

Fortbildungstelegramm Pharmazie

Zertifizierte Fortbildung

FORTE-PHARM

Infektionen ohne klassische Erreger?

Prionen und ihre Bedeutung
in der Medizin

Teil 2 von 2



Iatrogene Fälle aus
der Veterinärmedizin

Iatrogene Fälle aus
der Humanmedizin

Prophylaktische Maßnahmen

Dekontamination

Therapeutische Ansätze

Infektionen ohne klassische Erreger? Prionen und ihre Bedeutung in der Medizin

Teil 2 von 2

Kurt Schneider¹ , Wolfgang H.-M. Raab, Michelle A. Ommerborn

Poliklinik für Zahnerhaltung und präventive Zahnheilkunde
Universitätsklinik, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

¹Korrespondenzautor

Kurt Schneider
Poliklinik für Zahnerhaltung und präventive Zahnheilkunde
der Universitätsklinik,
Heinrich-Heine-Universität, Moorenstr. 5,
40225 Düsseldorf, Germany
Kurt.Schneider@uni-duesseldorf.de

Lektorat:

Prof. Dr. med. Inga Zerr, Neurologische Klinik, Nationales Referenzzentrum für TSE, Georg-August Universität, Robert-Koch Str. 40, 37075 Göttingen

N.N.

Schlüsselwörter:

Prionen, Creutzfeldt-Jakob Krankheit, Scrapie,
Transmissible Spongiforme Enzephalopathien, TSE

Den Fortbildungsfragebogen zur Erlangung eines Fortbildungspunktes zum
Fortbildungstelegramm Pharmazie finden Sie hier:

<http://www.uni-duesseldorf.de/koida-pharmalehrbuch/FortbildungstelegrammPharmazie/Kurzportraet.html>

Abstract

Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs), or Prion Diseases, are a group of neurological disorders that are still inevitably fatal. For a long time, TSEs have been disorders with low incidence and hence little attention. However, with the emergence of Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE, mad cow disease) they have become known to most of the population. This popularity led to raised awareness for TSEs that had - at least temporarily - an impact on consumers' habits. Although a member of this group of diseases (scrapie) has been known for more than 250 years, the causes of these disorders are only now becoming obvious. The pathogen consists mostly, if not entirely, of a protein - the prion protein (PrP) - that is synthesized by every mammal, and which can acquire at least two different conformations, one of which is pathogenic. While most of this pathogenic protein (PrP^{Sc}) is found in the central nervous system of diseased mammals, lower levels are also found in other tissues. Only recently, more and more body fluids (e. g. blood) and excretions (milk, urine, feces) hitherto considered free from infectivity were found to contain PrP^{Sc} and/or infectivity, thus necessitating a reevaluation of their risk potential. Due to the risk potential of infected animals and taking into account the longevity of the infectious agent, the question arose how to safely dispose of the carcasses. Conceivable options are incineration, burial in secured landfills, or the production of biodiesel, all of which raise the issue of safety. While no cure for TSEs is available so far, prophylactic steps have been taken to minimize the spread of these diseases. Nevertheless, efforts are on their way to develop therapies to slow disease progression and possibly even revert part of the damage that is done to the patients' bodies.

Abstrakt

Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSEs), oder Prionenkrankheiten, sind eine Gruppe neurologischer Erkrankungen mit bisher unausweichlich tödlichem Ausgang. Waren TSEs lange Zeit Krankheiten mit geringer Inzidenz und infolgedessen geringem Bekanntheitsgrad, so sind sie mit dem Auftreten der Bovinen

Spongiformen Enzephalopathie (BSE, Mad Cow Disease) in das Bewusstsein weiter Kreise der Bevölkerung gelangt. Diese Bekanntheit führte zu gesteigerter Aufmerksamkeit für TSEs und hatte, zumindest zeitweise, Einfluss auf das Konsumentenverhalten. Obwohl ein Vertreter dieser Krankheitsgruppe (Scrapie) bereits seit mehr als 250 Jahren bekannt ist, beginnen die Ursachen dieser Krankheiten erst heute klar zu werden. Der Krankheitserreger besteht überwiegend oder ausschließlich aus einem Protein, dem Prion Protein (PrP), das von jedem Säugetier exprimiert wird und mindestens zwei verschiedene Konformationen annehmen kann, von denen eine pathogen ist. Während dieses pathogene Protein (PrP^{Sc}) überwiegend im Zentralnervensystem erkrankter Säugetiere gefunden wird, findet man geringere Mengen davon auch in anderen Geweben. In mehr und mehr Körperflüssigkeiten (z. B. Blut) und Ausscheidungen (Milch, Urin, Fäzes), von denen man bisher davon ausgegangen war, dass sie kein infektiöses Material enthalten, wird PrP^{Sc} und/oder Infektiosität gefunden, was eine Neubewertung ihres Gefährdungspotentials notwendig macht. Aufgrund des Gefährdungspotentials infizierter Tiere und angesichts der Persistenz des Erregers, stellte sich die Frage, wie die Kadaver sicher entsorgt werden könnten. Denkbare Methoden sind die Verbrennung, Vergraben in gesicherten Deponien oder die Herstellung von Biodiesel. Jede dieser Vorgehensweisen wirft die Frage nach ihrer Sicherheit auf. Während es bisher keine Heilung für TSEs gibt, wurden prophylaktische Maßnahmen ergriffen, um die Ausbreitung dieser Krankheiten einzudämmen. Gleichzeitig werden Therapien entwickelt, um den Krankheitsverlauf zu verlangsamen und möglicherweise sogar die Schäden, die in den Körpern der Patienten entstanden sind, teilweise rückgängig zu machen.

Risiken

Aus dem Absinken der Kuru Krankheitsfälle nach dem Verbot des Kannibalismus schloss man, dass es kein Reservoir des Erregers im Lebensraum der Fore gab (100, 204). Von Scrapie kannte man gegensätzliche Befunde.

