

Aus der Abteilung Neurologie
(Prof. Dr. med. M. Bähr)
im Zentrum Neurologische Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Doxycyclin bei der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Fabian Fincke

aus Hannover

Göttingen 2010

Dekan:

Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatterin:

Prof. Dr. med. I. Zerr

II. Berichterstatterin:

Priv.-Doz. Dr. med. A. Schneider

III. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung:

05. April 2011

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	8
1.1. Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	8
1.1.1. Geschichte	9
1.1.2. Pathophysiologie	10
1.1.3. Formen von Prionerkrankungen	12
1.1.4. Der klinische Verlauf	13
1.1.5. Diagnostik der CJK	14
1.1.6. Einflussfaktoren des klinischen Verlaufs	15
1.1.7. Subtypen der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	16
1.2. Therapieoptionen bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	18
1.2.1. Tetracycline und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	19
1.2.2. Der Anti-Prion-Effekt von Tetracyclinen	20
1.2.3. Bisherige Beobachtungen bezüglich Doxycyclin bei Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	22
1.2.4. Doxycyclin bei sporadischer CJK in Deutschland	23
1.3. Zielsetzung dieser Arbeit	24
2. Material und Methoden	25
2.1. Doxycyclin	25
2.1.1. Postulierte Wirkweise von Doxycyclin bei Prionerkrankungen	26
2.2. Prozess der Datenerhebung	26
2.3. Das Kollektiv	27

2.3.1.	Bestimmung des Symptombeginns	27
2.3.2.	Kriterien für die Einbeziehung in das mit Doxycyclin behandelte Kollektiv	28
2.3.3.	Das „30-Tage-Fenster“	28
2.4.	Das Kontrollkollektiv	28
2.4.1.	Kriterien für die Einbeziehung in das Kontrollkollektiv	29
2.4.2.	Anpassung des Kontrollkollektivs an das behandelte Kollektiv	29
2.5.	Parameter für die Krankheitsprogression	30
2.5.1.	Definiton: Verlust der eigenständigen Ernährung	30
2.5.2.	Definition: Verlust der Sphinkterkontrolle	30
2.5.3.	Definition: Verlust der Sprache	30
2.5.4.	Definition: Verlust der Mobilität	30
2.5.5.	Definition: akinetischer Mutismus	31
2.5.6.	Kriterien für die Einbeziehung in die Auswertung	31
2.6.	Statistische Methodik	31
2.6.1.	Festlegung der Grenzwerte für die Interpretation statistischer Signifikanzen	32
2.6.2.	Interpretation des Korrelationskoeffizienten	32
2.6.3.	Umgang mit zensierten Daten	32
2.6.4.	Verwendete Computerprogramme	32
3.	Ergebnisse	33
3.1.	Die untersuchten Patientenkollektive	33
3.2.	Vergleich der Überlebenszeiten beider Kollektive	34
3.3.	Einfluss der bekannten Prädiktoren auf die Überlebenszeit	35
3.3.1.	Überlebenszeiten nach Geschlecht	35
3.3.2.	Überlebenszeiten nach Altersgruppen	36
3.3.3.	Überlebenszeiten nach <i>PRNP</i> -Codon-129-Genotyp	41
3.4.	Vergleich der klinischen Endpunkte beider Kollektive	44
3.4.1.	Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung	44

3.4.2.	Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle	45
3.4.3.	Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache	47
3.4.4.	Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität	48
3.4.5.	Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus . . .	49
3.4.6.	Zusammenfassung der Krankheitsprogression	50
3.5.	Multivariate Analyse	50
3.6.	Auftreten der klinischen Endpunkte	51
3.7.	Versuch einer klinischen Prionprotein-Subtypen-Bestimmung	53
3.8.	Untersuchung des Behandlungszeitpunktes	54
3.9.	Zusammenfassung der Ergebnisse	55
4.	Diskussion	57
4.1.	Die untersuchten Patientenkollektive	57
4.1.1.	Vergleich des Kontrollkollektivs mit Literaturdaten	58
4.2.	Überlebenszeiten	60
4.2.1.	Auswirkungen des Faktors „Geschlecht“	61
4.2.2.	Auswirkungen des Faktors „Alter“	62
4.2.3.	Auswirkungen des Faktors „ <i>PRNP</i> -Codon-129-Genotyp“	63
4.3.	Krankheitsprogression	64
4.4.	Einfluss des Behandlungsbeginns	65
4.5.	Effekt von Doxycyclin bei CJK	66
4.6.	Offene Fragen	67
4.7.	Schlussfolgerungen	68
5.	Zusammenfassung	70
6.	Tabellenverzeichnis	72
7.	Abbildungsverzeichnis	74

Anhang	76
A. Diagnostische Kriterien der sporadischen CJK	77
B. Zusammenfassung: Endpunkte	78
B.1. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung	78
B.2. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle	79
B.3. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache	80
B.4. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität	81
B.5. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus	82
Literaturverzeichnis	83

Abkürzungsverzeichnis

BSE	Bovine spongiforme Enzephalopathie
CJK	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
fCJK	familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
FFI	engl. Fatal Familial Insomnia, dt. letale familiäre Insomnie
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom
K _{DOXY}	Doxycyclin-behandeltes Patientenkollektiv
K _{KTRL}	Kontrollkollektiv (historisch)
kDa	kiloDalton
Konf.	Konfidenzintervall
MM	Homozygot für Methionin am Codon 129 des Prionproteingens
MRT	Magnetresonanztomographie
MV	Heterozygot (Methionin/Valin) am Codon 129 des Prionproteingens
NRZ	Nationales Referenzzentrum
PRNP	Prionproteingens
PrP	Prionprotein
PrP ^C	physiologisches Prionprotein, C=cellular, zellulär
PrP ^{Sc}	pathologisches Prionprotein, Sc=Scrapie
sCJK	sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
SE	standard error, Standardfehler
TSE	Transmissible Spongiforme Enzephalopathie
VV	Homozygot für Valin am Codon 129 des Prionproteingens

1. Einleitung

1.1. Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist eine neurodegenerative Erkrankung aus der Gruppe der humanen spongiformen Enzephalopathien (TSE). Als zugrunde liegender Pathomechanismus wird die Ablagerung von fehlgeformten Eiweißen, sog. Prionproteinen (PrP), angenommen. Krankheiten, bei denen eben dieser Pathomechanismus angenommen wird, werden auch unter dem Oberbegriff Prionerkrankungen zusammengefasst. Prionerkrankungen kommen bei Menschen und anderen Säugetieren vor und zeichnen sich durch einen übertragbaren und vermutlich nur aus Protein bestehenden „Erreger“ aus (Prusiner 1982).

Die Erkrankung wird weltweit mit einer Inzidenz von etwa 1 - 1,5 pro Million pro Jahr angegeben und ist damit im Vergleich zu anderen neurodegenerativen Erkrankungen vergleichsweise selten. In Deutschland gibt es jährlich etwa 140 Neuerkrankungen (Heinemann et al. 2007). Neuropathologisch charakteristisch sind ein diffuser Verlust von Nervenzellen, das Auftreten von spongiformen Auflockerungen des Nervengewebes, eine reaktive Astrogliose sowie Ablagerungen von pathologischem Prionprotein (Budka 2003). Klinisch imponiert die CJK durch eine rasch progrediente dementielle Entwicklung, cerebelläre Ataxie, Myoklonien, Störungen von motorischen Systemen (dem pyramidalen und extrapyramidalen System) und den akinetischen Mutismus. Bis heute ist keine Heilung bekannt und die Erkrankung endet immer letal. Die mittlere Überlebensdauer nach Beginn der Symptomatik beträgt nach Literaturangaben etwa 6 Monate. Frauen sind insgesamt häufiger als Männer betroffen (Pocchiari et. al. 2004).

1.1.1. Geschichte

Der Begriff Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, kurz CJK (später auch CJD, d=disease), wurde von Spielmann eingeführt und bezieht sich auf eine von H. G. Creutzfeldt und A. Jakob in den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts unabhängig voneinander beschriebene bis dato unbekannte neurodegenerative Erkrankung (Creutzfeldt 1920, Jakob 1921). Neuropathologisch imponierte v.a. eine ungewöhnliche spongiforme Auflockerung des zentralen Nervengewebes und klinisch zeichnete sich die Krankheit durch einen besonders rapiden Verlauf unter Miteinbeziehung verschiedener neurologischer Systeme aus. In den folgenden Jahrzehnten wurden Gemeinsamkeiten mit anderen Erkrankungen, wie z.B. der seit Jahrhunderten bekannten und bei Schafen vorkommenden Scrapie-Erkrankung, beobachtet. Bei Scrapie wurde aufgrund des endemischen Auftretens innerhalb von Schafherden und die Beobachtung des natürlichen Verlaufes (im Sinne einer Ausbreitung innerhalb von Schafpopulationen) schon seit längerem eine Übertragbarkeit angenommen. Diese wurde erstmals 1939 tierexperimentell demonstriert (Cuille und Chelle 1939). Des Weiteren war auffällig, dass in einigen Fällen ganze Familien von der CJK betroffen waren. Eine erbliche Komponente schien also möglich (Prusiner 1998).

1957 konnte D.C. Gajdusek den Übertragungsweg von Kuru, einer auf Papua-Neuginea endemischen, der CJK ähnlichen Krankheit, aufklären (Gajdusek und Zigas 1957). Gajdusek stellte die Hypothese auf, dass die Erkrankung durch eine Form von rituellem Kannibalismus übertragen wurde, bei dem Angehörige eines Verstorbenen im Rahmen einer Trauerzeremonie das Gehirn des Verstorbenen konsumierten. Durch den Kontakt mit infiziertem Gewebe, also dem Gehirn eines an Kuru Verstorbenen, wurde die Krankheit übertragen. Die auf diesem Weg Infizierten entwickelten nach einer Inkubationszeit von 5-50 Jahren die Symptome der Kuru-Krankheit (Alpers 2008).

In den 60er Jahren konnten Gajdusek und Gibbs außerdem in Tierexperimenten zeigen, dass sich die Krankheit bzw. der verantwortliche Erreger, durch intracerebrale Inokulation von einem auf ein anderes Tier übertragen ließ (Gibbs et al. 1968). Aufgrund dieser Beobachtungen wurde der Begriff der transmissiblen spongiformen Enzephalopathie geprägt. Während der folgenden Jahre konnte eine Arbeitsgruppe um Tikvah Alper

und J.S. Griffith zeigen, dass der Erreger von Scrapie auch nach radioaktiver Bestrahlung weiter infektiös blieb. Dies stellte eine Besonderheit dar, weil die vorgenommene Bestrahlung im Normalfall alle Nukleinsäuren zerstört und damit herkömmliche Erreger wie Protozoen, Pilze, Bakterien oder Viren abgetötet hätte. Anhand dieser Beobachtungen wurde erstmals die Vermutung geäußert, dass es sich möglicherweise um einen nur aus Protein bestehenden Erreger handeln könnte, was prinzipiell ein Novum in der Molekularbiologie darstellte (Prusiner 1998, Weissmann et al. 2002).

In den folgenden Jahren gelang es einer Forschungsgruppe um S.B. Prusiner, den Erreger der später als Prionerkrankungen bekannten Krankheitsgruppe weiter zu charakterisieren. Prusiner konnte zeigen, dass es sich bei dem Erreger anscheinend um eine in seiner Tertiärstruktur pathologisch konformierte (gefaltete) Form eines physiologisch vorkommenden Proteins handelt (Prusiner 1982). Für dieses Protein codiert das *PRNP*-Gen auf Chromosom 20. Prusiner prägte damals das Akronym Prion, welches für *proteinaceous infectious particle without nucleic acid* steht. Im Jahr 1997 erhielt S.B. Prusiner den Nobelpreis für Medizin und Physiologie für seine Forschungsarbeit an Prionen und die Entdeckung eines vorher nicht bekannten biologischen Prinzips.

1.1.2. Pathophysiologie

Es wird angenommen, dass bei Prionerkrankungen wie der CJK die Aggregation von fehlgeformten Eiweißen, sog. Prionproteinen (PrP) im Bereich des zentralen Nervensystems, den entscheidenden pathophysiologischen Effekt darstellt. Das menschliche Prionprotein besteht aus 209 Aminosäuren, für die das *PRNP*-Gen auf Chromosom 20 kodiert, und hat ein Molekulargewicht von 35-36 kDa. Das Prionprotein kommt in mindestens zwei bekannten Isoformen vor, einer physiologischen und einer pathologischen Form. Es wird angenommen, dass die physiologische Form durch posttranslationale Konversion in die pathologische Form überführt wird. Beide Formen unterscheiden sich voneinander aufgrund der Konformation ihrer Tertiärstruktur und damit verbundenen unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften (Prusiner 1991).

Die physiologische oder nativ konformierte Form, die auch als PrP^C bezeichnet wird (wobei das C für „cellular“ steht), findet sich hauptsächlich in Nervenzellen. Die genaue physiologische Funktion des Proteines ist bis heute noch unklar, eine Beteiligung am Kupferstoffwechsel sowie bei der Modulation von oxidativem Stress wird angenommen (Brown et al. 1999) Es existieren unterschiedlich lokalisierte Formen an der Zelloberfläche sowie als transmembranöses Protein. In milden Detergenzien besteht eine gute Löslichkeit und ein Abbau (bzw. eine Spaltung) erfolgt durch das Enzym Proteinkinase K. Hinsichtlich der molekularen Tertiärstruktur ist PrP^C reich an α -Helices (Prusiner 1998).

