vergleich der Langzeitbeatmung mit der Influenza-Kontrolle

Um weiter einschätzen zu können, inwiefern die bisher beschriebene COVID-19-Neuropathologie dem intensivmedizinischen Krankheitsverlauf geschuldet ist und um einen Vergleich zwischen COVID-19 und Influenza herstellen zu können, wurden insgesamt 6 langzeitbeatmete (im Durchschnitt 32 Tage) COVID-19 Patienten der Kohorte (Fälle 2, 3, 4, 5, 7, 15) mit der Kontrolle 1 verglichen. Diese wurde mit superinfizierter interstitieller Influenza-Pneumonie insgesamt 38 Tage beatmet und erlitt ebenso wie die Mehrzahl der ausgewählten COVID-19 Patienten eine Sepsis. Kontrolle 1 zeigte ebenfalls Makrophagen-Cluster im Hirnstamm, nicht jedoch in der corticalen weißen Substanz.

Aufgetragen in Abbildung 54 wurden der Mittelwert des summierten Läsionsmusters der COVID-19 Patienten als rote Linie, die Spannweite der Werte als hellrote Fläche und die vergebenen Scores für Kontrolle 1 als blaue Linie.

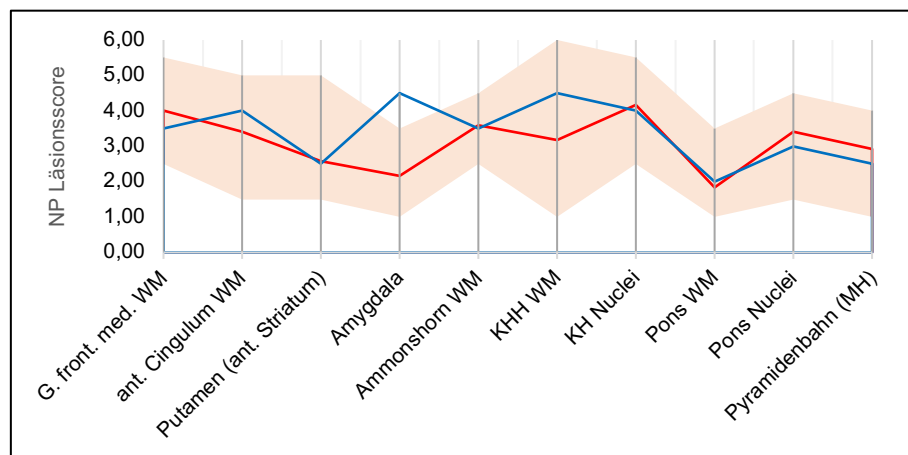


Abbildung 54: Liniendiagramm – Summiertes Läsionsmuster der langzeitbeatmeten COVID-19-Patienten (rot) versus langzeitbeatmete Kontrolle 1 mit Influenza-Infektion (blau)

Die Auswertung zeigt, dass der neuropathologische Schaden einer schweren Influenza-Erkrankung mit intensivmedizinischer Behandlung und Beatmung durchaus vergleichbar ist mit schweren COVID-19-Verläufen. Es kommt auch bei der Influenza-Infektion zu beträchtlicher Mikroglia-Makrophagen-Reaktion in der corticalen weißen Substanz. Auch im Mark und den Kerngebieten des Kleinhirns laufen starke neuroinflammatorische Prozesse ab. Anders als bei den COVID-19-Fällen zeigt Kontrolle 1 eine ausgeprägte Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion in der Amygdala.

#### 4.5.7 Einfluss von Hypoxie und Schaden im Rahmen der CPR

Eine Kopathologie, die bei der Auswertung der COVID-19-Fälle häufig auftrat, war Hypoxie. Von 17 Fällen in der COVID-19-Kollektivgruppe konnte bei 7 Patienten (Fälle 5, 6, 8, 9, 12, 16,

17), entsprechend ca. 41 % der Kohorte, ein hypoxischer Schaden nachgewiesen werden, am häufigsten durch ziegelrote, untergehende Neurone im Hypoxie-empfindlichen Ammonshorn.

Beim Vergleich zur restlichen Kohorte (blau) in Abbildung 55 ist jedoch deutlich ersichtlich, dass die Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion in der betrachteten Gruppe im Mittel eher schwächer ist und auch die maximal vergebenen Bewertungen deutlich niedriger liegen, insbesondere in den Bereichen des Ammonshorns, Kleinhirns und Hirnstamms.

Bei 4 Patienten der COVID-19-Kohorte wurde eine kardiopulmonale Reanimation durchgeführt (Fälle 5, 9, 13, 15). Ebenso wurden die Kontrollen 4 und 5 vor Ableben kardiopulmonal reanimiert. Kontrolle 5 zeigte außerdem ebenfalls die typischen neuropathologischen Schäden perimortaler Hypoxie.

Im Vergleich der summierten Läsionsmuster beider Gruppen wird in Abbildung 56 ersichtlich, dass trotz der hypoxischen Bedingungen im Rahmen der kardiopulmonalen Reanimation in der Kontrollgruppe (blau) das Läsionsmuster deutlich unter der COVID-19-Kohorte zurückbleibt. Die Auswertung verstärkt die Annahme also weiter, dass die beschriebene Pathologie nicht aufgrund hypoxischer Bedingungen entstanden ist.

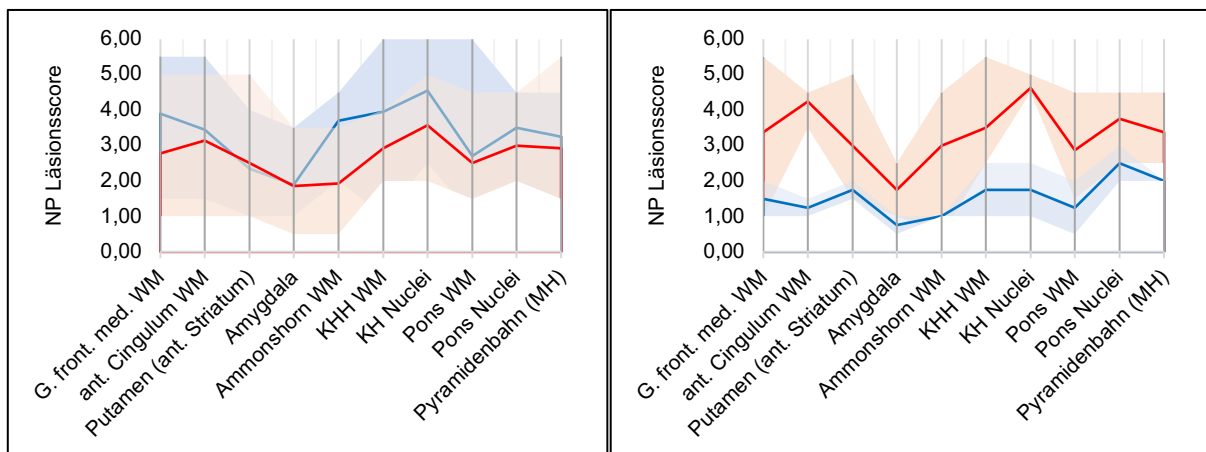


Abbildung 55: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19-Fälle mit (rot) versus ohne (blau) hypoxischen Schaden

Abbildung 56: Liniendiagramm (rechts) - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19-Fälle (rot) versus Kontrollfälle (blau) nach kardiopulmonaler Reanimation

#### 4.5.8 Bilden sich die Läsionen nach überstandener Infektion zurück?

Im vorhandenen COVID-19-Kollektiv wurden auch zwei Fälle ausgewertet, die eine SARS-CoV-2 Infektion mit „leichtem“ Verlauf überlebt hatten und letztendlich an einer anderen Todesursache verstorben sind. Fall 6 verstarb an einer Sepsis nach Pyelonephritis und wurde 10 Wochen vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Fall 17 wurde ca. 4-5 Wochen vor Tod erstmals positiv auf SARS-CoV-2 getestet und verstarb im Rahmen einer erneuten Hospitalisierung an akutem Leberversagen nach einer Operation an der Hüfte. Diese beiden Fälle

wurden als „Post-COVID“-Patienten ausgewertet und das summierte Läsionsmuster verglichen mit den übrigen 15 Patienten der Kohorte, deren Infektion bzw. intensivtherapeutische Behandlung zeitlich deutlich näher mit dem Ableben assoziiert war.

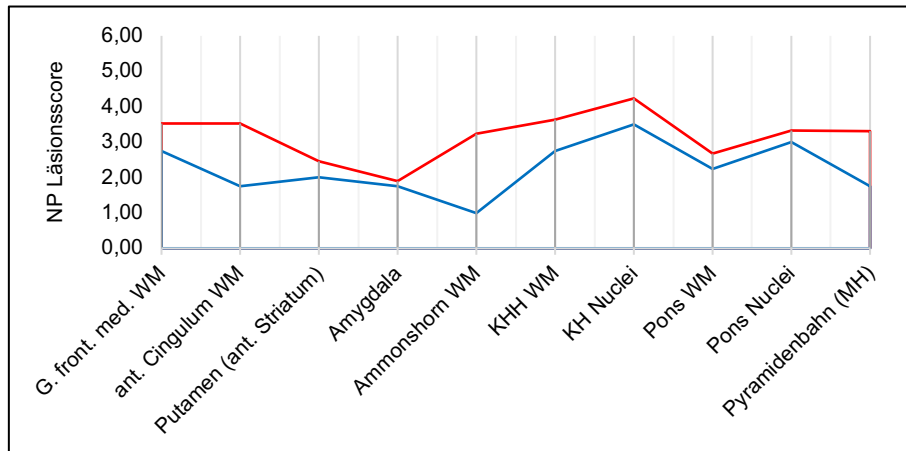


Abbildung 57: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der Patienten mit akuter COVID-19-Infektion (rot) versus Post-COVID-Patienten (blau)

Die in Abbildung 57 dargestellten Mittelwerte zeigen, dass das summierte Läsionsmuster der „Post-COVID“-Kohorte durchweg geringer ist als die Mittelwerte der restlichen Kohorte mit akuter SARS-CoV-2 Infektion. Während die Mikroglia-Makrophagen-Aktivität in der corticalen weißen Substanz deutlich geringer ausgeprägt ist, sind die Läsionen im Hirnstamm und Kleinhirn vergleichbar mit der Gruppe akut erkrankter COVID-19 Patienten.

#### 4.5.9 Zusammenfassung der Erkenntnisse

Schlussendlich ergab die neuropathologische und statistische Auswertung der Kohorte aus 17 Fällen folgende Ergebnisse:

1. Die CD68-Immunreaktion zeigt eine Reaktion im ZNS mit zwei Komponenten: einer diffusen mikroglialen und einer perivaskulären Makrophagen-Komponente.
2. Insgesamt ist die diffuse Mikroglia-Aktivität über die Fälle gemittelt im Bereich der Kleinhirnrkerne am stärksten, gefolgt von der weißen Substanz der corticalen Areale und dem Hirnstamm-Bereich mit den Kerngebieten im Pons. Die COVID-19-Neuropathologie ist damit im Besonderen eine Pathologie der weißen Substanz und des Hirnstamms.
3. Die perivaskuläre Komponente folgt der diffusen Mikroglia-Aktivität in der Verteilung, zeigt aber über die Areale hinweg geringere Abweichung in der Intensität.
4. Die Mikroglia-Reaktion mit der perivaskulären Makrophagen- und diffusen Komponente ist in den COVID-19-Fällen – abgesehen von der Amygdala – durchweg deutlich erhöht gegenüber der Kontrollgruppe.
5. Es besteht keine eindeutige Korrelation zwischen dem Ausprägungsgrad neuropathologischer Läsionen und der Krankheitsschwere der COVID-19-Infektion.

6. Bei 10 Patienten (ca. 59%) traten Makrophagen-Cluster auf, zumeist ebenfalls in der weißen Substanz des Großhirns und der weißen Substanz des Hirnstamms. Die Cluster-Bildung stellt ein fortgeschrittenes Stadium der Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion dar.
7. Personen, die „mit“ SARS-CoV-2 verstorben sind bei anderer führender Todesursache, zeigen nur geringfügig geringere Mikroglia-Makrophagen-Aktivität bei gleichem Läsionsmuster.
8. Der neuropathologische Schaden einer schweren Influenza-Erkrankung mit intensivmedizinischer Behandlung und Beatmung ist vergleichbar mit dem Läsionsmuster schwerer COVID-19-Verläufe.
9. Ein hypoxischer Schaden im Rahmen der COVID-19-Erkrankung ist im Läsionsmuster klar von der COVID-19-assoziierten Pathologie abgrenzbar. Ebenso unterscheidet sich das Läsionsmuster gegenüber kardiopulmonal-reanimierten Kontrollpatienten.
10. Das Läsionsmuster von „Post-COVID“-Patienten ist gegenüber akuten COVID-19-Infektionen geringer, aber erkennbar.

#### 4.6 Identifikation der Makrophagen-Polarisation

Die exemplarisch durchgeführten CD161- und CD163-Immunreaktionen zeigten, dass die beschriebenen CD68-positiven Makrophagen-Ansammlungen CD163 exprimierten, nicht jedoch CD161. Die beschriebene Makrophagen-Reaktion kann daher der anti-inflammatorischen und wundheilenden M2-Polarisation zugeordnet werden.

#### 4.7 Makrophagen-Cluster zeigen keine Mikrothromben

Die exemplarisch durchgeführten IL-6- und PF4-Immunreaktionen von Standardebenen mit besonders ausgeprägter perivaskulärer Makrophagen-Reaktion und Mikroglia-Clustern in der CD68-Immunreaktion zeigten kein Signal in den entsprechenden Arealen. Eine durch Mikrothromben ausgelöste ischämische Genese der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion ist daher nicht nachweisbar.

#### 4.8 Kein Hinweis auf axonalen Schaden

Die exemplarisch durchgeführten NF-, APP- und Olig2-Immunreaktionen von Standardebenen mit besonders ausgeprägter CD68-positiver Mikroglia-Makrophagen-Reaktion in der weißen Substanz lieferten keinen generellen Hinweis auf einen axonalen Schaden in den entsprechenden Arealen. Ein entzündlich-demyelinisierender Prozess im Rahmen von COVID-19 ist nicht nachweisbar.

## 4.9 Kein Hinweis auf Nekroptose

Die durchgeführten MLKL-Immunreaktionen lieferten keinen Anhalt darauf, dass die Mikroglia-Reaktion im Zusammenhang mit durch Nekroptose absterbende zelluläre Strukturen steht.

## 4.10 Kein Zusammenhang zu Neddylation

Die exemplarisch durchgeführten NEDD8-Immunreaktionen zeigten keine vermehrte NEDD8-Expression in Arealen mit ausgeprägter Mikroglia-Reaktion. Eine unmittelbare Verbindung zum Neddylation-Pathway auf mikroglialer oder neuronaler Ebene ist deswegen unwahrscheinlich.

## 4.11 Spezifität vermarkteter IHC-Antikörper zur Virusdetektion

Im Zuge der Exploration möglicher Ansätze zur Beschreibung der Neuropathologie von SARS-CoV-2 wurden im Rahmen dieser Arbeit immunhistochemische Färbungen mit Primär-Antikörpern durchgeführt, die entweder zur Detektion von SARS-CoV-2 explizit oder aber für Coronaviren der SARS-Familie allgemein vermarktet und in der Literatur häufig zum Nachweis von SARS-CoV-2 verwendet werden. Die verwendeten Antikörper sind in Kapitel 3.1.1 aufgeführt.

Immunreaktionen mit dem Antikörper **SB-NC** lieferten kein Signal, auch nicht in den Kontrollfällen. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an das SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein bei immunhistochemischen Färbemethoden konnte nicht nachvollzogen werden.

Der Antikörper **Abcam 3A2** zeigte drei unterschiedliche Reaktionsmuster:

1. Abcam 3A2 markierte feine, granuläre Strukturen von kräftiger Intensität im Zytoplasma cerebraler Endothelzellen, jedoch in nur vereinzelt Gefäßanschnitten.
2. Im Soma der Neurone des Ganglion trigeminale markierte Abcam 3A2 Ansammlungen zytoplasmatischer Granula, welche von Lipofuszin abgrenzbar sind, jedoch erneut nur in vereinzelt Neuronen.
3. Abcam 3A2 markierte zytoplasmatische Granula in einem Teil der Neurone des Ncl. dorsalis nervi vagi.

Das endotheliale und trigeminale Reaktionspattern konnte ebenfalls in Gewebeschnitten von Kontrollfällen nachgewiesen werden, die vor Beginn der Pandemie verstorben waren. Das Reaktionsmuster im Kernbereich des N. vagus konnte in keinem Kontrollfall nachvollzogen werden. In der Zusammenschau konnte eine spezifische Bindung des Antikörpers an das Spike-Protein von SARS-CoV-2 nicht nachvollzogen werden.



