

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

RAPHAEL PATRÍCIO DA SILVA QUINTILIANO

**VÍRUS JOHN CUNNINGHAM: Reativação em pacientes com Esclerose
Múltipla**

São José do Rio Preto

2015

RAPHAEL PATRÍCIO DA SILVA QUINTILIANO

**VÍRUS JOHN CUNNINGHAM: Reativação em pacientes com Esclerose
Múltipla**

Trabalho de conclusão de curso. Pós
graduação em Microbiologia Clínica
pela Academia de Ciências e
Tecnologia.

Orientador(a): Profa Dra. Margarete
Teresa Gottardo Almeida.

São José do Rio Preto

2015

RESUMO

A leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP) é uma doença desmielinizante do sistema nervoso central (SNC), observada em pacientes imunodeficientes, causada pelo vírus JC (VJC), também chamado JC polyomavirus. Após a pandemia do HIV e a introdução da terapia imunomoduladora, a incidência de LMP aumentou de forma significativa . A correlação entre a utilização de natalizumab, uma droga utilizada na esclerose múltipla (EM), está relacionado ao desenvolvimento particular da LMP . A elevada incidência de LMP em doentes tratados com natalizumab destacou a importância de dois fatores: a necessidade de estratificação de risco entre LMP e pacientes tratados com natalizumab e a necessidade de opções terapêuticas eficazes.

Palavras-chaves: Leucoencefalopatia multifocal progressiva. Vírus JC. Natalizumab.

INTRODUÇÃO

1 - O vírus JC (VJC)

1.1 - Genoma

O vírus JC é um membro da família Polyomaviridae [1]. Os vírus JC e BK ((VBK), o que provoca uma nefropatia grave em receptores de transplante de rim) foram os dois primeiros poliomavírus humanos identificados, ambos detectados em 1971 [2]. O vírus JC, como todos os poliomavírus, não é envelopado, possui capsídeo icosaédrico e contém pequena e circular dupla fita de DNA. Muitas espécies de animais podem abrigar os poliomavírus, entretanto uma espécie não infecta a outra.

O vírus JC pode infectar qualquer célula dos mamíferos. Entretanto, a replicação viral é restrita a células da glia e células linfóides da linhagem B, devido à limitação intranuclear específica da célula que irá promover o tropismo do vírus.

O genoma é de cerca de 5130bp de comprimento e pode ser dividida em três partes diferentes: (i) uma região de controle não codificante (NCCR), (ii) seqüência de codificação da região precoce que são transcritos de sentido anti-horário NCCR, e (iii) seqüência da região tardia de codificação que são transcritos no sentido horário a partir NCCR [2].

1.2 - Ciclo de vida

O ciclo replicativo do vírus JC pode ser dividido em duas fases: fase inicial e tardia. A fase inicial começa com a interação inicial da proteína viral, VP1, com a superfície da célula hospedeira e continua até o início da replicação do DNA viral. A fase final inclui todos os eventos que levam à liberação de progênie viral. Em ambas as fases, as proteínas virais e do hospedeiro são essenciais para o ciclo completo de vida viral.

2 - Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP)

2.1 - O surgimento da LMP na Era dos Anticorpos Monoclonais.

A leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP) é uma doença desmielinizante do sistema nervoso central (SNC) normalmente observada em pacientes imunodeficientes. O primeiro caso foi descrito em 1958 [3], e a detecção de corpos de inclusão no núcleo de oligodendrócitos danificados sugeriu uma possível causa viral. O agente etiológico da LMP foi isolado em 1971 e nomeado vírus JC (VJC), também chamado poliomavírus JC, após as iniciais do paciente estudado [4, 5].

Após a disseminação do HIV, a incidência LMP aumentou 50 vezes em comparação com anos anteriores e 80% dos casos LMP são representados por pacientes HIV-positivos [6]. Desde o advento da terapia anti-retroviral, a incidência de LMP em pacientes com SIDA ainda é estimada em 0,07 / 100 pessoas/ano, e não diminuiu significativamente como outras infecções oportunistas [7-10].

