

THEMEN DER ZEIT: Medizinreport

Prionen-Forschung und – Diagnostik: Vom BSE-Schnelltest bis zum Nachweis von Prionen im Blut

Deutsches Ärzteblatt 2000; Jg. 97, Heft 49, 8. Dezember 2000

[Meyer, Rüdiger](#)

.Eine Übersicht über den derzeitigen Stand der Wissenschaft und mögliche Diagnoseverfahren

diagnostických postupů

1.

Ursprünglich wurde ein Virus als Erreger der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE) vermutet, zu denen **Scrapie** beim Schaf, BSE beim Rind und höchstwahrscheinlich auch die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (vCJD) beim Menschen zählt. Schon bei Scrapie fiel jedoch auf, dass die Erreger erstaunlich widerstandsfähig waren gegen ionisierende Strahlung oder andere Methoden, welche Nukleinsäuren zerstören. Nukleinsäuren, also RNA oder DNA, sind unabdingbarer Bestandteil von Viren. Hinzu kam, dass niemals auch nur Spuren von Nukleinsäuren in den betroffenen Hirnarealen nachgewiesen werden konnten. Dafür aber umso mehr präzipitierte **vysrážené** Proteine, welche für die neuropathologischen Strukturen im Gehirn verantwortlich waren, die Jakob 1921 und Creutzfeldt 1920 als erste aufgefallen waren.

transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE) – Transmisivní spongiformní houbovorná encefalopatie (TSE).

Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (vCJD) - Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD)

Creutzfeldt-Jakobova nemoc/ choroba, spongiformní dystrofie lidské mozkové tkáně

Třídění CJD

- **familiární** - dědičná forma, dítě nese od rodiče poloviční riziko, že se v jeho životě onemocní projeví
- **sporadická** - sCJD, forma zapříčiněná samovolnými přeměnami v mozkové tkáni - Postihuje jedince, obvykle nad 60 let
- **variantní** - vCJD, forma zapříčiněná požitím tkáně (oči, mícha, mozek, ale i svaly a vnitřnosti) zvířete nakaženého BSE, scrapie, CWD, či FSE
- **iatrogenní** - forma zapříčiněná nedbalým lékařským zásahem

Scrapie – scrapie, klusavka drbavka

das Protein, -s –e - bílkovina

BSE- Bovinní spongiformní encefalopatie, nemoc šílených krav

Erreger – původce nemoci

Nukleinsäure - nukleová kyselina

präzipitierte – vysrážené

Präzipat - sraženina

Nukleová kyselina je biochemická makromolekulární látka tvořená polynukleotidovým řetězcem, který ve své struktuře uchovává genetickou informaci. Nukleové kyseliny tím určují program činnosti buňky a nepřímo i celého organismu.

Die **Präzipitation** von Antigenen und Antikörpern beschreibt eine immunologische Reaktion, bei der es durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen (ein *Immunpräzipitat*) zu einer Verklumpung (synonym Agglutination) und einer anschließenden Fällung (synonym *Präzipitation*) aus einer Lösung kommt. So kann mit Hilfe bekannter Antikörper ein Antigen nachgewiesen werden und umgekehrt.

r Klumpen - hrudka

Antikörper – protilátka, *immunoglobulin*

Ausfällung

vysrážení

widerstandsfähig - odolný

unabdingbar – nepostradatelný, nepopiratelný

betroffenen Hirnarealen – postižená část mozku

2.

Der Amerikaner STANLEY PRUSINER hat als erster aus der Not eine Tugend gemacht und die Proteine zum Erreger erklärt. Er nannte sie kleine „proteinaceous infectious particles“ (**Prione**), wofür er 1997 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet wurde. Heute nehmen die meisten Experten an, dass Prione die gesuchten Erreger der TSE sind. Die Besonderheit der Prione besteht darin, dass sie sich von einem normalerweise im Gehirn vorkommenden Protein kaum unterscheiden. Dieses Protein,

PrP(C) genannt, befindet sich auf der Oberfläche von Neuronen. Seine Aufgabe ist noch nicht bekannt. Es ist aber wichtig für die normale Funktion des Gehirns, denn Gen-Tiere ohne das normale PrP(C)-Protein erkranken schwer. Diese Knockout-Tiere erkranken jedoch niemals an TSE, unabhängig davon, wie viele krankheitsspezifische **Prionproteine PrP(sc)** man ihnen in das Gehirn injiziert. Deshalb glauben die Wissenschaftler, dass normales PrP(C) im Gehirn vorhanden sein muss, um eine TSE auszulösen.

aus der Not eine Tugend gemacht

Gen-Tiere – zviřata pouřivana pŕi genetickych pokusech

Knockout-Tiere – zviřata zbavena bilkoviny PrP(C)

injizieren – vstŕknout,

in|j|zi|ren <sw.ŷV.; hat> [lat. inicereŷ= hineinwerfen, einflößen] (Med.): *eine Flussigkeit, bes. ein flussiges Heilmittel, in den Korper einspritzen*: Kalzium in den Arm i.; Diabetiker injizieren sich das Insulin selbst.