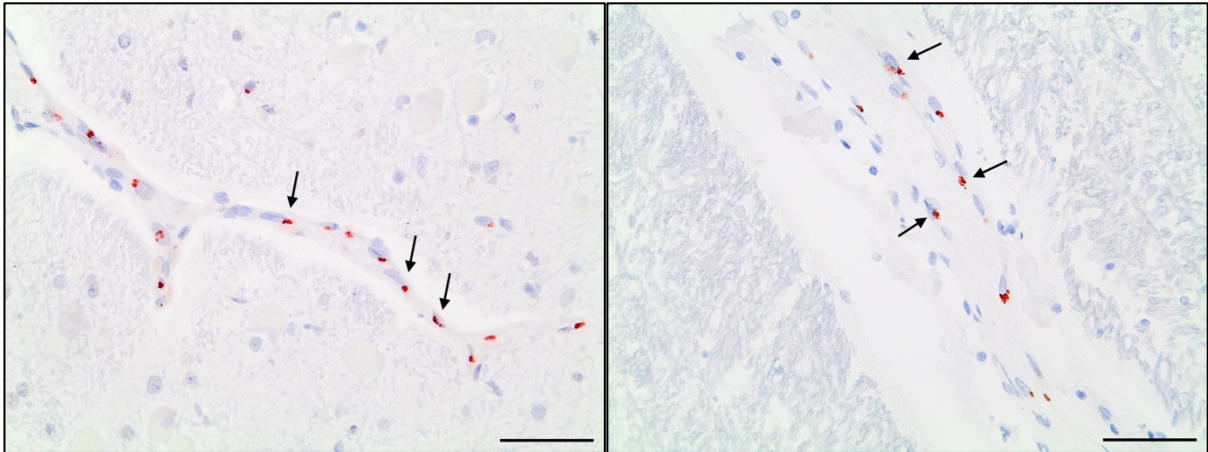


Abbildung 58: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert granuläre Strukturen im Zytoplasma cerebraler Endothelzellen von Fall 2 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Abbildung 59: Abcam 3A2 markiert granuläre Strukturen im Zytoplasma cerebraler Endothelzellen eines Kontrollfalls, der vor 2020 verstorben war (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

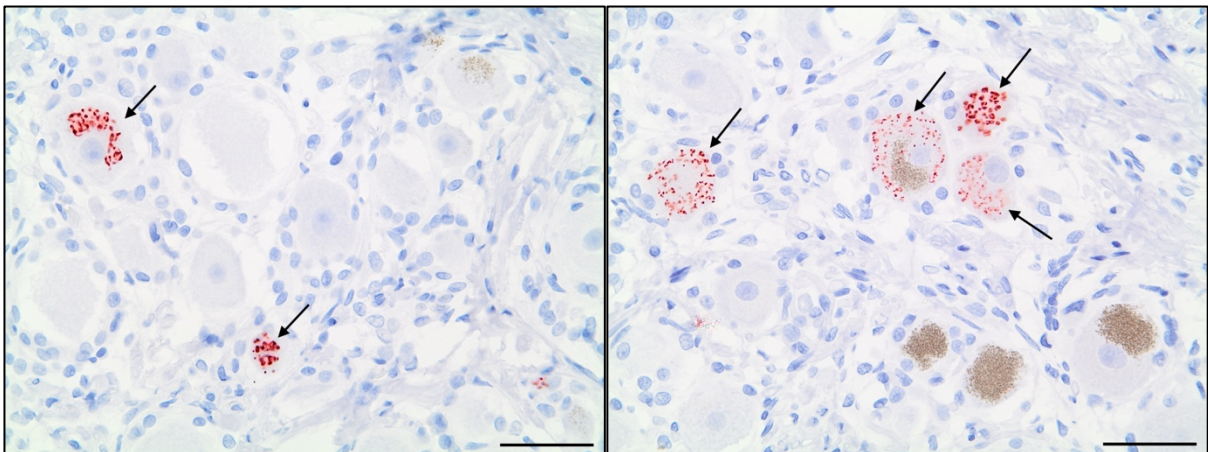


Abbildung 60: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert im Soma einzelner Neurone des Ggl. trigeminale von Fall 2 zytoplasmatische Granula, welche von Lipofuszin abgrenzbar sind (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Abbildung 61: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert ebenfalls Neurone des Ggl. trigeminale in einem vor 2020 verstorbenen Kontrollfall (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

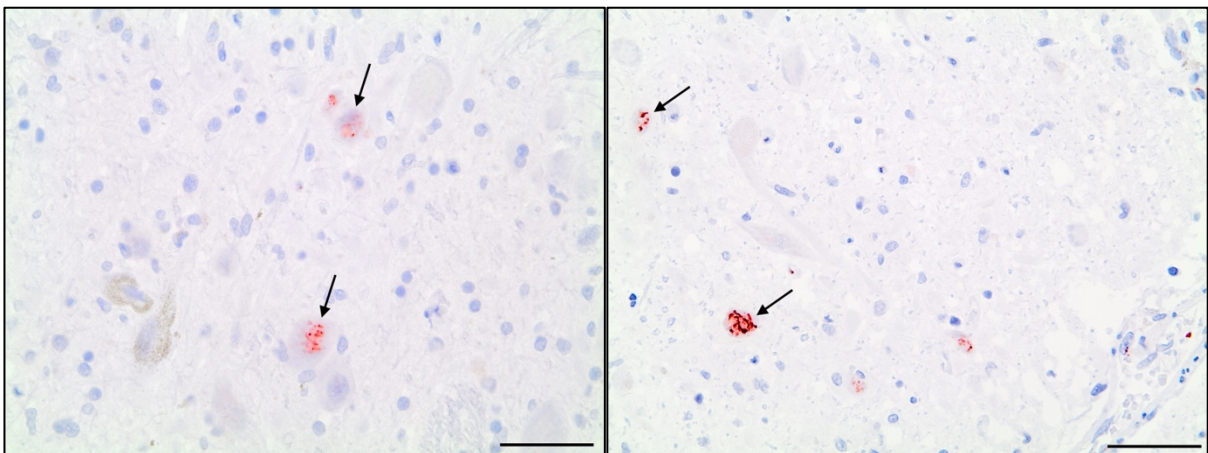


Abbildung 62: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert zytoplasmatische Granula in einem Teil der Neurone des Ncl. dorsalis nervi vagi von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Abbildung 63: Bild (rechts) – Abcam 3A2 markiert zytoplasmatische Granula in einem Teil der Neurone des Ncl. dorsalis nervi vagi von Fall 7 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)



Immunreaktionen mit dem Antikörper **CoV-2-S1A9** zeigten ein endotheliales, zytoplasmatisches Reaktionsmuster. Dieses war ebenso in Kontrollfällen zu beobachten. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an das SARS-CoV-2 Spike Protein konnte nicht nachvollzogen werden.

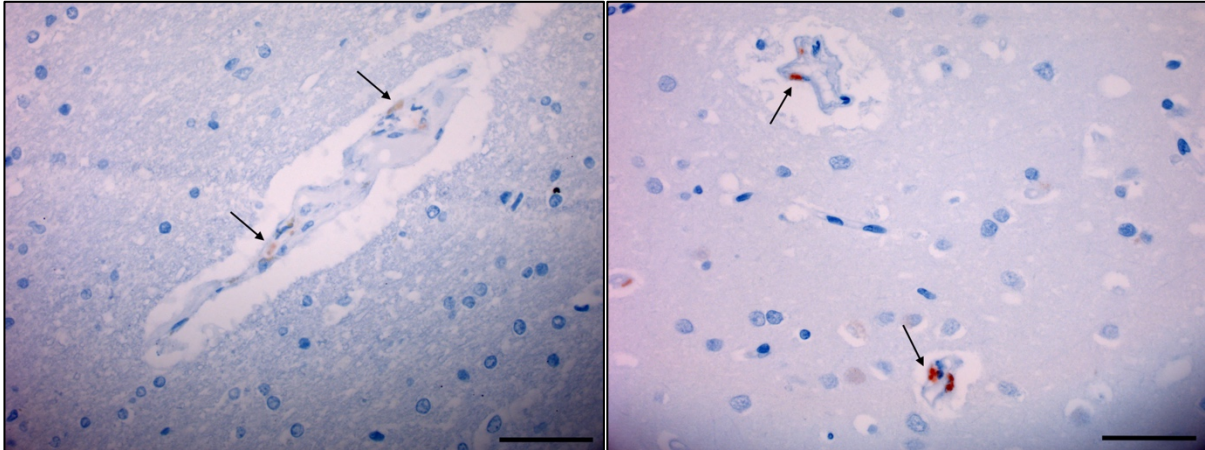


Abbildung 64: Bild (links) – CoV-2-S1A9 markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des *G. frontalis medius* von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Abbildung 65: Bild (rechts) – CoV-2-S1A9 markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des *G. frontalis medius* von Kontrolle 5 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Auch der Antikörper **SB-Spike** markierte zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen der COVID-19 Kohorte. Wegen mangelnder Verfügbarkeit des Antikörpers auf dem Markt waren im Rahmen dieser Studie keine weiteren Untersuchungen zur Spezifität möglich.

Der Antikörper **Novus-NC** zeigte ebenfalls ein endotheliales, zytoplasmatisches Reaktionsmuster. Außerdem wurden meningeale Makrophagen markiert. Beide Reaktionsmuster waren ebenfalls in Kontrollfällen zu beobachten. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an das SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein konnte nicht nachvollzogen werden.

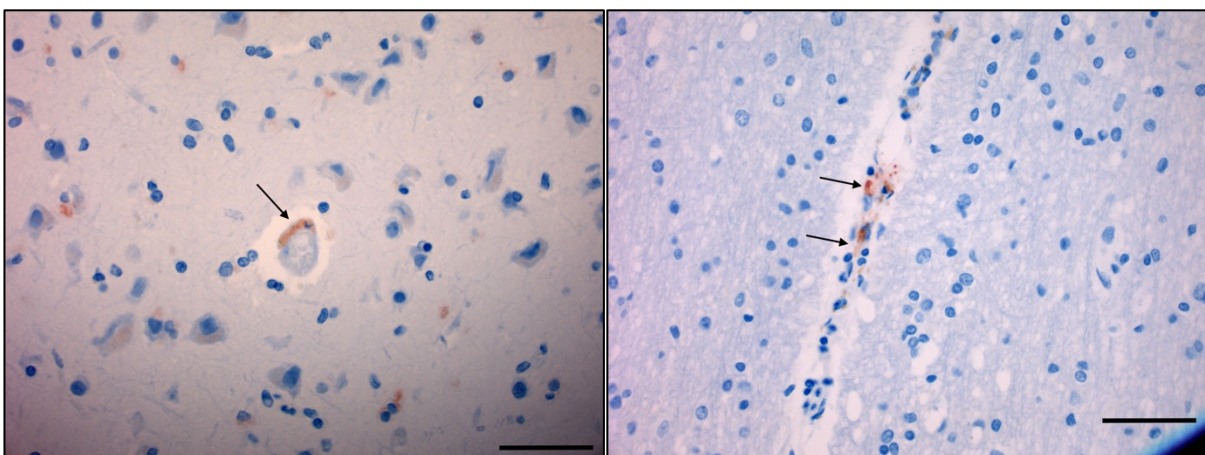


Abbildung 66: Bild (links) – Novus-NC markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des *G. frontalis medius* von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Abbildung 67: Bild (rechts) – Novus-NC markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des *G. frontalis medius* von Kontrolle 3 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50  $\mu$ m)

Aufgrund des Reaktionsmusters der Kontrollen kann für diese Studie keine ausreichende Spezifität der IHC-Antikörper zur Detektion von SARS-CoV-2 Virusproteinen angenommen werden. Es kann daher kein belastbarer Rückschluss darauf gezogen werden, ob SARS-CoV-2 überhaupt Endothelien befällt, die Blut-Hirn-Schranke überschreitet und neuronale Strukturen infiziert.

## 5 Diskussion

### 5.1 Kritische Betrachtung der Methodik

#### 5.1.1 Zusammensetzung der Kollektiv- und Kontrollgruppe

Zweifelsohne hat das vorliegende Studiendesign nur begrenzte Aussagekraft. Insgesamt ist die Anzahl ausgewerteter Fälle vergleichsweise hoch. In den systematischen Übersichtsarbeiten von Maiese et al. [108] wurden 21 Publikationen mit durchschnittlich 9 Fällen ausgewertet, in der Arbeit von Consentino et al. [37] Daten aus 45 Artikeln mit im Mittel 10 Patienten. Im Vergleich zu den größten bereits publizierten neuropathologischen Arbeiten, z. B. von Matschke et al. [113] aus Hamburg mit 43 ausgewerteten Fällen, ist das vorliegende Kollektiv aus 17 Patienten zwar deutlich kleiner, jedoch ebenfalls suffizient, um typische Läsionsorte im ZNS zu detektieren und das Läsionsmuster über die Fälle hinweg nachzuvollziehen.

Vor- und Nachteil der Zusammensetzung des COVID-19-Kollektivs ist, dass sich Schwere und Verlauf der COVID-19-Erkrankung stark unterschieden. Unter den Autopsiefällen waren sowohl zufällig zu Lebzeiten oder nach Ableben positiv getestete – und dementsprechend mutmaßlich symptomfreie – Patienten, als auch schwerste interstitielle Pneumonien mit langer intensivmedizinischer Behandlungsgeschichte. Auch zwei überstandene SARS-CoV-2-Infektionen, eine davon mehr als zwei Monate vor Ableben, wurden ausgewertet. Damit war es möglich, die neuropathologischen Befunde mit der klinischen Erkrankungsschwere zu vergleichen und auf Korrelation zu prüfen.

Dem Erfassungszeitraum bis Juni 2021 ist es geschuldet, dass keine Virusvarianten-Diagnostik bei den Patienten der Kollektivgruppe durchgeführt wurde, da erst Ende Juni 2021 die Delta-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.617.2) hierzulande zur dominanten Virusvariante wurde [152] und zuvor eine Mutationsdiagnostik nicht üblich war. Es ist anzunehmen, dass der Großteil der Verstorbenen eine Infektion mit der ursprünglich in Europa dominanten Variante von SARS-CoV-2 erlitten hat und die nachfolgende Delta-Mutation in der Kollektivgruppe nicht oder kaum vertreten ist. Über die neuropathologische Affektion Erkrankter mit späteren Virusmutationen, auch der aktuell in Europa dominanten und klinisch deutlich mildereren Omicron-Variante, lässt diese Studie also keine Aussage zu.

Es wurde darauf verzichtet, an Alters- und Geschlechtsverteilung des Kollektivs angepasste Kontrollfälle auszuwählen. Insgesamt ist die Kontrollgruppe mit 5 Patienten eher klein. Jedoch wurden Fallkasuistiken ausgewählt, deren klinische Krankheitsgeschichte entscheidende neuropathologische Confounder der COVID-19-Pathologie gegenüberstellte: Zwei Kontrollpatienten wurden kardiopulmonal reanimiert und waren damit hypoxischen Bedingungen ausgesetzt.

Ein weiterer Patient mit schwerer Influenza-Pneumonie wurde, wie viele Patienten aus der COVID-19-Kohorte, langzeitbeatmet und entwickelte eine Sepsis mit Multiorganversagen, wodurch Rückschluss darauf gezogen werden konnte, inwiefern sich die Schäden bei anderen schweren viralen Infektionen mit ähnlichem intensivmedizinischem Krankheitsverlauf unterscheiden.

Die in dieser Studie ausgewerteten Kontrollfälle verstarben allesamt in den Jahren 2020 und 2021 und damit in der Frühphase der Pandemie, zu der noch keine große Durchseuchung der Population stattgefunden hatte. In Anbetracht der Tatsache, dass in den klinischen Daten der Kontrollfälle keine SARS-CoV-2-Infektion bekannt war und sich auch die gemittelten Läsionsmuster zwischen Fall- und Kontrollgruppe stark unterscheiden, ist eine Verfälschung der Ergebnisse dieser Studie durch unbekannte COVID-19-Erkrankungen in der Kontrollgruppe sehr unwahrscheinlich. Dennoch wurden zur Kontrolle der Spezifität verfügbarer IHC-Antikörper zum Nachweis von SARS-CoV-2 zusätzlich Gewebeproben von Autopsiefällen verwendet, die vor Beginn der Pandemie verstorben waren.

### 5.1.2 Ist das Kollektiv repräsentativ?

Beim Einschätzen der in dieser Arbeit erlangten Erkenntnisse zur Neuropathologie von COVID-19 sollte berücksichtigt werden, dass bei einem Großteil der ausgewerteten Fälle gravierende und teilweise chronische Komorbiditäten bestanden. Allerdings war nicht das gesamte Kollektiv multimorbide und im fortgeschrittenen Alter. Auch jüngere Patienten verstarben, bei denen anhand der bekannten Vorerkrankungen ein derart schwerer Verlauf nicht zu erwarten war (Fälle 2, 4, 8). Dennoch können die Ergebnisse nur bedingt auf jüngere Menschen übertragen werden, deren Krankheitsverlauf häufig milde bis asymptomatisch ist und die zumeist unter keinerlei Vorerkrankungen leiden. Diese geringe externe Validität ist jedoch allen Autopsiestudien gemein.

### 5.1.3 Eignung postmortalen Gewebeproben

Diese Studie stützt sich ausschließlich auf postmortale Gewebeproben, die im Rahmen von Autopsien gewonnen wurden. Über die einzelnen Fälle hinweg variierte die Postmortalzeit zwischen einem und vier Tagen. Teilweise waren zum Zeitpunkt der Sektion bereits autolytische Prozesse im Gange. In Kombination mit der allgemein schlechteren Durchfixierung großer Gewebestücke wie dem Gehirn in Formalin sind diese Bedingungen suboptimal für morphologische Studien, aber auch zur Detektion von Epitopen [189]. Charakteristische autolytische Artefakte hatten jedoch keinen Einfluss auf das Scoring.

#### 5.1.4 Wahl der Immunhistochemie als Detektionsmethode

Die vorliegende Studie basiert auf immunhistochemischen Methoden zum Nachweis von Virusmaterial im Gewebe bzw. zur Darstellung der Mikroglia-Makrophagen-Reaktion. Idealerweise hätte ein zweites Nachweisverfahren durchgeführt werden sollen, etwa eine SARS-CoV-2-PCR, um die Spezifität der vermarkteten Antikörper endgültig zu entkräften und eine single-cell-PCR, um hochregulierte inflammatorische Prozesse zu detektieren. Bei einem Großteil der in dieser Studie vorliegenden Gewebespender wurden beide Verfahren jedoch unter Beteiligung unserer Arbeitsgruppe durchgeführt und bereits in einer separaten Studie von Yang et al. publiziert [195]. Dort gelang mittels PCR ebenfalls kein Virusnachweis, während inflammatorische Kaskaden hochreguliert waren.

Formalin als Fixiermittel nimmt Einfluss auf die Gewebestruktur durch Quervernetzung einzelner Proteine. Es ist möglich, dass die in dieser Studie gesuchten Epitope teilweise maskiert wurden, wodurch die Antikörper das Zielprotein nicht mehr vollständig binden konnten [146,189]. Unter Einfluss der Formalinfixierung muss daher davon ausgegangen werden, dass in unzureichend demaskierten Arealen ein fälschlicherweise abgeschwächtes oder fehlendes Signal festgestellt wurde.

Hinsichtlich der Veränderung oder gar Kreation von Epitopen ist auch das immunhistochemische Färbeverfahren mit Maßnahmen zur Antigen-Demaskierung, etwa Wärmebehandlung, ein Einflussfaktor. Durch zu lange, aber auch zu kurze Wärmeeinwirkung werden Epitope nach Formalinfixierung entweder nicht freigelegt, oder aber in ihrer Struktur erheblich verändert. Auch das unzureichende Blockieren der endogenen Peroxidase im Gewebe kann bei der späteren Entwicklung zu unspezifischem Signal führen. Theoretisch könnte auch der sekundäre Antikörper an ein unerwünschtes Epitop binden und so bei der Entwicklungsreaktion ein unspezifisches Signal liefern.

Alle verwendeten SARS-CoV-2-Antikörper in der Studie zur Spezifität wurden von den Herstellern ebenfalls validiert zur Anwendung in Western-Blot-Versuchen. Es ist anzunehmen, dass die Antikörper auch in diesem Verfahren unspezifische Epitope binden, weswegen im Rahmen dieser Arbeit auf die Etablierung verzichtet wurde. Spätere Studien könnten jedoch an dieser Frage ansetzen.