Iatrogene Fälle aus der Veterinärmedizin Schon 1940 erschienen Berichte über ein Experiment, das 1932

begann. Zwei Herden - eine Scrapie-infiziert, die andere nicht - wurden abwechselnd auf derselben Wiese geweidet. Zweimal wöchentlich wurden die Herden getauscht, ohne dass die Tiere der beiden Herden miteinander in Kontakt gelangen konnten. 39 Monate später erkrankten die ersten sieben Tiere der ursprünglich scrapiefreien Herde (94, 205, 206). In Island hatte man komplette Herden nach Scrapiefällen getötet und nach zwei bis zwölf Monaten mit neuen Tieren aus scrapiefreien Gegenden neu aufgebaut. Diese neuen Tiere waren nach zwei bis vier Jahren wieder von Scrapie (bzw. Rida, wie es in Island genannt wird) befallen (207). Dies führte zu der Empfehlung, kontaminierte Abfälle chemisch zu dekontaminieren und zu verbrennen, oder bei der Entsorgung auf einer Deponie dafür Sorge zu tragen, dass die Möglichkeit eines Kontaktes mit Mensch und Tier ebenso minimiert wird wie die Wahrscheinlichkeit der Kontamination einer Trinkwasserquelle (209).

Neuere Befunde erweiterten die Haltbarkeit des Erregers in der Umgebung auf 16 Jahre (210), was sich durch die Fähigkeit mancher Bodenkomponenten, PrP^{Sc} zu binden, erklären läßt (211, 212). Hamster, denen kontaminiertes Erdreich intrazerebral appliziert wurde, zeigten erste Symptome nach 93 Tagen (211). Wurde kontaminierte Erde für 26 bzw. 29 Monate vergraben und dann an Hamster verfüttert, oder wurden Hamster peroral mit wässrigen Extrakten solcher Erde infiziert, so erkrankten die Tiere nach 131 ± 6 bzw. 256 ± 41 Tagen (213). Dies zeigt, dass die Pathogenität bei der Bindung an Komponenten des Erdreiches auch über lange Zeiträume erhalten bleibt. Wie gut sich gebundene Infektiosität wieder auswaschen läßt, hängt von den jeweils eingesetzten Bodenbestandteilen ab. Während sich mit SDS-Lösung ausgewaschenes PrP^{Sc} im Western Blot nachweisen ließ (211, 213), erwies sich im Bioassay auch eine wäßrige Auswaschlösung als infektiös (213).

Experimente, die nach dreijährigem Aufenthalt in Gartenboden noch immer mehr als ein Tausendstel der ursprünglichen vergrabenen Infektiosität wiederfanden, bestätigten die Resistenz des Erregers (214). Behandlung mit Formaldehyd, das normalerweise Proteine deaktiviert, vor dem Autoklavieren führte zu einer Stabilisierung der Infektiosität (201). Einstündige Be-

handlung mit 360°C trockener Hitze (201) und spätere Versuche, bei denen eine thermische Behandlung bei 600°C vorgenommen wurde, fanden noch immer Restinfektiosität (202).

Ein weiterer Vorfall, der die unerwartete Resistenz des Erregers dokumentiert, ereignete sich Anfang der 1930er Jahre, also ebenfalls noch bevor die Übertragbarkeit von Scrapie publiziert worden war. Drei verschiedene Chargen von Looping-ill Impfstoff aus Schafen, dessen Viren mit 0,35% Formalin inaktiviert worden waren, wurden wiederum Schafen zur Immunisierung injiziert.

Erste iatrogene Fälle von Scrapie zeigten, dass

- **Scrapie übertragbar ist**
- **der Erreger Dekontaminationsmaßnahmen widersteht, die üblicherweise Proteine denaturieren**
- **der Erreger im Gehirn, Rückenmark oder der Milz zu finden ist**
- **subkutane Injektion ein möglicher Übertragungsweg ist**

Nach ca. vier Jahren erkrankten die ersten Schafe an Scrapie (215). Dies zeigte die Übertragbarkeit von Scrapie, die Widerstandsfähigkeit des Erregers (später wurde berichtet, dass dieser selbst eine 28-monatige Behandlung mit 10% Formalin ohne Deaktivierung übersteht (94)), dass der Erreger im Gehirn, Rückenmark oder der Milz (aus denen der Impfstoff hergestellt worden war) zu finden sein muß, und dass subkutane Injektion ein möglicher Infektionsweg ist.

Iatrogene Fälle aus der Humanmedizin

Iatrogene Fälle von TSEs wurden auch aus der Humanmedizin berichtet. Eine Übertragung kann durch Cornea-Transplantate (216), stereotaktische Elektroden (217), Dura Mater Transplantate (218-222), Gonadotropine (223, 224) und Wachstumshormon (224-228) stattfinden.

Blut und Blutprodukte Lange Zeit galten Körperflüssigkeiten, mit Ausnahme von Zerebrospinalflüssigkeit und Exkrementen, als nicht infektiös (229). Bei Schafen konnte inzwischen eine Übertragung von Scrapie durch Bluttransfusionen gezeigt werden (230-232). Auch CWD läßt sich durch intra-

peritoneale und intravenöse Inokulation von Blut übertragen (233). Beim Menschen wurde vCJD bereits mehrmals durch Blut oder Blutprodukte übertragen (**Abb. 6**) (75, 76, 234, 235). Diese wiederholten Fälle sind auch deshalb bemerkenswert, weil bis heute (Februar 2009) nur 167 Fälle von vCJD (in Großbritannien) dokumentiert sind. Ob Insekten oder andere Evertebraten als Vektoren in Frage kommen, wurde in mehreren Experimenten untersucht (207, 233, 236-239).

Seit dem Auftreten von vCJD, bei der der Erreger ein anderes Lokalisationsprofil aufweist, als bei anderen CJDs, zählen Bluttransfusionen auch beim Menschen zu den Übertragungsrisiken (75, 76). Aufgrund der Nachweisbarkeit von PrP^{Sc} in lymphoretikulärem Gewebe bei vCJD (240) läßt sich die Zahl der zu erwartenden Fälle abschätzen. Material, das bei 1.739 Tonsillektomien und 14.964 Appendektomien in Großbritannien gewonnen wurde, zeigte bei immunhistochemischer Untersuchung ein Vorhandensein von PrP^{Sc} in 237 ppm (3 von 12.674 Proben, die genügend Material enthielten, waren positiv) (241). Extrapoliert auf die Gesamtbevölkerung Großbritanniens wäre dann mit 3.800 Individuen zu rechnen, die die Erkrankung inkubieren (229).