Nos últimos anos muito, a LMP tem vindo ser uma preocupação crescente em outras categorias de pacientes, e sua incidência permanece elevada. Os novos casos de LMP estão associados ao uso de novas terapias imunomoduladoras em pacientes afetados por várias doenças, tais como a esclerose múltipla (EM), doença de Crohn, linfoma não-Hodgkin, lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatóide (AR) e desordens auto-imunes hematológicas [11, 12]. A incidência de LMP em pacientes sob terapia imunomoduladora depende do fármaco usado e da doença tratada. Por exemplo, o risco de LMP durante a administração de rituximab, um anticorpo monoclonal humanizado anti-CD20 (mAb), tem sido estimada em, aproximadamente, 1/4000, quando utilizado em pacientes com LES e 1/25000 quando utilizados na AR [13]. Uma incidência ainda maior (1/500) foi observada em pacientes de psoríase tratados com efalizumab, um mAb humanizado contra uma molécula de adesão de linfócitos T, e como uma consequência efalizumab foi voluntariamente retirada do mercado [14]

2.2 - LMP e Natalizumab: A evidência.

Na literatura, a associação entre a administração de natalizumab e LMP tem sido amplamente divulgada e descrita. Natalizumab é uma IgG4/k mAb humanizado, o que interfere com a interação entre o antígeno Very Late 4 (VLA-4), expresso em leucócitos e a molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) expressa nas células endoteliais, evitando assim o extravasamento de leucócitos nos locais inflamado [15]. Natalizumab é geralmente bem tolerado, mas devido à sua correlação com LMP, foi aprovado com um formato de distribuição restrita em 2006. Em particular, o risco de desenvolvimento da LMP durante o tratamento é muito elevada, e foi avaliada a ser tão elevada quanto 3,85 por mil pacientes [16].

Natalizumab é utilizado em várias doenças auto-imunes, mas, em particular, para o tratamento de Esclerose Múltipla (EM). A EM é uma doença auto-imune inflamatória crônica do sistema nervoso central que afeta mais de 2,5 milhões de pessoas em todo o mundo, caracterizada pela infiltração crônica pelos leucócitos [17]. A maioria dos pacientes sofre de um curso remitente-recorrente que se caracteriza por cerca de um e dois episódios de déficits neurológicos por ano, o que muitas vezes tendem a resolver, pelo menos em parte, depois de dias a meses [18, 19]. Natalizumab reduziu a taxa de recaída clínica em um ano em 68% e o risco de progressão de incapacidade sustentada por 42- 54% mais de 2 anos, mostrando ser a droga mais eficaz no tratamento de EM. A sua eficácia na EM provavelmente está correlacionada com a sua capacidade de bloquear a infiltração leucocitária nas placas inflamadas dentro do SNC [20].

Por outro lado, a patogênese da LMP nos pacientes que recebem natalizumab é complexa e não é claro se isto é causado por um local (dentro do SNC) ou periférico ocorrendo à reativação do vírus JC que conduz a uma passagem em massa pela barreira hematoencefálica por células livres ou B transportando partículas virais. Foram propostas três principais mecanismos moleculares. De acordo com alguns autores, o bloqueio de VLA-4 por natalizumab pode evitar a entrada de células T citotóxicas específicas do vírus JC para o cérebro, necessária para o controle de vírus latente dentro dos oligodendrócitos infectados [21]. Outra possibilidade proposta é que o natalizumab pode inibir a retenção de VLA-4 dependente de linfócitos na medula óssea e no baço (ambos os locais de latência do vírus), levando assim a um aumento de leucócitos periféricos infectados pelo vírus tornando possível uma carga viral periférica maior capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (apesar deste aspecto não tenha sido confirmado) [22].

Outro mecanismo sugerido é a expressão induzida por natalizumab de fatores envolvidos na diferenciação de células B, tais como o fator de transcrição Spi-B, apresentando um aumento de transcrição do vírus JC, assim, provavelmente levando a um aumento da carga viral, pelo menos in vitro [23].

2.3 - LMP e Natalizumab: A Necessidade de estratificação de risco.