#### 5.1.5 Objektivität der Auswertung

Die Auswertung erfolgte durch semiquantitatives Scoring am Durchlichtmikroskop. Es gab also keine objektiv messbaren Endpunkte. Ein Bewertungs-Score wurde durch Konsens der beiden Auswerter vergeben, jedoch war nur einer von beiden ausgebildeter Facharzt für Neuropathologie, der andere ein in der Thematik dieser Studie angelegener Medizinstudent. Eine Verblindung der Auswerter hinsichtlich des Vorliegens von Fall oder Kontrolle hätte möglicherweise

die Objektivität verbessert. Das Auswertungsprotokoll ähnelt jedoch den anderen großen neuropathologischen Studien, etwa Matschke et al. [113] oder Meinhardt et al. [114] und entspricht damit dem Standard in der Neuropathologie.

Wünschenswert wäre gewesen, mehr klinische Daten über das Kollektiv zu Lebzeiten auswerten zu können, etwa neuroradiologische Vorbefunde. Insgesamt genügten die Angaben jedoch, um eine grobe Einschätzung der Erkrankungsschwere zu erlangen und das Läsionsmuster auf Korrelation mit verschiedenen klinischen Kriterien zu überprüfen. Die Qualität und Quantität der klinischen Angaben ist damit insgesamt mit anderen neuropathologischen Studien zu SARS-CoV-2 vergleichbar, wie etwa anhand der tabellarischen Darstellung bisheriger Arbeiten in der Übersichtsarbeit von Maiese et al. [108] zu erkennen ist.

Aufgrund der geringen Fallzahl erfolgte die Auswertung der Fälle auf deskriptiver Ebene. Für eine aussagekräftige statistische Darstellung hätte das Patientenkollektiv deutlich ausgeweitet werden müssen, was jedoch mit dem in Homburg und Umgebung vorhandenen Patientenkollektiv nicht darstellbar war. Jedoch erfolgt die statistische Aufschlüsselung der neuropathologischen Befunde im Rahmen einer COVID-19-Erkrankung in der Literatur bisher in Form von Übersichtsarbeiten, um die Ergebnisse von verschiedenen neuropathologischen Zentren zu sammeln, weswegen ein weiteres Abwarten auf zusätzliche Fälle keinen Erkenntnisgewinn gebracht hätte.

Aufgrund der geringen Fallzahlen pro Kriterium sind die Ergebnisse dieser Arbeit daher als Trends zu verstehen und nicht auf die Allgemeinheit aller COVID-19-Erkrankten übertragbar.

## 5.2 Kritische Betrachtung der Ergebnisse und Literaturvergleich

### 5.2.1 Patientenkollektiv im Vergleich mit anderen Arbeiten

Die COVID-19-Kohorte dieser Studie war im Durchschnitt 75 Jahre alt und damit vergleichbar mit der durchschnittlich 69 Jahre alten Kohorte (302 Patienten) aus dem systematischen Review 45 publizierter neuropathologischer Arbeiten von Cosentino et al. Eine weitere erstaunliche Parallele ist, dass sowohl in der hier ausgewerteten Kohorte (ca. 70,5%) als auch in der Kohorte von Cosentino et al. (69,2%) das männliche Geschlecht deutlich dominiert [37].

Alle Patienten der COVID-19-Kohorte in dieser Arbeit waren mit kardiovaskulären Vorerkrankungen vorbelastet. Auch diese Eigenschaft der Kohorte ist eine Parallele zu anderen bereits publizierten Arbeiten: In der Auswertung von 334 Patientendaten durch Cosentino et al. hatten 73,1% der Patienten kardiovaskuläre Risikofaktoren [37].

Es lässt sich also vermuten, dass die primäre Risikogruppe für das Erleiden eines letalen COVID-19-Verlaufs ältere männliche Patienten sind, deren Herz-Kreislauf-System vorerkrankt ist.

Eine Meta-Analyse von Musuuza et al. kam zum Ergebnis, dass 24% aller ambulanten und hospitalisierten COVID-19-Patienten eine Superinfektion erlitten und diese mit einem schlechteren Outcome und erhöhter Mortalität einherging [124]. In der Kohorte dieser Studie war dies sogar bei mindestens 6 Patienten (ca. 35,5 %) der Fall. Diese Patienten bildeten den Großteil der Gruppe langzeitbeatmeter Intensivpatienten. Die Kasuistiken aus dieser Arbeit verdeutlichen also, dass in der Behandlung von SARS-CoV-2-Patienten ein Fokus auf antibiotische Therapie gelegt werden sollte. Die aktuelle S3-Leitlinie zur stationären Therapie von COVID-19-Patienten empfiehlt keine prophylaktische Antibiotikagabe, jedoch ein engmaschiges Monitoring auf Superinfektion und regelmäßige Überprüfung der Entzündungswerte [91].

Bei nur 4 Patienten aus dem Kollektiv wurde von einer neurologischen Symptomatik im Krankheitsverlauf berichtet, in der Kontrollgruppe bei keinem. Diese waren: generalisiert-tonischer Krampfanfall (1), prolongiertes Psychosyndrom bzw. verlängerte Beatmungsentwöhnung (1), lichtstarre Pupillen (1), Agitation in Sedierungsfenstern (1). Diese Symptome sind eher unspezifisch und als Folge der langen intensivmedizinischen Beatmung zu sehen.

### 5.2.2 Mikrogliale Entzündung: Langzeitschäden denkbar?

Die COVID-19-Neuropathologie der vorliegenden Fälle präsentierte sich in der CD68-Immunreaktion als eine Pathologie der weißen Substanz im Allgemeinen sowie des Hirnstammes und Kleinhirns. Dabei waren über alle Fälle hinweg in den beschriebenen Arealen eine diffuse, parenchymale Mikroglia-Reaktion und perivaskuläre Makrophagen-Aktivität deutlich ausgeprägt.

Auch in der Literatur wurden vereinzelt CD68-Immunreaktionen durchgeführt. Matschke et al. beschrieben den Hirnstamm und das Kleinhirn als besonders affiziert von CD68-positiver Mikroglia, während der Frontallappen ausgespart war [113]. Auch Thakur et al. [176] und Poloni et al. [139] beschrieben aktivierte Mikroglia mit diffuser Knötchenbildung im Hirnstamm.

Wie auch von Gelpi et al. berichtet, zeigte die COVID-19-Kohorte dieser Studie eine diffuse parenchymale Mikroglia-Aktivierung in der weißen Substanz im Allgemeinen [68].

Die Tatsache, dass das diffuse Signal in der corticalen weißen Substanz bei den schweren Krankheitsverläufen stärker ausgeprägt war und auch die Influenza-Kontrolle ein ähnliches Läsionsmuster zeigte, lässt vermuten, dass die Ausprägung in diesem Areal eher mit einem schweren Zytokinsturm assoziiert ist und nicht mit der COVID-19-Erkrankung per se. Auch Gelpi et al. beschrieben eine Ähnlichkeit der Mikroglia-Aktivierung zwischen COVID-19 und Influenza [68]. Poloni et al. ordnen die diffuse Mikroglia-Aktivierung im frontalen Cortex dagegen neurodegenerativen Prozessen im Rahmen einer Kopathologie zu [139].

Den Einfluss der systemischen Inflammation im Rahmen der Immunantwort auf COVID-19 diskutieren auch Thakur et al. und Matschke et al. in ihren Publikationen [113,176]. Matschke

sieht dabei Ähnlichkeiten zwischen dem Pattern diffuser, teilweise knötchen-artiger Mikroglia bei COVID-19 und anderen viralen oder autoimmunen Encephalitiden [104,113]. In der vorliegenden Studie konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen Mikroglia-Makrophagen-Reaktionen in der weißen Substanz und demyelinisierenden Prozessen mit axonalem Schaden hergestellt werden.

In Arbeiten von Brundin et al. [20] und Eldeeb et al. [54] konnte gezeigt werden, dass der COVID-19-assoziierte Zytokinsturm zuerst Neuroinflammation, später Neurodegeneration triggern kann [93]. Langfristig ist also ein erhöhtes Risiko für das Erleiden neurodegenerativer Erkrankungen wie Morbus Parkinson (PD) nach COVID-19-Infektion durchaus denkbar. Eine Meta-Analyse von Meng et al. stellte bereits 2019 eine Verbindung zwischen Infektionen und dem Entwickeln von Morbus Parkinson her [93,115]. Aktuell wird besonders das adaptive Immunsystem, welches im inflammatorischen Milieu aktiv wird, als Trigger neurodegenerativer Kaskaden diskutiert: So konnte gezeigt werden, dass T-Zellen von PD-Patienten mit alpha-Synuclein-Epitopen kreuzreagieren [93,173]. In einer Arbeit von Gate et al. konnte sogar gezeigt werden, dass in Gehirnen von Patienten mit Lewy-Body-Demenz T-Zellen an den Lewy-Körperchen und dopaminergen Neuronen anheften [66,93]. Unter Beteiligung unserer Arbeitsgruppe konnten Yang et al. zeigen, dass T-Zellen bei COVID-19-Patienten das Parenchym infiltrieren [195]. Bei entsprechender Disposition zu PD ist also ein postencephalitischer Morbus Parkinson, selbst ohne direkte Infektion der Neurone mit SARS-CoV-2, mit dieser aktuellen Vorstellung der Pathogenese vereinbar. Auch hinsichtlich des Entwickelns einer Alzheimer-Erkrankung (AD) ist ein ähnlicher Mechanismus denkbar: Der Biomarker IL-6, der im Rahmen des Zytokinsturms der COVID-19-Infektion erhöht ist, hat einen prognostischen Wert in der Alzheimer-Diagnostik [26,30,88,93]. Weiterhin konnten Soccia et al. [166] im Jahre 2010 zeigen, dass das Alzheimer-typische beta-Amyloid ein antimikrobielles Peptid ist, welches bei ZNS-Infektion hochreguliert wird. In der Arbeit von Ciaccio et al. [30] wird auf dieser Grundlage gemutmaßt, dass das hochregulierte beta-Amyloid akkumulieren könnte und langfristig zu einer höheren Wahrscheinlichkeit für das Entwickeln einer AD führt [94].

Während in unserer Studie kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Mikroglia-Reaktion und Neddylation gezeigt werden konnte, gelang Serrano-Maciá et al. der Nachweis erhöhter Neddylations-Spiegel im Serum COVID-19-positiver Patienten verglichen mit Kontrollen und eine Korrelation zur Proliferation mononukleärer Zellen im peripheren Blut. Eine Dysregulation des Neddylation-Pathways könnte daher zum Zytokinsturm beitragen [161].



### 5.2.3 Zeigen die Cluster Mikroinfarkte?

Ein weiteres prominentes Pattern, welches bei 10 Patienten (ca. 59%) des COVID-19-Kollektivs detektiert wurde, sind Makrophagen-Cluster. Diese CD68-positiven Defektareale mit phagozytierender, aktivierter Mikroglia und Makrophagen traten zumeist in der weißen Substanz auf (8 Fälle), darunter am häufigsten im Mark der Großhirnareale (n = 6), gefolgt von der weißen Substanz des Hirnstamms (n = 5), der Capsula interna bzw. Pyramidenbahn (n = 3) und dem Mark des Kleinhirns (n = 1). Außerdem wurden mehrmals Cluster in Kerngebieten des Hirnstamms (n = 4), in den Basalganglien (n = 1) und den Kleinhirnkernen (n = 1) beobachtet. Solche Cluster wurden bereits von Matschke et al. im Hirnstamm und dem umgebenden Parenchym beschrieben [113]. Im Rahmen einer COVID-19-Infektion kommt es zur Hyperkoagulabilität des Blutes mit großen venösen und arteriellen Embolien und Mikrothromben in vielen Organsystemen [34,167]. In Kombination mit der in der Literatur beschriebenen Endothelitis [90,185] erscheint die Beschreibung der Cluster als Mikroinfarkte pathophysiologisch schlüssig. Diese Hypothese wird unterstützt durch die Tatsache, dass in der Auswertung von 438 COVID-19 Autopsien in 45 Publikationen durch Cosentino et al. in 40,8% der Fälle hypoxisch-ischämische Läsionen gefunden wurden [37].

Bei den vorliegenden COVID-19-Fällen konnte aber keine Endothelitis nachvollzogen werden. In der Umgebung von Cluster-Arealen fand sich außerdem kein Anhalt für Ischämie. Exemplarisch durchgeführte PF4- und IL-6-Immunreaktionen zeigten kein Signal in den entsprechenden Gebieten, wodurch eine mikrothrombotische Genese unwahrscheinlich wird. Die statistische Auswertung der COVID-19-Fälle mit Cluster-Arealen zeigte jedoch, dass in den betroffenen Gebieten die diffuse und perivaskuläre Reaktion gegenüber der restlichen Kohorte deutlich erhöht war. Es ist daher naheliegend, dass die Cluster-Bildung das Endstadium der Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion darstellt.

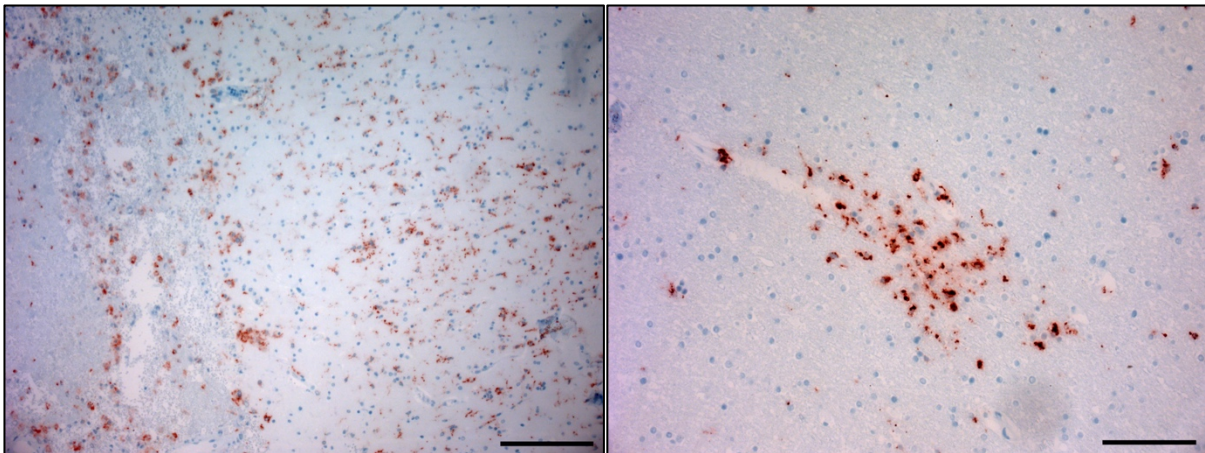


Abbildung 68: Bild (links) – Septische Embolie in den Rindenschichten des Cingulum von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

Abbildung 69: Bild (rechts) – Cluster im Mark des G. frontalis medius von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)

Fall 2 zeigt den Unterschied zwischen ischämischer Mikroglia-Reaktion nach septischer Embolie (s. Abb. 68) und einem typischen Makrophagen-Cluster in der weißen Substanz des frontalen Cortex (s. Abb. 69) deutlich. Der Cluster ist eng umschrieben und das umgebene Gewebe deutlich weniger affektiert, während in der Ischämiezone des Cingulums eine großflächige Mikroglia-Makrophagen-Reaktion abläuft mit bereits in der HE-Übersicht zu erkennenden hypoxischen Neuronen.

#### 5.2.4 Fehlende Korrelation zur Klinik

Anhand der neuropathologischen Befunde der COVID-19-Patienten dieser Studie lassen sich die Spuren der intensivmedizinischen Behandlung teilweise nachvollziehen: Es finden sich septische Embolien (Fall 2) und Zeichen akuter perimortaler Hypoxie nach kardiopulmonaler Reanimation. Hinsichtlich der Ausprägungsschwere des Läsionsmusters konnte in der Auswertung aber keine Korrelation zum Erkrankungsverlauf gezeigt werden. Stattdessen wurde sowohl bei den klinisch „leicht“ erkrankten wie auch bei „schweren“ Krankheitsverläufen das ganze Spektrum der entzündlichen Mikroglia- und Makrophagen-Reaktion beobachtet. Im Kollektiv wurden „leicht“ erkrankte COVID-19 Patienten ausgewertet mit schwerer Mikroglia-Reaktion, während „schwer“ erkrankte Patienten in einigen Fällen nur geringe Mikroglia-Makrophagen-Aktivität aufwiesen.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen sowohl Deigendesch et al. [42] als auch Poloni et al. [139], die beide keine schwerere Neuropathologie bei COVID-19-Patienten mit versus solche ohne septischem Krankheitsverlauf detektieren konnten. Diese Tatsache lässt vermuten, dass der COVID-19-assoziierte Zytokinsturm unabhängig der klinischen Symptomatik zur endothelialen Dysfunktion führt und damit die Entzündung früh ins ZNS übertritt.

#### 5.2.5 Erstaunliche Parallelen zur schweren Influenza-Infektion

Wenn man das entzündliche Milieu im Rahmen des Zytokinsturms als Hauptverursacher der Neuropathologie von COVID-19 verantwortlich macht, lässt sich auch erklären, warum Kontrolle 1 mit intensivmedizinisch behandelter Influenza-Pneumonie ein ähnliches Läsionsmuster aufweist. Der neuropathologische Befund zeigt ebenfalls eine beträchtliche Mikroglia-Reaktion in der corticalen weißen Substanz. Im Mark und den Kerngebieten des Kleinhirns laufen starke neuroinflammatorische Prozesse ab. Im Hirnstamm finden sich sogar Makrophagen-Cluster.

Tatsächlich lösen SARS-CoV-2 und Influenza eine ähnliche Immunantwort im Menschen aus. In der Literatur wird schon lange über den bedeutenden Einfluss des Zytokinsturms im Rahmen schwerer Influenza-Verläufe diskutiert [101]. So konnten Sadasivan et al. bereits 2014 zeigen, dass auch eine H1N1-Infektion zu andauernder Mikroglia-Reaktion und chronischer Neuroinflammation im Mausmodell [93,157] führt.

### 5.2.6 Zeigen die Post-COVID-Fälle das Korrelat zu Long-COVID?

Die zwei ausgewerteten Patienten mit überstandener COVID-19-Infektion und initialer positiver SARS-CoV-2-Testung 4-5 bzw. 10 Wochen vor Ableben bestätigen das Läsionsmuster in etwas abgeschwächter Form. Es kann also vermutet werden, dass sich die Mikroglia-Makrophagen-Reaktion mit der Zeit zurückbildet. Für diese Hypothese spricht, dass die beschriebenen Makrophagen-Infiltrate in exemplarischen Färbungen mit CD163 einen Marker der anti-entzündlichen und wundheilenden M2-Polarisation exprimierten [154].