Die pathologische, fehlgeformte Form wird auch als PrP^{Sc} bezeichnet, wobei das Sc für „Scrapie“, eine bei Schafen vorkommende Prionerkrankung steht, bei der die pathologische Form des Prionproteins erstmals beschrieben wurde. Diese Form kommt ausschließlich in erkranktem Gewebe (insbesondere Nervengewebe) vor, ist schlecht wasserlöslich und neigt zur Aggregation. Es besteht eine partielle Resistenz gegenüber der Proteinkinase K (Aguzzi und Heikenwalder 2006). Bezüglich der molekularen Tertiärstruktur überwiegt im Gegensatz zur physiologischen Form die β -Faltblattstruktur. Des Weiteren wird angenommen, dass PrP^{Sc} in der Lage ist, durch Interaktion mit PrP^C eine Konformationsänderung zugunsten der pathologischen Form zu bewirken. Diese Neubildung von pathologischem Prionprotein führt zu weiterer Aggregation mit Schädigung des umliegenden Gewebes (Riesner 2003). Dieser Mechanismus kann als infektiöse Eigenschaft von PrP gemäß der Prionhypothese interpretiert werden. Tabelle 1.1 zeigt eine Übersicht der (Haupt-) Unterschiede zwischen beiden Isoformen.

Tabelle 1.1.: Unterschiede zwischen PrP^C und PrP^{Sc}

Eigenschaft	PrP^C	PrP^{Sc}
Proteinase K	sensitiv	partiell resistent
Wasserlöslichkeit	Ja	Nein
Struktur	reich an α -Helices	reich an β -Faltblättern
Aggregation	Nein	Ja

1.1.3. Formen von Prionerkrankungen

Auf Basis der postulierten Ätiologie können verschiedene Formen der CJK unterschieden werden. Die unterschiedlichen Formen unterscheiden sich, abgesehen von der Ätiologie, auch durch andere Faktoren wie Krankheitsdauer, Krankheitsverlauf oder das Alter bei Symptombeginn voneinander.

Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJK)

Diese Form stellt die am häufigsten bei Menschen vorkommende Prionerkrankung (ca. 85% aller humanen Prionerkrankungen) dar und entspricht am ehesten dem klassischen klinischen Bild. Bis heute konnten keine kausalen Auslöser der Erkrankung identifiziert werden. Pathophysiologisch wird eine spontane Umfaltung vom normalen/physiologischen Prionprotein PrP^C zu der korrespondierenden pathologisch konformierten Form PrP^{Sc} angenommen (Prusiner 1998). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 66 Jahren, die Überlebenszeit nach Symptombeginn liegt bei etwa 6 Monaten und Frauen sind um den Faktor 1.5 häufiger betroffen (Pocchiari et al. 2004).

Die genetisch bedingten Prionkrankheiten

Bei genetischen Prionerkrankungen findet sich eine pathogene Mutation in dem für das Prionprotein kodierenden Gen (*PRNP*). Zu dieser Gruppe gehören die familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (fCJK), die letale familiäre Insomnie (engl. Fatal Familial Insomnia, kurz FFI) und das Gerstmann-Sträußler-Scheinker-Syndrom (GSS). Es wird angenommen, dass aufgrund der Mutation im kodierenden Gen ein instabiles Prionprotein PrP^C gebildet wird, welches eine erhöhte Anfälligkeit zur spontanen Umfaltung zu PrP^{Sc} aufweist. Die genetischen Prionerkrankungen weisen eine verhältnismäßig große Heterogenität hinsichtlich des Krankheitsverlaufes und des Erkrankungsalters auf. Während z.B. eine auf einer E200K-Mutation basierende fCJK vom Verlauf her einer sporadischen Form ähnelt, werden beim GSS eine deutlich längere Überlebenszeit und eine abweichende, klinische Präsentation beobachtet. Alle (bisher bekannten) genetischen Prionerkrankungen werden autosomal-dominant vererbt (Windl et al. 1999).

Die infektiös bedingten Prionerkrankungen

Infektiös bedingte Prionerkrankungen zeichnen sich dadurch aus, dass der Erreger PrP^{Sc} den betroffenen Organismus von außen erreicht. Zu dieser Gruppe gehören die iatrogene CJK, die Kuru-Krankheit und die neue Variante der CJK.

Von iatrogener CJK wird gesprochen, wenn der auslösende Erreger (PrP^{Sc}) durch medizinische Interventionen auf den Organismus des erkrankten Individuums übertragen worden ist. In der Literatur sind mehrere Fälle beschrieben, bei denen es nach Eingriffen wie z.B. Dura-mater-Transplantationen, Kornea-Transplantationen oder der Behandlung mit Wachstumshormon aus Hypophysen von Verstorbenen zu einer Übertragung zwischen Individuen gekommen ist (Will 2003).

Bei der schon in 1.1.1 erwähnten Kuru-Krankheit, die bis in die 50er Jahre des letzten Jahrhunderts in einigen Gebieten Papua-Neuguineas endemisch war, wird angenommen, dass die Übertragung durch den rituellen Verzehr von Hirnsubstanz Verstorbener bedingt wird (Alpers 2008).

Bei der sogenannten neuen Variante der CJK (vCJK) wird davon ausgegangen, dass eine Übertragung der bei Rindern vorkommenden bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) auf den Menschen, wahrscheinlich verursacht durch den Verzehr von BSE-kontaminiertem Rindfleisch, ursächlich ist. Bis heute liegen Berichte über insgesamt mehrere Hundert Fälle der neuen Variante der CJK aus verschiedenen Ländern vor (Collinge 1999).

1.1.4. Der klinische Verlauf

Das klinische Bild der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist relativ heterogen. Typische Symptome sind eine rasch fortschreitende dementielle Entwicklung, Störungen der Koordination (Ataxie), Sehstörungen, Dysfunktionen von motorischen Systemen (pyramidales/extrapyramidales System), unwillkürliche Muskelzuckungen (Myoklonien) und in späten Stadien die vollständige Unfähigkeit der Betroffenen, sich zu bewegen und zu sprechen (akinetischer Mutismus). In der Regel beginnt die Erkrankung mit dezenten kogniti-

ven, psychiatrischen oder fokal-neurologischen Defiziten in einzelnen Bereichen (Zerr und Poser 2002). Innerhalb kurzer Zeit (Wochen bis Monate) kommt es zu einer dramatischen Verschlechterung und es entwickeln sich weitere Symptome bis zum Vollbild der Erkrankung. Im Verlauf der tödlichen Krankheit verlieren die Betroffenen in der Regel die Fähigkeit, sich selbständig zu ernähren, zu sprechen, sich zu bewegen, sowie die Blasen-Mastdarmkontrolle. Die mittlere Krankheitsdauer der sporadischen Form, von Symptombeginn bis zum Tod, beträgt 6 Monate (Heinemann et al. 2007) Betroffene Patienten versterben oft im Rahmen von, durch den schlechten Allgemeinzustand bedingten, Infektionen oder durch vegetative Dysregulation.

1.1.5. Diagnostik der CJK

Die definitive Diagnose der CJK kann nur nach neuropathologischer Beurteilung von Gewebe des zentralen Nervensystems gestellt werden (z.B. nach einer Autopsie oder bei einer Biopsie). Die klinische Diagnose der CJK wird mit Hilfe von etablierten Diagnosekriterien anhand des klinischen Bildes unter Berücksichtigung der Ergebnisse verschiedener apparativer Untersuchungen gestellt. Besonders wichtige Untersuchungen beinhalten neben einer Beurteilung des klinischen Bildes und einer ausführlichen Anamneseerhebung, die Magnetresonanztomographie des Gehirns (Tschampa et al. 2005), die Elektroenzephalographie (Steinhoff et al. 2004) und die Untersuchung des Liquor cerebrospinalis, dabei insbesondere die Bestimmung der Proteine 14-3-3 (Zerr et al. 2000). Die Diagnose von familiären Formen der CJK kann durch Nachweis einer pathogenen Mutation im *PRNP*-Gen gestellt werden (Zerr und Poser 2002).

Klassifikationskriterien

Um eine klinische Diagnosestellung ohne neuropathologische Gewebsuntersuchung zu ermöglichen, wurden klinische Kriterien eingeführt. Die vorliegende Symptomatik und die Ergebnisse der Zusatzdiagnostik erlauben eine Klassifikation als: sicherer Fall (neuropathologisch gesichert), wahrscheinlicher Fall oder möglicher Fall. Eine Übersicht über die Klassifikationskriterien findet sich im Anhang unter A (WHO 1998, Zerr et al. 2000).

In epidemiologischen Studien konnte bei dem Vergleich von klinischen Klassifikationen und Autopsie-Resultaten gezeigt werden, dass 95-100% aller als wahrscheinlich klassifizierten Fälle definitiv an der sCJK erkrankt waren (Heinemann et al. 2007).

Neuere Daten belegen einen hohen diagnostischen Wert von Magnetresonanztomographien, insbesondere die Darstellung von hyperintensiven Basalganglien in T2-, FLAIR- und diffusionsgewichteten Sequenzen (Tschampa et al. 2005). Eine Modifikation der diagnostischen Klassifikationskriterien, die neben den bekannten Kriterien auch die Ergebnisse von Kernspintomographien einbezieht, wurde 2009 von Zerr et al. vorgeschlagen.

1.1.6. Einflussfaktoren des klinischen Verlaufs

Für die sporadische Form der CJK konnten verschiedene Faktoren identifiziert werden, die einen Einfluss auf den klinischen Krankheitsverlauf und die Krankheitsdauer haben. Dazu gehören der *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus und der Prionproteintyp im Westernblot (Gambetti et al. 2003). Weiter konnte in multizentrisch angelegten epidemiologischen Studien gezeigt werden, dass ein frühes Erkrankungsalter sowie weibliches Geschlecht die Überlebenszeit modifizieren (verlängern). Hinsichtlich der Einflussgröße der einzelnen Faktoren konnte der *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus als Faktor mit dem größten Einfluss bestimmt werden, der zweitgrößte Faktor ist der Prionproteintyp (Pocchiari et al. 2004).

Der Codon-129-Polymorphismus des *PRNP*-Gens

Der wichtigste Polymorphismus des *PRNP*-Gens findet sich am Codon 129, dort wird für Valin oder Methionin kodiert. Dieser Polymorphismus nimmt eine besondere Rolle ein und beeinflusst die Krankheitspräsentation, die Krankheitsdauer und die Suszeptibilität. Bei Patienten mit CJK liegt am häufigsten eine Methionin-Homozygotie (MM, ca. 60%) vor. Valin-Homozygote (VV, ca. 15%) und Methionin/Valin-Heterozygote (MV, ca. 15%) sind insgesamt seltener. Es konnte gezeigt werden, dass Valin-Homozygotie und Heterozygotie oft mit einem klinisch eher atypischen Krankheitsverlauf einhergehen (Gambetti et al. 2003). In der Normalbevölkerung findet sich am häufigsten die He-

terozygotie (ca. 50%), am zweithäufigsten findet sich eine Homozygotie für Methionin (ca. 40%) und am seltensten für Valin (ca. 10 %) (Nurmi et al.2003). Homozygotie für Methionin erhöht demnach die Suszeptibilität für sCJK (Alperovitch et al. 1999).

Neben den Unterschieden hinsichtlich des Krankheitsverlaufes und der Krankheitsdauer konnten auch für den jeweiligen Codon-129-Genotyp charakteristische neuropathologische Veränderungen und Ablagerungsmuster identifiziert werden. Auch für andere klinische Untersuchungsmethoden wie die Liquordiagnostik, die Kernspintomographie sowie das Elektroenzephalogramm konnten für den jeweiligen Genotyp typische Konstellationen charakterisiert werden (Sanchez-Juan et. al. 2006, Meissner et.al. 2009).

Der Prionproteintyp

Im Westernblot zeigt PrP^{Sc} ein variierendes Auftrennungsmuster nach eingeschränktem Abbau durch Proteinase K. Auf Basis der Länge bzw. des molekularen Gewichtes der nach Verdau zurückbleibenden, proteaseresistenten Fragmente wurden 2 Prionproteintypen beschrieben. Der Prionproteintyp 1 ist insgesamt häufiger und wird bei Patienten mit klassischen Verlaufsformen beobachtet. Prionproteintyp 2 ist seltener und wird oft bei Patienten mit atypischen Verlaufsformen beobachtet (Parchi et al. 1999). Diese Beobachtung wird von einigen Autoren auf eine grundsätzlich unterschiedliche Ausgangskonfiguration zurückgeführt (Hill et al. 2003).

1.1.7. Subtypen der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Um anhand der genannten Einflussfaktoren Subtypen beschreiben zu können, wurden verschiedene Klassifikationssysteme eingeführt. Das am häufigsten angewandte System wurde von Parchi et al. vorgeschlagen. Dieser Einteilung zufolge werden 6 verschiedene Subtypen unterschieden. Die Benennung erfolgt auf Basis des *PRNP*-Codon-129-Genotyp (entweder MM, MV oder VV) und des jeweiligen Prionproteintypes (entweder Typ 1 oder 2). Daraus ergeben sich die Subtypen MM1, MM2, MV1, MV2, VV1 und VV2 (Parchi et al. 1996). Die Subtypen MM1 und MV1 werden am ehesten mit der klinisch klassischen Verlaufsform assoziiert und kommen am häufigsten vor. Die anderen

Subtypen werden insgesamt seltener beobachtet und weisen oft für die sporadische CJK atypische Verläufe auf (Gambetti et al. 2003). Ein alternatives Klassifikationssystem, bei dem neben dem *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus mehr als 2 verschiedene Prionproteintypen berücksichtigt werden, wurde von Collinge et al. vorgeschlagen (Collinge et al. 1996). In der vorliegenden Arbeit wird das Klassifikationssystem nach Parchi et al. verwendet.