Zahnärztliche Behandlungen Ein Gebiet, an das man bei der Risikoabschätzung kaum denkt, ist die zahnärztliche Behandlung (70,242-260) (Weblink 17). Während die Gefahr einer Infektion beim Füllen von Kavitäten für gering gehalten wird, kommen endodontische Feilen in direkten Kontakt mit Nervengewebe und könnten damit eine Infektion des Patienten verursachen. Wo dies technisch und ökonomisch machbar ist, sollte auf Einmalinstrumente zurückgegriffen werden (229, 253, 254).

Neurochirurgie und Ophthalmologie Diese Empfehlung gilt auch für neurochirurgische und ophthalmologische Eingriffe (261). Besondere Vorsicht ist bei der Behandlung infizierter und bei Risikopatienten (Mitglieder von fCJD Familien, Empfänger von Hormonen humanen Ursprungs oder von verdächtigen Blutkonserven, humaner Dura Mater oder humaner Cornea) angeraten (70, 252, 261). Da der Erreger der vCJD ein extrem weites Verteilungsspektrum im Körper aufweist, und z.B. in Lymphgewebe zu finden ist, sollte die Empfehlung, verwendetes Instrumentarium zu entsorgen, auf alle chirurgischen Eingriffe an Patienten (oder potentiellen Trägern) dieser Krankheit ausgedehnt werden (261). In Anbetracht der langen Inkubationszeiten

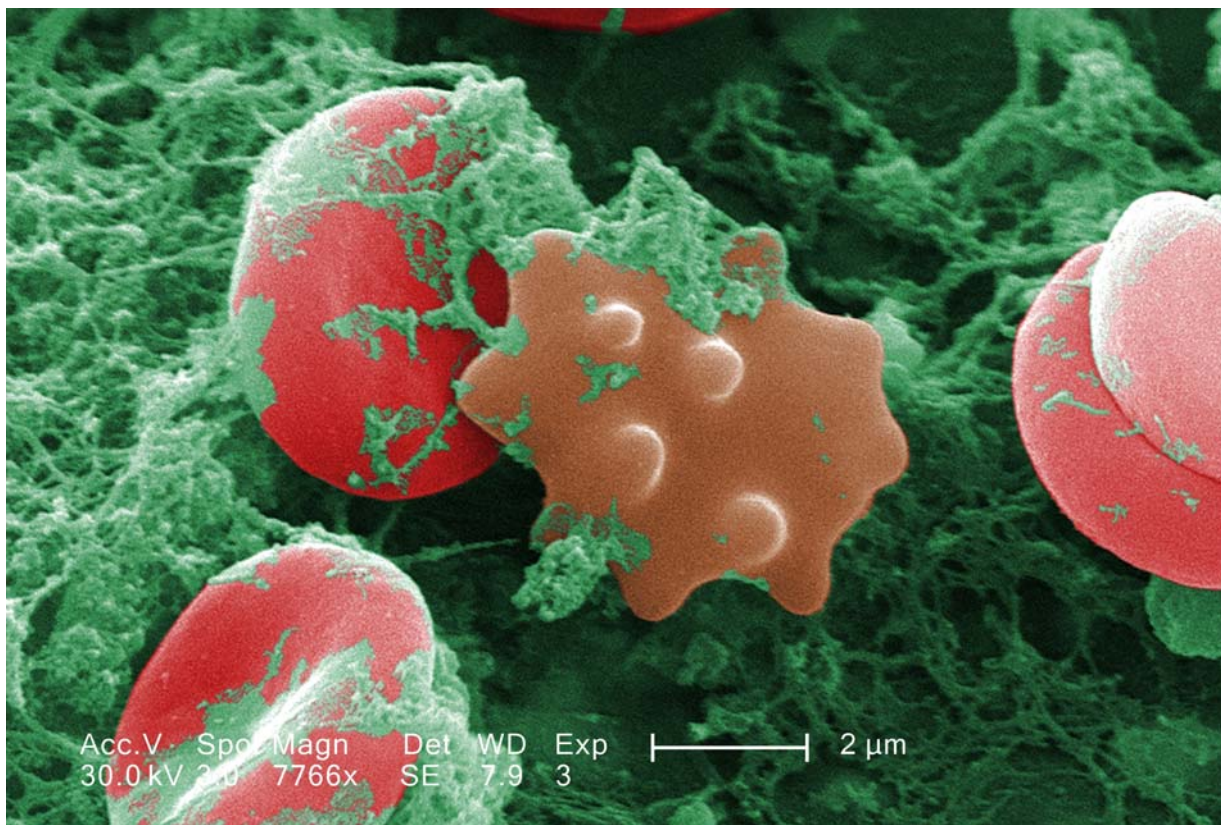


Abb. 6: Sowohl bei Tieren, als auch beim Menschen können TSEs über Blut und Blutprodukte übertragen werden. Quelle: Public Health Image Library (Weblink 15)

ist jedoch immer auch damit zu rechnen, dass ein asymptomatischer Patient, der eine TSE inkubiert, behandelt wird. Letztlich ist nur die Verwendung von Einmalinstrumenten und ihre anschließende Entsorgung als sicher anzusehen.

Ein besonderes Problem stellen Geräte, wie z. B. Endoskope, dar, deren einmalige Benutzung und anschließende Vernichtung wirtschaftlich nicht vertretbar ist. Werden geeignete Reinigungsverfahren angewandt (229,262), so wird das Infektionsrisiko beim Einsatz von Endoskopen für gering gehalten (263). Zur Behandlung von TSE- und Risikopatienten wurde an der Uniklinik Göttingen am Institut für Neuropathologie ein Gerätepool eingerichtet, aus dem Instrumente von bundesdeutschen Krankenhäusern ausgeliehen werden können (263, 264).

Milch Milch wurde von der Europäischen Kommission (Scientific Steering Committee) wie auch von der World Health Organization (265) als unbedenklich eingestuft. Dennoch wurde vom Genuß von Milch BSE-verdächtiger Tiere abgeraten (266). Weiterhin empfahl die Europäische Kommission (European Food Safety Authority) einen Verzicht auf Milch von an Mastitis leidenden Tieren (267). In jüngster Zeit wurde dann doch auf die Möglichkeit einer Übertragungsfahr durch Milch hingewiesen (268).