Bei beiden Patienten waren keine klinischen Post-COVID-Symptome bekannt. Das Läsionsmuster steht jedoch in erstaunlicher Korrelation zur häufig berichteten Post-COVID-Symptomatik: In einer Auswertung neurologischer Langzeitsymptome von Poyraz et al. klagten 44% der Teilnehmer über anhaltende Beschwerden wie Fatigue, Muskelschmerzen, Geruchs- und Geschmacksstörungen, Kopfschmerzen, Konzentrationsstörungen, Tagesschläfrigkeit, Schwindel und Taubheitsgefühle [141]. Das neuropathologische Korrelat des Symptoms Schwindel ist möglicherweise die starke Mikroglia-Makrophagen-Reaktion im Bereich der Kleinhirnerkerne und der weißen Substanz des Kleinhirns. Auch die Konzentrationsschwierigkeiten lassen sich über die Affektion des Hirnstamms und der dort gelegenen Formatio reticularis erklären.

Hinsichtlich der Geruchs- und Geschmacksstörungen fehlt in dieser Studie dagegen das neuropathologische Korrelat: Sowohl der Bulbus olfactorius als auch die Inselrinde und der frontobasale Cortex zeigten durchweg nur geringe Mikroglia-Makrophagen-Aktivität. Es ist daher anzunehmen, dass die Symptome durch Infektion und Entzündung der Riechschleimhaut selbst verursacht werden, welche in der Literatur auch mittels PCR häufig positiv getestet wurde [114].

### 5.2.7 Spezifische Pathologie oder überlagert durch Confounder?

COVID-19-Patienten, die einen schweren Krankheitsverlauf erleiden, haben in der Regel chronische Vorerkrankungen, welche als Confounder (dt. Störvariable) das Krankheitsbild beeinflussen. Bei der Interpretation neuropathologischer Beobachtungen müssen deren gewebe-pathologische Korrelate von SARS-CoV-2 induziertem Schaden abgegrenzt werden [108,159,187]. Wie bereits beschrieben, war die COVID-19-Kohorte dieser Studie geprägt von kardiovaskulären Erkrankungen. Vaskuläre Beeinträchtigungen wie Arteriosklerose oder Gefäßwandveränderungen durch chronischen Hypertonus waren häufig zu detektieren, in einigen Fällen sogar ein Progress zum Status cribrosus oder lacunaris mit umschriebenen Ischämie-zonen. In der CD68-Immunreaktion war es dennoch möglich anhand der Morphologie und Signalintensität der Makrophagen das ungefähre Alter der Läsionen abzuschätzen. Konden-

sierte, wolkenartige Makrophagen deuten auf einen älteren Infarkt hin, während deutlich markierte, scharf umgrenzte Mikroglia mit großem Zellkörper und verkürzten Fortsätzen die akuten COVID-19-assoziierten Cluster-Areale bilden. Die folgende Gegenüberstellung in den Abbildungen 70 und 71 verdeutlicht die unterschiedliche Morphologie der CD68-positiven Zellen.

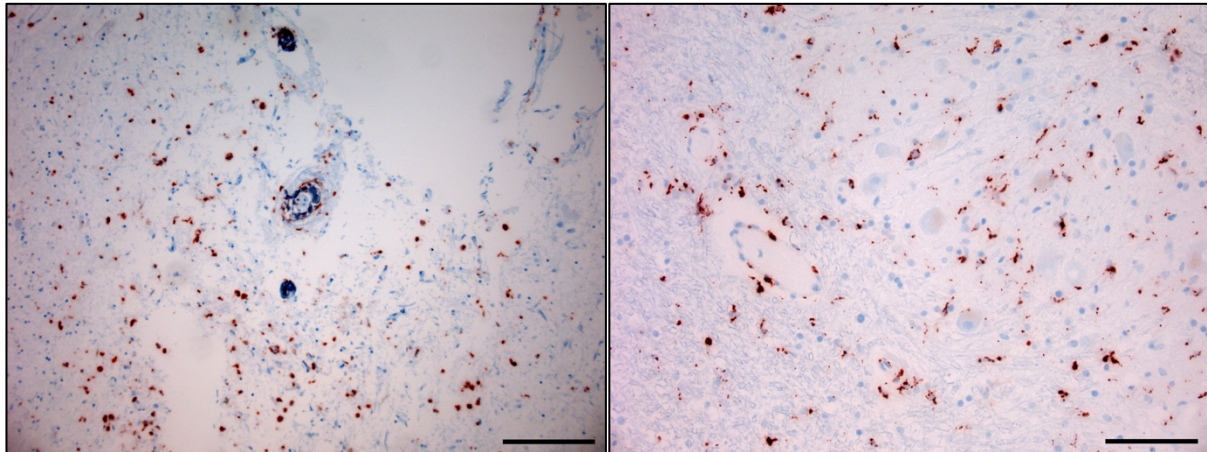


Abbildung 70: Bild (links) – Wolkenartige, kondensierte Makrophagen in einem alten Infarktareal in den Basalganglien von Fall 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

Abbildung 71: Bild (rechts) – Aktivierte diffuse Mikroglia in den Kleinhirnkernen von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm)

Mit im Durchschnitt 75 Lebensjahren war die COVID-19-Kohorte in einem Alter, in dem gehäuft neurodegenerative Prozesse als Confounder auftreten. In der Tat konnte bei 10 Patienten (ca. 59%) eine beginnende Neurodegeneration nachgewiesen werden. Besonders die beta-Amyloid-Pathologie mit diffusen Plaques im Cortex, die häufig von CD68-positiver Mikroglia umgeben wird, interferierte in der Auswertung mit dem COVID-19-assoziierten Pattern und musste beim Scoring berücksichtigt werden.

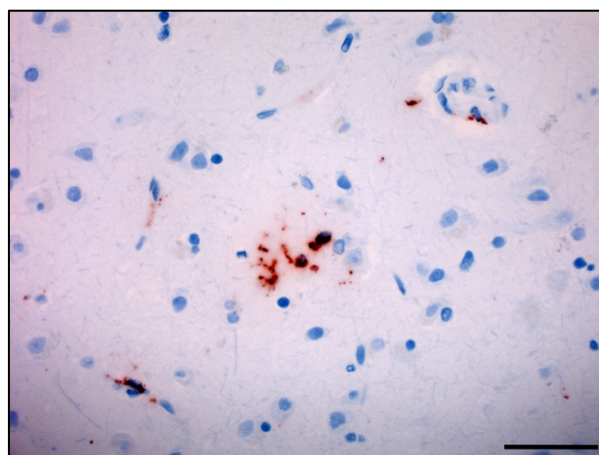


Abbildung 72: Bild – beta-Amyloid-Plaques-assoziierte Mikroglia-Reaktion im G. parietalis inferior von Fall 9 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm)

Poloni et al. [139] fokussierten sich in ihrer neuropathologischen Arbeit auf die Unterschiede der COVID-19-Pathologie bei älteren Menschen mit und ohne Demenz. Sie kamen zum Er-

gebnis, dass die Mikroglia-Aktivität im frontalen Cortex und Hippocampus klar mit der Alzheimer-Erkrankung assoziiert ist, während die COVID-19-assoziierte Mikroglia-Reaktion im Hirnstamm unabhängig vom Vorliegen der Alzheimer-Erkrankung signifikant verstärkt war. Diese Ergebnisse sind vereinbar mit den Erkenntnissen der vorliegenden Studie: In den corticalen Arealen waren die beiden assoziierten Pattern zumeist nur gering ausgeprägt. Bei vorliegender Kopathologie wie cerebraler Amyloidangiopathie (z. B. Fall 16) oder großen Infarktarealen (z. B. Fall 2) verstärkte sich auch die diffuse Mikroglia-Reaktion im Cortex.

### 5.2.8 Virusnachweis im ZNS – eine kontroverse Debatte

Humane Coronaviren wurden bereits 1999 im ZNS nachgewiesen [5]. In der Literatur finden sich Belege für einen Neurotropismus von HCoV-OC43, HCoV-229E, SARS-CoV und MERS-CoV [4,5,44,93]. In Tiermodellen konnte sogar gezeigt werden, dass eine ZNS-Infektion mit HCoV nicht nur zu neuronalem Zellverlust führt, sondern auch neurodegenerative Prozesse stimuliert und hippocampale Zellaktivität und -anzahl reduziert [45,86,93,129].

In Anbetracht der beschriebenen Vorerfahrung bezüglich des Neurotropismus humaner Coronaviren ist wenig überraschend, dass ein Großteil der neuropathologischen Arbeiten eine Form von Virusnachweis im ZNS anstrebte. Dabei ist die Erfolgsrate in der Literatur jedoch sehr inkonsistent: Matschke et al. beschrieben sowohl einen SARS-CoV-2-RNA- als auch Virusproteinnachweis im ZNS, konnten jedoch keine Korrelation zu einer schwereren Neuropathologie bei Detektion herstellen [113]. Lebrun et al. beschrieben einen SARS-CoV-2-RNA-Nachweis mittels PCR im Gehirn aller von ihnen ausgewerteten Patienten, jedoch einen SARS-CoV-2 Proteinnachweis in nur einem Fall [96]. Auch Meinhardt et al. beschrieben einen schwachen RNA-Nachweis mittels PCR im Bulbus olfactorius [114]. Bereits im Sommer 2020 sprachen sich Solomon et al. nach eigenen inkonsistenten PCR-Testungen gegen eine direkte ZNS-Infektion aus, sondern stellten die Hypothese auf, dass die schwach-positiven Signale durch Kontamination mit Patientenblut entstehen könnten [164]. Diese Einschätzung diskutierten auch Cosentino et al. in ihrer systematischen Übersichtsarbeit. In ihrer Auswertung der Literatur wurde in ca. 42% ein Nachweis viraler RNA im ZNS beschrieben. In der zuverlässigeren In-Situ-Hybridisierung konnten aber virale RNA oder SARS-CoV-2-Proteine in nur ca. 28% der Fälle gefunden werden [37].

In der Publikation von Yang et al., in der unter Mitwirkung unserer Arbeitsgruppe Gewebe von COVID-19-Patienten der vorliegenden Studie ausgewertet wurde, konnte ebenfalls keine SARS-CoV-2-spezifische RNA im Gehirn nachgewiesen werden [195]. Diese Tatsache spricht aber keinesfalls dafür, dass die beschriebene Neuropathologie unspezifisch sein muss: Wie Krey et al. [93] betonen, gelingt ein Erregernachweis im ZNS bei viraler Encephalitis auch bei Herpes-, Arbo-, oder Enteroviren nur sehr selten [45,93].

### 5.2.9 Spezifität der Antikörper – ist die Literatur zu unkritisch?

In Anbetracht der häufigen Kritik am inkonsistenten Nachweis von SARS-CoV-2-RNA im ZNS, etwa von Solomon et al. [164] oder Cosentino et al. [37], ist es verwunderlich, dass beim Literaturstudium die bislang gezeigten und auch in dieser Studie teilweise reproduzierten Reaktionsmuster der zur Detektion von SARS-CoV-2 vermarkteten IHC-Antikörper in ZNS-Gewebe in ihrer Aussagekraft nicht hinterfragt werden. So wurden durchaus Studien zur Wertigkeit der Immunhistochemie verglichen mit In-Situ-Hybridisierung oder PCR zur Detektion von SARS-CoV-2 in Gewebe durchgeführt, etwa von Massoth et al. [112] oder Best Rocha et al. [11], jedoch ohne ZNS-Gewebeproben und zumeist an der Lunge.

**Abcam 3A2** wird vom Hersteller beworben für seine spezifische Bindung an das SARS-CoV Spike-Glykoprotein im Formalinaldehyd-fixierten Zustand. Zur Spezifität für SARS-CoV-2 trifft der Hersteller keine Aussage. In der Literatur findet der Antikörper zum Nachweis von Virusmaterial rege Anwendung, etwa zur Detektion in der Nasenschleimhaut in einer Studie von Meinhardt et al. [114] oder zur Markierung infizierter Endothelzellen im ZNS in der Publikation von Schwabenland et al. [160]. Das trigeminale Reaktionsmuster und die markierten neuronalen Strukturen im Kerngebiet des N. vagus wurden bislang in der Literatur nicht berichtet. In Anbetracht des ebenfalls positiven Signals in Kontrollfällen ist aber davon auszugehen, dass Abcam 3A2 ein Antigen bindet, welches nicht SARS-CoV-2-spezifisch ist.

**SB-NC** bindet laut Hersteller an das SARS-CoV Nucleocapsid-Protein und ist validiert für immunhistochemische Färbungen. Zusätzlich habe SB-NC laut Hersteller aber auch eine Kreuzreaktivität mit dem SARS-CoV-2 Nucleocapsid-Protein, jedoch bei ELISA- und Western-Blot-Verfahren. In der Literatur findet der Antikörper zum Nachweis von SARS-CoV-2 dennoch auch Anwendung bei immunhistochemischen Färbemethoden, etwa in der Arbeit von Berezowska et al. [8] zur Virusdetektion in der Lunge. Eine Auswertung von Liu et al. mit SARS-CoV-2-infizierten Vero-76-Zellen kam zum Ergebnis, dass SB-NC die infizierten Zellen suffizient, nicht-infizierte Zellen korrekterweise jedoch nicht markierte [100]. In dieser Studie zeigte SB-NC weder bei Gewebeproben von COVID-19-Patienten, noch bei Kontrollpatienten, ein Signal. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an das SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein konnte nicht nachvollzogen werden.

**CoV-2-S1A9** detektiert laut Herstellerangaben sowohl das Spike-Protein von SARS-CoV als auch von SARS-CoV-2 (S2-Untereinheit) und wurde für immunhistochemische Färbungen validiert. In einer Studie von Song et al. [165] markiert CoV-2-S1A9 einige corticale Neurone und Endothelien. Auch Matschke et al. [113] konnten mit diesem Antikörper vereinzelt Neurone markieren. In der vorliegenden Studie markierte CoV-2-S1A9 kein neuronales Signal, jedoch



ein zytoplasmatisches Reaktionsmuster in endothelialen Zellen, welches in Kontrollfällen reproduziert werden konnte. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an das SARS-CoV-2 Spike-Protein konnte nicht nachvollzogen werden.

**Novus-NC** detektiert laut Hersteller das SARS-CoV-2 Nucleocapsid-Protein. Der Antikörper markierte in einer SARS-CoV-2-Autopsie-Fallserie von Martines et al. [110] Lungengewebe erfolgreich. In einem Fallbericht über akute Myokarditis von Gauchotte et al. [67] erfolgte der Virusnachweis in Kardiomyozyten ebenfalls mit Novus-NC. Bei den im Rahmen dieser Studie angefertigten Gewebeschnitte zeigte Novus-NC erneut ein endotheliales, zytoplasmatisches Reaktionsmuster. Außerdem markierte der Antikörper meningeale Makrophagen. Beide Muster waren jedoch ebenfalls in Kontrollfällen zu beobachten. Eine spezifische Bindung des Antikörpers an SARS-CoV-2 konnte deswegen nicht nachvollzogen werden.

Die Tatsache, dass alle in dieser Studie getesteten Antikörper (mit Ausnahme des gänzlich ausgefallenen SB-NC) eine endotheliale Immunreaktion zeigen, lässt vermuten, dass das gebundene Epitop SARS-CoV-2 in seiner Struktur zumindest ähnelt. In Anbetracht der Tatsache, dass die Reaktionsmuster jedoch auch bei Kontrollfällen auftreten, ist mit ausreichender Sicherheit davon auszugehen, dass es sich bei der Sequenz nicht um SARS-CoV-2 handelt, sondern allenfalls um ein anderes endemisches Coronavirus. Insbesondere die mit Abcam 3A2 im Ggl. trigeminale zu beobachtende Farbreaktion wirkt derart spezifisch, dass der Antikörper durchaus eine andere HCoV-Infektion anzeigen könnte. Wie bereits diskutiert, existieren schon seit längerer Zeit Belege, dass auch die endemischen HCoV neuroinvasive und neurotrope Eigenschaften besitzen [45].

## 5.3 Schlussfolgerungen und Perspektive

### 5.3.1 COVID-19 ist nicht nur eine Pneumonie

Im Vergleich zur pulmonalen Pathologie wird der Beteiligung des ZNS im Rahmen von COVID-19 in der Literatur immer noch zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. In Anbetracht der pathognomonischen neurologischen Symptome zu Erkrankungsbeginn (Geruchs- und Geschmacksverlust) und der möglicherweise lange über die akute Erkrankung hinweg bestehenden Symptomatik (Long-COVID) ist es ratsam, Autopsiestudien an erkrankten Patienten fortzuführen, auch nach Übergang der SARS-CoV-2-Pandemie in eine möglicherweise endemische Phase. Dabei sollten Probeentnahmen am Gehirn zur Standardroutine der Autopsie gehören. Entsprechende Standards und Netzwerke zum Austausch von Gewebeproben wurden in Deutschland bereits etabliert [186].

### 5.3.2 Long-COVID hat möglicherweise eine Neuropathologie

Insbesondere um Patienten mit Long-COVID- und Post-COVID-Symptomatik zu helfen, muss die Forschung an den Ursachen weitergeführt werden. Dabei konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, dass die beschriebene Neuropathologie eher nicht einer Neuroinvasion geschuldet ist, sondern wahrscheinlich durch den Zytokinsturm und die systemische Hyperinflammation entsteht. Eine Konsequenz für die Entwicklung neuer Therapien könnte daher sein, dass entsprechende inflammatorische Kaskaden frühzeitig bei Erkrankungsbeginn inhibiert werden. Bislang gibt es jedoch keine ausreichende Evidenz, um etwa eine Glucocorticoid-Therapie einzuleiten, ohne dass zuvor aufgrund der pulmonalen Symptomatik eine Sauerstofftherapie indiziert ist [91].

Dabei zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass der ZNS-Befund nicht mit der klinischen Schwere der Erkrankung korreliert. Auch Douaud et al. [47] konnten in ihrer longitudinalen cMRT-Studie mit Untersuchungen vor und nach COVID-19-Erkrankung zeigen, dass strukturelle Veränderungen sich auch nach Ausschluss hospitalisierter Patienten deutlich von einer Kontrollgruppe unterschieden, ebenso Leistungen in kognitiven Tests.

Es sollte daher mit dem Übergang in die endemische Phase von SARS-CoV-2 ein Konzept entwickelt werden, um auch klinisch „mild“ erkrankten Patienten eine Therapie zukommen zu lassen, anstatt sich auf Quarantänemaßnahmen und Kontaktpersonenmanagement zu fokussieren und Patienten erst im hospitalisierten Zustand zu behandeln.