MM1 / MV1-Subtyp

Diese Subtypen stellen die klassische Verlaufsform der sCJK dar und liegen in etwa 70% aller sCJK-Fälle vor. Die mediane Erkrankungsdauer beträgt 4 Monate und das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 65 Jahren (Heinemann et al. 2007). Klinisch ist vor allem eine rasch progrediente dementielle Entwicklung führend. Im Verlauf entwickeln Betroffene oft eine Ataxie, Myoklonien, sowie Störungen des pyramidalen und extrapyramidalen Systems (Gambetti et al. 2003).

VV2-Subtyp

Dieser Subtyp liegt in etwa 16% aller sCJK-Fälle vor und stellt den zweithäufigsten Subtyp dar. Die mediane Erkrankungsdauer beträgt 6 Monate und das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 60 Jahren (Heinemann et al. 2007). Klinisch charakteristisch sind eine früh im Krankheitsverlauf auftretende Ataxie und eine erst später im Verlauf auftretende dementielle Entwicklung (Gambetti et al. 2003).

MV2-Subtyp

Dieser Subtyp liegt in etwa 9% aller sCJK-Fälle vor. Die mediane Erkrankungsdauer vom Symptombeginn an beträgt 12 Monate. Das mittlere Erkrankungsalter beträgt 64 Jahre. Klinisch charakteristisch sind vor allem eine dementielle Entwicklung, cerebelläre Ataxie und extrapyramidale Symptome. Dieser Subtyp weist oft eine atypische Verlaufsform hinsichtlich eines oft über längere Zeit monosymptomatischen klinischen Bildes auf (Krasnianski et al. 2006 b).

MM2-Subtyp

Dieser Subtyp liegt in etwa 4% aller sCJK-Fälle vor. Die mediane Erkrankungsdauer vom Symptombeginn beträgt 14 Monate, das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 67 Jahren. Klinisch charakteristisch sind vor allem eine dementielle Entwicklung und psychiatrische Symptome. Insgesamt wird bei diesem Subtyp oft ein atypischer Krankheitsverlauf hinsichtlich des zeitlichen Auftretens der klinischen Symptome beobachtet (Krasnianski et al. 2006 a).

VV1-Subtyp

Dieser Subtyp liegt in etwa 1% aller sCJK-Fälle vor und ist damit sehr selten. Die mediane Erkrankungsdauer beträgt 21 Monate. Das mittlere Erkrankungsalter liegt mit 41 Jahren deutlich unter dem typischen Erkrankungsalter der sCJK (66 Jahre). Klinisch sind bei diesem Subtyp vor allem Persönlichkeitsveränderungen, eine relativ langsam fortschreitende dementielle Entwicklung und extrapyramidale Störungen führend (Meissner et al. 2005).

1.2. Therapieoptionen bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Bis heute ist keine Heilung der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit bekannt. Die Behandlung von erkrankten Patienten beschränkt sich weitgehend auf einzelne Symptome (z.B. Behandlung mit Valproat bei Myoklonien). Einige Substanzen mit Anti-Prion-Effekt wurden bereits identifiziert. Der Begriff Anti-Prion-Effekt beschreibt eine kausal gegen die pathophysiologisch zu Grunde liegenden Mechanismen bei Prionerkrankungen gerichtete Wirkung.

Aufgrund von praktischen Problemen wie Toxizität, fehlender Liquorgängigkeit oder fehlender Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Tiermodelle, konnte bis heute keine dieser Substanzen für die praktische Anwendung etabliert werden. Ergebnisse aus placebo-

kontrollierten Studien liegen bisher nur für das, vor allem als Analgetikum eingesetzte, Medikament Flupirtin vor. Die Auswertung der Studie ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Überlebenszeit. Lediglich bei der Betrachtung des Verlustes der kognitiven Fähigkeiten zeigte sich in einem der neuropsychologischen Tests ein leichter Unterschied zugunsten der mit Flupirtin behandelten Patienten (Otto et al. 2004). Zusätzlich ist kritisch anzumerken, dass die Fallzahl in dieser Studie mit insgesamt 28 Patienten (13 in der Flupirtin-Gruppe und 15 in der Placebo-Gruppe) für eine solche Auswertung relativ klein war.

Tabelle 1.2 gibt eine Übersicht über einige Substanzen, die bei Prionerkrankungen getestet wurden.

Tabelle 1.2.: Übersichtstabelle von Substanzen mit Anti-Prion-Effekt

Substanz	Effekt in Labormodellen	Effekt in Tierversuchen	Effekt bei CJK
Aciclovir	*	*	–
Amantadin	*	*	–
Amphotericin B	+	+	–
Anthracyclin	+	+	*
Flupirtin	*	*	(+)
Kongo Rot	+	+	*
Pentosan Polysulfat	+	+	–
Quinacrine	+	–	–
Tetracyclin	+	+	+

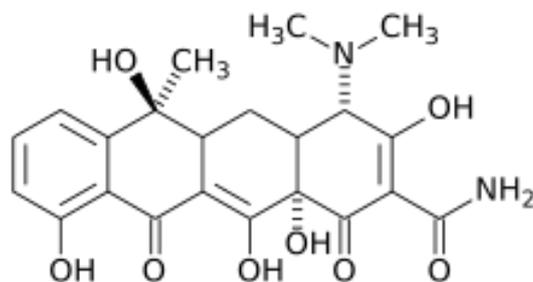
+ = deutlicher Effekt, (+) = fraglicher Effekt, – = kein Effekt, * = keine Daten vorliegend (Ludewigs et al. 2007, Korth und Peters 2006, Stewart et al. 2008)

1.2.1. Tetracycline und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Bei Substanzen wie Kongo Rot und Anthracyclin, für die im Labor und/oder in Tiermodellen ein Anti-Prion-Effekt gezeigt werden konnte (Tagliavini et al. 1997), die sich aber aus verschiedenen Gründen nicht für eine klinische Anwendung eignen, ist aufgefallen,

dass sie sich durch einen amphiphilen Charakter auszeichnen, also sowohl hydrophile als auch lipophile Eigenschaften besitzen. Basierend auf dieser Beobachtung hat eine Forschungsgruppe aus Mailand mit experimentellen Studien an Tetracyclinen, einer sich bereits als Medikament in Gebrauch befindlichen Wirkstoffgruppe (mit amphiphilem Charakter), begonnen (Tagliavini et al. 2000). Tetracycline werden medikamentös vor allem als Antibiotika eingesetzt. In den letzten Jahren ergaben sich zusätzlich Hinweise, dass Tetracycline auch eine neuroprotektive Wirkung haben (Domercq und Matute 2004).

Abbildung 1.1.: Strukturformel von Tetracyclin



1.2.2. Der Anti-Prion-Effekt von Tetracyclinen

In Labormodellen konnte gezeigt werden, dass Tetracycline die Neubildung von pathologischen Prionproteinaggregaten verhindern und die Resistenz gegenüber der abbauenden Protease K verringern. In Versuchen, bei denen PrP-Homologe entweder in Gegenwart oder Abwesenheit von Tetracyclin inkubiert wurden, zeigte sich bei Koinkubation mit Tetracyclin eine deutlich verminderte Tendenz zur Aggregation. Weiter wurde nach Applikation von Tetracyclin eine erhöhte Sensitivität von PrP^{Sc} gegenüber der abbauenden/verdauenden Proteinkinase K beobachtet. Dieser Effekt war ausgeprägter bei PrP^{Sc} Typ 2 als bei PrP^{Sc} Typ 1 (Tagliavini et al. 2000). Auch in einem Zellmodell konnte gezeigt werden, dass Doxycyclin (ein Derivat aus der Gruppe der Tetracycline) die Neubildung von pathologischem Prionprotein verhindert (Gu und Singh 2004).

Dieser Effekt ist vermutlich auf eine direkte Interaktion des amphiphilen Tetracyclins mit hydrophoben Anteilen von PrP^{Sc} zurückzuführen. Bisher mittels 2D-NMR-Spektroskopie identifizierte Interaktionsstellen befinden sich zwischen den aromatischen Anteilen des Tetracyclins und den Seitenketten von Alanin 117-119, Valin 121-122 und Leucin 125 von PrP. Diese Interaktionsstellen wurden an synthetischen Homologen untersucht, die den Residuen 106-126 von humanem Amyloid von GSS-Patienten entsprechen (Forloni et al. 2002). Da diese Homologe nicht das komplette PrP^{Sc} darstellen, ist nicht ausgeschlossen, dass es noch weitere Bindungsstellen gibt. Es ist postuliert, dass die Bindung von Tetracyclin an PrP^{Sc} eine Destabilisierung des pathologischen Proteins bewirkt und damit die Infektiosität im ZNS reduziert (Tagliavini et al. 2000).

Auf Basis der Ergebnisse der in-vitro-Experimente wurden tierexperimentelle Studien an syrischen Hamstern durchgeführt. Die Hamster wurden mit dem Scrapie 263K-Stamm intracerebral inokuliert. Alle Hamster entwickelten im Verlauf eine Prionerkrankung. Bei den Hamstern, bei denen das Inokulat vor Applikation mit Doxycyclin inkubiert worden ist, wurden ein verzögerter Symptombeginn sowie eine signifikant verlängerte Überlebenszeit beobachtet. Bei diesem Versuch wurden zu dem Zeitpunkt, an dem die ersten Tiere Symptome zeigten, aus jeder Gruppe 3 Hamster zwecks neuropathologischer Untersuchung getötet. Bei den Hamstern, die mit Doxycyclin-inkubiertem PrP^{Sc} inokuliert worden waren, zeigten sich im Vergleich zu der nur mit PrP^{Sc} inokulierten Kontrollgruppe geringer ausgeprägte PrP-Ablagerungen in den immunhistochemischen Färbungen (Forloni et al. 2002). Auch nach peripherer Applikation (intraperitonealer oder intramuskulärer) und anschließender peripherer Applikation von Doxycyclin zeigte sich bei den behandelten Tieren eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit (De Luigi et al. 2008).

Basierend auf den Ergebnissen dieser Experimente wird angenommen, dass Tetracycline durch direkte Interaktion mit PrP^{Sc} die Resistenz gegenüber Proteinase K reduzieren. Daraus resultierend soll der Abbau von pathologischem PrP^{Sc} gefördert und die Bildung von neuen Aggregaten verhindert werden. Diese Eigenschaften können als ein Anti-Prion-Effekt interpretiert werden.

Unterschiede zwischen verschiedenen Tetracyclinen

Häufig als Medikament eingesetzte Tetracycline sind: Tetracyclin, Doxycyclin, Minocyclin, Demeclocyclin und Oxytetracyclin. Die genannten Präparate unterscheiden sich hinsichtlich ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften, dem antimikrobiellen Wirkungsspektrum und dem Ausscheidungsweg. Doxycyclin und Minocyclin werden über die Galle ausgeschieden, andere Tetracycline werden in der Regel renal eliminiert. Doxycyclin ist das am häufigsten verwendete Derivat und hinsichtlich seines pharmakokinetischen Profils gut charakterisiert (Smilack 1999).

Im Hinblick auf den postulierten Anti-Prion-Effekt zeigten die drei getesteten Substanzen (Tetracyclin, Doxycyclin und Minocyclin) auch nach peripherer Infektion und anschließender peripherer Behandlung, statistisch signifikante Verlängerungen der Überlebenszeit (De Luigi et al. 2008).

1.2.3. Bisherige Beobachtungen bezüglich Doxycyclin bei Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Basierend auf den Ergebnissen der in-vitro- und in-vivo-Experimente wurden im Jahr 2004 in Italien durch die Arbeitsgruppe von Fabrizio Tagliavini erstmals Patienten mit CJK im Rahmen eines Heilversuches mit Doxycyclin behandelt. Das Tetracyclinderivat Doxycyclin wurde ausgewählt, weil in den beschriebenen Experimenten eine gute Wirksamkeit nachgewiesen werden konnte, und außerdem eine gute Verträglichkeit der Substanz aus Erfahrung bei der Behandlung anderer Erkrankungen bekannt war. Die Applikation von Doxycyclin kann relativ unkompliziert oral erfolgen. Für andere Krankheiten, die das ZNS betreffen, wie die Neurolyse (Yim et al. 1985) und die Neuroborreliose (Dotevall und Hagberg 1989) konnte eine Liquorgängigkeit gezeigt werden. Auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose oder der Demenz vom Alzheimer-Typ wird ein therapeutischer, neuroprotektiver Effekt durch orale Doxycyclin-Applikation derzeit diskutiert und klinisch erprobt (Minagar et al. 2008, Loeb et al. 2004).

Die Ergebnisse der in Italien durchgeführten Beobachtungsstudie wurden im Rahmen von mehreren Fachtagungen genannt. Dabei zeigte sich eine längere Überlebenszeit bei mit Doxycyclin behandelten Patienten im Vergleich zu nicht behandelten Patienten aus dem gleichen Zeitraum. Die mediane Überlebenszeit vom Krankheitsbeginn an war bei behandelten Patienten etwa doppelt so lang wie bei nicht behandelten Patienten (Tagliavini 2006, Tagliavini 2008 a).

2005 wurde in Italien mit der Durchführung einer placebokontrollierten Doppelblindstudie über die Wirkung von Doxycyclin bei sporadischer CJK begonnen, um den in der Beobachtungsstudie gesehenen Effekt weiter zu überprüfen. In Deutschland ist die Durchführung einer Studie bezüglich dieser Fragestellung durch das Nationale Referenzzentrum für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien (NRZ für TSE) in Göttingen geplant. Auch in Frankreich ist eine ähnlich gelagerte Studie ange laufen.

Alternative Erklärung für die Wirkung von Doxycyclin

Ob die bisher in Tierversuchen und bei Menschen gesehene Verlängerung der Überlebenszeit durch den postulierten Anti-Prion-Effekt bedingt wird, kann derzeit nicht eindeutig bestimmt werden. Unwahrscheinlich, aber nicht auszuschließen ist, dass die beobachtete Verlängerung der Überlebenszeit bei Doxycyclinbehandlung durch die bekannte antibiotische Wirkweise, also einen Schutz vor, im Fall der Nichtbehandlung potentiell tödlichen Infektionen bedingt wird (De Luigi et al. 2008).