Nach der Erkenntnis, dass PrP^C nahezu ubiquitär exprimiert wird (141, 142), war es nur eine Frage der Zeit, bis es auch im Mamma-Gewebe nachgewiesen wurde (269). Während einige Studien kein PrP^C (270) und kein infektiöses Material (271) in Kuhmilch fanden, berichtete eine andere Studie über PrP^C in frischer Kuhmilch ebenso wie in käuflicher pasteurisierter Voll-, Halbfett- und fettarmer Kuhmilch (272). Milchpulver enthielt amino-terminale Fragmente von PrP^C (272). In Schafs- und Ziegenmilch (Vollmilch, fettarme Milch und Molke) sowie in ovinem Colostrum ist PrP^C ebenso nachweisbar (270, 272). Bei Scrapie-erkrankten Mutterschafen, die gleichzeitig an Mastitis litten, konnte PrP^{Sc} im Eutergewebe nachgewiesen werden (273).

Eine epidemiologische Studie, die 132 Kälber umfaßte, die ein Alter von mindestens 20 Monaten erreichten und die für mindestens einen Monat von ihren BSE-erkrankten Müttern gesäugt wurden, fand kein einziges erkranktes Tier. Die statistische Risikoab-

schätzung hätte sechs erkrankte Kälber vorausgesagt (274). Dennoch sollten die ernährungsphysiologischen und immunologischen Vorteile der Verwendung von Colostrum und Milch (besonders aus fremden Herden) gegen die Risiken abgewogen und gegebenenfalls auf Milchersatzprodukte zurückgegriffen werden (275). Bei Kuru hatte man keine vertikale Übertragung von der Mutter auf das Kind gefunden (100, 204). Selbst durch intrazerebrale Injektion (effektivster Infektionsweg) von Milch BSE-infizierter Mäuse in Mäuse desselben Genotyps gelang keine Übertragung (276). Andererseits konnten experimentell BSE-infizierte Mutterschafe ihre Lämmer - in utero oder perinatal - offensichtlich infizieren.

Speichel, Urin, Fäzes Eine Methode zur Amplifikation von PrP^{Sc}, die gekoppelt mit einem Western Blot sensitiver ist als die Immunhistochemie, ist die Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA, **Abb. 7**) (277-281). Mit dieser Methode konnte im Urin bei sechs von sieben intrazerebral oder peroral Scrapie-infizierten Hamstern PrP^{Sc} detektiert werden. Blut, Plasma und Leukozytenfilm waren ebenfalls positiv (278, 282). Während PrP^{Sc} nur kurz nach der Inokulation und kurz vor dem Tod der Tiere im Urin nachweisbar war (282, 283), war es bei allen Tieren im Leukozytenfilm bereits nach der halben und im Plasma nach dreiviertel der Inkubationszeit, also noch in der asymptomatischen Phase, zu finden (282). Zwar wirft die extreme Sensitivität der PMCA die Frage auf, ob sich mit den detektierten Mengen eine Infektion erreichen ließe, doch sollten dabei auch Faktoren, die zu einer PrP^{Sc}-Akkumulation auf der Weide führen können (282, 291), wie die außerordentliche Langzeitstabilität von PrP^{Sc} (210, 214) und die Fähigkeit von Erdboden, PrP^{Sc} zu binden (211, 212), bedacht werden.

Für CWD konnte nach peroraler Übertragung mit Speichel, nicht jedoch mit Urin oder Fäzes, PrP^{Sc} in den Tonsillen, in der Medulla oblongata (Obex) und in retropharyngealen Lymphknoten der Rezipienten nachgewiesen werden (233). Auch bei TSE-erkrankten Hamstern, Rindern und Menschen wurde über eine Ausscheidung von PrP^{Sc} berichtet, mit dem sich die Krankheit jedoch nach intrazerebraler Inokulation zunächst nicht weitergeben ließ (283). Eine Übertragung von TSE im Hamster konnte

jedoch später über die intrazerebrale (291, 293), intraperitoneale und perorale (293) Route gezeigt werden. Ziegen ließen sich durch intrazerebrale Injektion von Urin Scrapie-kranker Tiere nicht infizieren (199).

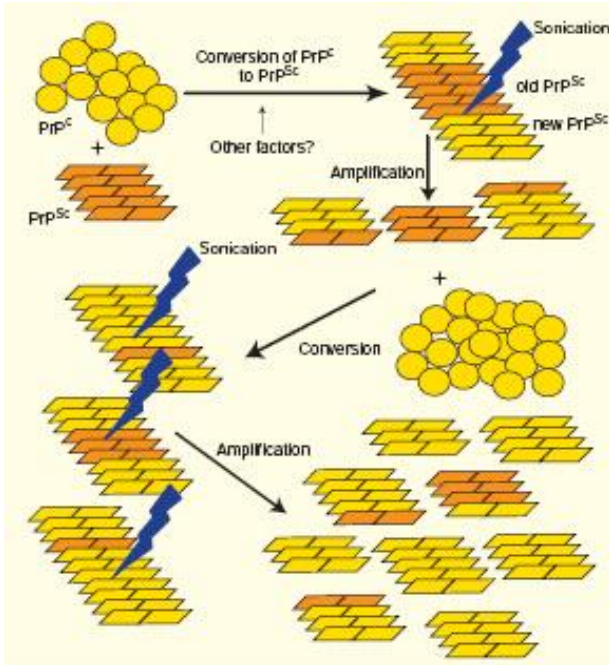


Abb.7: Prinzip der PMCA: Eine Probe (Blätter links oben, orange) wird mit einem Überschuss gesunden Gehirnhomogenats (Kugeln links oben, gelb) gemischt. Nach Inkubation, während der PrP^C in PrP^{Sc} konvertiert wird, wird das Gemisch mit Ultraschall behandelt, um die Aggregate in kleinere Partikel aufzubrechen. Jedes dieser Partikel kann wieder als Saat für die Umwandlung von weiterem PrP^C in PrP^{Sc} dienen. Durch Wiederholung des Verfahrens lassen sich auch minimale Spuren von PrP^{Sc} detektieren. Reprinted with permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Medicine, Glenn Telling: "Protein-based PCR for prion proteins?", Copyright 2001

Durch intrazerebrale Inokulation von Fäzes infizierter Hamster ließ sich TSE auf Mäuse übertragen, die Hamster-PrP überexprimierten (294). Mit Ziegen wiederum scheiterte eine Übertragung durch Fäzes (199). Ebenso erkrankten Hamster, die in Käfige gesetzt wurden, die zuvor von infizierten Hamstern bewohnt wurden und deren Einstreu noch enthielten, vermutlich durch Coprophagie (294). Diese Befunde sollten

bei der Entsorgung von Exkrementen CJD-Erkrankter ebenso in Betracht gezogen werden (294) wie bei der Gewinnung von Gonadotropinen aus Urin (295).