### 5.3.3 Obduktion zum Verstehen neuer Krankheitserreger

Im Laufe der Datenerhebung zur Durchführung dieser Studie und auch bei der Literatursammenstellung wurde immer wieder deutlich, dass eine sorgfältige Analyse der COVID-19-Todesfälle mit geregelter Autopsie und eine zeitnahe Publikation der Erkenntnisse von unvorstellbarem Wert waren, um das Virus und seine Pathogenese im Menschen zu verstehen, Risikogruppen zu erkennen und stationäre Therapiekonzepte auf Nutzen oder Schaden zu evaluieren.

Obwohl die Medizin in den vergangenen Jahrzehnten mit unzähligen neu erkannten Pathogenen konfrontiert war, erinnert sei zum Beispiel an die Creutzfeld-Jakob-Erkrankung (CJD) oder an die ersten Todesfälle nach HIV-Infektion, und obwohl zu seiner Zeit entscheidende Erkenntnisse zum Verständnis der Erkrankungen erst durch Sektionen erlangt werden konnten, dominierte hierzulande im März 2020 zunächst eine irrationale Angst vor dem neuartigen SARS-CoV-2, wie Püschel und Aepfelbacher im Mai 2020 in einem Artikel im Deutschen Ärzteblatt beschrieben [142].

Die oberste Institution zur öffentlichen Gesundheitspflege in der Bundesrepublik Deutschland, das Robert Koch-Institut, veröffentlichte am 24.03.2020 in seiner Empfehlung zum Umgang



mit SARS-CoV-2-infizierten Verstorbenen u. a.: „Eine innere Leichenschau, Autopsien oder andere aerosolproduzierende Maßnahmen sollten vermieden werden. Sind diese notwendig, sollten diese auf ein Minimum beschränkt bleiben [46,151].“

Die Umsetzung dieser Empfehlung in den Gesundheitsämtern der Bundesländer variierte daraufhin erheblich. Während sich die Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz (BGV) der Freien und Hansestadt Hamburg in Kooperation mit den Instituten für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene und Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) über die Empfehlung des RKI hinwegsetzte und sämtliche Corona-Tote des Stadtstaates obduzieren ließ, war andernorts in Baden-Württemberg sogar die gesetzlich vorgeschriebene Leichenschau von COVID-19-Toten vor der Kremation ausgesetzt [142].

Dabei hat der Gesetzgeber eigentlich im Infektionsschutzgesetz (IfSG) die Aufgabe an die zuständigen Gesundheitsämter übertragen, Ermittlungen über Todesfälle durch ansteckende Krankheiten einzuleiten (§ 25 (1) IfSG) und eine Autopsie, falls zur Aufklärung erforderlich, anzuordnen (§ 25 (4) IfSG) [205].

Erst nach einer gemeinsamen Stellungnahme der deutschen pathologischen Fach- und Berufsverbände und unter Druck durch mediale Berichterstattung aktualisierte das Robert Koch-Institut schließlich seine Empfehlungen und sprach sich fortan dafür aus, verstärkt Obduktionen durchzuführen [46,142].

Zu Beginn der nächsten Pandemie, die in Zeiten des Bevölkerungswachstums, der Massentierhaltung und der zunehmenden Globalisierung sicherlich nicht allzu lange auf sich warten lassen wird, sollte sich unsere Gesellschaft, die Politik und auch die öffentlichen Organe der Gesundheitspflege an die Lehren aus der SARS-CoV-2-Pandemie erinnern.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Abidi N, Xirodimas DP (2015) Regulation of cancer-related pathways by protein NEDDylation and strategies for the use of NEDD8 inhibitors in the clinic. *Endocr Relat Cancer* 22:T55-70
2. Abu-Rumeileh S, Abdelhak A, Foschi M, Tumani H, Otto M (2021) Guillain-Barré syndrome spectrum associated with COVID-19: an up-to-date systematic review of 73 cases. *J Neurol* 268:1133–1170
3. Al-Dalahmah O, Thakur KT, Nordvig AS, Prust ML, Roth W, Lignelli A, Uhlemann A-C, Miller EH, Kunnath-Velayudhan S, Del Portillo A, Liu Y, Hargus G, Teich AF, Hickman RA, Tanji K, Goldman JE, Faust PL, Canoll P (2020) Neuronophagia and microglial nodules in a SARS-CoV-2 patient with cerebellar hemorrhage. *Acta Neuropathol Commun* 8:147
4. Arbour N, Côté G, Lachance C, Tardieu M, Cashman NR, Talbot PJ (1999) Acute and persistent infection of human neural cell lines by human coronavirus OC43. *J Virol* 73:3338–3350
5. Arbour N, Day R, Newcombe J, Talbot PJ (2000) Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. *J Virol* 74:8913–8921
6. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R (2020) SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *eLife* 9:e57309
7. Belani P, Schefflein J, Kihira S, Rigney B, Delman BN, Mahmoudi K, Mocco J, Majidi S, Yeckley J, Aggarwal A, Lefton D, Doshi AH (2020) COVID-19 Is an Independent Risk Factor for Acute Ischemic Stroke. *AJNR Am J Neuroradiol* 41:1361–1364
8. Berezowska S, Lefort K, Ioannidou K, Ndiaye D-R, Maison D, Petrovas C, Rotman S, Piazzon N, Milowich D, Sala N, Tsai C-Y, Multone E, Bochud P-Y, Oddo M, Bisig B, de Leval L (2021) Post-mortem Cardiopulmonary Pathology in Patients with COVID-19 Infection: Single-Center Report of 12 Autopsies from Lausanne, Switzerland. *Diagnostics* 11:1357
9. Berlitt P (2021) COVID-19 in der Neurologie: Das klinische Bild wird präziser. *Dtsch Arztebl Int* 118:14
10. Bernard-Valnet R, Pizzarotti B, Anichini A, Demars Y, Russo E, Schmidhauser M, Cerutti-Sola J, Rossetti AO, Du Pasquier R (2020) Two patients with acute meningoencephalitis concomitant with SARS-CoV-2 infection. *Eur J Neurol* 27:e43–e44
11. Best Rocha A, Stroberg E, Barton LM, Duval EJ, Mukhopadhyay S, Yarid N, Caza T, Wilson JD, Kenan DJ, Kuperman M, Sharma SG, Larsen CP (2020) Detection of SARS-CoV-2 in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using commercially available reagents. *Lab Investig J Tech Methods Pathol* 100:1485–1489

12. Böcker W, Denk H, Heitz PU (2004) Pathologie: mit 164 Tabellen. 3. Auflage edition. Elsevier, Urban und Fischer, München, Jena
13. Boenisch T, Henne C (2003) Handbuch immunchemische Färbemethoden. 3. edition. DakoCytomation GmbH, Hamburg
14. Boni MF, Lemey P, Jiang X, Lam TT-Y, Perry BW, Castoe TA, Rambaut A, Robertson DL (2020) Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. *Nat Microbiol* 5:1408–1417
15. Bostancıkoğlu M (2020) SARS-CoV2 entry and spread in the lymphatic drainage system of the brain. *Brain Behav Immun* 87:122–123
16. Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 82:239–259
17. Bradley BT, Maioli H, Johnston R, Chaudhry I, Fink SL, Xu H, Najafian B, Deutsch G, Lacy JM, Williams T, Yarid N, Marshall DA (2020) Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series. *The Lancet* 396:320–332
18. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C, Lipovsek M, Van den Berge K, Gong B, Chance R, Macaulay IC, Chou H-J, Fletcher RB, Das D, Street K, de Bezieux HR, Choi Y-G, Risso D, Dudoit S, Purdom E, Mill J, Hachem RA, Matsunami H, Logan DW, Goldstein BJ, Grubb MS, Ngai J, Datta SR (2020) Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Sci Adv* 6:eabc5801
19. Brown GC, Neher JJ (2014) Microglial phagocytosis of live neurons. *Nat Rev Neurosci* 15:209–216
20. Brundin P, Nath A, Beckham JD (2020) Is COVID-19 a Perfect Storm for Parkinson’s Disease? *Trends Neurosci* 43:931–933
21. Bryce C, Grimes Z, Pujadas E, Ahuja S, Beasley MB, Albrecht R, Hernandez T, Stock A, Zhao Z, AlRasheed MR, Chen J, Li L, Wang D, Corben A, Haines GK, Westra WH, Umphlett M, Gordon RE, Reidy J, Petersen B, Salem F, Fiel MI, El Jamal SM, Tsankova NM, Houldsworth J, Mussa Z, Veremis B, Sordillo E, Gitman MR, Nowak M, Brody R, Harpaz N, Merad M, Gnjatich S, Liu W-C, Schotsaert M, Miorin L, Aydillo Gomez TA, Ramos-Lopez I, Garcia-Sastre A, Donnelly R, Seigler P, Keys C, Cameron J, Moultrie I, Washington K-L, Treatman J, Sebra R, Jhang J, Firpo A, Lednický J, Paniz-Mondolfi A, Cordon-Cardo C, Fowkes ME (2021) Pathophysiology of SARS-CoV-2: the Mount Sinai COVID-19 autopsy experience. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 34:1456–1467
22. Bundesverband deutscher Pathologen e. V. Vorsichtsmaßnahmen zur Durchführung von Autopsien. URL: [https://www.pathologie.de/aktuelles/corona/corona-detailansicht/?tx\\_ttnews%5Btt\\_news%5D=1690&cHash=f7bb15ed3ab6d1ee006bcfbd87283316](https://www.pathologie.de/aktuelles/corona/corona-detailansicht/?tx_ttnews%5Btt_news%5D=1690&cHash=f7bb15ed3ab6d1ee006bcfbd87283316) (Abgerufen:

07.02.2022)

23. Cacciola R, Gentilini Cacciola E, Vecchio V, Cacciola E (2022) Cellular and molecular mechanisms in COVID-19 coagulopathy: role of inflammation and endotheliopathy. *J Thromb Thrombolysis* 53:282–290
24. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, van der Meer F, Kallio K, Kaya T, Anastasina M, Smura T, Levanov L, Szivoczka L, Tobi A, Kallio-Kokko H, Österlund P, Joensuu M, Meunier FA, Butcher SJ, Winkler MS, Mollenhauer B, Helenius A, Gokce O, Teesalu T, Hepojoki J, Vapalahti O, Stadelmann C, Balistreri G, Simons M (2020) Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science* 370:856–860
25. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, Wang T, Zhang X, Chen H, Yu H, Zhang X, Zhang M, Wu S, Song J, Chen T, Han M, Li S, Luo X, Zhao J, Ning Q (2020) Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest* 130:2620–2629
26. Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, Men D, Huang Q, Liu Y, Yang B, Ding J, Li F (2020) Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis* 71:1937–1942
27. Chen Z, Zhong D, Li G (2019) The role of microglia in viral encephalitis: a review. *J Neuroinflammation* 16:76
28. Cherry JD, Krogstad P (2004) SARS: the first pandemic of the 21st century. *Pediatr Res* 56:1–5
29. Chistiakov DA, Killingsworth MC, Myasoedova VA, Orekhov AN, Bobryshev YV (2017) CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Lab Invest* 97:4–13
30. Ciaccio M, Lo Sasso B, Scazzone C, Gambino CM, Ciaccio AM, Bivona G, Piccoli T, Giglio RV, Agnello L (2021) COVID-19 and Alzheimer’s Disease. *Brain Sci* 11:305
31. Clausen TM, Sandoval DR, Spleid CB, Pihl J, Perrett HR, Painter CD, Narayanan A, Majowicz SA, Kwong EM, McVicar RN, Thacker BE, Glass CA, Yang Z, Torres JL, Golden GJ, Bartels PL, Porell RN, Garretson AF, Laubach L, Feldman J, Yin X, Pu Y, Hauser BM, Caradonna TM, Kellman BP, Martino C, Gordts PLSM, Chanda SK, Schmidt AG, Godula K, Leibel SL, Jose J, Corbett KD, Ward AB, Carlin AF, Esko JD (2020) SARS-CoV-2 Infection Depends on Cellular Heparan Sulfate and ACE2. *Cell* 183:1043–1057
32. Colonna M, Butovsky O (2017) Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annu Rev Immunol* 35:441–468

33. Connors JM, Levy JH (2020) COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood* 135:2033–2040
34. Cordon-Cardo C, Pujadas E, Wajnberg A, Sebra R, Patel G, Firpo-Betancourt A, Fowkes M, Sordillo E, Paniz-Mondolfi A, Gregory J, Krammer F, Simon V, Isola L, Soon-Shiong P, Aberg JA, Fuster V, Reich DL (2020) COVID-19: Staging of a New Disease. *Cancer Cell* 38:594–597
35. Corman VM, Muth D, Niemeyer D, Drosten C (2018) Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. *Adv Virus Res* 100:163–188
36. Corman VM, Lienau J, Witzendrath M (2019) [Coronaviruses as the cause of respiratory infections]. *Internist* 60:1136–1145
37. Cosentino G, Todisco M, Hota N, Della Porta G, Morbini P, Tassorelli C, Pisani A (2021) Neuropathological findings from COVID-19 patients with neurological symptoms argue against a direct brain invasion of SARS-CoV-2: A critical systematic review. *Eur J Neurol* 28:3856–3865
38. Cristallo A, Gambaro F, Biamonti G, Ferrante P, Battaglia M, Cereda PM (1997) Human coronavirus polyadenylated RNA sequences in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *New Microbiol* 20:105–114
39. Crook H, Raza S, Nowell J, Young M, Edison P (2021) Long covid-mechanisms, risk factors, and management. *BMJ* 374:n1648
40. Dalakas MC (2020) Guillain-Barré syndrome: The first documented COVID-19-triggered autoimmune neurologic disease: More to come with myositis in the offing. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation* 7:e781
41. Daly JL, Simonetti B, Klein K, Chen K-E, Williamson MK, Antón-Plágaro C, Shoemark DK, Simón-Gracia L, Bauer M, Hollandi R, Greber UF, Horvath P, Sessions RB, Helenius A, Hiscox JA, Teesalu T, Matthews DA, Davidson AD, Collins BM, Cullen PJ, Yamauchi Y (2020) Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science* 370:861–865
42. Deigendesch N, Sironi L, Kutza M, Wischnewski S, Fuchs V, Hench J, Frank A, Nienhold R, Mertz KD, Cathomas G, Matter MS, Siegemund M, Tolnay M, Schirmer L, Pröbstel A-K, Tzankov A, Frank S (2020) Correlates of critical illness-related encephalopathy predominate postmortem COVID-19 neuropathology. *Acta Neuropathol (Berl)* 140:583–586
43. Desforges M, Le Coupanec A, Stodola JK, Meessen-Pinard M, Talbot PJ (2014) Human coronaviruses: viral and cellular factors involved in neuroinvasiveness and neuropathogenesis. *Virus Res* 194:145–158
44. Desforges M, Le Coupanec A, Brison É, Meessen-Pinard M, Talbot PJ (2014) Neuroinvasive and neurotropic human respiratory coronaviruses: potential neurovirulent agents in humans. *Adv Exp*

Med Biol 807:75–96

45. Desforges M, Le Coupanec A, Dubeau P, Bourgouin A, Lajoie L, Dubé M, Talbot PJ (2019) Human Coronaviruses and Other Respiratory Viruses: Underestimated Opportunistic Pathogens of the Central Nervous System? *Viruses* 12:14
46. Deutsche Gesellschaft für Pathologie e. V. Pressemitteilung: An Corona Verstorbene sollten obduziert werden. 07.04.2020. URL: <https://www.pathologie-dgp.de/die-dgp/aktuelles/meldung/pressemitteilung-an-corona-verstorbene-sollten-obduziert-werden/> (Abgerufen: 17.03.2022)
47. Douaud G, Lee S, Alfaro-Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, Lange F, Andersson JLR, Griffanti L, Duff E, Jbabdi S, Taschler B, Keating P, Winkler AM, Collins R, Matthews PM, Allen N, Miller KL, Nichols TE, Smith SM (2022) SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. *Nature* 604:697–707
48. Drexler JF, Corman VM, Drosten C (2014) Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res* 101:45–56
49. Drosten C, Preiser W, Günther S, Schmitz H, Doerr HW (2003) Severe acute respiratory syndrome: identification of the etiological agent. *Trends Mol Med* 9:325–327
50. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt H-R, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RAM, Berger A, Burguière A-M, Cinatl J, Eickmann M, Escriou N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra J-C, Müller S, Rickerts V, Stürmer M, Vieth S, Klenk H-D, Osterhaus ADME, Schmitz H, Doerr HW (2003) Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 348:1967–1976
51. Duffy S, Shackelton LA, Holmes EC (2008) Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat Rev Genet* 9:267–276
52. Efe IE, Aydin OU, Alabulut A, Celik O, Aydin K (2020) COVID-19-Associated Encephalitis Mimicking Glial Tumor. *World Neurosurg* 140:46–48
53. Eisman R, Surrey S, Ramachandran B, Schwartz E, Poncz M (1990) Structural and functional comparison of the genes for human platelet factor 4 and PF4alt. *Blood* 76:336–344
54. Eldeeb MA, Hussain FS, Siddiqi ZA (2020) COVID-19 infection may increase the risk of parkinsonism - Remember the Spanish flu? *Cytokine Growth Factor Rev* 54:6–7
55. Elkind MSV, Boehme AK, Smith CJ, Meisel A, Buckwalter MS (2020) Infection as a Stroke Risk Factor and Determinant of Outcome After Stroke. *Stroke* 51:3156–3168
56. Enchev RI, Schulman BA, Peter M (2015) Protein neddylation: beyond cullin-RING ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 16:30–44
57. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) Risk assessment guidelines for

infectious diseases transmitted on aircraft (RAGIDA) - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/risk-assessment-guidelines-infectious-diseases-transmitted-aircraft-ragida-middle> (Abgerufen: 11.03.2022)

58. Fabbri VP, Foschini MP, Lazzarotto T, Gabrielli L, Cenacchi G, Gallo C, Aspide R, Frascaroli G, Cortelli P, Riefolo M, Giannini C, D'Errico A (2021) Brain ischemic injury in COVID-19-infected patients: a series of 10 post-mortem cases. *Brain Pathol Zurich Switz* 31:205–210

59. Fazzini E, Fleming J, Fahn S (1992) Cerebrospinal fluid antibodies to coronavirus in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 7:153–158

60. Fehr AR, Perlman S (2015) Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 1282:1–23

61. Feldt T, Guggemos W, Heim K, Kobbe R, Lübbert C, Mikolajewska A, Niebank M, Pfäfflin F, Rothfuss K, Schmiedel S, Stegemann MS, Stich A, Weber S, Wolf T STAKOB: Hinweise zu Erkennung, Diagnostik und Therapie von Patienten mit COVID-19 (Stand: 6.4.2022). Robert Koch-Institut (RKI)