3.

Nach der „Protein only“-Hypothese fuhrt das Zusammentreffen von pathologischem PrP(sc) und normalem PrP(C) dazu, dass das PrP(C)-Molekul seine Konformation andert und zum PrP(sc) wird. Das entstandene PrP(sc) kann dann weitere PrP(C) in die PrP(sc)-Konformation zwingen und so eine Kettenreaktion auslosen. Der Prozess fuhrt schließlich zur Ablagerung von „schwer verdaulichem Proteinmull“ im Gehirn und zu den bekannten neuropathologischen Veranderungen (Untergang von Nervenzellen, Vermehrung von Astrozyten, spongiforme Veranderungen).

die Konformation - konformace

molekula bilkoviny PrP(C) meni svou konformaci – konformace – prostorova struktura, nuti dali, aby pŕijaly strukturu PrP(sc)

Kettenreaktion auslosen – vyvolat řetezovou reakci

die Astrozyt -en – astrocyt

spongiform - houbovtvorny

Astrocyty ci **astroglie** jsou **buny** patŕici do skupiny **neuroglii**. Jsou to rozvetvene hvezdicovite podpurne buny s dlouhymi vybeřky.

4.

Die Diagnose der TSE gelingt meistens erst nach dem Tod. Einen spezifischen Labormarker gibt es nicht. Auch eine fruhzeitige Immunreaktion, die – wie bei Virusinfektionen – mit der Bildung von Antikorpern einhergehen **doprovazet** wurde, findet vermutlich nicht statt. Dies durfte daran liegen,

dass der Erreger sich von einem normalen Bestandteil nur in der **dreidimensionalen Gestalt**, der Konformation, unterscheidet, nicht aber in der Zusammensetzung der Proteine, also der Aminosäuresequenz.

der Labormarker – laboratorní marker

dreidimensionale Gestalt – trojrozměrná podoba

die Aminosäuresequenz – sekvence aminokyselin

5.

Auch die von den Forschern angefertigten monoklonalen Antikörper erkennen **rozpoznají** beide Varianten des Proteins. Es gibt aber Bemühungen, Antikörper zu finden, die spezifisch an das krankheitsauslösende PrP(sc) binden. Bindungsstelle könnten Abschnitte des Proteins sein, die sich in der PrP(sc)-Konformation an der Oberfläche befinden, beim PrP(C) aber im Innern verdeckt sind.

der monoklonalen Antikörper - monoklonální protilátka

krankheitsauslösend – choroboplodný

Abschnitte des Proteins – úseky proteinu

Bindungsstelle – místo navázání

6.

Dennoch **Avšak** ist auch mit den jetzigen monoklonalen Antikörpern eine Unterscheidung **odlišit** von PrP(C) und PrP(sc) möglich. Die bisherigen Tests nutzen **využívají** dabei die unterschiedlichen biologischen Eigenschaften von PrP(C) und PrP(sc) aus. Der Erreger **původce** PrP(sc) ist nämlich äußerst widerstandsfähig gegen die enzymatische Zersetzung durch Proteinasen. In den BSE-Schnelltests der Firma PRIONICS (und auch in den beiden Konkurrenztests) wird das homogenisierte Gewebe zunächst mit Proteinase versetzt. Dadurch werden die normalen PrP(C)-Moleküle zersetzt, während die PrP(sc) weitgehend intakt bleiben **(Grafik)**. Mithilfe der Elektrophore werden beide **jsou pak odděleny** Proteine dann getrennt. Die PrP(sc) wandern mit andern Proteinen gleicher Größe dann bis zu einem bestimmten Punkt, wo sie dann mit Antikörpern nachgewiesen werden **kde imunoglobuliny prokážou jejich přítomnost**. Die PrP(C)-Bruchstücke befinden sich an anderer Stelle des Elektrophorese-Gels, das vor der Markierung mit Antikörpern abgeschnitten wird. Nach Angaben der Firma PRIONICS, deren Schnelltest in Deutschland hauptsächlich angewendet wird, liegen Sensitivität und Spezifität bei 100 Prozent.