1.2.4. Doxycyclin bei sporadischer CJK in Deutschland

Im Rahmen der Tätigkeit des Nationalen Referenzzentrums für Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (NRZ für TSE) werden Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Krankheit im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit und soziale Sicherung bundesweit erfasst. Alle Patienten werden vor Ort durch einen Studienarzt untersucht und sie, ihre Angehörigen und behandelnden Ärzte umfassend über die aktuelle Datelage hinsichtlich der Erkrankung aufgeklärt. Die häufig gestellte Frage seitens der

Angehörigen ist naturgemäß die nach potentiellen therapeutischen Ansätzen. Dabei werden sie über den aktuellen Stand der Forschung und Entwicklung beraten. In einigen Fällen wünschten sowohl Patienten als auch Angehörige ausdrücklich eine Therapie mit Doxycyclin. Diese wurde durch die vor Ort behandelnden Ärzte/Hausärzte initiiert.

1.3. Zielsetzung dieser Arbeit

Wie unter 1.2.3 beschrieben gibt es Hinweise darauf, dass die Behandlung von Patienten mit CJK mit Doxycyclin zu einer Verlängerung der Überlebenszeit von Symptombeginn an führen könnte. Im Rahmen von Fachtagungen genannte Ergebnisse aus der Beobachtung von individuellen Heilversuchen in Italien deuten auf eine statistisch signifikante Verdoppelung der Überlebenszeit bei mit Doxycyclin behandelten Patienten im Vergleich zu nicht behandelten Patienten (Tagliavini 2008 a, Tagliavini 2008 b).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den vermuteten therapeutischen Effekt von Doxycyclin bei CJK weiter zu untersuchen. Dazu sollte aus den dem NRZ für TSE vorliegenden Daten retrospektiv ein mit Doxycyclin behandeltes Patientenkollektiv herausgearbeitet und charakterisiert und ein Kontrollkollektiv gebildet werden, das dem behandelten Patientenkollektiv hinsichtlich der bekannten den Krankheitsverlauf beeinflussenden Prädiktoren weitgehend entspricht. Neben den Überlebenszeiten sollte auch das Fortschreiten der Krankheit, anhand von definierten klinischen Ereignissen verglichen werden, um herauszufinden, ob es diesbezüglich einen Unterschied zwischen beiden Kollektiven gibt.

Ziele dieser Arbeit in Stichpunkten:

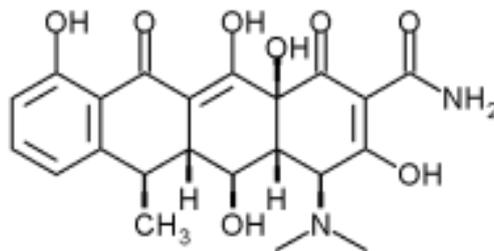
1. Charakterisierung des mit Doxycyclin behandelten Patientenkollektives und Bildung eines entsprechenden Kontrollkollektivs.
2. Vergleich der Überlebenszeiten beider Patientenkollektive.
3. Vergleich der Krankheitsprogression beider Patientenkollektive.

2. Material und Methoden

2.1. Doxycyclin

Doxycyclin ist ein Medikament aus der Gruppe der Tetracycline. Die Summenformel lautet $C_{22}H_{24}N_2O_8$.

Abbildung 2.1.: Strukturformel von Doxycyclin



Das Molekül zeichnet sich durch einen amphiphilen Charakter aus, also das Vorkommen sowohl lipophiler als auch hydrophiler Eigenschaften. Es wird vorrangig als Antibiotikum bei bakteriellen Infekten eingesetzt. Im Fall von bakteriellen Infektionen beruht der Effekt auf einer Hemmung der bakteriellen Proteinbiosynthese durch Blockade der 30S Untereinheit von bakteriellen Ribosomen. Doxycyclin wird auch bei der Behandlung anderer infektiöser Erkrankungen wie z.B. der Malaria eingesetzt (Chopra und Roberts 2001). In den letzten Jahren gab es außerdem Hinweise auf eine mögliche neuroprotektive Wirkung von Tetracyclinen (Domercq und Matute 2004).

Doxycyclin wird in der Regel oral oder intravenös appliziert und wird routinemäßig bei der Behandlung von cerebralen Infektionen, wie z.B. der Neuroborreliose oder der

Neuroloues, eingesetzt. Nebenwirkungen sind selten und beschränken sich in der Regel auf gastrointestinale Infekte, allergische Reaktionen und eine erhöhte Photosensibilität. Kontraindikationen sind Überempfindlichkeiten gegenüber Tetracyclinen, schwere Leberfunktionsstörungen und Niereninsuffizienz. Außerdem ist Doxycyclin in der Schwangerschaft ab dem vierten Monat kontraindiziert, weil es zu fetalen Wachstumsschädigungen führen kann. Bei Kindern unter 8 Jahren wird Doxycyclin nur in Ausnahmefällen angewandt, weil es zu Knochenwachstumsstörungen und Schädigung von Zähnen und Zahnschmelz führen kann (Smilack 1999).

2.1.1. Postulierte Wirkweise von Doxycyclin bei Prionerkrankungen

Bei Prionerkrankungen wird angenommen, dass Doxycyclin primär an die fehlgeformte pathologische Form des Prionproteins PrP^{Sc} bindet und die partielle Resistenz gegenüber der abbauenden Proteinase K reduziert. Es wird vermutet, dass Doxycyclin durch Abbau und Reduzierung der infektiösen Eigenschaft des für die Pathologie verantwortlichen Agens die Bildung von neuen PrP^{Sc}-Aggregaten verhindert (siehe auch 1.2.2, Seite 20).

2.2. Prozess der Datenerhebung

Die Erhebung der in dieser Arbeit ausgewerteten Daten erfolgte im Rahmen einer vom Nationalen Referenzentrum für die Surveillance von Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathien (NRZ für TSE) in Göttingen durchgeführten epidemiologischen Studie. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinikums Göttingen genehmigt (Antragsnummer: 11/11/93). Ziele dieser Studie sind u.a.:

- Erfassung aller Verdachtsfälle in Deutschland und Meldung an die Gesundheitsbehörden im Rahmen des Gesetzes zur Verhütung und Bekämpfung der Infektionskrankheiten beim Menschen,
- Klassifikation anhand der diagnostischen Kriterien,
- Identifikation von möglichen Risikofaktoren,

- Verbesserung von diagnostischen Tests,
- Analyse von epidemiologischen Daten von TSE,
- Überprüfung der ursprünglichen klinischen Diagnose,
- klinische Follow-up-Untersuchungen und Katamnesen,
- Autopsien und neuropathologische Sicherung der Diagnose, mit dem Ziel, mögliche zoonotische Varianten zu erkennen.

2.3. Das Kollektiv

Gemäß der Datenlage des NRZ für TSE erhielten in dem Zeitraum Juni 2006 bis August 2008 in Deutschland 56 Patienten mit klinisch diagnostizierten Prionerkrankungen Doxycyclin. Von den 56 Patienten wurde bei 47 Patienten die Diagnose einer wahrscheinlichen sporadischen CJK gestellt. In 7 Fällen wurde nachträglich eine genetische Prionerkrankung diagnostiziert. In zwei Fällen wurde im Verlauf eine andere Diagnose, also die einer Nicht-Prionerkrankung, gestellt. Die Patienten erhielten von den vor Ort behandelnden Ärzten Doxycyclin in einer Dosis von 100 mg pro Tag als Dauermedikation.

2.3.1. Bestimmung des Symptombeginns

Die Erhebung über den Krankheitsverlauf erfolgte durch routinemäßig im Rahmen der epidemiologischen Studie durchgeführte Gespräche mit Angehörigen und vor Ort behandelnden Ärzten. Der Symptombeginn wurde möglichst genau auf den Zeitpunkt festgelegt, an dem Patienten oder Angehörigen zum ersten Mal Veränderungen auffielen, die in der späteren Betrachtung des Krankheitsverlaufes als frühe oder erste Symptome der CJK betrachtet werden können. Diese frühen Symptome wurden auch dann als Symptombeginn gewertet, wenn sie nicht direkt zu einem Arztbesuch führten.

2.3.2. Kriterien für die Einbeziehung in das mit Doxycyclin behandelte Kollektiv

Für die Einbeziehung in die in dieser Arbeit vorgenommene Auswertung mussten folgende Kriterien erfüllt sein:

- Diagnose einer sporadischen CJK (gesicherte CJK, wahrscheinliche CJK oder mögliche CJK mit hyperintensiven Basalganglien im MRT),
- Vorliegen von Daten zum Krankheitsverlauf,
- Behandlung länger als 30 Tage.

Insgesamt erfüllten zum Zeitpunkt der Auswertung 28 von 47 Patienten die definierten Kriterien.

2.3.3. Das „30-Tage-Fenster“

Basierend auf der Annahme, dass Doxycyclin, um eine klinisch messbare Wirkung zu haben, am Wirkungsort (in diesem Fall PrP^{Sc}-Aggregate im zentralen Nervensystem) über einen längeren Zeitraum akkumulieren muss, wurde in dieser Arbeit eine minimale Behandlungsdauer von 30 Tagen für die Einbeziehung in die Auswertung vorausgesetzt.

2.4. Das Kontrollkollektiv

Bei der Bildung des Kontrollkollektivs wurden Daten des NRZ für TSE über nicht-behandelte Patienten aus dem Zeitraum (Juni 2003 bis Mai 2006) vor Beginn der Behandlung des ersten Patienten mit Doxycyclin verwendet. Ziel war es, ein Kontrollkollektiv zu bilden, bei dem sich der Krankheitsverlauf anhand von definierten klinischen Endpunkten nachvollziehen lässt, um eine Vergleichbarkeit mit dem behandelten Kollektiv zu ermöglichen (siehe 2.5). Das Kontrollkollektiv wurde, hinsichtlich der bekannten, den klinischen Verlauf beeinflussenden Prädiktoren, dem behandelten Kollektiv angepasst.

2.4.1. Kriterien für die Einbeziehung in das Kontrollkollektiv

Voraussetzungen für die Einbeziehung in das Kontrollkollektiv waren:

- Diagnose einer sporadischen CJK (gesicherte CJK, wahrscheinliche CJK oder mögliche CJK mit hyperintensiven Basalganglien im MRT),
- Vorliegen von Daten zum Krankheitsverlauf,
- bekannte Überlebenszeit vom Symptombeginn,
- bekannter *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

Weiter war es Voraussetzung, dass bei jedem Patienten mindestens zwei der definierten klinischen Endpunkte eruierbar und zeitlich zuzuordnen waren. Patienten, die an früheren Studien mit anderen potentiell therapeutisch wirksamen Substanzen (Flurpiritin und Quinacrin) teilgenommen hatten, wurden ausgeschlossen.

2.4.2. Anpassung des Kontrollkollektivs an das behandelte Kollektiv

Insgesamt wurden für das Kontrollkollektiv Daten zu 60 Patienten erhoben. In einem zweiten Schritt wurde das Kontrollkollektiv dem behandelten Kollektiv hinsichtlich der bekannten Prädiktoren angepasst. Entsprechend der in großen epidemiologischen Studien ermittelten Gewichtung der einzelnen Prädiktoren wurden der *PRNP*-Codon-129-Genotyp, das Alter bei Krankheitsbeginn und das Geschlecht berücksichtigt.

Letztendlich wurde eine Kontrollgruppe aus 42 Patienten gebildet, die mit der behandelten Gruppe hinsichtlich der bekannten Prädiktoren um den Faktor 1,5 weitgehend übereinstimmt. Dieser Faktor wurde gewählt, weil das Codon 129 als gewichtigster, erhobener Prädiktor limitierend für den Anpassungsprozess wirkte. Praktisch bedeutet dies, dass eine Anpassung um einen höheren Faktor keine der behandelten Gruppe entsprechende Verteilung zugelassen hätte.

2.5. Parameter für die Krankheitsprogression

Um Parameter einzuführen, anhand derer sich das Fortschreiten der Krankheit nachvollziehen lässt, wurden verschiedene klinische Ereignisse als Endpunkte definiert. Der Begriff Endpunkt wird in diesem Fall verwendet, weil aus der Beobachtung des Verlaufs der CJK bekannt ist, dass nach Eintritt eines der definierten Ereignisse keine Besserung mehr zu erwarten ist.

2.5.1. Definiton: Verlust der eigenständigen Ernährung

Als Verlust der eigenständigen Ernährung wurde definiert, wenn ein Patient hinsichtlich der Ernährung auf Hilfe von anderen angewiesen war. Die aufzubringende Hilfe musste über das Vorbereiten von Mahlzeiten hinausgehen. Der Zeitpunkt, von dem an ein Patient gefüttert werden musste, wurde als Verlust der eigenständigen Ernährung gewertet.

2.5.2. Definition: Verlust der Sphinkterkontrolle

Als Verlust der Sphinkterkontrolle wurde ein bei einem Patienten neu aufgetretener, unwillkürlicher Abgang von Urin und/oder Stuhl definiert.

2.5.3. Definition: Verlust der Sprache

Als Verlust der Sprache wurde eine bei einem Patienten neu aufgetretene komplette Unfähigkeit zu sprechen definiert. Für die Erfüllung dieser Definition reichte es nicht aus, wenn ein Patient undeutlich, unverständlich oder scheinbar zusammenhangslos gesprochen hat.

2.5.4. Definition: Verlust der Mobilität

Als Verlust der Mobilität wurde eine bei einem Patienten neu aufgetretene Unfähigkeit zum Gehen und zum Stehen definiert. Für die Erfüllung dieser Definition reichte es nicht

aus, wenn ein Patient auf die Benutzung von Gehhilfen angewiesen war, oder gelegentlich Hilfe beim Aufstehen oder Gehen benötigte.