62. Ferrante CJ, Leibovich SJ (2012) Regulation of Macrophage Polarization and Wound Healing. *Adv Wound Care* 1:10–16

63. Fleischer M, Köhrmann M, Dolff S, Szepanowski F, Schmidt K, Herbstreit F, Güngör C, Stolte B, Steiner KM, Stadler C, Riße J, Fiedler M, Meyer Zu Hörste G, Mausberg A-K, Kill C, Forsting M, Sure U, Dittmer U, Witzke O, Brenner T, Kleinschnitz C, Stettner M (2021) Observational cohort study of neurological involvement among patients with SARS-CoV-2 infection. *Ther Adv Neurol Disord* 14:1756286421993701

64. Franke C, Ferse C, Kreye J, Reincke SM, Sanchez-Sendin E, Rocco A, Steinbrenner M, Angermair S, Treskatsch S, Zickler D, Eckardt K-U, Dersch R, Hosp J, Audebert HJ, Endres M, Ploner JC, Prüß H (2021) High frequency of cerebrospinal fluid autoantibodies in COVID-19 patients with neurological symptoms. *Brain Behav Immun* 93:415–419

65. Frontera JA, Sabadia S, Lalchan R, Fang T, Flusty B, Millar-Vernetti P, Snyder T, Berger S, Yang D, Granger A, Morgan N, Patel P, Gutman J, Melmed K, Agarwal S, Bokhari M, Andino A, Valdes E, Omari M, Kvernland A, Lillemoe K, Chou SH-Y, McNett M, Helbok R, Mainali S, Fink EL, Robertson C, Schober M, Suarez JI, Ziai W, Menon D, Friedman D, Friedman D, Holmes M, Huang J, Thawani S, Howard J, Abou-Fayssal N, Krieger P, Lewis A, Lord AS, Zhou T, Kahn DE, Czeisler BM, Torres J, Yaghi S, Ishida K, Scher E, de Havenon A, Placantonakis D, Liu M, Wisniewski T, Troxel AB, Balcer L, Galetta S (2021) A Prospective Study of Neurologic Disorders in Hospitalized Patients With COVID-19 in New York City. *Neurology* 96:e575–e586

66. Gate D, Tapp E, Leventhal O, Shahid M, Nonninger TJ, Yang AC, Strempl K, Unger MS,

- Fehlmann T, Oh H, Channappa D, Henderson VW, Keller A, Aigner L, Galasko DR, Davis MM, Poston KL, Wyss-Coray T (2021) CD4+ T cells contribute to neurodegeneration in Lewy body dementia. *Science* 374:868–874
67. Gauchotte G, Venard V, Segondy M, Cadoz C, Esposito-Fava A, Barraud D, Louis G (2021) SARS-Cov-2 fulminant myocarditis: an autopsy and histopathological case study. *Int J Legal Med* 135:577–581
68. Gelpi E, Klotz S, Beyerle M, Wischnewski S, Harter V, Kirschner H, Stolz K, Reisinger C, Lindeck-Pozza E, Zoufaly A, Leoni M, Gorkiewicz G, Zacharias M, Haberler C, Hainfellner J, Woehrer A, Hametner S, Roetzer T, Voigtländer T, Ricken G, Endmayr V, Haider C, Ludwig J, Polt A, Wilk G, Schmid S, Erben I, Nguyen A, Lang S, Simonitsch-Klupp I, Kornauth C, Nackenhorst M, Kläger J, Kain R, Chott A, Wasicky R, Krause R, Weiss G, Löffler-Rag J, Berger T, Moser P, Soleiman A, Asslaber M, Sedivy R, Klupp N, Klimpfinger M, Risser D, Budka H, Schirmer L, Pröbstel A-K, Höftberger R (2023) Multifactorial White Matter Damage in the Acute Phase and Pre-Existing Conditions May Drive Cognitive Dysfunction after SARS-CoV-2 Infection: Neuropathology-Based Evidence. *Viruses* 15:908
69. Goldmann T, Wieghofer P, Jordão MJC, Prutek F, Hagemeyer N, Frenzel K, Amann L, Staszewski O, Kierdorf K, Krueger M, Locatelli G, Hochgerner H, Zeiser R, Epelman S, Geissmann F, Priller J, Rossi FMV, Bechmann I, Kerschensteiner M, Linnarsson S, Jung S, Prinz M (2016) Origin, fate and dynamics of macrophages at central nervous system interfaces. *Nat Immunol* 17:797–805
70. Gu J, Gong E, Zhang B, Zheng J, Gao Z, Zhong Y, Zou W, Zhan J, Wang S, Xie Z, Zhuang H, Wu B, Zhong H, Shao H, Fang W, Gao D, Pei F, Li X, He Z, Xu D, Shi X, Anderson VM, Leong AS-Y (2005) Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med* 202:415–424
71. Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang W-H, Ou C-Q, He J-X, Liu L, Shan H, Lei C-L, Hui DSC, Du B, Li L-J, Zeng G, Yuen K-Y, Chen R-C, Tang C-L, Wang T, Chen P-Y, Xiang J, Li S-Y, Wang J-L, Liang Z-J, Peng Y-X, Wei L, Liu Y, Hu Y-H, Peng P, Wang J-M, Liu J-Y, Chen Z, Li G, Zheng Z-J, Qiu S-Q, Luo J, Ye C-J, Zhu S-Y, Zhong N-S, China Medical Treatment Expert Group for Covid-19 (2020) Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 382:1708–1720
72. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, Bikdeli B, Ahluwalia N, Ausiello JC, Wan EY, Freedberg DE, Kirtane AJ, Parikh SA, Maurer MS, Nordvig AS, Accili D, Bathon JM, Mohan S, Bauer KA, Leon MB, Krumholz HM, Uriel N, Mehra MR, Elkind MSV, Stone GW, Schwartz A, Ho DD, Bilezikian JP, Landry DW (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med* 26:1017–1032
73. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, Péré H, Charbit B, Bondet V, Chenevier-Gobeaux C, Breillat P, Carlier N, Gauzit R, Morbieu C, Pène F, Marin N, Roche N, Szwebel T-A, Merklings SH, Treluyer J-M, Veyer D, Mouthon L, Blanc C, Tharaux P-L, Rozenberg F, Fischer



- A, Duffy D, Rieux-Laucat F, Kernéis S, Terrier B (2020) Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science* 369:718–724
74. Hamre D, Procknow JJ (1966) A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* 121:190–193
75. Han K, Zhang J (2018) Roles of neddylation against viral infections. *Cell Mol Immunol* 15:292–294
76. Hayashi M, Sahashi Y, Baba Y, Okura H, Shimohata T (2020) COVID-19-associated mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion. *J Neurol Sci* 415:116941
77. He X, Zhu A, Feng J, Wang X Role of neddylation in neurological development and diseases. *Biotechnol Appl Biochem* 69:330–341
78. Hernández-Fernández F, Sandoval Valencia H, Barbella-Aponte RA, Collado-Jiménez R, Ayo-Martín Ó, Barrena C, Molina-Nuevo JD, García-García J, Lozano-Setién E, Alcahut-Rodríguez C, Martínez-Martín Á, Sánchez-López A, Segura T (2020) Cerebrovascular disease in patients with COVID-19: neuroimaging, histological and clinical description. *Brain J Neurol* 143:3089–3103
79. Holmes EC, Goldstein SA, Rasmussen AL, Robertson DL, Crits-Christoph A, Wertheim JO, Anthony SJ, Barclay WS, Boni MF, Doherty PC, Farrar J, Geoghegan JL, Jiang X, Leibowitz JL, Neil SJD, Skern T, Weiss SR, Worobey M, Andersen KG, Garry RF, Rambaut A (2021) The origins of SARS-CoV-2: A critical review. *Cell* 184:4848–4856
80. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl* 395:497–506
81. Iadecola C, Anrather J, Kamel H (2020) Effects of COVID-19 on the Nervous System. *Cell* 183:16-27.e1
82. Iba T, Levy JH (2022) Thrombosis and thrombocytopenia in COVID-19 and after COVID-19 vaccination. *Trends Cardiovasc Med* 32:249–256
83. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Virus Taxonomy: 2018b Release. 2019. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (Abgerufen: 10.03.2022)
84. Inui R, Fujiwara S, Kohara N, Kawamoto M (2022) Post COVID-19 Bilateral Facial Nerve Palsy. *Intern Med Tokyo Jpn* 61:241–243
85. Jacob F, Pather SR, Huang W-K, Zhang F, Wong SZH, Zhou H, Cubitt B, Fan W, Chen CZ, Xu M, Pradhan M, Zhang DY, Zheng W, Bang AG, Song H, Carlos de la Torre J, Ming G-L (2020)

Human Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Cells and Brain Organoids Reveal SARS-CoV-2 Neurotropism Predominates in Choroid Plexus Epithelium. *Cell Stem Cell* 27:937-950.e9

86. Jacomy H, Fragoso G, Almazan G, Mushynski WE, Talbot PJ (2006) Human coronavirus OC43 infection induces chronic encephalitis leading to disabilities in BALB/C mice. *Virology* 349:335–346

87. Jensen MP, Le Quesne J, Officer-Jones L, Teodòsio A, Thaventhiran J, Ficken C, Goddard M, Smith C, Menon D, Allinson KSJ (2021) Neuropathological findings in two patients with fatal COVID-19. *Neuropathol Appl Neurobiol* 47:17–25

88. Kanberg N, Ashton NJ, Andersson L-M, Yilmaz A, Lindh M, Nilsson S, Price RW, Blennow K, Zetterberg H, Gisslén M (2020) Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19. *Neurology* 95:e1754–e1759

89. Kaushik DK, Gupta M, Basu A (2011) Microglial response to viral challenges: every silver lining comes with a cloud. *Front Biosci Landmark Ed* 16:2187–2205

90. Kirschenbaum D, Imbach LL, Rushing EJ, Frauenknecht KBM, Gascho D, Ineichen BV, Keller E, Kohler S, Lichtblau M, Reimann RR, Schreib K, Ulrich S, Steiger P, Aguzzi A, Frontzek K (2020) Intracerebral endotheliitis and microbleeds are neuropathological features of COVID-19. *Neuropathol Appl Neurobiol* 47:454–459

91. Kluge S, Janssens U, Welte T, Weber-Carstens S, Schälte G, Spinner CD, Malin JJ, Gastmeier P, Langer F, Bracht H, Westhoff M, Pfeifer M, Rabe KF, Hoffmann F, Böttiger BW, Weinmann-Menke J, Kersten A, Berlit P, Krawczyk M, Haase R, Müller OJ, Specker C, Nothacker M, Marx G, Karagianidis C S3-Leitlinie - Empfehlungen zur stationären Therapie von Patienten mit COVID-19, Version Februar 2022. URL: [https://register.awmf.org/assets/guidelines/113-001LG1\\_S3\\_Empfehlungen-zur-stationaeren-Therapie-von-Patienten-mit-COVID-19\\_2022-03.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/113-001LG1_S3_Empfehlungen-zur-stationaeren-Therapie-von-Patienten-mit-COVID-19_2022-03.pdf) (Abgerufen: 17.04.2022)

92. Koh JS, De Silva DA, Quek AML, Chiew HJ, Tu TM, Seet CYH, Hoe RHM, Saini M, Hui AC-F, Angon J, Ker JR, Yong MH, Goh Y, Yu W-Y, Lim TCC, Tan BYQ, Ng KWP, Yeo LLL, Pang YZ, Prakash KM, Ahmad A, Thomas T, Lye DCB, Tan K, Umapathi T (2020) Neurology of COVID-19 in Singapore. *J Neurol Sci* 418:117118

93. Krey L, Huber MK, Höglinger GU, Wegner F (2021) Can SARS-CoV-2 Infection Lead to Neurodegeneration and Parkinson’s Disease? *Brain Sci* 11:1654

94. Kreye J, Reincke SM, Prüss H (2020) Do cross-reactive antibodies cause neuropathology in COVID-19? *Nat Rev Immunol* 20:645–646

95. Lang G (2006) *Histotechnik: Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik*. 1. Auflage edition. Springer Vienna, Wien

96. Lebrun L, Absil L, Rimmelink M, De Mendonça R, D’Haene N, Gaspard N, Rusu S, Racu M-

- L, Collin A, Allard J, Zindy E, Schiavo AA, De Clercq S, De Witte O, Decaestecker C, Lopes M-B, Salmon I (2023) SARS-Cov-2 infection and neuropathological findings: a report of 18 cases and review of the literature. *Acta Neuropathol Commun* 11:78
97. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, Dequanter D, Blecic S, El Afia F, Distinguin L, Chekkoury-Idrissi Y, Hans S, Delgado IL, Calvo-Henriquez C, Lavigne P, Falanga C, Barillari MR, Cammaroto G, Khalife M, Leich P, Souchay C, Rossi C, Journe F, Hsieh J, Edjlali M, Carlier R, Ris L, Lovato A, De Filippis C, Coppee F, Fakhry N, Ayad T, Saussez S (2020) Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 277:2251–2261
98. Levi M, Iba T (2021) COVID-19 coagulopathy: is it disseminated intravascular coagulation? *Intern Emerg Med* 16:309–312
99. Li C-W, Syue L-S, Tsai Y-S, Li M-C, Lo C-L, Tsai C-S, Chen P-L, Ko W-C, Lee N-Y (2021) Anosmia and olfactory tract neuropathy in a case of COVID-19. *J Microbiol Immunol Infect Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi* 54:93–96
100. Liu J, Babka AM, Kearney BJ, Radoshitzky SR, Kuhn JH, Zeng X (2020) Molecular detection of SARS-CoV-2 in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens. *JCI Insight* 5:e139042
101. Liu Q, Zhou Y, Yang Z (2016) The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cell Mol Immunol* 13:3–10
102. Lou JJ, Movassaghi M, Gordy D, Olson MG, Zhang T, Khurana MS, Chen Z, Perez-Rosendahl M, Thammachantha S, Singer EJ, Magaki SD, Vinters HV, Yong WH (2021) Neuropathology of COVID-19 (neuro-COVID): clinicopathological update. *Free Neuropathol* 2:2
103. Lu Y, Yang X (2020) The pivotal roles of neddylation pathway in immunoregulation. *Immun Inflamm Dis* 8:782–792
104. Ludlow M, Kortekaas J, Herden C, Hoffmann B, Tappe D, Trebst C, Griffin DE, Brindle HE, Solomon T, Brown AS, van Riel D, Wolthers KC, Pajkrt D, Wohlsein P, Martina BEE, Baumgärtner W, Verjans GM, Osterhaus ADME (2016) Neurotropic virus infections as the cause of immediate and delayed neuropathology. *Acta Neuropathol (Berl)* 131:159–184
105. Ludwig S, Zarbock A (2020) Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesth Analg* 131:93–96
106. Mackay IM, Arden KE (2015) MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virology* 53:222

107. Maiese A, Passaro G, Matteis AD, Fazio V, Raffaele LR, Paolo MD (2020) Thromboinflammatory response in SARS-CoV-2 sepsis. *Med Leg J* 88:78–80
108. Maiese A, Manetti AC, Bosetti C, Del Duca F, La Russa R, Frati P, Di Paolo M, Turillazzi E, Fineschi V (2021) SARS-CoV-2 and the brain: A review of the current knowledge on neuropathology in COVID-19. *Brain Pathol Zurich Switz* 31:e13013
109. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, Chang J, Hong C, Zhou Y, Wang D, Miao X, Li Y, Hu B (2020) Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol* 77:683–690
110. Martines RB, Ritter JM, Matkovic E, Gary J, Bollweg BC, Bullock H, Goldsmith CS, Silva-Flannery L, Seixas JN, Reagan-Steiner S, Uyeki T, Denison A, Bhatnagar J, Shieh W-J, Zaki SR, COVID-19 Pathology Working Group (2020) Pathology and Pathogenesis of SARS-CoV-2 Associated with Fatal Coronavirus Disease, United States. *Emerg Infect Dis* 26:2005–2015
111. Martinez FO, Gordon S (2014) The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep* 6:13
112. Massoth LR, Desai N, Szabolcs A, Harris CK, Neyaz A, Crotty R, Chebib I, Rivera MN, Sholl LM, Stone JR, Ting DT, Deshpande V (2021) Comparison of RNA In Situ Hybridization and Immunohistochemistry Techniques for the Detection and Localization of SARS-CoV-2 in Human Tissues. *Am J Surg Pathol* 45:14–24
113. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, Mushumba H, Fitzek A, Allweiss L, Dandri M, Dottermusch M, Heinemann A, Pfefferle S, Schwabenland M, Sumner Magruder D, Bonn S, Prinz M, Gerloff C, Püschel K, Krasemann S, Aepfelbacher M, Glatzel M (2020) Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurol* 19:919–929
114. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, Laue M, Schneider J, Brünink S, Greuel S, Lehmann M, Hassan O, Aschman T, Schumann E, Chua RL, Conrad C, Eils R, Stenzel W, Windgassen M, Rößler L, Goebel H-H, Gelderblom HR, Martin H, Nitsche A, Schulz-Schaeffer WJ, Hakrroush S, Winkler MS, Tampe B, Scheibe F, Körtvélyessy P, Reinhold D, Siegmund B, Kühl AA, Elezkurtaj S, Horst D, Oesterhelweg L, Tsokos M, Ingold-Heppner B, Stadelmann C, Drost C, Corman VM, Radbruch H, Heppner FL (2021) Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci* 24:168–175
115. Meng L, Shen L, Ji H-F (2019) Impact of infection on risk of Parkinson’s disease: a quantitative assessment of case-control and cohort studies. *J Neurovirol* 25:221–228
116. Merkler AE, Parikh NS, Mir S, Gupta A, Kamel H, Lin E, Lantos J, Schenck EJ, Goyal P, Bruce SS, Kahan J, Lansdale KN, LeMoss NM, Murthy SB, Stieg PE, Fink ME, Iadecola C, Segal AZ, Cusick