O natalizumab foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de EM em 2004. Devido aos primeiros casos confirmados de LMP, a sua comercialização foi suspensa em março de 2005. Em março de 2006, os comitês consultivos da FDA votaram a favor do retorno de natalizumab no mercado como monoterapia em EM como tarja preta advertindo sobre a LMP. Por este motivo, seria muito importante que haja uma estratégia confiável para quantificar o risco de LMP em pacientes com EM [20].

Recentemente, um fluxograma clínico foi proposto baseado em três fatores de risco diferentes, todos associados a um risco aumentado de LMP: estado positivo com respeito aos anticorpos anti-vírus JC, antes de utilização imunossupressores e aumento da duração do tratamento de natalizumab (tratamento prolongado com natalizumab provavelmente aumenta do risco de LMP, mas alguns estudos não encontraram nenhuma evidência de reativação do vírus JC em pacientes com EM tratados com natalizumab, num estudo de 18 meses de acompanhamento). Embora, este tipo de estudo esteja longe de ser decisivo, principalmente considerando-se que até 65% dos pacientes saudáveis são soropositivos para VJC. Outros parâmetros são, portanto, necessários para uma melhor estratificação de risco. Recentemente, foi proposta uma possível estratificação do risco com base no nível de atividade da resposta humoral anti-vírus JC neutralizante [24]. No geral, uma melhor compreensão da fisiopatologia da LMP e do vírus JC, certamente, ajudaria na identificação de um painel de fatores de risco para um melhor perfil de estratificação.

3 - Papel do Sistema Imunológico no Caminho Viral

3.1 - Papel do Sistema Imunológico no Caminho Viral.

A infecção inicial com vírus JC ocorre através no tecido tonsilar após a inalação, embora a transmissão do vírus através da ingestão de alimentos ou água contaminados, também tem sido sugerida. Linfócitos das amígdalas infectadas com vírus transportam virions para a medula renal e óssea, os sítios primários de latência viral; através de vários estudos examinados de LMP, o tecido normal do cérebro sugere que o vírus pode entrar ou persistir no SNC causando uma infecção latente que pode reativar em caso de imunossupressão, que conduz a uma infecção produtiva em oligodendrócitos.

Outro modelo sugerido através do qual os linfócitos podem contribuir para a disseminação da infecção é uma espécie de associação do vírus com a membrana celular sem internalização; isto poderia explicar por que o DNA viral, mas não o RNA, é frequentemente detectada em linfócitos [25, 26].

A disseminação para o cérebro continua a ser totalmente elucidado, mesmo se uma rota hematogênica de infecção do sistema nervoso central tem sido sugerida, seguindo um possível mecanismo "cavalo de Tróia" para a travessia da barreira hematoencefálica. Esta hipótese é sustentada pela presença de linfócitos B infectados em múltiplas amostras de tecido de cérebro de LMP [27]. Outros estudos têm mostrado que o vírus também pode infectar células endoteliais microvasculares por meio de linfócitos infectados, e assim possivelmente atravessam a barreira hematoencefálica como vírus livre [28, 27, 29].

Uma vez, atravessado a barreira hematoencefálica, como vírus livre ou associado a células B, pelo menos três outros eventos deve ocorrer para que a LMP desenvolva: (i) o sistema imunitário do hospedeiro tem de ser comprometido ou alteradas, (ii) o NCCR viral deve adquirir modificações que aumentam a transcrição viral e da replicação, e (iii) que se ligam a fatores recombinado a sequência NCCR, presente ou regulada positivamente em células infectadas hematopoiéticas, células B, células gliais ou de ligação ao DNA. Somente quando todas estas condições estão presentes, a LMP desenvolve.

3.2 - Controle imunológico do vírus JC

Embora o vírus seja difundido na população, apenas poucas pessoas desenvolvem a doença, e isto ocorre apenas na presença de alterações subjacentes ao sistema imunitário. Na verdade, antes de a pandemia do HIV e a introdução de terapias imunomoduladoras, a LMP era muito rara, indicando que a infecção é bem controlada pelo sistema imunológico.

Estudos epidemiológicos de LMP em pacientes HIV-positivos mostram que na era pré-HAART, a incidência de LMP variaram de 0,3 a 8%, mas depois da difusão do tratamento antiviral, a sua incidência diminuiu (de 0,7 casos / 100 anos pessoa para 0,07 casos / 100 anos pessoa) [30].