Proteinasen – proteáza *proteázami*

Zersetzung – rozložení, *chem. rozklad*

Elektrophore – **Elektrophorese – **elektroforéza****

zunächst mit Proteinase versetzt
se nejprve zředí proteázou

Sensitivität und Spezifität - *senzitivita, specificita testu*

versetzen – zředit, rozředit

7.

Dies bedeutet jedoch nicht, dass jeder Fall von BSE auch erkannt wird. Voraussetzung für ein positives Ergebnis ist, dass sich bereits eine gewisse Menge PrP(sc)-Präzipitate im Gehirn abgelagert haben. Dies ist erst im **Endstadium der Erkrankung**, bei Rindern frühestens nach 20 Monaten, der Fall.

Endstadium der Erkrankung – konečné stádium nemoci

8.

Vorher müssen PrP(sc) bereits im Körper vorhanden sein – auch im Blut, denn ein anderer Weg vom Gastrointestinaltrakt (wohin die Prionen mit der Nahrung zunächst gelangen) in das Gehirn ist kaum möglich. Damit wäre aber ein Szenario denkbar, in dem Menschen, die heute bereits an vCJD erkrankt sind, als Blutspender eine große Anzahl anderer Menschen infizieren. In diesem Zusammenhang sei daran erinnert **připomeňme**, dass es in den 70er- und 80er-Jahren vereinzelt Fälle einer iatrogenen Übertragung von Prionen gegeben hat.

der Gastrointestinaltrakt - es, -e – gastrointestinální trakt

vereinzelt Fälle – ojedinělé případy

Eine **iatrogene Infektion** ist eine Infektion, die im Rahmen ärztlicher Maßnahmen entstanden ist. Epidemiologisch wird davon unabhängig der Begriff *nosokomiale Infektion* verwendet, um auf die besonderen Entstehungsbedingungen in der Krankenhausumgebung hinzuweisen.

iatrogenní

Význam:

vyvolané lékařem, jeho neuváženým jednáním, špatným vyšetřením, chybným léčením

iatrogene Übertragung – iatrogenní přenos/infekce

Leukozytendepletion als Risikovorsorge bei Blutspenden

Deplece leukocytů jakožto prevence při transfuzích

9.

Bis 1987 erkrankten (vor allem in Japan) über 80 Menschen nach der Transplantation von kontaminierter Dura mater **kontaminované dura mater** an einer sporadischen Form der CJD. Weitere 55 Kinder erkrankten an der sporadischen CJD in Frankreich, den USA und Großbritannien nach der intramuskulären Injektion von Wachstumshormonen. Das infektiöse Material stammte aber jeweils aus menschlichen Gehirnen (Dura mater, Hypophyse).

Dura mater - tvrdá plena mozková, dura mater, též pachymeninx

Leukozytendepletion - deplece leukocytů

Leukozytendepletion

Unter der **Leukozytendepletion** (von **altgriechisch** ΛΕΥΚΟΣ *leukós* „weiß“, **altgriechisch** κύτος *cýtos* „Höhlung“, „Gefäß“, „Hülle“ und **lat.** *deplere* „ausleeren“) versteht man die Entfernung der **Leukozyten** aus Blutpräparaten vor der **Transfusion**.

10.

Eine Übertragung durch Bluttransfusionen hat es bisher nicht gegeben, auch nicht bei Patienten, die nachweislich Blutspenden von CJD-erkrankten Menschen erhalten haben. Dennoch hat die **úřad FDA** **FDA** schon 1987 alle Empfänger von menschlichen Hirnprodukten (also etwa Wachstumshormonen) von der Blutspende **dárcovství krve** ausgeschlossen. Nach Bekanntwerden des ersten Falles einer vCJD in Großbritannien hat die FDA als Erste reagiert.

FDA - Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (**anglicky**: *Food and Drug Administration, FDA*)

11.

Seit August 1999 sind alle Personen, die sich zwischen 1980 und 1996 länger als sechs Monate in Großbritannien aufgehalten haben, von der Blutspende ausgeschlossen. Andere Länder wie Kanada, Neuseeland und Japan haben sich dieser Maßnahme inzwischen angeschlossen. Anfang November forderten der Arbeitskreis Blut vom Robert Koch-Institut (RKI) und das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) ein ähnliches Verbot für Deutschland.

**...haben sich dieser Maßnahme inzwischen angeschlossen – ...se k těmto opatřením mezitím připojily
sich + Gen. anschließen**

Arbeitskreis Blut– pracovní skupina krevního výzkumu * - Amtssprache, Verwaltung -
Fachsprache

12.