- M, Campion TR, Diaz I, Zhang C, Navi BB (2020) Risk of Ischemic Stroke in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) vs Patients With Influenza. *JAMA Neurol* 77:1366–1372
117. Middleton EA, He X-Y, Denorme F, Campbell RA, Ng D, Salvatore SP, Mostyka M, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk AC, Loda M, Cody MJ, Manne BK, Portier I, Harris ES, Petrey AC, Beswick EJ, Caulin AF, Iovino A, Abegglen LM, Weyrich AS, Rondina MT, Egeblad M, Schiffman JD, Yost CC (2020) Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood* 136:1169–1179
118. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, Vogel FS, Hughes JP, van Belle G, Berg L (1991) The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer’s disease. *Neurology* 41:479–486
119. Misra S, Kolappa K, Prasad M, Radhakrishnan D, Thakur KT, Solomon T, Michael BD, Winkler AS, Beghi E, Guekht A, Pardo CA, Wood GK, Hsiang-Yi Chou S, Fink EL, Schmutzhard E, Kheradmand A, Hoo FK, Kumar A, Das A, Srivastava AK, Agarwal A, Dua T, Prasad K (2021) Frequency of Neurologic Manifestations in COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Neurology* 97:e2269–e2281
120. Morfopoulou S, Brown JR, Davies EG, Anderson G, Virasami A, Qasim W, Chong WK, Hubank M, Plagnol V, Desforges M, Jacques TS, Talbot PJ, Breuer J (2016) Human Coronavirus OC43 Associated with Fatal Encephalitis. *N Engl J Med* 375:497–498
121. Moriguchi T, Harii N, Goto J, Harada D, Sugawara H, Takamino J, Ueno M, Sakata H, Kondo K, Myose N, Nakao A, Takeda M, Haro H, Inoue O, Suzuki-Inoue K, Kubokawa K, Ogihara S, Sasaki T, Kinouchi H, Kojin H, Ito M, Onishi H, Shimizu T, Sasaki Y, Enomoto N, Ishihara H, Furuya S, Yamamoto T, Shimada S (2020) A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis* 94:55–58
122. Mulisch M, Welsch U (2010) *Romeis - Mikroskopische Technik*. 18. edition. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
123. Muñoz U, Sebal C, Escudero E, Esiri M, Tzartos J, Sloan C, Sadaba MC (2022) Main Role of Antibodies in Demyelination and Axonal Damage in Multiple Sclerosis. *Cell Mol Neurobiol* 42:1809–1827
124. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, Putman-Buehler N, Christensen L, Safdar N (2021) Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: A systematic review and meta-analysis. *PloS One* 16:e0251170
125. Nadkarni GN, Lala A, Bagiella E, Chang HL, Moreno PR, Pujadas E, Arvind V, Bose S, Charney AW, Chen MD, Cordon-Cardo C, Dunn AS, Farkouh ME, Glicksberg BS, Kia A, Kohli-Seth R,

- Levin MA, Timsina P, Zhao S, Fayad ZA, Fuster V (2020) Anticoagulation, Bleeding, Mortality, and Pathology in Hospitalized Patients With COVID-19. *J Am Coll Cardiol* 76:1815–1826
126. Nannoni S, de Groot R, Bell S, Markus HS (2021) Stroke in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc* 16:137–149
127. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases Science Brief: Omicron (B.1.1.529) Variant. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK575856/> (Abgerufen: 05.03.2022)
128. National Institutes of Health (NIH) COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> (Abgerufen: 23.05.2023)
129. Netland J, Meyerholz DK, Moore S, Cassell M, Perlman S (2008) Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2. *J Virol* 82:7264–7275
130. Niazkar HR, Zibae B, Nasimi A, Bahri N (2020) The neurological manifestations of COVID-19: a review article. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* 41:1667–1671
131. Nirmala JG, Lopus M (2020) Cell death mechanisms in eukaryotes. *Cell Biol Toxicol* 36:145–164
132. Padroni M, Mastrangelo V, Asioli GM, Pavolucci L, Abu-Rumeileh S, Piscaglia MG, Querzani P, Callegarini C, Foschi M (2020) Guillain-Barré syndrome following COVID-19: new infection, old complication? *J Neurol* 267:1877–1879
133. Paniz-Mondolfi A, Bryce C, Grimes Z, Gordon RE, Reidy J, Lednický J, Sordillo EM, Fowkes M (2020) Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *J Med Virol* 92:699–702
134. Paterson RW, Brown RL, Benjamin L, Nortley R, Wiethoff S, Bharucha T, Jayaseelan DL, Kumar G, Raftopoulos RE, Zambreau L, Vivekanandam V, Khoo A, Geraldès R, Chinthapalli K, Boyd E, Tuzlali H, Price G, Christofi G, Morrow J, McNamara P, McLoughlin B, Lim ST, Mehta PR, Levee V, Keddie S, Yong W, Trip SA, Foulkes AJM, Hotton G, Miller TD, Everitt AD, Carswell C, Davies NWS, Yoong M, Attwell D, Sreedharan J, Silber E, Schott JM, Chandratheva A, Perry RJ, Simister R, Checkley A, Longley N, Farmer SF, Carletti F, Houlihan C, Thom M, Lunn MP, Spillane J, Howard R, Vincent A, Werring DJ, Hoskote C, Jäger HR, Manji H, Zandi MS (2020) The emerging spectrum of COVID-19 neurology: clinical, radiological and laboratory findings. *Brain J Neurol* 143:3104–3120
135. Pellegrini L, Albecka A, Mallery DL, Kellner MJ, Paul D, Carter AP, James LC, Lancaster MA (2020) SARS-CoV-2 Infects the Brain Choroid Plexus and Disrupts the Blood-CSF Barrier in Human Brain Organoids. *Cell Stem Cell* 27:951-961.e5

136. Perdiguero EG, Geissmann F (2016) The development and maintenance of resident macrophages. *Nat Immunol* 17:2–8
137. Pezzini A, Padovani A (2020) Lifting the mask on neurological manifestations of COVID-19. *Nat Rev Neurol* 16:636–644
138. Pitscheider L, Karolyi M, Burkert FR, Helbok R, Wanschitz JV, Horlings C, Pawelka E, Omid S, Traugott M, Seitz T, Zoufaly A, Lindeck-Pozza E, Wöll E, Beer R, Seiwald S, Bellmann-Weiler R, Hegen H, Löscher WN (2021) Muscle involvement in SARS-CoV-2 infection. *Eur J Neurol* 28:3411–3417
139. Poloni TE, Medici V, Moretti M, Visonà SD, Cirrincione A, Carlos AF, Davin A, Gagliardi S, Pansarasa O, Cereda C, Tronconi L, Guaita A, Ceroni M (2021) COVID-19-related neuropathology and microglial activation in elderly with and without dementia. *Brain Pathol Zurich Switz* 31:e12997
140. Poyiadji N, Shahin G, Noujaim D, Stone M, Patel S, Griffith B (2020) COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: Imaging Features. *Radiology* 296:E119–E120
141. Poyraz BÇ, Poyraz CA, Olgun Y, Gürel Ö, Alkan S, Özdemir YE, Balkan İİ, Karaali R (2021) Psychiatric morbidity and protracted symptoms after COVID-19. *Psychiatry Res* 295:113604
142. Püschel K, Aepfelbacher M (2020) Umgang mit Corona-Toten: Obduktionen sind keinesfalls obsolet. *Dtsch Arztebl Int* 117:A1058
143. Qureshi AI, Baskett WI, Huang W, Shyu D, Myers D, Raju M, Lobanova I, Suri MFK, Naqvi SH, French BR, Siddiq F, Gomez CR, Shyu C-R (2021) Acute Ischemic Stroke and COVID-19: An Analysis of 27 676 Patients. *Stroke* 52:905–912
144. Radmanesh A, Derman A, Lui YW, Raz E, Loh JP, Hagiwara M, Borja MJ, Zan E, Fatterpekar GM (2020) COVID-19-associated Diffuse Leukoencephalopathy and Microhemorrhages. *Radiology* 297:E223–E227
145. Ramani A, Müller L, Ostermann PN, Gabriel E, Abida-Islam P, Müller-Schiffmann A, Mariappan A, Goureau O, Gruell H, Walker A, Andrée M, Hauka S, Houwaart T, Dilthey A, Wohlge-muth K, Omran H, Klein F, Wieczorek D, Adams O, Timm J, Korth C, Schaal H, Gopalakrishnan J (2020) SARS-CoV-2 targets neurons of 3D human brain organoids. *EMBO J* 39:e106230
146. Ramos-Vara JA (2005) Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol* 42:405–426
147. Reichard RR, Kashani KB, Boire NA, Constantopoulos E, Guo Y, Lucchinetti CF (2020) Neuropathology of COVID-19: a spectrum of vascular and acute disseminated encephalomyelitis (ADEM)-like pathology. *Acta Neuropathol (Berl)* 140:1–6
148. Remmelink M, De Mendonça R, D’Haene N, De Clercq S, Verocq C, Lebrun L, Lavis P, Racu M-L, Trépant A-L, Maris C, Rorive S, Goffard J-C, De Witte O, Peluso L, Vincent J-L, Decaestecker

- C, Taccone FS, Salmon I (2020) Unspecific post-mortem findings despite multiorgan viral spread in COVID-19 patients. *Crit Care Lond Engl* 24:495
149. Rhodes RH, Love GL, Lameira FDS, Sadough MS, Fox SE, Heide RSV (2021) Acute Endotheliitis (Type 3 Hypersensitivity Vasculitis) in Ten COVID-19 Autopsy Brains. *medRxiv* 2021.01.16.21249632.
150. Ritschel N, Radbruch H, Herden C, Schneider N, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Silva Boos G, Pagenstecher A, Schulz-Schaeffer W, Stadelmann C, Glatzel M, Heppner FL, Weis J, Sohrabi K, Schänzer A, Németh A, Acker T, Radbruch H, Herden C, Pagenstecher A, Schulz-Schaeffer W, Stadelmann C, Acker T, Radbruch H, Glatzel M, Heppner FL, Weis J, Acker T, DGNN-Taskforce „CNS-COVID19“, „DEFEAT PANDEMICS – Neuropathologische Referenzdiagnostik bei COVID-19“ (2021) COVID-19: Auswirkungen auf das zentrale und periphere Nervensystem. *Pathol* 42:172–182
151. Robert Koch-Institut (RKI) Coronavirus SARS-CoV-2 - Empfehlungen zum Umgang mit SARS-CoV-2-infizierten Verstorbenen. URL: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Verstorbene.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Verstorbene.html) (Abgerufen: 16.03.2022)
152. Robert Koch-Institut (RKI) Coronavirus SARS-CoV-2 - 17. Bericht zu Virusvarianten von SARS-CoV-2 in Deutschland (Stand: 07.07.2021). URL: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/DESH/Bericht\\_VOC\\_2021-07-07.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/DESH/Bericht_VOC_2021-07-07.pdf?__blob=publicationFile) (Abgerufen: 15.04.2022)
153. Rossi A (2008) Imaging of Acute Disseminated Encephalomyelitis. *Neuroimaging Clin N Am* 18:149–161
154. Röszer T (2015) Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm* 2015:816460
155. Ruskowski K, Neb H, Talbot SR, Choorapoikayil S, Adam EH, von Knethen A, Zacharowski K, Heinicke U (2022) Persistently Elevated Plasma Concentrations of RIPK3, MLKL, HMGB1, and RIPK1 in Patients with COVID-19 in the Intensive Care Unit. *Am J Respir Cell Mol Biol* 67:405–408
156. Sabbatini E, Bisgaard K, Ascani S, Poggi S, Piccioli M, Ceccarelli C, Pieri F, Fraternali-Orcioni G, Pileri SA (1998) The EnVision++ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, ChemMate, CSA, LABC, and SABC techniques. *J Clin Pathol* 51:506–511
157. Sadasivan S, Zanin M, O'Brien K, Schultz-Cherry S, Smeyne RJ (2015) Induction of Microglia Activation after Infection with the Non-Neurotropic A/CA/04/2009 H1N1 Influenza Virus. *PLOS ONE* 10:e0124047
158. Saif LJ (2004) Animal coronaviruses: what can they teach us about the severe acute respiratory syndrome? *Rev Sci Tech Int Off Epizoot* 23:643–660



159. Sanyaolu A, Okorie C, Marinkovic A, Patidar R, Younis K, Desai P, Hosein Z, Padda I, Mangat J, Altaf M (2020) Comorbidity and its Impact on Patients with COVID-19. *SN Compr Clin Med* 2:1069–1076
160. Schwabenland M, Salié H, Tanevski J, Killmer S, Lago MS, Schlaak AE, Mayer L, Matschke J, Püschel K, Fitzek A, Ondruschka B, Mei HE, Boettler T, Neumann-Haefelin C, Hofmann M, Breithaupt A, Gene N, Stadelmann C, Saez-Rodriguez J, Bronsert P, Knobloch K-P, Blank T, Thimme R, Glatzel M, Prinz M, Bengsch B (2021) Deep spatial profiling of human COVID-19 brains reveals neuroinflammation with distinct microanatomical microglia-T-cell interactions. *Immunity* 54:1594–1610.e11
161. Serrano-Maciá M, Lachiondo-Ortega S, Iruzubieta P, Goikoetxea-Usandizaga N, Bosch A, Egia-Mendikute L, Jiménez-Lasheras B, Azkargorta M, Elortza F, Martinez-Redondo D, Castro B, Lozano JJ, Nogueiras R, Irure-Ventura J, Crespo J, Palazón A, Fariñas MC, Delgado TC, López-Hoyos M, Martínez-Chantar ML (2022) Neddylation tunes peripheral blood mononuclear cells immune response in COVID-19 patients. *Cell Death Discov* 8:316
162. Sica A, Mantovani A (2012) Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 122:787–795
163. Sofroniew MV (2015) Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nat Rev Neurosci* 16:249–263
164. Solomon IH, Normandin E, Bhattacharyya S, Mukerji SS, Keller K, Ali AS, Adams G, Hornick JL, Padera RF, Sabeti P (2020) Neuropathological Features of Covid-19. *N Engl J Med* 383:989–992
165. Song E, Zhang C, Israelow B, Lu-Culligan A, Prado AV, Skriabine S, Lu P, Weizman O-E, Liu F, Dai Y, Szigeti-Buck K, Yasumoto Y, Wang G, Castaldi C, Heltke J, Ng E, Wheeler J, Alfajaro MM, Levavasseur E, Fontes B, Ravindra NG, Van Dijk D, Mane S, Gunel M, Ring A, Kazmi SAJ, Zhang K, Wilen CB, Horvath TL, Plu I, Haik S, Thomas J-L, Louvi A, Farhadian SF, Huttner A, Seilhean D, Renier N, Bilguvar K, Iwasaki A (2021) Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain. *J Exp Med* 218:e20202135
166. Soccia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, Burton MA, Goldstein LE, Duong S, Tanzi RE, Moir RD (2010) The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid  $\beta$ -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLOS ONE* 5:e9505
167. Spyropoulos AC, Bonaca MP (2022) Studying the coagulopathy of COVID-19. *Lancet Lond Engl* 399:118–119
168. Statista GmbH DIVI. Intensivmedizinische Versorgung von Corona-Patienten (COVID-19) in Deutschland (Stand: 2. Dezember 2022). URL: <https://de.statista.com/statistik/daten/stu->

die/1108578/umfrage/intensivmedizinische-versorgung-von-corona-patienten-covid-19-in-deutschland/ (Abgerufen: 05.12.2022)

169. Statista GmbH Worldometer. Anzahl Infektionen und Todesfälle in Zusammenhang mit dem Coronavirus (COVID-19) in Deutschland seit Januar 2020 (Stand: 28. November 2022). URL: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/1102667/umfrage/erkrankungs-und-todesfaelle-aufgrund-des-coronavirus-in-deutschland/> (Abgerufen: 05.12.2022)

170. Stein JA, Kaes M, Smola S, Schulz-Schaeffer WJ (2023) Neuropathology in COVID-19 autopsies is defined by microglial activation and lesions of the white matter with emphasis in cerebellar and brain stem areas. *Front Neurol* 14:1229641

171. Stewart JN, Mounir S, Talbot PJ (1992) Human coronavirus gene expression in the brains of multiple sclerosis patients. *Virology* 191:502–505

172. Su L, Quade B, Wang H, Sun L, Wang X, Rizo J (2014) A plug release mechanism for membrane permeation by MLKL. *Structure* 22:1489–1500

173. Sulzer D, Alcalay RN, Garretti F, Cote L, Kanter E, Agin-Liebes J, Liang C, McMurtrey C, Hildebrand WH, Mao X, Dawson VL, Dawson TM, Oseroff C, Pham J, Sidney J, Dillon MB, Carpenter C, Weiskopf D, Phillips E, Mallal S, Peters B, Frazier A, Lindestam Arlehamn CS, Sette A (2017) T cells from patients with Parkinson's disease recognize  $\alpha$ -synuclein peptides. *Nature* 546:656–661

174. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP (2020) The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol* 20:363–374

175. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, Clark C, Iba T (2020) ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost JTH* 18:1023–1026

176. Thakur KT, Miller EH, Glendinning MD, Al-Dalahmah O, Banu MA, Boehme AK, Boubour AL, Bruce SS, Chong AM, Claassen J, Faust PL, Hargus G, Hickman RA, Jambawalikar S, Khandji AG, Kim CY, Klein RS, Lignelli-Dipple A, Lin C-C, Liu Y, Miller ML, Moonis G, Nordvig AS, Overdevest JB, Prust ML, Przedborski S, Roth WH, Soung A, Tanji K, Teich AF, Agalliu D, Uhlemann A-C, Goldman JE, Canoll P (2021) COVID-19 neuropathology at Columbia University Irving Medical Center/New York Presbyterian Hospital. *Brain J Neurol* 144:2696–2708

177. Tortorici MA, Veesler D (2019) Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res* 105:93–116

178. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, Ruiz L, Invernizzi P, Cuzzoni MG, Franciotta D, Baldanti F, Daturi R, Postorino P, Cavallini A, Micieli G (2020) Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 382:2574–2576

179. Townsend L, Dyer AH, Jones K, Dunne J, Mooney A, Gaffney F, O'Connor L, Leavy D, O'Brien K, Dowds J, Sugrue JA, Hopkins D, Martin-Loeches I, Ni Cheallaigh C, Nadarajan P, McLaughlin AM, Bourke NM, Bergin C, O'Farrelly C, Bannan C, Conlon N (2020) Persistent fatigue following SARS-CoV-2 infection is common and independent of severity of initial infection. *PloS One* 15:e0240784
180. UK Office for National Statistics. Prevalence of long COVID symptoms and COVID-19 complications. URL: <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/health-handlifeexpectancies/datasets/prevalenceoflongcovidsymptomsandcovid19complications> (Abgerufen: 12.03.2022)
181. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F (2009) [Human coronaviruses]. *Pathol Biol (Paris)* 57:149–160
182. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, Levantovsky R, Malle L, Moreira A, Park MD, Pia L, Risson E, Saffern M, Salomé B, Esai Selvan M, Spindler MP, Tan J, van der Heide V, Gregory JK, Alexandropoulos K, Bhardwaj N, Brown BD, Greenbaum B, Gümüş ZH, Homann D, Horowitz A, Kamphorst AO, Curotto de Lafaille MA, Mehandru S, Merad M, Samstein RM, Sinai Immunology Review Project (2020) Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity* 52:910–941
183. van den Brand JMA, Haagmans BL, van Riel D, Osterhaus ADME, Kuiken T (2014) The pathology and pathogenesis of experimental severe acute respiratory syndrome and influenza in animal models. *J Comp Pathol* 151:83–112
184. Vanden Berghe T, Linkermann A, Jouan-Lanhouet S, Walczak H, Vandenabeele P (2014) Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15:135–147
185. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H (2020) Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet Lond Engl* 395:1417–1418
186. von Stillfried S, Acker T, Aepfelbacher M, Baretton G, Bülow RD, Bürrig K-F, Holtherm H-U, Jonigk D, Knüchel R, Majeed RW, Röhrig R, Wienströer J, Boor P (2021) [Cooperative approach of pathology and neuropathology in the COVID-19 pandemic : German registry for COVID-19 autopsies (DeRegCOVID) and German network for autopsies in pandemics (DEFEAT PANDEMIcs)]. *Pathol* 42:216–223
187. Wang B, Li R, Lu Z, Huang Y (2020) Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging* 12:6049–6057
188. Wang H, Sun L, Su L, Rizo J, Liu L, Wang L-F, Wang F-S, Wang X (2014) Mixed lineage