Estes dados sugerem que o ramo celular do sistema imune provavelmente desempenha o principal papel no controle da infecção. Em particular, em doentes LMP observou-se que o número e a funcionalidade das células CD4+ são reduzidos após a estimulação com antígeno em comparação com o controle normal [31]. De fato, vários estudos têm implicado uma deficiência da resposta de células T no desenvolvimento LMP, e em particular, o linfócito T citotóxico eficaz na resposta específica para a proteína do cápsideo viral têm sido associadas a um maior controle do vírus e maiores as taxas de sobrevivência na LMP [32-35].

Além disso, um estudo recente mostra diferenças na resposta de células T específicas ao vírus JC durante o tratamento com natalizumab. Em particular, observou-se que em pacientes tratados com natalizumab, a magnitude e a qualidade da resposta de células T específicas do vírus JC não se alteraram entre os pacientes saudáveis, enquanto que em pacientes com LMP associado a natalizumab, células específicas do vírus não eram células T específicas ou os vírus foram dominados por produção de IL-10 (fator inibidor de síntese de citocinas humano), dando mais uma evidência do papel da resposta de células T no desenvolvimento de LMP [36].

4 - Discussão e perspectivas futuras

Na literatura, a LMP foi considerada como uma doença rara, e, antes da pandemia do HIV e da disponibilidade de drogas imunomoduladoras, estava associada somente com neoplasias que afetam o sistema imunitário, tais como a leucemia linfocítica crônica ou linfoma de Hodgkin. Nas duas últimas décadas, a incidência de LMP começou a aumentar exponencialmente. De interesse particular, é a incidência de LMP em pacientes que recebem natalizumab (aproximadamente 1/500), uma droga muito eficaz usada principalmente em pacientes com esclerose múltipla.

Este é um cenário totalmente novo, especialmente se comparados com pacientes com HIV que eram, no passado, quase irreversivelmente condenados a uma morte devido a outras infecções oportunistas não relacionadas ao vírus JC.

Com efeito, embora potencialmente de alto risco, natalizumab ainda está sendo comercializado por seus altos benefícios no tratamento da EM.

A gestão de pacientes é baseada na identificação dos pacientes que realmente estão em alto risco de desenvolver a doença após a terapia imunomoduladora. Recentemente, têm sido propostos três fatores de risco: a presença no soro de anticorpos anti-vírus JC, antes da utilização, imunossupressores e duração ou tratamento natalizumab. Infelizmente, esta análise mostra limitações com base principalmente na insuficiência de informações sobre a fisiopatologia da doença e da biologia do vírus. Estas são também as razões pelas quais, até a data, não há nenhum tratamento específico e eficaz para o tratamento da LMP. Novas terapias foram propostas e algumas delas parecem ser muito promissoras. Em particular, muitos trabalhos recentes têm incidido sobre o papel possível que a principal proteína estrutural viral (VP1) esteja envolvida na entrada viral podendo ocorrer na LMP, sugerindo-a como um alvo potencial da droga. No lado de diagnóstico, foi descrito recentemente que mutações na VP1 estão associadas com LMP.

Outros caminhos imunológicos são, portanto, de ser considerados e não só podem permitir uma melhor compreensão da interação vírus-hospedeiro, mas, também um melhor manejo clínico de pacientes LMP, à semelhança do que já aconteceu para outras infecções virais persistentes e latentes. Em particular, a clarificação do papel desempenhado pela resposta humoral no controle de difusão do vírus ao SNC e uma melhor compreensão das características moleculares deste aspecto da interação vírus-hospedeiro pode ser crucial para a abertura de novos horizontes no presente campo. É intrigante que, na era das infecções oportunistas por anticorpos monoclonais relacionados, composto antiviral da mesma classe de drogas poderia ser potencialmente útil. Em particular, a resposta humoral humana anti-vírus JC devem ser dissecados e estudados.

A possível atividade de anticorpos monoclonais humanos neutralizantes dirigidos para as regiões conservadas de VP1 devem ser considerados, tal como já acontecia em outras infecções virais, onde o papel da resposta humoral foi durante muito tempo considerado negligenciado, uma vez que, mesmo que a contribuição global dos anticorpos à interação hospedeiro-vírus pode aparecer não muito relevante, o papel desempenhado por subpopulações de anticorpos selecionados podia tudo a mesma ser de grande importância.