Sperma, Embryonen, Plazenta Obwohl im Ejakulat gesunder Schafböcke (296) und auf humanen Spermatozoen (297) PrP^C nachgewiesen wurde, scheint Sperma, wie es bei der künstlichen Befruchtung eingesetzt wird, nicht als Überträger für Scrapie in Frage zu kommen (271, 298, 299). Über die Frage, inwieweit Embryonen erkrankter Mutterschafe in utero einem Infektionsrisiko ausgesetzt sind, gibt es widersprüchliche Meinungen. Während Embryotransfer zur Elimination von Scrapie empfohlen wurde (298, 300, 301), zeigten andere Autoren, dass Scrapie vom Mutterschaf auf den Präimplantationsembryo übertragen werden kann (302-304). In der Plazenta erkrankter Schafe wurde PrP^{Sc} zweifelsfrei nachgewiesen (305-308), was auch Implikationen für die Verbreitung des infektiösen Agens auf der Weide hat (309) und damit einen möglichen Weg horizontaler Infektion darstellt, denn Schafe konnten durch Verfütterung fötaler Membranen erkrankter Tiere infiziert werden (310, 311), und Schafe fressen die Plazenta anderer Mutterschafe gelegentlich (307). Darüberhinaus kann das Euter während der Geburt mit plazentalem Material kontaminiert werden und damit eine Gefahr für die Lämmer darstellen (307).

Muskelgewebe Während Nerven- und Lymphgewebe als Hochrisikomaterial im Zuge des Schlachtvorganges (soweit möglich) entfernt werden, hielt man Muskelgewebe für weitgehend unbelastet und damit für sicher (289). In Patienten mit sCJD konnte PrP^{Sc} dennoch, wenn auch in 10.000-fach geringerer Konzentration als im Zentralnervensystem, nachgewiesen werden (314). Jüngere Studien fanden es zusätzlich im Muskelgewebe von vCJD- und iCJD-Patienten (315) und im Herzmuskel von an CWD-erkrankten Hirschen (316). Ein anderes Risiko, das im Zuge des Schlachtvorganges bedacht werden muß, ist der Einsatz eines Bolzenschußapparates, der die Blut-Hirn-Schranke eliminiert und das Eintreten von PrP^{Sc} in den Blutkreislauf ermöglichen könnte (317).

Biodiesel Durch die Einführung des Verfütterungsverbotes von Fleisch- und Knochenmehl stellte sich die Frage, wie dieses Material (jährlich 16 Millionen Tonnen (318)) entsorgt werden könnte. Statt der

Verbrennung zur Energiegewinnung bot sich als höherwertige Alternative die Herstellung von Biodiesel an. Neben 90% pflanzlichen Ausgangsprodukten kommt bei der Herstellung von Biodiesel inzwischen zu 10% Material tierischen Ursprungs zum Einsatz (286). Damit ergab sich jedoch die Frage, inwieweit der auch thermisch sehr stabile Erreger (202) im Zuge dieses Prozesses inaktiviert würde. Das größte Gefährdungspotential bestünde bei Leckagen und beim Hautkontakt während der Betankung. Nach Größenreduktion der Herstellungsanlagen auf Labordimensionen wurde Biodiesel aus kontaminiertem Material erzeugt. Nach Durchlauf aller Prozessschritte schätzten die Autoren die Reduktion des infektiösen Agens aufgrund von Western Blot Analysen auf 10^{20} ID₅₀ (318). Der methodische Ansatz dieser Arbeit wurde zwar kritisiert (286, 319), doch bestätigte die Arbeitsgruppe Riesner mit eigenen Arbeiten die Unbedenklichkeit von Biodiesel (319). Zur Dekontamination wässriger und nicht wässriger Flüssigkeiten - einschließlich Biodiesel - ist auch eine Filtration einsetzbar (320).

Die Übertragbarkeit von TSEs hängt von mehreren Faktoren ab:

- der Quelle des infektiösen Materials
- dem Erregerstamm
- der Größe des Inokulums
- dem Infektionsweg
- dem Alter, Genotyp, Geschlecht, metabolischen Status und PrP-Expressionsgrad des Rezipienten

Fazit Die offensichtlich widersprüchlichen Befunde der Transmissionsexperimente resultieren einerseits auf der zunehmend empfindlicher werdenden Diagnostik, und andererseits darauf, dass viele verschiedene Faktoren darüber bestimmen, ob ein Tier oder Mensch infizierbar ist. Zu diesen Faktoren zählen die Quelle des infektiösen Materials (gleiche oder andere Tierart; Speziesbarriere), der Erregerstamm, die Größe des Inokulums, der Infektionsweg (intrazerebral, intraperitoneal, peroral, subkutan), das Alter, der Genotyp, das Geschlecht (männliche Tiere haben längere Inkubati-

onszeiten als weibliche (321-323), die Prävalenz von CWD ist bei männlichen Tieren höher als bei weiblichen (324), während mehr Frauen an genetischen TSEs sterben, als Männer (59, 63)), der metabolische Status (winterschlafende Tiere haben längere Inkubationszeiten als wache Tiere) (322) sowie der PrP-Expressionsgrad (288, 325) des Rezipienten.

Prophylaktische Maßnahmen

TSEs sind meldepflichtige Tierseuchen. Mit dem Unterbrechen des Erregerkreislaufs durch das Verbot, Fleisch- und Knochenmehl an Wiederkäuer und (später) andere Tiere zu verfüttern (318), ist der erste Schritt zur Bekämpfung getan worden. In seiner Folge ging BSE kontinuierlich zurück. Durch großzügige Entschädigungen konnte die Kooperativität der betroffenen Bauern und Schäfer sichergestellt werden, um das Auftreten von Fällen zu erkennen. Das Töten ganzer Herden schon beim Auftreten einzelner Fälle von TSEs und das anschließende Verbrennen der Kadaver waren weitere Maßnahmen zur Eindämmung der Seuche.