2.5.5. Definition: akinetischer Mutismus

Als Stadium des akinetischen Mutismus wurde eine bei einem Patienten neu aufgetretene Unfähigkeit sich zu bewegen und zu sprechen definiert. Für die Erfüllung dieser Definition wurden minimale Augenbewegungen zugelassen.

2.5.6. Kriterien für die Einbeziehung in die Auswertung

Klinische Ereignisse, wie das Erreichen eines der definierten Endpunkte, wurden dann in die Auswertung einbezogen, wenn sie in den Unterlagen des NRZ über den jeweiligen Patienten eindeutig dokumentiert waren und in einen Zeitraum von plus/minus einer Woche zeitlich zuzuordnen waren.

2.6. Statistische Methodik

Für die Überlebenszeitanalysen wurde der Log-Rank-Test verwendet. Dieser Test wurde auch angewendet für Analysen des Zeitraumes vom Symptombeginn bis zum Erreichen eines definierten Endpunktes. Angegeben sind jeweils die mediane Überlebenszeit, der Standardfehler (SE), das 95%-Konfidenzintervall (Untere Grenze und Obere Grenze) und der p-Wert.

Für die Untersuchung von Korrelationen wurde der Spearman-Rank-Test verwendet. Angegeben sind dabei der Korrelationskoeffizient r_s und der p-Wert.

Eine multifaktorielle Regressionsanalyse zur Beurteilung des Einflusses verschiedener Einflussgrößen auf die Überlebenszeit wurden mit dem Cox-Regressionsmodell erstellt.

2.6.1. Festlegung der Grenzwerte für die Interpretation statistischer Signifikanzen

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 5\%$ ($p = < 0,05$) wurde als statistisch signifikant bezeichnet.

2.6.2. Interpretation des Korrelationskoeffizienten

$0 < r_s \leq 0,2$ als sehr geringe Korrelation

$0,2 < r_s \leq 0,5$ als geringe Korrelation

$0,5 < r_s \leq 0,7$ als mittlere Korrelation

$0,7 < r_s \leq 0,9$ als hohe Korrelation

$0,9 < r_s \leq 1$ als sehr hohe Korrelation

2.6.3. Umgang mit zensierten Daten

Wenn Patienten zum Zeitpunkt der Auswertung der vorliegenden Daten am Leben waren, wurde das Datum der letzten Datenerhebung als Enddatum gesetzt. Dieses Datum wurde sowohl für die Überlebenszeitanalyse und die Doxycyclin-Behandlungsdauer für alle lebenden Patienten auf den 15.08.2008 gesetzt. In den statistischen Auswertungen mit dem Log-Rank-Test und dem Cox-Regressionsmodell wurden die Daten dieser Patienten als zensiert betrachtet.

Für die Auswertung der einzelnen definierten Endpunkte wurde auf die Verwendung von zensierten Daten verzichtet, weil nicht davon ausgegangen werden konnte, dass jeder Patient alle definierten klinischen Endpunkte innerhalb des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und Exitus erreicht.

2.6.4. Verwendete Computerprogramme

Die statistische Auswertung der Daten wurde angefertigt mit Hilfe der Statistiksoftware SPSS 16.0 für Windows (Deutsche Version) auf einem Dell Desktop Computer im CIP-Raum der Abteilung Medizinische Statistik der Georg-August-Universität Göttingen.

3. Ergebnisse

3.1. Die untersuchten Patientenkollektive

Insgesamt wurden für das mit Doxycyclin behandelte Patientenkollektiv (K_{DOXY}) Daten von 28 Patienten ausgewertet. Für das Kontrollkollektiv (K_{CTRL}) wurden Daten von 42 Patienten ausgewertet. Bei der Bildung des Kontrollkollektivs wurde versucht, eine möglichst genaue Übereinstimmung mit dem behandelten Kollektiv hinsichtlich der bekannten Prädiktoren des Krankheitsverlaufs zu erreichen (siehe Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1.: Übersichtstabelle der Gruppeneigenschaften der untersuchten Kollektive

	Doxycyclin (K_{DOXY})	Unbehandelt (K_{CTRL})
Gesamtanzahl	n=28	n=42
Zensierte Fälle	n=6	n=0
Frauen	n=12	n=18
Männer	n=16	n=24
MM-Genotyp	n= 7	n=11
MV-Genotyp	n=9	n=14
VV-Genotyp	n= 11	n=17
Genotyp unbekannt	n=1	n=0
Alter bei Symptombeginn (Median)	63 Jahre	66 Jahre
Behandlungsdauer (Median)	95 Tage	-
Diagnose: sichere CJK	n= 8	n=32
Diagnose: wahrscheinliche CJK	n= 20	n=10
Diagnose: mögliche CJK (+ MRT)	n=0	n=0

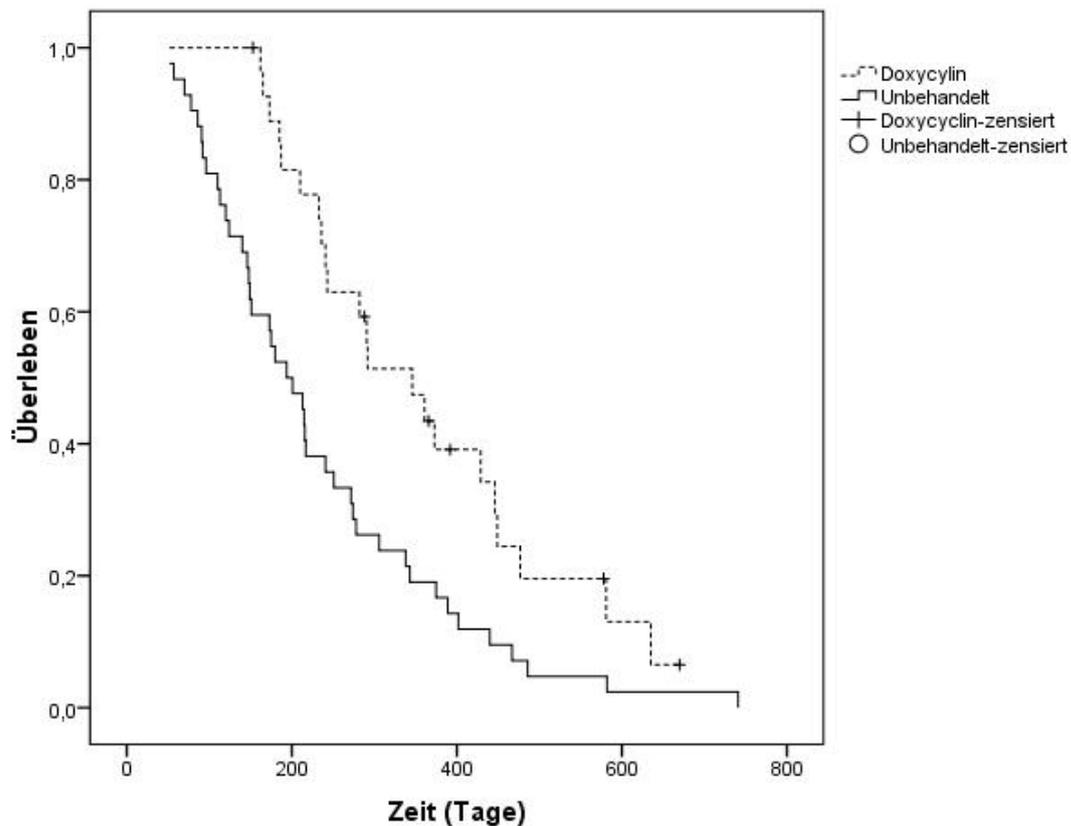
3.2. Vergleich der Überlebenszeiten beider Kollektive

Die Betrachtung des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und Exitus ergab eine mediane Überlebenszeit von

- K_{DOXY} (n=28): 346 Tagen (SE: ± 57 , 95 %-Konf.: 233-459) und
- K_{KTRL} (n=42): 194 Tagen (SE: ± 23 , 95%-Konf.: 149-238).

Der Vergleich der Überlebenszeiten beider Patientenkollektive mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,004$ und ist demnach als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.1 zeigt den Vergleich der Überlebenszeiten in Form einer Kaplan-Meier-Kurve. In dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv war die Überlebenszeit vom Symptombeginn um den Faktor 1,78 länger als in dem nicht behandelten Kontrollkollektiv.

Abbildung 3.1.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn



3.3. Einfluss der bekannten Prädiktoren auf die Überlebenszeit

Die Faktoren Geschlecht, Alter bei Symptombeginn und *PRNP*-Codon-129-Genotyp wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Überlebenszeit untersucht.

3.3.1. Überlebenszeiten nach Geschlecht

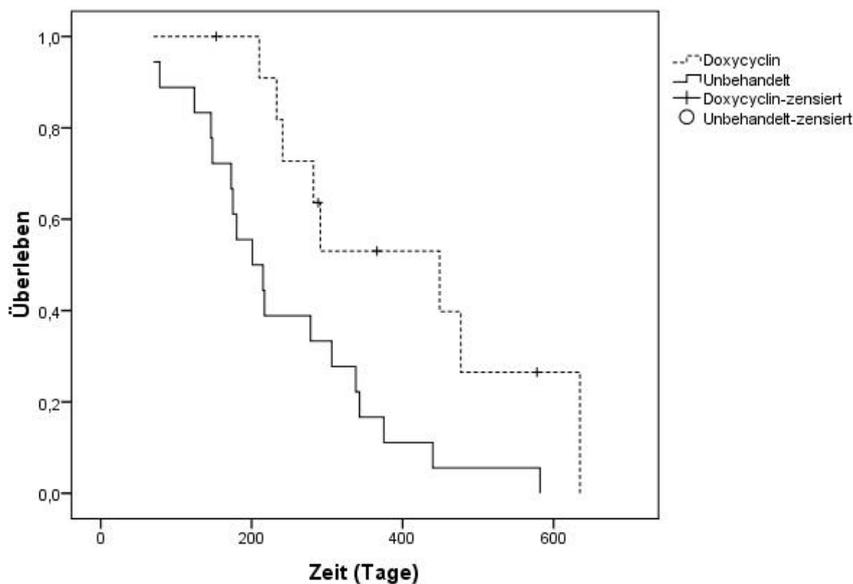
Überlebenszeit: Frauen

Bei den weiblichen Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei:

- K_{DOXY} (n=12): 449 Tagen (SE: ± 114 , 95%-Konf.: 225-673) und
- K_{CTRL} (n=18): 201 Tagen (SE: ± 37 , 95%-Konf.: 128-274).

Der Vergleich beider Patientenkollektive ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,01$, der Unterschied ist somit als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.2 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.2.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn, Frauen



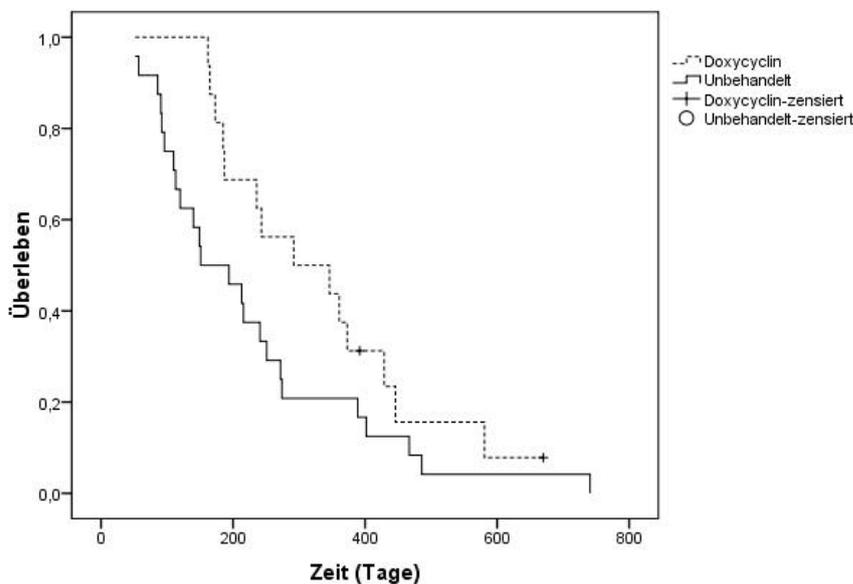
Überlebenszeit: Männer

Bei den männlichen Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=16): 292 Tagen (SE: ± 103 , 95%-Konf.: 90-494) und
- K_{KTRL} (n=24): 151 Tagen (SE: ± 45 , 95%-Konf.: 63-239).

Der Vergleich beider männlicher Patientenkollektive ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,087$ und liegt somit knapp oberhalb der festgelegten Grenze für eine statistische Signifikanz. Abbildung 3.3 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.3.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn, Männer



3.3.2. Überlebenszeiten nach Altersgruppen

Für die Betrachtung des Faktors Alter wurden drei Altersgruppen gebildet. Alter bei Symptombeginn: 0-59 Jahre, 60-70 Jahre und >70 Jahre. Die Auswahl der Altersgruppen folgte der bekannten Beobachtung, dass die sporadische CJK typischerweise in der 7. Lebensdekade auftritt. Die drei Altersgruppen wurden untersucht und es wurde ein Vergleich zwischen behandelten und nicht behandelten Patientenkollektiven vorgenommen.

Tabelle 3.2 zeigt die Altersgruppenverteilung beider Patientenkollektive.