Außerdem wurden alle Blutspendedienste aufgefordert, bereits jetzt eine Leukozytendepletion in Blutspenden durchzuführen, wofür ihnen bisher (aus Kostengründen) bis zum 1. Oktober 2001 Zeit gelassen wurde. Die Leukozytendepletion entfernt **odstraní** die weißen Blutkörperchen aus dem Blut. Das Verfahren sollte ursprünglich die Verträglichkeit von Blutspenden verbessern. Inzwischen wird aber diskutiert, dass PrP(sc) möglicherweise mithilfe von Leukozyten ins Gehirn gelangen könnten. Großbritannien hat die Leukodepletion bereits im Juli 1998 eingeführt. Im Mai dieses Jahres beschloss man **bylo rozhodnuto**, britische Spender nicht mehr für die Herstellung von Plasmaprodukten zuzulassen. **pro výrobu produktů z krevní plasmy**

13.

Aufgeschreckt wurden Transfusionsmediziner Ende September durch einen Bericht im Wissenschaftsmagazin LANCET. Britischen Forschern war es gelungen, ein Schaf durch eine Bluttransfusion eines anderen Schafes mit TSE zu infizieren. Das Blut stammte von einem BSE-infizierten Schaf. BSE führt beim Schaf zu ähnlichen Zeichen wie vCJD beim Menschen. Anders als BSE beim Rind, Scrapie beim Schaf und die sporadische CJD beim Menschen, ist bei BSE des Schafes und bei der vCJD nicht nur das Gehirn befallen.

Transfusionsmediziner – transfuzní lékaři

ist nicht nur das Gehirn befallen – není napaden pouze mozek

14.

PrP(sc) ist auch in anderen lymphoretikulären Organen wie Tonsillen und Appendix vorhanden – und offensichtlich auch im Blut in ausreichender Konzentration, um eine Erkrankung auszulösen. Bisher gibt es keinen Hinweis, dass einer der vCJD-Erkrankten in Großbritannien sich durch eine Bluttransfusion angesteckt haben könnte. Dennoch besteht dringender Bedarf **nalehavá potřeba nějakého testu** an einem Test. Die bisherigen Methoden sind hierfür nicht sensitiv genug, es gibt jedoch mehrere **Ansätze objevuje se však množství pokusů o metody nové**. Am weitesten ist nach einem Bericht von LANCET MARY JO SCHMERR vom NATIONAL ANIMAL DISEASE CENTER in Dayton im US-Staat Iowa. Ihr gelang es mit Hilfe von organischen Lösungsmitteln und einer speziellen Chromatographie, die Erreger im Blut so stark zu konzentrieren, dass sie mit einem Western-Blot **technikou imunoblot** nachweisbar waren. Mit dem Test wurden Prionen im Blut von Schafen und Elchen (sie erkrankten ebenfalls an einer Prionenerkrankung, dem chronic wasting syndrome) nachgewiesen. Laut LANCET wäre der Test **im Prinzip zásadně** auch für vCJD anwendbar.

Lymphoretikuläre Organe - lymforetikulární orgány

sind – im Gegensatz zu lymphoepithelialen Organen – nicht von einem Epithel umgeben. Sie besitzen eine gut ausgeprägte Organkapsel, denn sie sind „unabhängig“ vom umgebenden Gewebe und geben ihre Lymphozyten an das Blut meist über hochendotheliale Venolen ab. Zu den lymphoretikulären Organen gehören die Lymphknoten lymfatické uzliny und die Milz slezina.

organischen Lösungsmitteln - organické rozpouštědlo

Chromatographie – chromatografie

Western Blot (v české literatuře též označovaný jako imunoblot) je analytická technika používaná k detekci specifického proteinu ve směsi s dalšími proteiny, např. ve vzorku homogenátu tkáně či jiného biologického vzorku

r Elch –es, -e - los

15.

Noch sensitiver wäre möglicherweise ein Test, den Forscher des Max-Planck-Instituts für Biophysikalische Chemie entwickelt haben. Dabei werden die Prionen mit fluoreszierenden Antikörpern markiert. Die entsprechende Farbreaktion kann mit einem Laserlicht induziert und gemessen werden. Nach einer Pressemitteilung der Klinik können sogar einzelne Prionen in Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden. Im Liquor von an CJD erkrankten Patienten wurden so bereits Prionen nachgewiesen.

fluoreszierendes Antikörper – fluorescenční protilátka

in|du|zie|ren <sw.ÿV.; hat> [lat. inducereÿ= hineinführen]:

3. (Fachspr.) *bewirken, hervorrufen, auslösen*: eine Krankheit i.

induzieren – vyvolat

die Körperflüssigkeit – tělní tekutina

Liquor cerebrospinalis

Der **Liquor cerebrospinalis** (Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit, Zerebrospinalflüssigkeit,

Liquor - mozkomíšní mok

16.