Inzwischen wurden Programme aufgelegt, die Suszeptibilität von Schafen zu verringern. Während Rinder keine große Variabilität in ihrer PrP-Sequenz erkennen lassen, gibt es bei Schafen drei Polymorphismen an Codon 136, 154 und 171, die auf die Infizierbarkeit Einfluß haben. Die Europäische Kommission arbeitet nun darauf hin, möglichst resistente Schafe (mit Genotyp A₁₃₆R₁₅₄R₁₇₁, oder kurz ARR) züchten zu lassen (328, 329). Es wurde jedoch auch über natürlich an Scrapie erkrankte (330, 331) und experimentell mit BSE infizierte (332) Schafe berichtet, die ARR-homozygot waren, so dass diese züchterischen Maßnahmen zwar die Suszeptibilität der Tiere senken können, jedoch keine 100%ige Scrapie-Resistenz erwarten lassen. Dies liegt auch daran, dass gewisse Genotypen mit Resistenzen gegen bestimmte Scrapie-Stämme, nicht jedoch gegen andere assoziiert zu sein scheinen.

Beispiele derartiger "atypischer" Scrapie-Stämme sind der im Jahre 2003 beschriebene Nor98 Stamm beim Schaf (333) und der Erreger der "Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy" (BASE) beim Rind (334).

Experimente mit RNA Interferenz (RNAi) und short hairpin RNA (shRNA) zeigten, dass sich die PrP-Expression in Ziegen um 90% verringern läßt. Dieselbe Methode ließ sich auch auf Rinder anwenden (335). Kurze Zeit später wurde, wie bereits 1993 vorgeschlagen (336), über die ersten PrP-Knockout-Rinder berichtet (337). Von Knock-out-Mäusen (154) weiß man, dass sie bei Fehlen des Prion Proteins nicht mit TSEs infizierbar sind (325).

Mit der Einführung rekombinanter Proteine wurde das Risiko, sich bei der Behandlung mit Gonadotropinen oder Wachstumshormon zu infizieren, zwar nicht eliminiert (295), aber doch reduziert. Von der Administration von Gonadotropinen urinen Ursprungs wird daher abgeraten (338), obwohl andere Autoren das Risiko für untergeordnet erachten (317, 339) oder gar die Differenzierung zwischen rekombinantem Gonadotropin und solchem urinen Ursprungs aus Sicht des Infektionsrisikos ablehnen (97, 340). Diese Unbedenklichkeitsvermutung basiert jedoch auf der Tatsache, dass der Urin zur Gewinnung der Gonadotropine aus Ländern stammt, in denen bisher keine BSE/vCJD-Fälle gefunden wurden. Die Tatsache, dass keine solchen Fälle beschrieben wurden, kann aber nicht als Beleg für die BSE-Freiheit dienen. Außerdem können neue Erkenntnisse die Einschätzung der Gefahr schnell ändern (97, 317). Sowohl die pharmazeutische, als auch die Nahrungsmittelindustrie bevorzugen beim Einsatz von Rohstoffen bovinen Ursprungs den Bezug aus Ländern, die bisher keine BSE-Fälle gemeldet haben. Im Laufe der Verarbeitung dieser Rohmaterialien werden Methoden (z. B. Verdünnung, Säure- und Alkalibehandlung, Extraktion im Zuge der Gelatineherstellung (341)) angewandt, die das Risiko verbleibender Infektiosität minimieren können. Abschließend sei erwähnt, dass pränatale und Präfertilisationsdiagnostik als Maßnahme gegen erbliche TSEs beim Menschen diskutiert werden (99). Die aus solchen Screenings ableitbaren Konsequenzen dürften allerdings eine intensive Abwägung der ethischen Implikationen voraussetzen.

Dekontamination

Eine sehr gute vergleichende Übersicht über unterschiedliche Sterilisationsverfahren (trockene Hitze, Autoklavieren, Gravity-

Displacement Autoklavieren, Porous-Load Autoklavieren) findet sich in (261). Bei der Herstellung von Biodiesel fand man, dass eine Mischung aus Schwefelsäure und Methanol bei hohen Temperaturen PrP^{Sc} abbaut (318). Diese Fähigkeit ist offensichtlich nicht auf den niedrigen pH-Wert, sondern auf das Oxidationspotential der beteiligten Säure zurückzuführen (318), denn Salzsäure zeigt diese Fähigkeit nicht (261).

Während Natriumhydroxid alleine konzentrationsabhängig mehr oder weniger sicher dekontaminiert, lassen sich mit der Kombination aus Natriumhydroxidbehandlung und Autoklavieren bessere Resultate erzielen (261). Maßnahmen, die bei konventionellen Pathogenen zur Inaktivierung führen (Formalin, Glutaraldehyd, Ethylenoxid, Detergentien, Alkohole und andere organische Lösungsmittel, Chlordioxid, Wasserstoffperoxid, Perchlorsäure, Proteasen), dekontaminieren Prionen nicht sicher. Die besten Resultate lassen sich mit NaOCl-Lösungen mit 20.000 ppm verfügbarem Chlor erzielen (261). Da auch bei der Behandlung von präsymptomatischen Patienten ein Infektionsrisiko besteht, sollte zur Dekontamination von Instrumenten der konsequente Einsatz von Autoklaven mit speziellen, von den Herstellern freigegebenen Prionenprogrammen obligatorisch sein (229).

Um die Gefahr einer Übertragung im Zuge einer Bluttransfusion zu verringern, wurden in Großbritannien Menschen als Blutspender ausgeschlossen, die ihrerseits in der Vergangenheit Blutkonserven erhalten hatten. Dies erfaßt jedoch keine Fälle, die sich auf andere Weise mit vCJD infiziert haben. Andere Staaten schließen Personen, die sich eine bestimmte Zeit in Großbritannien aufgehalten haben, als Blutspender aus (342). Die USA erweitern diesen Kreis auf alle Personen, die nach 1980 mehr als 5 Jahre in Europa gelebt haben (343).