Tabelle 3.2.: Übersichtstabelle der Altersgruppenverteilung

	Doxycyclin behandelt	unbehandelt
Altersgruppe 0-59 Jahre		
Gesamtanzahl	n= 9	n= 8
MM-Genotyp	n= 3	n= 4
MV-Genotyp	n= 2	n= 3
VV-Genotyp	n= 4	n= 1
Genotyp unbekannt	n= 0	n= 0
Frauen	n= 3	n= 4
Männer	n= 6	n= 4
Altersgruppe 60-70 Jahre		
Gesamtanzahl	n= 14	n= 24
MM-Genotyp	n= 3	n= 6
MV-Genotyp	n= 5	n= 9
VV-Genotyp	n= 5	n= 9
Genotyp unbekannt	n= 1	n= 0
Frauen	n= 7	n= 9
Männer	n= 7	n= 15
Altersgruppe über 70 Jahre		
Gesamtanzahl	n= 5	n= 10
MM-Genotyp	n= 1	n= 1
MV-Genotyp	n= 2	n= 7
VV-Genotyp	n= 2	n= 2
Genotyp unbekannt	n= 0	n= 0
Frauen	n= 2	n= 5
Männer	n= 3	n= 5

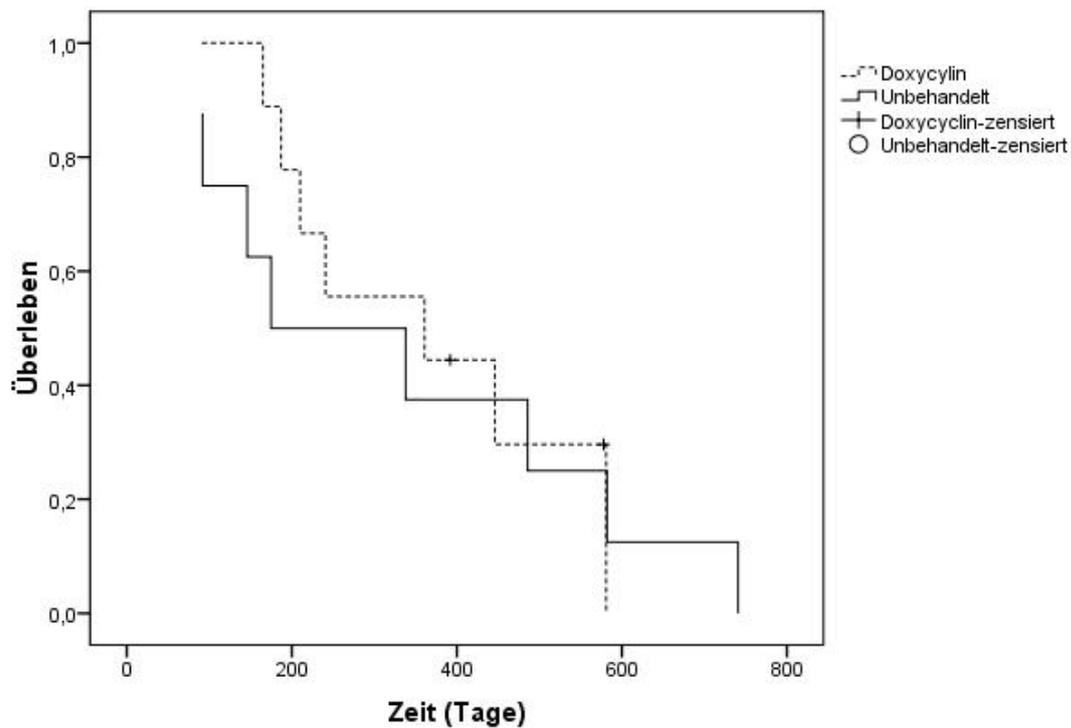
Altersgruppe 0-59 Jahre

Bei den bei Symptombeginn 0-59 Jahre alten Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=9): 361 Tagen (SE: ± 179 , 95%-Konf.: 10-711) und
- K_{KTRL} (n=8): 175 Tagen (SE: ± 136 , 95%-Konf.: 0-441).

Der Vergleich beider 0-59 Jahre alten Patientenkollektive ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,879$ und liegt somit oberhalb der festgelegten Grenze für eine statistische Signifikanz. Abbildung 3.4 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.4.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe 0-59 Jahre



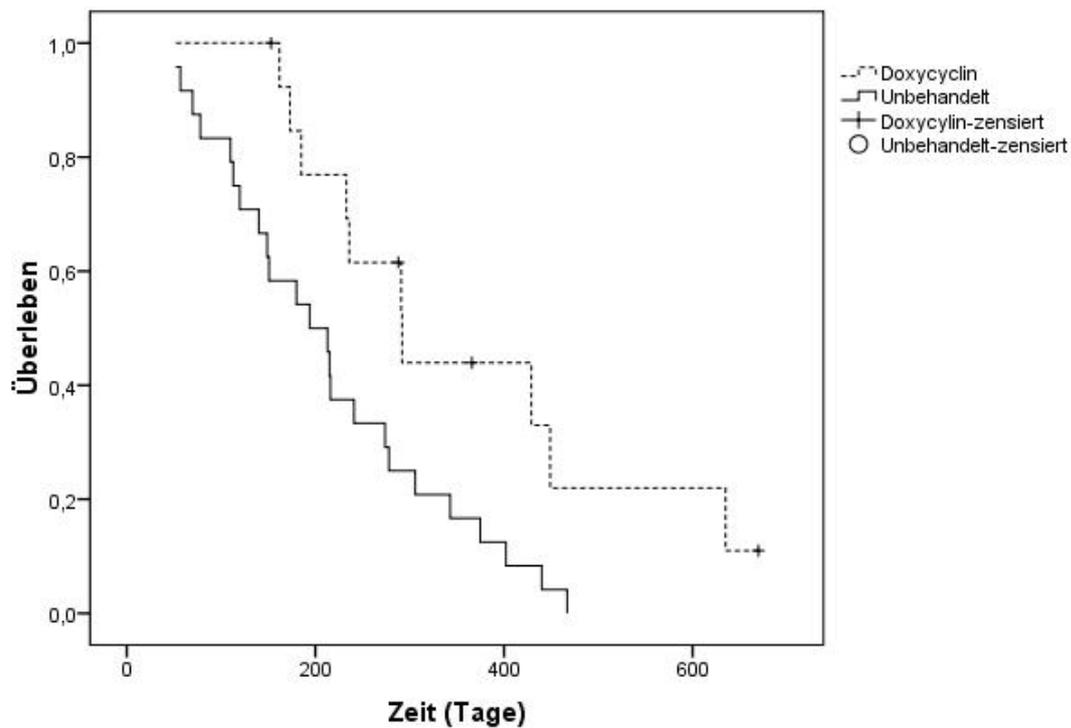
Altersgruppe 60-70 Jahre

Bei den bei Symptombeginn 60-70 Jahre alten Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=14): 292 Tagen (SE: ± 45 , 95%-Konf.: 203-381) und
- K_{KTRL} (n=24): 194 Tagen (SE: ± 39 , 95%-Konf.: 117-271).

Der Vergleich beider 60-70 Jahre alten Patientenkollektive ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,011$ und ist als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.5 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.5.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe 60-70 Jahre



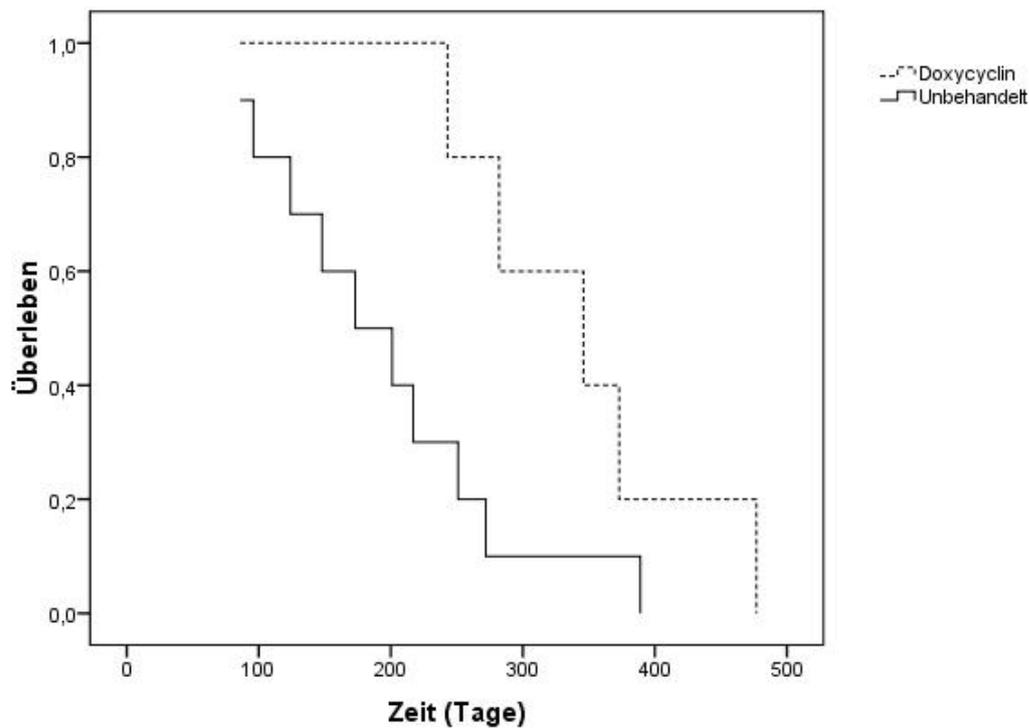
Altersgruppe über 70 Jahre

Bei den bei Symptombeginn mehr als 70 Jahre alten Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=5): 346 Tagen (SE: ± 70 , 95%-Konf.: 209-483) und
- K_{KTRL} (n=10): 173 Tagen (SE: ± 42 , 95%-Konf.: 91-255).

Der Vergleich beider über 70 Jahre alten Patientenkollektive ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,045$ und ist als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.6 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.6.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe > 70 Jahre



3.3.3. Überlebenszeiten nach *PRNP*-Codon-129-Genotyp

Um die Auswirkung des *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus auf den Überlebenszeitunterschied zwischen den beiden Kollektive zu bestimmen, wurden diese nach dem jeweiligen Genotyp aufgetrennt und verglichen.

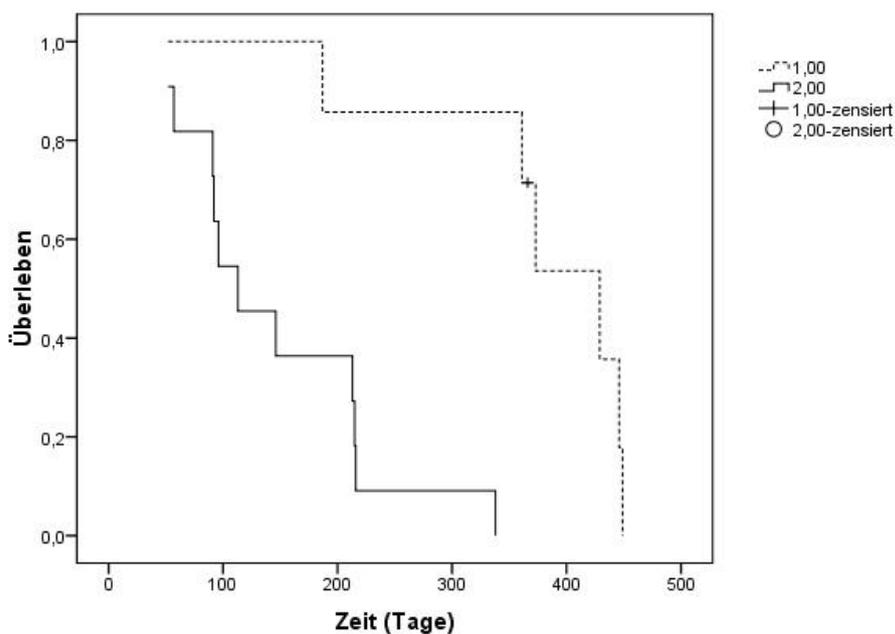
Überlebenszeit: MM-Genotyp

Bei den Patienten mit *PRNP*-Codon-129-MM-Genotyp lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=7): 429 Tagen (SE: ±38, 95%-Konf.: 355-503) und
- K_{KTRL} (n=11): 113 Tagen (SE: ±30, 95%-Konf.: 55-171).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit MM-Genotyp ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von p=0,001 und ist als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.7 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.7.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (MM-Genotyp)



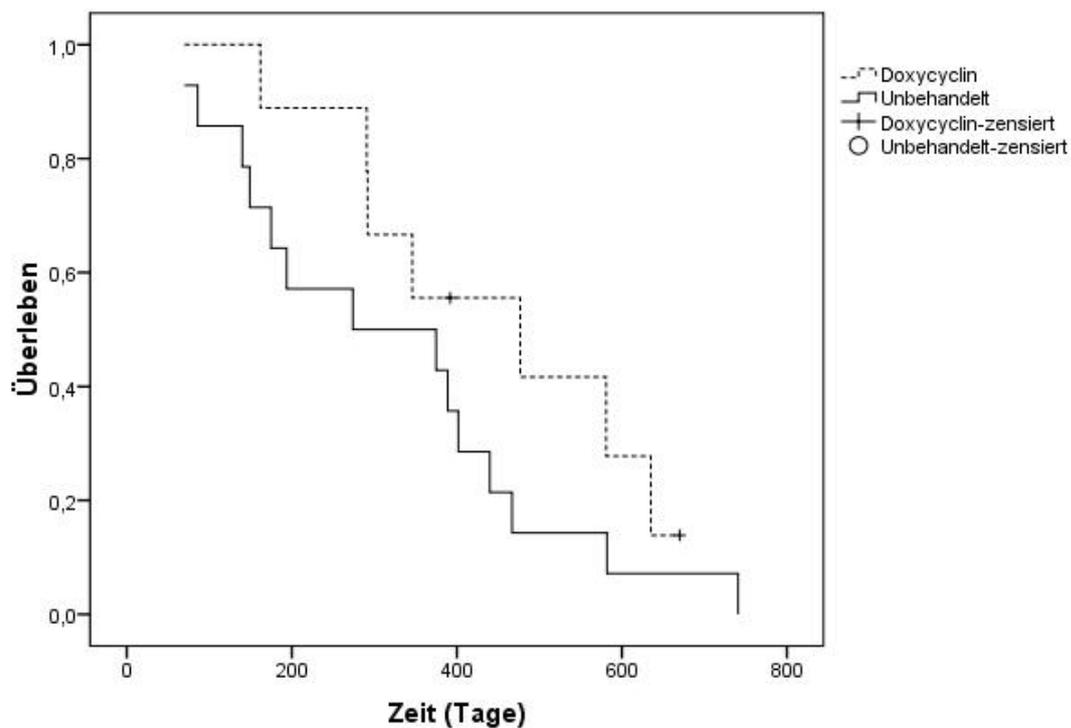
Überlebenszeit: MV-Genotyp

Bei den Patienten mit *PRNP*-Codon-129-MV-Genotyp lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=9): 477 Tagen (SE: ± 163 , 95%-Konf.: 157-797) und
- K_{KTRL} (n=14): 274 Tagen (SE: ± 169 , 95%-Konf.: 0-606).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit MV-Genotyp ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,192$ und ist nicht als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.8 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.8.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (MV-Genotyp)