Referências

- [1] R. Johne, C. B. Buck, T. Allander et al., "Taxonomical developments in the family Polyomaviridae," *Archives of Virology*, vol. 156, no. 9, pp. 1627–1634, 2011.
- [2] S. Eash, K. Manley, M. Gasparovic, W. Querbess, and W. J. Atwood, "The human polyomaviruses," *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 63, no. 7-8, pp. 865–876, 2006.
- [3] K.-E. Åström, E. L. Mancall, and E. P. Richardson Jr., "Progressive multifocal leuko-encephalopathy; a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and Hodgkin's disease," *Brain*, vol. 81, no. 1, pp. 93–111, 1958.
- [4] G. M. ZuRhein and S.-M. Chou, "Particles resembling papova viruses in human cerebral demyelinating disease," *Science*, vol. 148, no. 3676, pp. 1477–1479, 1965.
- [5] B.L. Padgett, D.L. Walker, G.M. ZuRhein, R.J. Eckroade, and B. H. Dessel, "Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy," *The Lancet*, vol. 1, no. 7712, pp. 1257–1260, 1971.
- [6] K. R. Carson, D. Focosi, E. O. Major et al., "Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab: a review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project," *The Lancet Oncology*, vol. 10, no. 8, pp. 816–824, 2009.
- [7] R. S. Hogg, M. V. O'Shaughnessy, N. Gataric et al., "Decline in deaths from AIDS due to new antiretrovirals," *The Lancet*, vol. 349, no. 9061, article 1294, 1997.
- [8] F. Gray, F. Chrétien, A. V. Vallat-Decouvelaere, and F. Scaravilli, "The changing pattern of HIV neuropathology in the HAART Era," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol. 62, no. 5, pp. 429–440, 2003.
- [9] A. D'Arminio Monforte, P. Cinque, A. Mocroft et al., "Changing incidence of central nervous system diseases in the EuroSIDA cohort," *Annals of Neurology*, vol. 55, no. 3, pp. 320–328, 2004.

- [10] K. Petito, E.-S. Cho, and W. Lemann, "Neuropathology of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): an autopsy review," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol. 45, no. 6, pp. 635–646, 1986.
- [11] C.D. Crowder, K.A. Gyure, C.B. Drachenberger et al., "Successful outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in a renal transplant patient," *American Journal of Transplantation*, vol. 5, no. 5, pp. 1151–1158, 2005.
- [12] C.D. Crowder, K.A. Gyure, C.B. Drachenberger et al., "Successful outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in a renal transplant patient," *American Journal of Transplantation*, vol. 5, no. 5, pp. 1151–1158, 2005.
- [13] D.B. Clifford, B. Ances, C. Costello et al., "Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in rheumatoid arthritis," *Archives of Neurology*, vol. 68, no. 9, pp. 1156–1164, 2011.
- [14] E. S. Molloy and L. H. Calabrese, "Therapy: targeted but not trouble-free: efalizumab and PML," *Nature reviews. Rheumatology*, vol. 5, no. 8, pp. 418–419, 2009.
- [15] A. Mountain and J. R. Adair, "Engineering antibodies for therapy," *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, vol. 10, pp. 1–142, 1992.
- [16] M. W. Ferenczy, L. J. Marshall, C. D. Nelson et al., "Molecular biology, epidemiology, and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 25, no. 3, pp. 471–506.
- [17] A. Compston, "Making progress on the natural history of multiple sclerosis," *Brain*, vol. 129, no. 3, pp. 561–563, 2006.
- [18] C. Confavreux and S. Vukusic, "Age at disability milestones in multiple sclerosis," *Brain*, vol. 129, no. 3, pp. 595–605, 2006.
- [19] M. M. Goldenberg, "Multiple sclerosis review," *P&T*, vol. 37, no. 3, pp. 175–184, 2012.
- [20] O. Yaldizli and N. Putzki, "Natalizumab in the treatment of multiple sclerosis," *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, vol. 2, no. 2, pp. 115–128, 2009.