Eine weitere Strategie bestand in der Reduktion von Leukozyten des gespendeten Blutes (344), was zwar die weißen Blutzellen, nicht jedoch das Infektionsrisiko hinreichend reduzierte (342, 344). Für die Dekontamination von Blutkonserven zeichnen sich vielversprechende Filtermethoden auf Harzbasis ab (342, 345). Die Bindefähigkeit von Böden für PrP^{Sc} könnte in Deponien zur Isolation prionenbelasteten Materials und zur Vermeidung einer Ausbreitung des infektiösen Agens eingesetzt werden (211).

Therapeutische Ansätze

Echte kurative Interventionen, die durch Neuronenverlust (**Abb. 8**) bedingte Ausfälle rückgängig machen und den Patienten damit heilen könnten, gibt es bis heute nicht. Aktuelle Ansätze bestehen daher aus präventiven Maßnahmen für Risiko-Patienten zur Verlängerung der Inkubationszeit (im Idealfall über den natürlichen Tod des Patienten hinaus), indem die Neuroinvasion verhindert (bei iCJD und vCJD) oder die Bildung von PrP^{Sc} inhibiert (bei fCJD) wird und dem kurativen Versuch, den Krankheitsverlauf nach dem Auftreten erster Symptome zu verlangsamen. Ein bloßes Aufrechterhalten der Vitalfunktionen ohne Einbeziehung der Lebensqualität der (in der Spätphase meist bewußtlosen) Patienten sollte jedoch nicht das Ziel sein (346). Aktuelle Versuche, Therapeutika zu finden, konzentrieren sich auf die Frage, inwieweit sich die Bildung und Akkumulation von PrP^{Sc} unterbinden oder rückgängig machen läßt.

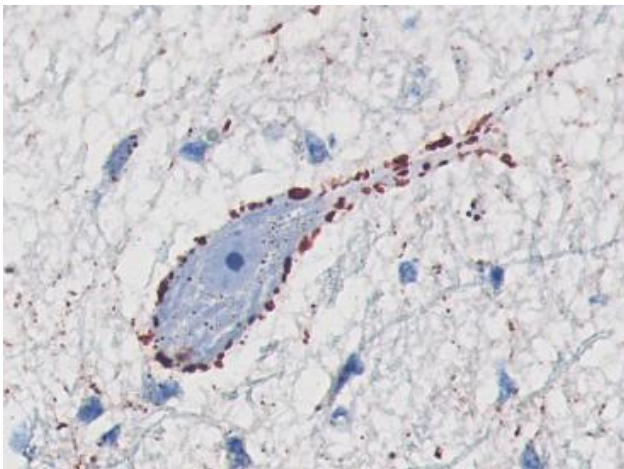


Abb.8: PrP^{Sc} ist als braune Ablagerung in der Cytoplasmamembran zu erkennen (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Anna Bencsik, AFSSA)

Eine Möglichkeit besteht darin, die Expression von PrP^C herunterzuregulieren und somit dem Konversionsprozeß den Rohstoff zu entziehen. PrP-knockout Mäuse können nicht mit TSEs infiziert werden (325). Als problematisch an dieser Strategie könnte sich die Tatsache erweisen, dass die Rolle, welche PrP^C im Körper spielt, noch immer unklar ist.

In Mäusen hat sich die postnatale Ausschaltung von PrP bewährt. Dies muß jedoch erfolgen, bevor das Absterben von Neuronen irreparable Schäden hervorrufen kann. Kognitive und neurophysiologische Defizite, die in diesem frühen Stadium bereits auftraten, bildeten sich dabei zurück (347).

Eine andere Möglichkeit ist der Abbau von bereits gebildetem PrP^{Sc}, z. B. durch sogenannte β -Sheet-Breaker (71, 348). Dieser Ansatz bezieht sich auf den Unterschied in der Konformation von PrP^C (hoher Anteil an α -Helix, wenig β -Faltblatt) und PrP^{Sc} (wenig α -Helix, hoher Anteil an β -Faltblatt) und versucht eine Rückreaktion (PrP^{Sc} \rightarrow PrP^C) einzuleiten.

Am einfachsten durchzuführen und für große Screenings ganzer Stoffklassen-Bibliotheken geeignet, aber am schwierigsten auf die Verhältnisse im Körper zu übertragen, sind zellfreie Reaktionsansätze, die die Interaktion von PrP^{Sc} mit potentiellen Therapeutika evaluieren.

Während Zelllinien (z. B. die murine Neuroblastomzelllinie ScN2a (349)) nur Aussagen über Neurone bestimmter Tierarten und bestimmter Prionstämme zulassen, können mit Primärkulturen Neuronen unterschiedlicher Herkunft (incl. transgener Tiere) und unterschiedliche Prionstämme untersucht werden (350). Außerdem eliminiert die Verwendung einer Primärkultur postmitotischer Neurone die Gefahr, die Reaktion immortalisierter Zellen auf pharmakologische Maßnahmen fehlzuinterpretieren (350). Allerdings kann es nach erfolgversprechenden Resultaten in Zellkultur noch immer zu enttäuschenden Befunden im Tierversuch kommen (351). Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass im Zellversuch meist der Abbau von PrP^{Sc} gemessen wird, aber nur ein kleiner Anteil der PrP^{Sc} Moleküle tatsächlich infektiös ist (352).

Als Substanzen, die mit der Prozessierung von PrP^C interagieren, wurden z. B. Peptide getestet, die sequenzhomolog mit dem aminoterminalen Ende von PrP sind (144). Gentherapeutische Ansätze verwenden lentivirale Vektoren, um den Prion-Antagonisten PrPFC₂ in die beteiligten Zellen einzuschleusen (353). Auch Impfungen mit PrP-Antikörpern erscheinen inzwischen denkbar (354).

Eine Vielzahl pharmakologisch aktiver Chemikalien wurden bereits für den Kampf gegen TSEs getestet. Die untersuchten Substanzen stammen aus den unterschiedlichsten Stoffklassen, wie z. B. Polyanione, Tetrapyrrone, Anthracycline, Antibiotika, Cystein Protease Inhibitoren, Acridin-Derivate und synthetische Peptide (355). Beispielhaft seien nur Edavaron-(3-Methyl-1-Phenyl-2-Pyrazolin-5-On)-Derivate (356), Chlorpromazin, Kongo Rot und das Amphotericin B-Derivat MS-8209 (350) genannt.