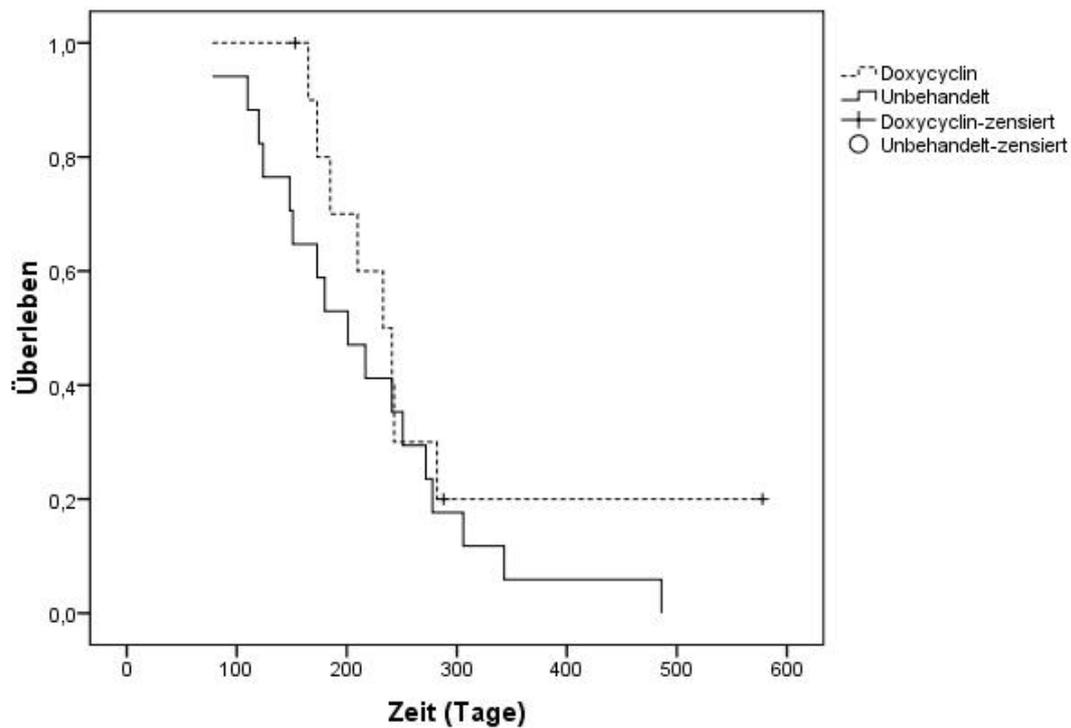
Überlebenszeit: VV-Genotyp

Bei den Patienten mit *PRNP*-Codon-129-VV-Genotyp, lag die mediane Überlebenszeit nach Symptombeginn bei

- K_{DOXY} (n=11): 233 Tagen (SE: ± 25 , 95%-Konf.: 185-281) und
- K_{KTRL} (n=17): 201 Tagen (SE: ± 30 , 95%-Konf.: 142-260).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit VV-Genotyp ergab im Log-Rank-Test einen p-Wert von $p=0,280$ und ist nicht als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.9 zeigt die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.9.: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (VV-Genotyp)



3.4. Vergleich der klinischen Endpunkte beider

Kollektive

Wie unter 2.5 beschrieben, wurden für das Gesamtkollektiv klinische Endpunkte formuliert, denen im Krankheitsverlauf Zeitpunkte zugeordnet werden können. Die Betrachtung des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und Erreichen eines klinischen Endpunktes lässt einen Vergleich zwischen behandelten Patienten und unbehandelten Patienten zu. An dieser Stelle ist anzumerken, dass nicht für alle Patienten jedes Ereignis eruierbar und oder zeitlich zuzuordnen war. Die klinischen Endpunkte wurden, wenn vorliegend, mit dem Log-Rank-Test zwischen beiden Kollektiven verglichen.

3.4.1. Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen

Ernährung

Für diesen Endpunkt wurden insgesamt 28 Ereignisse in dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv (n=28) und 41 Ereignisse in dem nicht behandelten Kollektiv (n=42) ausgewertet.

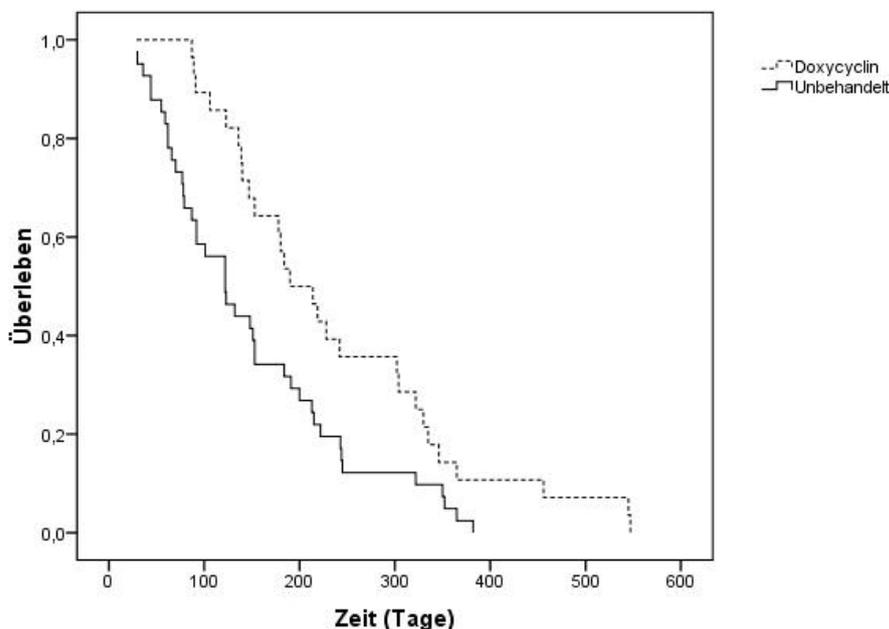
Die Betrachtung der Zeit zwischen Symptombeginn und dem Verlust der eigenständigen Ernährung ergab einen medianen Zeitraum von

- K_{DOXY} (n=28): 190 Tagen (SE: ± 26 , 95%-Konf.: 139-240)
- K_{CTRL} (n=41): 122 Tagen (SE: ± 20 , 95%-Konf.: 83-160).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,009$ und ist demnach als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.10 zeigt den Zeitraum Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung für beide Kollektive in Form einer Kaplan-Meier-Kurve.

Im Anhang findet sich unter B.1 eine zusammenfassende tabellarische Übersicht des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Verlust der eigenständigen Ernährung, stratifiziert nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

Abbildung 3.10.: Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung



3.4.2. Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle

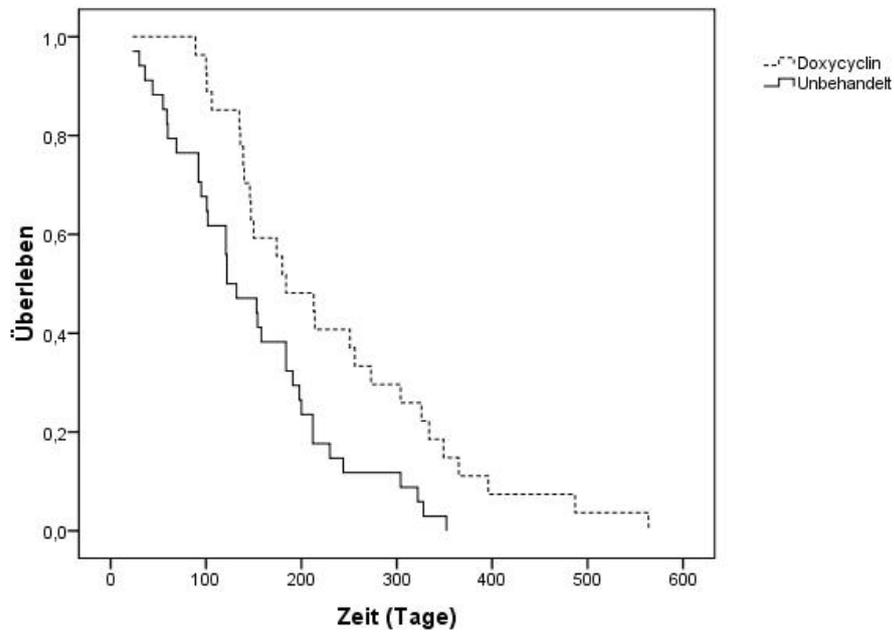
Für diesen Endpunkt wurden insgesamt 27 Ereignisse in dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv (n=28) und 34 Ereignisse in dem nicht behandelten Kollektiv (n=42) ausgewertet.

Die Betrachtung der Zeit zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Sphinkterkontrolle ergab einen medianen Zeitraum von

- K_{DOXY} (n=27): 184 Tagen (SE: ± 34 , 95%-Konf.: 118-250) und
- K_{KTRL} (n=34): 122 Tagen (SE: ± 23 , 95%-Konf.: 76-167).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,006$ und ist demnach als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.11 zeigt den Zeitraum Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle für beide Kollektive in Form einer Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.11.: Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle



Im Anhang findet sich unter B.2 eine zusammenfassende tabellarische Übersicht des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Verlust der eigenständigen Sphinkterkontrolle, stratifiziert nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

3.4.3. Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache

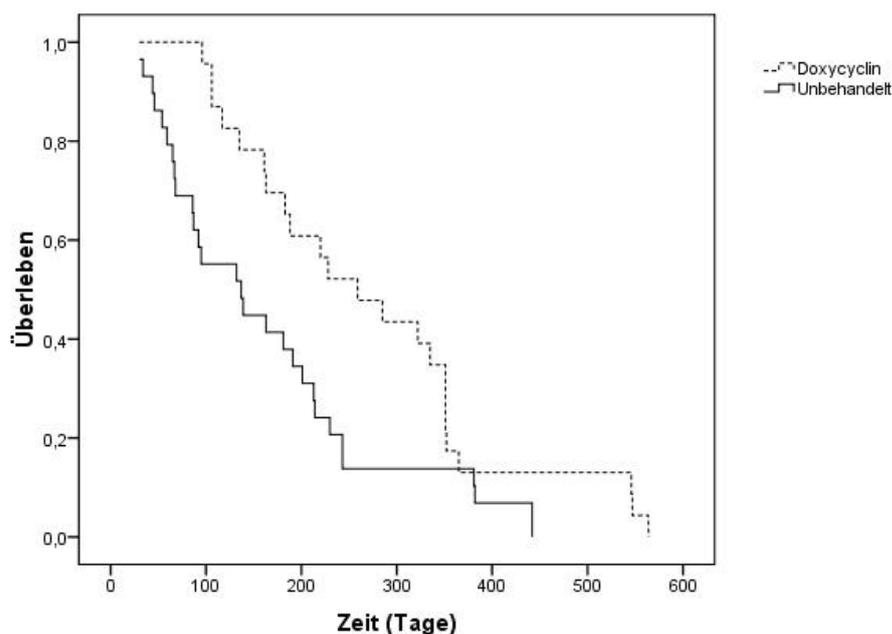
Für diesen Endpunkt wurden 23 Ereignisse in dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv (n=28) und 29 Ereignisse in dem nicht behandelten Kollektiv (n=42) ausgewertet.