Unklar ist die Bedeutung der Ergebnisse, die ADRIANO AGUZZI und Mitarbeiter am Universitätsspital Zürich in NATURE vorstellten (23. Oktober 2000). **Nejasné zůstává, jaký význam budou mít...** Die Gruppe überzog kleine Magnetkugeln mit verschiedenen Plasmaproteinen, um festzustellen, an welchen Eiweißen Prionen bevorzugt binden. Dabei stellte sich überraschend heraus, dass Plasminogen selektiv pathologisches PrP(sc), nicht aber normales PrP(C) bindet. Diese Erkenntnis könnte nun zur Entwicklung eines Tests führen. Die Methode wäre im Prinzip sogar geeignet, um

infizierte Blutproben vom Erreger zu trennen.

s Plasmaprotein – plazmatická bílkovina

Plasmin wird in einer Vorstufe als Plasminogen von der Leber synthetisiert und in die Blutbahn ausgeschüttet und ist als solches auch messbar.

s Plasminogen, e – plazminogen, zymogen

17.

Von einem klinischen Einsatz **klinické použití, využití v klinické praxi** ist die Methode aber noch weit entfernt. Die Studie wurde mit Prionen aus Mäusehirnen durchgeführt. Es ist noch nicht sicher, ob die vCJD-Prionen ebenfalls erkannt werden. Möglich ist auch, dass die Prionen im Blut sich von denen im Gehirn unterscheiden. Dennoch: Ein Bluttest wäre ein großer Fortschritt, **und sei es, um die gegenwärtige Unsicherheit bezüglich einer möglichen Epidemie zu klären. už jen proto, že by rozptýlil současnou nejistotu ohledně možné epidemie.**

18.

In Ermangelung eines Tests **Jelikož žádný test dosud neexistuje** prüfen britische Forscher, ob sich Erreger in 18 000 archivierten Gewebeproben von Appendizes und Tonsillen finden. Dabei finden herkömmliche immunohistochemische Verfahren Anwendung, die nicht sehr sensitiv sind. Aber 1998 waren bei einem Patienten mit vCJD mit dem Test Prionen in den Tonsillen entdeckt worden. Der Patient war acht Monate vor dem Ausbruch der Krankheit tonsillektomiert **byla provedena tonsilektomie** worden. Bisher handelt es sich um einen Einzelfall. Unter den 3 170 Proben, die Mitte des Jahres ausgewertet waren, wurden keine weiteren Infektionen gefunden. Dies ist zwar beruhigend, schließt aber wiederum nicht aus, dass eine Epidemie größeren Ausmaßes bereits begonnen hat.

Tonsillektomie bezeichnet die vollständige **chirurgische** Entfernung der **Gaumenmandel**

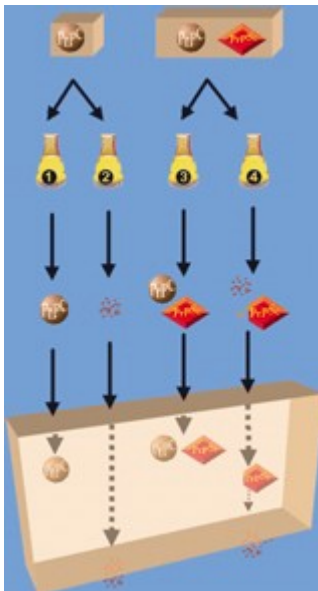
Tonzilektomie (též tonsilektomie) je **chirurgický** zákrok, při kterém se odstraňují **tonzily** (*tonsily, párové krční mandle*).

Rüdiger Meyer



Für den BSE-Schnelltest wird ein etwa 0,5 Gramm schweres Stück Gewebeprobe mit einer speziellen Flüssigkeit homogenisiert.

0,5 Gramm schweres Stück Gewebeprobe – půlgramový vzorek tkáně



BSE-Schnelltest: Die verflüssigte Gewebeprobe wird einer Protease-Behandlung unterzogen, bei der PrP(C) zerstört wird (Kolben 2 und 4, Kolben 1 und 3 sind unbehandelt). Das verdauungsresistente Prionprotein PrP(sc) wird nun in einem Immunoblotting-Verfahren nachgewiesen.

verflüssigen – zkapalnět, kondenzovat

Protease-Behandlung unterzogen – se podrobí zkoušce proteázou

Kolben 1 und 3 sind unbehandelt – ošetřeny proteázou nebyly

verdauungsresistente Prionprotein PrP(sc) – těžko rozložitelné prionové proteiny ...

der Kolben – píst, baňka