

## THEMEN DER ZEIT: Medizinreport

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

Dtsch Arztebl 2000; 97(49): A-3314 / B-2794 / C-2594

[Meyer, Rüdiger](#)

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

**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 Proteine, welche für die neuropathologischen Strukturen im Gehirn verantwortlich waren, die Jakob 1921 und Creutzfeldt 1920 als erste aufgefallen waren.

**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.

**3.**

Nach der „Protein only“-Hypothese führt das Zusammentreffen von pathologischem PrP(sc) und normalem PrP(C) dazu, dass das PrP(C)-Molekül seine Konformation ändert und zum PrP(sc) wird. Das entstandene PrP(sc) kann dann weitere PrP(C) in die PrP(sc)-Konformation zwingen und so eine Kettenreaktion auslösen. Der Prozess führt schließlich zur Ablagerung von „schwer verdaulichem Proteinmüll“ im Gehirn und zu den bekannten neuropathologischen Veränderungen (Untergang von Nervenzellen, Vermehrung von Astrozyten, spongiforme Veränderungen).

**4.**

Die Diagnose der TSE gelingt meistens erst nach dem Tod. Einen spezifischen Labormarker gibt es nicht. Auch eine frühzeitige Immunreaktion, die – wie bei Virusinfektionen – mit der Bildung von Antikörpern einhergehen würde, findet vermutlich nicht statt. Dies dürfte 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.

**5.**

Auch die von den Forschern angefertigten monoklonalen Antikörper erkennen 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.

**6.**

Dennoch ist auch mit den jetzigen monoklonalen Antikörpern eine Unterscheidung von PrP(C) und PrP(sc) möglich. Die bisherigen Tests nutzen dabei die unterschiedlichen biologischen Eigenschaften von PrP(C) und PrP(sc) aus. Der Erreger 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 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. 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.

**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.

**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, dass es in den 70er- und 80er-Jahren vereinzelt Fälle einer iatrogenen Übertragung von Prionen gegeben hat.

## **Leukozytendepletion als Risikovorsorge bei Blutspenden**

**9.**

Bis 1987 erkrankten (vor allem in Japan) über 80 Menschen nach der Transplantation von kontaminierter 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).

**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 FDA schon 1987 alle Empfänger von menschlichen Hirnprodukten (also etwa Wachstumshormonen) von der Blutspende ausgeschlossen. Nach Bekanntwerden des ersten Falles einer vCJD in Großbritannien hat die FDA als Erste reagiert.

**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.

**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 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, britische Spender nicht mehr für die Herstellung von Plasmaprodukten zuzulassen.

**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.

**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 an einem Test. Die bisherigen Methoden sind hierfür nicht sensitiv genug,

es gibt jedoch mehrere Ansätze. Am weitesten ist nach einem Bericht von Lancet Mary Jo Scherr 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 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 auch für vCJD anwendbar.

#### 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.

#### 16.

Unklar ist die Bedeutung der Ergebnisse, die Adriano Aguzzi und Mitarbeiter am Universitätsspital Zürich in Nature vorstellten (23. Oktober 2000). Die Gruppe überzog kleine Magnetkügelchen 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.

#### 17

Von einem klinischen Einsatz 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.

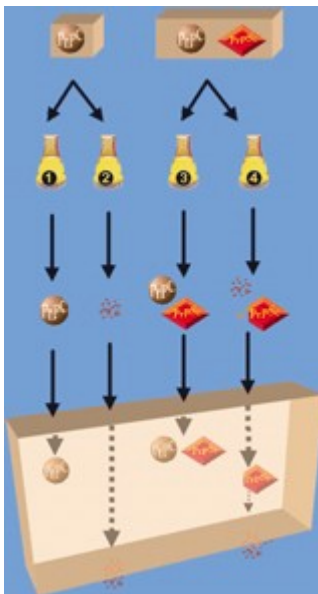
#### 18.

In Ermangelung eines Tests prüfen britische Forscher, ob sich Erreger in 18 000 archivierten Gewebeproben von Appendixes und Tonsillen finden. Dabei finden herkömmliche immunhistochemische 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 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.

**Rüdiger Meyer**



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



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.