[21] S. Houff and J. R. Berger, "Reply to 'Thinking without thinking' about natalizumab and PML," *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 264, no. 1-2, pp. 198–199, 2008.

[22] U. H. von Andrian and B. Engelhardt, "Integrins as therapeutic targets in autoimmune disease," *The New England Journal of Medicine*, vol. 348, no. 1, pp. 68–72, 2003.

[23] L. J. Marshall, L. Dunham, and E. O. Major, "Transcription factor Spi-B binds unique sequences present in the tandem repeat promoter/enhancer of JC virus and supports viral activity," *Journal of General Virology*, vol. 91, no. 12, pp. 3042–3052, 2010.

[24] R. A. Diotti, G. A. Sautto, L. Solforosi, N. Mancini, M. Clementi, and R. Burioni, "Neutralization activity and kinetics of two broad-range human monoclonal IgG1 derived from recombinant Fab fragments and directed against Hepatitis C virus E2 glycoprotein," *The New Microbiologica*, vol. 35, no. 4, pp. 475–479, 2012.

[25] G. Wei, C. K. Liu, and W. J. Atwood, "JC Virus binds to primary human glial cells, tonsillar stromal cells, and B-lymphocytes, but not to T lymphocytes," *Journal of NeuroVirology*, vol. 6, no. 2, pp. 127–136, 2000.

[26] W. J. Atwood, K. Amemiya, R. Traub, J. Harms, and E. O. Major, "Interaction of the human polyomavirus, JCV, with human B-lymphocytes," *Virology*, vol. 190, no. 2, pp. 716–723, 1992.

[27] E. O. Major, K. Amemiya, G. Elder, and S. A. Houff, "Glial cells of the human developing brain and B cells of the immune system share a common DNA binding factor for recognition of the regulatory sequences of the human polyomavirus, JCV," *Journal of Neuroscience Research*, vol. 27, no. 4, pp. 461–471, 1990.

[28] E. O. Major, K. Amemiya, C. S. Tornatore, S. A. Houff, and J. R. Berger, "Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 5, no. 1, pp. 49–73, 1992.

[29] S. A. Houff, E. O. Major, D. A. Katz et al., "Involvement of JC virus-infected mononuclear cells from the bone marrow and spleen in the pathogenesis of

progressive multifocal leukoencephalopathy,” *The New England Journal of Medicine*, vol. 318, no. 5, pp. 301–305, 1988.

[30] E. Tavazzi, M. K. White, and K. Khalili, “Progressive multifocal leukoencephalopathy: clinical and molecular aspects,” *Reviews in Medical Virology*, vol. 22, no. 1, pp. 18–32, 2012.

[31] P. J. Marriott, M. D. O’Brien, I. C. K. MacKenzie, and I. Janota, “Progressive multifocal leukoencephalopathy: remission with cytarabine,” *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, vol. 38, no. 3, pp. 205–209, 1975.

[32] E. O. Major, “Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies,” *Annual Review of Medicine*, vol. 61, pp. 35–47, 2010.

[33] S. Haider, D. Nafziger, J. A. Gutierrez, I. Brar, N. Mateo, and J. Fogle, “Progressive multifocal leukoencephalopathy and idiopathic CD4+lymphocytopenia: a case report and review of reported cases,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 31, no. 4, pp. E20–E22, 2000.

[34] S. Haider, D. Nafziger, J. A. Gutierrez, I. Brar, N. Mateo, and J. Fogle, “Progressive multifocal leukoencephalopathy and idiopathic CD4+lymphocytopenia: a case report and review of reported cases,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 31, no. 4, pp. E20–E22, 2000.

[35] F. N. Engsig, A.-B. E. Hansen, L. H. Omland et al., “Incidence, clinical presentation, and outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients during the highly active antiretroviral therapy era: a nationwide cohort study,” *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 199, no. 1, pp. 77–83, 2009.

[36] M. R. Perkins, C. Ryschkewitsch, J. C. Liebner et al., “Changes in JC virus-specific T cell responses during natalizumab treatment and in natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy,” *PLoS Pathogens*, vol. 8, no. 11, Article ID e1003014, 2012.