Für andere Indikationen bereits zugelassene Medikamente werden auch schon am Menschen getestet. Als Beispiele seien das Analgetikum Flupirtin (346) und das Malariatherapeutikum Quinacrin und seine Derivate (350, 351) genannt. Eine Übersicht über therapeutische Ansätze findet sich in (357).

Ausblick

Mit dem Begriff Prion ist meist das pathogene Agens gemeint, dessen Hauptbestandteil das Prionprotein PrP^{Sc} ist und das für Prionen-Krankheiten ursächlich verantwortlich ist. Inzwischen wurde die Fähigkeit, alternative Konformationen anzunehmen, auch bei anderen Proteinen entdeckt. Solche alternativ gefalteten Proteine (Prionen im weiteren Sinne) leiten sich nicht vom Prion Protein PrP ab, sind nicht not-

wendigerweise pathogen und kommen auch bei einfachen Eukaryonten vor. Konformationsänderungen könnten sogar ein natürliches Phänomen von Proteinen sein (71). Während schon heute weitere Erkrankungen bekannt sind (z. B. Morbus Alzheimer, M. Parkinson, M. Huntington), bei denen alternative Faltungen von Proteinen eine kausale Rolle spielen (358), ist mit dem zunehmend besseren Verständnis dieser Vorgänge damit zu rechnen, dass auch andere Krankheiten auf einen solchen Mechanismus zurückgeführt werden können (71).

Bereits 1994 zeichnete sich ab, dass der Begriff Prion bisher nur einen Teil des Ganzen repräsentiert haben könnte. Zu diesem Zeitpunkt beschrieb Reed Wickner (359) vergleichbare Mechanismen alternativer Faltung von Proteinen, die für Eigenschaften von Hefen verantwortlich waren, die auf nicht-mendelsche Art vererbt wurden. Diese Hefe-Prionen waren nicht pathogen und erweiterten das Konzept des Prions (360, 361). Die weitere Entdeckung von alternativen Proteinfaltungen zusammen mit der großen Stabilität der aus Umfaltungen resultierenden Proteine könnte schließlich eines Tages zu einer völlig neuen Vorstellung von Langzeit-Gedächtnis führen (362-367), die das ursprüngliche Konzept eines Prions als pathogenes Agens der TSEs nur noch als Erinnerung an die ersten wichtigen Entdeckungen der Prionenforschung erscheinen läßt.

Der Autor

Herr Kurt Schneider, 1959 geboren in Nürnberg
1978 Schulabschluß in Nürnberg, 1978-1984 Studium der Biologie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 1984-1985 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Pharmakologie der Heumann Pharma GmbH, Nürnberg, 1985-1986 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Physiologische und Klinische Forschung, Bad Nauheim, 1986-1987 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmakologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 1987-1988 Programmierer bei der Data-Team Datentechnik GmbH, Fürth, 1988-1991 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Zoologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 1991-2000 freiberuflicher Trainer für Unix Systemadministration, Programmiersprachen und Netzwerktechnologie, 1993-1994 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Genetik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 1999-2000 Studium der Mathematik an der Fernuniversität Hagen, 2000-2001 Geschäftsführer der EduNetworks GmbH, Ober-Ramstadt, seit 2002 wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Westdeutschen Kieferklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf



Hinweis:

Teil 1 dieses Beitrages beschreibt Geschichtliches, Enzephalopathien, Klinisches Bild, Differentialdiagnose, Erreger und den Ursprung von BSE. Der Beitrag ist kostenlos erhältlich unter:
<http://www.uni-duesseldorf.de/kojda-pharmalehrbuch/FortbildungstelegrammPharmazie/Fortbildungsartikel.html>

Weblinks

- 1) <http://de.wikipedia.org/wiki/Kontinentalverschiebung>
- 2) Online Mendelian Inheritance in Man
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
- 3) Online Mendelian Inheritance in Man: Creutzfeldt-Jakob Disease
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=123400>
- 4) Film eines CJD-Patienten
<http://www.youtube.com/watch?v=daU1Lx7q6hA>
- 5) Who Named It? Creutzfeldt-Jakob Disease
<http://www.whonamedit.com/synd.cfm/696.html>
- 6) Online Mendelian Inheritance in Man: Gerstmann-Sträussler Disease
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=137440>
- 7) Who Named It? Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome
<http://www.whonamedit.com/synd.cfm/2269.html>
- 8) Film über Kuru-Patienten
<http://www.youtube.com/watch?v=C8tmgpOiWRw>

- 9) Online Mendelian Inheritance in Man: Fatal Familial Insomnia
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=600072>
- 10) The Official Mad Cow Disease Home Page: Prion Point Mutations
http://www.mad-cow.org/prion_point_mutations.html
- 11) Fälle von CJD seit 1990
<http://www.cjd.ed.ac.uk/figures.htm>
- 12) Kurzer Film zum Gang Scrapie-kranker Schafe
<http://www.neurocenter-bern.ch/download/Gang.mpg>
- 13) Kurzer Film zum Verhalten Scrapie-kranker Schafe
<http://www.neurocenter-bern.ch/download/Verhalten1.mpg>
- 14) Kurzer Film zum Lippenspiel Scrapie-kranker Schafe
<http://www.neurocenter-bern.ch/download/Gnubbern.mpg>
- 15) Public Health Image Library
<http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>
- 16) Labor von Fred E. Cohen
<http://www.cmpharm.ucsf.edu/cohen/>
- 17) Risk assessment for vCJD and dentistry
http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_4084662

Literatur

Da zu beiden Teilen dieses Übersichtsartikel ein sehr ausführliches Literaturverzeichnis mit insgesamt 367 Zitaten gehört, finden Sie das gemeinsame Verzeichnis diesmal in einer separaten Datei unter:

<http://www.uni-duesseldorf.de/kojda-pharmalehrbuch/FortbildungstelegrammPharmazie/Fortbildungsartikel.html>

(siehe März 2009). Auf diese Weise bleibt der Seitenumfang des Artikels so begrenzt, dass ein sparsamer Ausdruck möglich ist.

Impressum:

<http://www.uni-duesseldorf.de/kojda-pharmalehrbuch/FortbildungstelegrammPharmazie/impressum.html>