- kinase domain-like protein MLKL causes necrotic membrane disruption upon phosphorylation by RIP3. *Mol Cell* 54:133–146
189. Werner M, Chott A, Fabiano A, Battifora H (2000) Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol* 24:1016–1019
190. Woo PCY, Lau SKP, Huang Y, Yuen K-Y (2009) Coronavirus diversity, phylogeny and inter-species jumping. *Exp Biol Med* Maywood NJ 234:1117–1127
191. World Health Organization (WHO) WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (Abgerufen: 03.03.2022)
192. Yaghi S, Ishida K, Torres J, Mac Grory B, Raz E, Humbert K, Henninger N, Trivedi T, Lillemo K, Alam S, Sanger M, Kim S, Scher E, Dehkharghani S, Wachs M, Tanweer O, Volpicelli F, Bosworth B, Lord A, Frontera J (2020) SARS-CoV-2 and Stroke in a New York Healthcare System. *Stroke* 51:2002–2011
193. Yan CH, Faraji F, Prajapati DP, Boone CE, DeConde AS (2020) Association of chemosensory dysfunction and COVID-19 in patients presenting with influenza-like symptoms. *Int Forum Allergy Rhinol* 10:806–813
194. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q (2020) Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 367:1444–1448
195. Yang AC, Kern F, Losada PM, Agam MR, Maat CA, Schmartz GP, Fehlmann T, Stein JA, Schaum N, Lee DP, Calcuttawala K, Vest RT, Berdnik D, Lu N, Hahn O, Gate D, McNerney MW, Channappa D, Cobos I, Ludwig N, Schulz-Schaeffer WJ, Keller A, Wyss-Coray T (2021) Dysregulation of brain and choroid plexus cell types in severe COVID-19. *Nature* 595:565–571
196. Ye M, Ren Y, Lv T (2020) Encephalitis as a clinical manifestation of COVID-19. *Brain Behav Immun* 88:945–946
197. Yeh EA, Collins A, Cohen ME, Duffner PK, Faden H (2004) Detection of coronavirus in the central nervous system of a child with acute disseminated encephalomyelitis. *Pediatrics* 113:e73-76
198. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM (2012) Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 367:1814–1820
199. Zanin L, Saraceno G, Panciani PP, Renisi G, Signorini L, Migliorati K, Fontanella MM (2020) SARS-CoV-2 can induce brain and spine demyelinating lesions. *Acta Neurochir (Wien)* 162:1491–1494
200. Zheng Y, Zhao J, Li J, Guo Z, Sheng J, Ye X, Jin G, Wang C, Chai W, Yan J, Liu D, Liang X (2021) SARS-CoV-2 spike protein causes blood coagulation and thrombosis by competitive binding to

heparan sulfate. *Int J Biol Macromol* 193:1124–1129

201. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B (2020) Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet Lond Engl* 395:1054–1062

202. Zhou X, Du J, Liu C, Zeng H, Chen Y, Liu L, Wu D (2021) A Pan-Cancer Analysis of CD161, a Potential New Immune Checkpoint. *Front Immunol* 12:688215

203. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W, China Novel Coronavirus Investigating and Research Team (2020) A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 382:727–733

204. Zou T, Zhang J (2021) Diverse and pivotal roles of neddylation in metabolism and immunity. *FEBS J* 288:3884–3912

205. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (IfSG). URL: <https://www.gesetze-im-internet.de/ifsg/BJNR104510000.html> (Abgerufen: 17.03.2022)

## 7 Publikation / Danksagung

### 7.1 Publikation

Die Erkenntnisse dieser Arbeit wurden unter folgendem Titel publiziert:

[170] Stein JA, Kaes M, Smola S, Schulz-Schaeffer WJ (2023) Neuropathology in COVID-19 autopsies is defined by microglial activation and lesions of the white matter with emphasis in cerebellar and brain stem areas. *Front Neurol* 14:1229641

Außerdem wurden frühe Ergebnisse bereits in folgender Publikation vorgestellt:

[195] Yang AC, Kern F, Losada PM, Agam MR, Maat CA, Schmartz GP, Fehlmann T, Stein JA, Schaum N, Lee DP, Calcuttawala K, Vest RT, Berdnik D, Lu N, Hahn O, Gate D, McNerney MW, Chan-nappa D, Cobos I, Ludwig N, Schulz-Schaeffer WJ, Keller A, Wyss-Coray T (2021) Dysregulation of brain and choroid plexus cell types in severe COVID-19. *Nature* 595:565–571

## 7.2 Danksagung

Mein Dank gilt Allen, die mir bei der Probengewinnung, der Laborarbeit und der schlussendlichen Erhebung und Auswertung der Daten zum Anfertigen dieser Dissertation geholfen haben. Einigen wichtigen Personen, ohne die dieses Projekt nicht möglich gewesen wäre, möchte ich im Folgenden besonderen Dank aussprechen:

Zunächst möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Walter J. Schulz-Schaeffer danken, der mir das Thema für diese Dissertation überlassen und mich in seine Arbeitsgruppe aufgenommen hat. Ich möchte mich bedanken für sein enormes Engagement, die exzellente und zeitintensive Betreuung und die wertvollen Ideen und Verbesserungsvorschläge beim Anfertigen und Korrigieren dieser Arbeit und der Erstellung meiner ersten eigenen Publikation.

Ein großer Dank gebührt den medizinisch-technischen Assistentinnen des Instituts für Neuropathologie, die mich in die Grundlagen der Immunhistochemie eingewiesen haben und mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Ich bedanke mich vielmals für das Anfertigen der Leerschnitte und die Durchführung der Routinediagnostik.

Dem gesamten Team des Instituts für Neuropathologie möchte ich danken für die herzliche Aufnahme in die Abteilung.

Dem Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie und dem Institut für Virologie des Universitätsklinikums des Saarlandes danke ich für die gelungene Kooperation beim Durchführen der Autopsien.

Ich bedanke mich bei allen Patienten und deren Angehörigen, ohne deren Einwilligung zur Autopsie diese Form der medizinischen Forschung nicht möglich wäre.

Meinem langjährigen Freund Sven Schmidt danke ich für seine Ratschläge beim Erstellen der Grafiken.

Meiner Partnerin Annik Loew danke ich für die finale Korrektur des Manuskripts, insbesondere aber für die Geduld und großartige Unterstützung, die sie mir während des Studiums und insbesondere beim Anfertigen dieser Dissertation entgegengebracht hat.

Der größte Dank gilt meinen Eltern und meiner Schwester, die mir das Studium der Humanmedizin ermöglicht und mich in allen Lebensabschnitten liebevoll unterstützt haben.

## 8 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.



## 9 Anhang

### 9.1 Abkürzungsverzeichnis

Tabelle 8: Verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACE2	angiotensin-converting enzyme 2
AD	Alzheimer's Disease
ADEM	Akute disseminierte Encephalomyelitis
AEC	3-Amino-9-ethylcarbazol
APP	$\beta$ -Amyloid Precursor Protein
Aqua dest.	Aqua destillata
Art.-Nr.	Artikelnummer
CBD	corticobasale Degeneration
CD	Cluster of differentiation
CK	Creatinkinase
CoV	coronavirus
COVID-19	coronavirus disease 2019
DAB	Diaminobenzidin
DIC	Disseminated intravascular coagulation
dt.	deutsch
engl.	englisch
EU	Europäische Union
FFP2-Maske	„filtering face piece“ der Schutzklasse 2
G.	Gyrus
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
HCoV	humane Coronaviren
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HRP	Horseradish peroxidase (HRP)
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
ICU	intensive care unit
ICUAW	ICU-acquired weakness

## Anhang

IFN-alpha	Interferon-alpha
IHC	Immunhistochemie
IL-6, IL-10	Interleukin 6, Interleukin 10
MERS-CoV	middle east respiratory syndrome coronavirus
MLKL	mixed lineage kinase domain like pseudokinase
MPS	mononukleär-phagozytäres System
mRNA	messenger ribonucleic acid
MRT	Magnetresonanztomographie
NCU	normal care unit
NEDD8	neuronal precursor cell-expressed developmentally down-regulated protein 8
NETs	neutrophil extracellular traps
NF	Neurofilament
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
NIH	National Institute of Health
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRP1	Neurolipin-1
ONS	Office for National Statistics
PCR	polymerase chain reaction
PD	Parkinson's Disease
PEDV	porcine epidemic diarrhea virus
PF4	Plättchenfaktor 4
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	ribonucleic acid
RSV	respiratory syncytial virus
s.	siehe
SARS	severe acute respiratory syndrome
SARS-CoV	severe acute respiratory syndrome coronavirus
SARS-CoV-2	severe acute respiratory coronavirus 2
TGEV	transmissible gastroenteritis coronavirus
TMPRSS2	transmembrane Serinprotease 2
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha

TRS	Target Retrieval Solution
UK	United Kingdom
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
USA	United States of America
WHO	World Health Organization
Z. n.	Zustand nach
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eingesetzte Primärantikörper .....	16
Tabelle 2: Eingesetzter Sekundärantikörper .....	17
Tabelle 3: Verwendete Materialien.....	18
Tabelle 4: Verwendete Geräte und Software .....	19
Tabelle 5: Einteilung des semiquantitativen Scorings.....	28
Tabelle 6: Überblick über die Kollektivgruppe .....	30
Tabelle 7: Überblick über die Kontrollgruppe .....	31
Tabelle 8: Verwendete Abkürzungen .....	137

## 9.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 1 .....	34
Abbildung 2: Bild (rechts) - Kleinhirnkerne von Fall 1 mit starker diffuser Mikroglia- und starker perivaskulärer Makrophagen-Reaktion (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	34
Abbildung 3: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 2 .....	36
Abbildung 4: Bild (links) – Meningeale Makrophagen-Infiltration im G. frontalis medius von Fall 2 (HE-Färbung, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	36
Abbildung 5: Bild (rechts) - Meningeale Makrophagen-Infiltration im G. frontalis medius von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	36

Abbildung 6: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 3 .....	39
Abbildung 7: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im occipitalen Cortex von Fall 3 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	39
Abbildung 8: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 4 .....	41
Abbildung 9: Bild (rechts) – Geringe Mikroglia-Reaktion im Mark des Kleinhirns von Fall 4 (CD68-Immunreaktion, 10-fache Vergrößerung, Maßstab = 200 µm) .....	41
Abbildung 10: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 5 .....	43
Abbildung 11: Bild (rechts) – Wolkenartige Makrophagen im Infarktareal der Basalganglien von Fall 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	43
Abbildung 12: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 6 .....	46
Abbildung 13: Bild (rechts) – Eosinophile hypoxische Neurone in der Area striata von Fall 6 (HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	46
Abbildung 14: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 7 .....	48
Abbildung 15: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im Ncl. tractus solitarii von Fall 7 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	48
Abbildung 16: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 8 .....	51
Abbildung 17: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster im Ncl. cuneatus von Fall 8 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	51
Abbildung 18: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 9 .....	53
Abbildung 19: Bild (rechts) – Residuelle kondensierte Makrophagen in den Meningen von Fall 9 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	53
Abbildung 20: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 10 .....	56
Abbildung 21: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 11 .....	58

Abbildung 22: Bild (rechts) – Starke diffuse Mikroglia-Reaktion in den Kleinhirnkernen von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	58
Abbildung 23: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 12 .....	61
Abbildung 24: Bild (rechts) – Abgeblasste Makrophagen im Infarktareal des Ncl. caudatus von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	61
Abbildung 25: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 13 .....	64
Abbildung 26: Bild (rechts) – Glomeruloide Gefäßproliferation im G. frontalis medius von Fall 7 (HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	64
Abbildung 27: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 14 .....	66
Abbildung 28: Bild (rechts) – Diffuse astrozytäre Gliose im Vermis cerebelli von Fall 14 (GFAP, 10-fache Vergrößerung, Maßstab = 200 µm).....	66
Abbildung 29: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 15 .....	69
Abbildung 30: Bild (rechts) – Sehr starke diffuse Mikroglia-Reaktion im Mark des Cingulums von Fall 15 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	69
Abbildung 31: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 16 .....	71
Abbildung 32: Bild (rechts) – Cerebrale kapilläre Amyloidangiopathie im occipitalen Cortex von Fall 16 (Beta-Amyloid-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	71
Abbildung 33: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Fall 17 .....	73
Abbildung 34: Bild (rechts) – Status cribrosus im anterioren Striatum von Fall 17 (HE-Färbung, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	73
Abbildung 35: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 1 .....	76
Abbildung 36: Bild (rechts) – Makrophagen-Cluster in der Nähe des Ncl. n. trigemini von Kontrolle 1 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	76
Abbildung 37: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 2 .....	78

Abbildung 38: Bild (rechts) – Neuronophagien in der Substantia nigra von Kontrolle 2 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	78
Abbildung 39: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 3 .....	80
Abbildung 40: Bild (rechts) – Makrophagen-Herd im Bereich der Kleinhirnkerne von Kontrolle 3 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) .....	80
Abbildung 41: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 4 .....	82
Abbildung 42: Bild (rechts) – Ischämiezone im Ncl. caudatus von Kontrolle 4 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	82
Abbildung 43: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster aus perivaskulärem und diffusem Pattern von Kontrolle 5 .....	84
Abbildung 44: Bild (rechts) – Nur sehr geringe Mikroglia-Aktivität im Vermis cerebelli von Kontrolle 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm).....	84
Abbildung 45: Liniendiagramm (links) - Diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe.....	86
Abbildung 46: Liniendiagramm (rechts) - Perivaskuläres Läsionsmuster der Kollektivgruppe .....	86
Abbildung 47: Liniendiagramm – Perivaskuläres und diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe aufsummiert.....	87
Abbildung 48: Liniendiagramm (links) - Diffuses Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau).....	87
Abbildung 49: Liniendiagramm (rechts) - Perivaskuläres Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau) .....	87
Abbildung 50: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der Kollektivgruppe (rot) versus Kontrollgruppe (blau).....	88
Abbildung 51: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der „schweren“ (rot) versus „leichten“ (blau) COVID-19-Verläufe .....	89
Abbildung 52: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19 Fälle mit (rot) versus ohne (blau) CD68-positiven Clustern .....	89
Abbildung 53: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der „an“ (rot) versus „mit“ (blau) SARS-CoV-2 verstorbenen Patienten.....	90

Abbildung 54: Liniendiagramm – Summiertes Läsionsmuster der langzeitbeatmeten COVID-19-Patienten (rot) versus langzeitbeatmete Kontrolle 1 mit Influenza-Infektion (blau).....	91
Abbildung 55: Liniendiagramm (links) - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19-Fälle mit (rot) versus ohne (blau) hypoxischen Schaden.....	92
Abbildung 56: Liniendiagramm (rechts) - Summiertes Läsionsmuster der COVID-19-Fälle (rot) versus Kontrollfälle (blau) nach kardiopulmonaler Reanimation .....	92
Abbildung 57: Liniendiagramm - Summiertes Läsionsmuster der Patienten mit akuter COVID-19-Infektion (rot) versus Post-COVID-Patienten (blau).....	93
Abbildung 58: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert granuläre Strukturen im Zytoplasma cerebraler Endothelzellen von Fall 2 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) .....	96
Abbildung 59: Abcam 3A2 markiert granuläre Strukturen im Zytoplasma cerebraler Endothelzellen eines Kontrollfalls, der vor 2020 verstorben war (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	96
Abbildung 60: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert im Soma einzelner Neurone des Ggl. trigeminale von Fall 2 zytoplasmatische Granula, welche von Lipofuszin abgrenzbar sind (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	96
Abbildung 61: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert ebenfalls Neurone des Ggl. trigeminale in einem vor 2020 verstorbenen Kontrollfall (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	96
Abbildung 62: Bild (links) – Abcam 3A2 markiert zytoplasmatische Granula in einem Teil der Neurone des Ncl. dorsalis nervi vagi von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) .....	96
Abbildung 63: Bild (rechts) – Abcam 3A2 markiert zytoplasmatische Granula in einem Teil der Neurone des Ncl. dorsalis nervi vagi von Fall 7 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) .....	96
Abbildung 64: Bild (links) – CoV-2-S1A9 markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des G. frontalis medius von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) .....	97
Abbildung 65: Bild (rechts) – CoV-2-S1A9 markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des G. frontalis medius von Kontrolle 5 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm).....	97
Abbildung 66: Bild (links) – Novus-NC markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des G. frontalis medius von Fall 1 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) .....	97

Abbildung 67: Bild (rechts) – Novus-NC markiert zytoplasmatische Strukturen in Endothelzellen des G. frontalis medius von Kontrolle 3 (40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) ..... 97

Abbildung 68: Bild (links) – Septische Embolie in den Rindenschichten des Cingulums von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) ..... 105

Abbildung 69: Bild (rechts) – Cluster im Mark des G. frontalis medius von Fall 2 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) ..... 105

Abbildung 70: Bild (links) – Wolkenartige, kondensierte Makrophagen in einem alten Infarktareal in den Basalganglien von Fall 5 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) ..... 108

Abbildung 71: Bild (rechts) – Aktivierte diffuse Mikroglia in den Kleinhirnkernen von Fall 11 (CD68-Immunreaktion, 20-fache Vergrößerung, Maßstab = 100 µm) ..... 108

Abbildung 72: Bild – beta-Amyloid-Plaque-assoziierte Mikroglia-Reaktion im G. parietalis inferior von Fall 9 (CD68-Immunreaktion, 40-fache Vergrößerung, Maßstab = 50 µm) ..... 108