Die Betrachtung der Zeit zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Sprache ergab einen medianen Zeitraum von

- K_{DOXY} (n=23): 259 Tagen (SE: ± 52 , 95%-Konf.: 157-361) und
- K_{DOXY} (n=29): 137 Tagen (SE: ± 39 , 95%-Konf.: 60-214).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,014$ und ist demnach als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.12 zeigt den Zeitraum Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache für beide Kollektive in Form einer Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.12.: Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache



Im Anhang findet sich unter B.3 eine zusammenfassende tabellarische Übersicht des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Sprache, stratifiziert nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

3.4.4. Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität

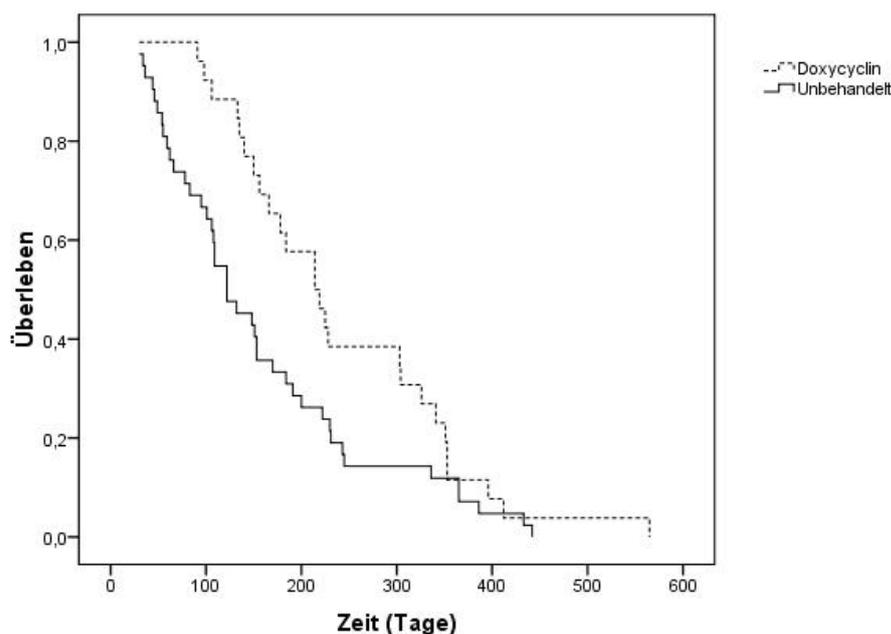
Für diesen Endpunkt wurden 26 Ereignisse in dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv (n=28) und 42 Ereignisse in dem nicht behandelten Kollektiv (n=42) ausgewertet.

Die Betrachtung des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Mobilität ergab einen medianen Zeitraum von

- K_{DOXY} (n=26): 214 Tagen (SE: ± 26 , 95%-Konf.: 162-265) und
- K_{CTRL} (n=42): 122 Tagen (SE: ± 18 , 95%-Konf.: 86-158).

Der Vergleich beider Patientenkollektive mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,037$ und ist demnach als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.13 zeigt den Zeitraum Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität für beide Kollektive in Form einer Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.13.: Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität



Im Anhang findet sich unter B.4 eine zusammenfassende tabellarische Übersicht des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Mobilität, stratifiziert nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

3.4.5. Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus

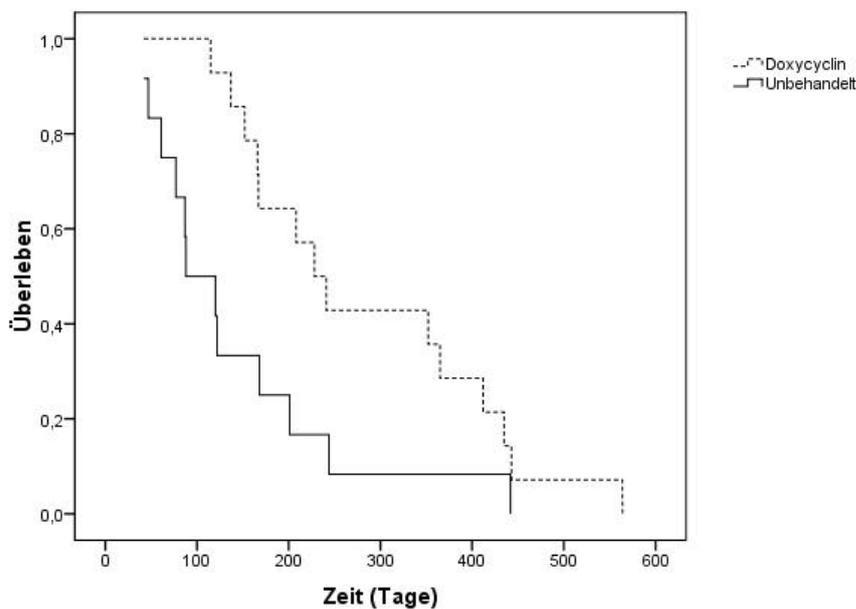
Für diesen Endpunkt wurden 14 Ereignisse in dem mit Doxycyclin behandelten Kollektiv (n=28) und 12 Ereignisse in dem nicht behandelten Kollektiv (n=42) ausgewertet.

Die Betrachtung des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Stadium des akinetischen Mutismus ergab einen medianen Zeitraum von

- K_{DOXY} (n=14): 228 Tagen (SE: ± 31 , 95%-Konf.: 167-289) und
- K_{DOXY} (n=12): 88 Tagen (SE: ± 29 , 95%-Konf.: 32-144).

Der Vergleich beider Patientenkollektive, mit dem Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von $p=0,018$ und ist als statistisch signifikant anzusehen. Abbildung 3.14 zeigt den Zeitraum Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus für beide Kollektive, in Form einer Kaplan-Meier-Kurve.

Abbildung 3.14.: Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus

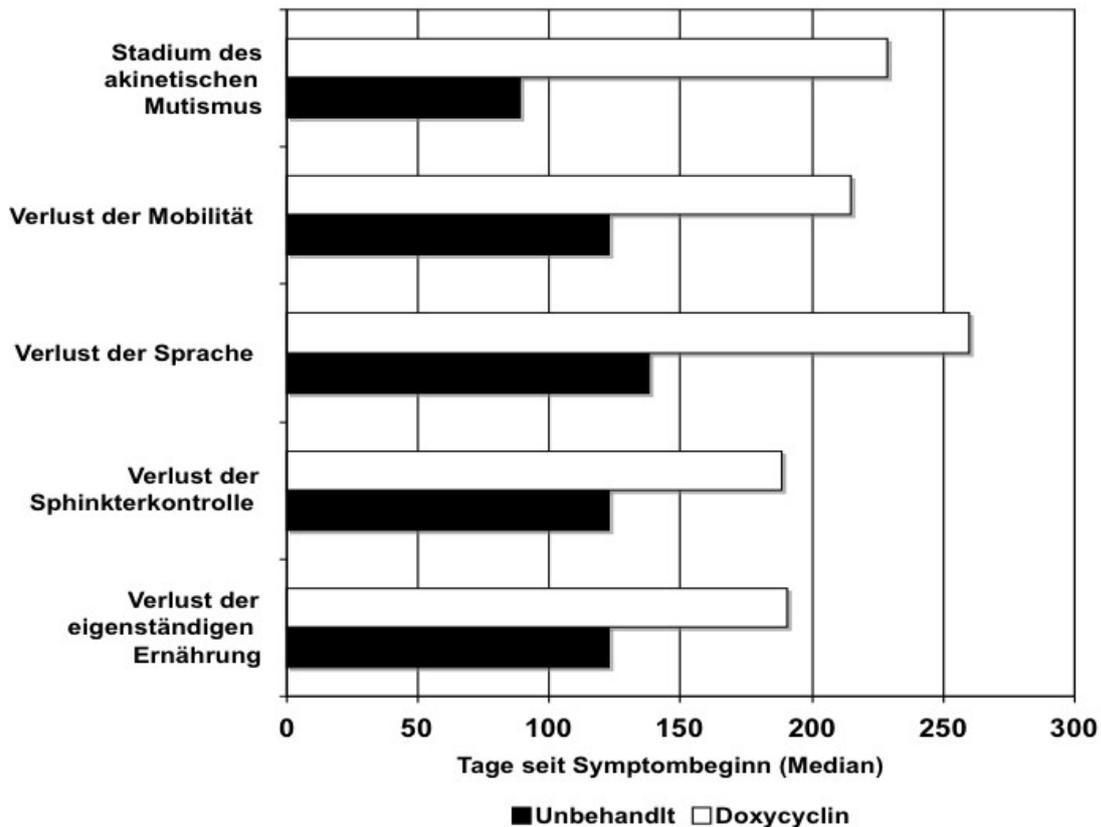


Im Anhang findet sich unter B.5 eine zusammenfassende tabellarische Übersicht des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Stadium des akinetischen Mutismus, stratifiziert nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp.

3.4.6. Zusammenfassung der Krankheitsprogression

Abbildung 3.15 fasst die Ergebnisse des Vergleiches des Doxycyclin behandelten Patientenkollektives mit dem unbehandelten Patientenkollektiv bezüglich der einzelnen definierten klinischen Endpunkte zusammen.

Abbildung 3.15.: Übersicht über das Erreichen der klinischen Endpunkte



3.5. Multivariate Analyse

Die multivariate Analyse der bekannten Einflussfaktoren auf den klinischen Verlauf und die Überlebenszeit wurde mit dem Cox-Regressionsmodell durchgeführt. Die untersuchten Faktoren waren Doxycyclin Ja/Nein, *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus, Alter bei Symptombeginn und Geschlecht. Tabelle 3.3 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 3.3.: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse

Faktor	Effektkoeffizient Exp(B)	unteres 95% Konf.	oberes 95% Konf.	p-Wert
Doxycyclin				
Ja	1			
Nein	0,349	0,192	0,632	p= 0,001
Codon-129				
MM	1			
MV	1,574	0,772	3,209	p= 0,212
VV	0,399	0,204	0,780	p= 0,007
Geschlecht				
Weiblich	1			
Männlich	0,795	0,473	1,338	p=0,388
Alter	1,037	1,009	1,006	p=0,009

Doxycyclingabe, *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus und Alter bei Symptombeginn haben demnach einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit.

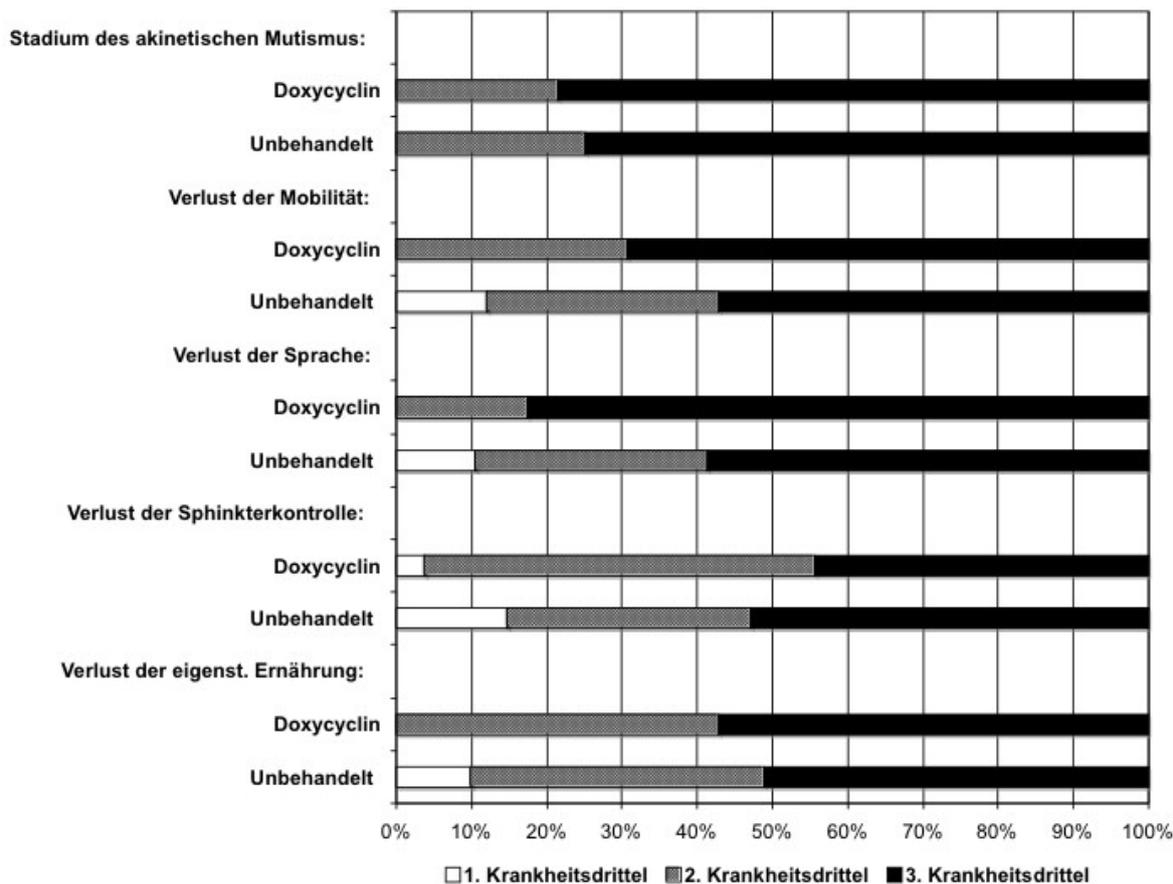
3.6. Auftreten der klinischen Endpunkte

Um das Auftreten der definierten klinischen Endpunkte in Relation zu der individuellen Krankheitsdauer zu setzen, wurde der Zeitraum zwischen Symptombeginn und Exitus gedrittelt und jedes definierte Ereignis (Erreichen eines klinischen Endpunktes) dem Drittel zugeordnet, in dem es aufgetreten ist. Tabelle 3.4 zeigt eine Übersicht. Abbildung 3.16 zeigt das Erreichen der jeweiligen klinischen Endpunkte in Form einer Grafik. Die jeweilige Gesamtzahl der ausgewerteten Ereignisse wurde gleich 100% gesetzt.

Tabelle 3.4.: Übersichtstabelle der klinischen Endpunkte nach Krankheitsdritteln für beide Patientenkollektive

	Doxycyclin behandelt	unbehandelt
Verlust der eigenständigen Ernährung		
Anzahl vorliegender Werte	28	41
1. Drittel	n=0	n=4
2. Drittel	n=12	n=16
3. Drittel	n=16	n=21
Verlust der Sphinkterkontrolle		
Anzahl vorliegender Werte	27	34
1. Drittel	n=1	n=5
2. Drittel	n=14	n=11
3. Drittel	n=12	n=18
Verlust der Sprache		
Anzahl vorliegender Werte	23	29
1. Drittel	n=0	n=3
2. Drittel	n=4	n=9
3. Drittel	n= 19	n=17
Verlust der Mobilität		
Anzahl vorliegender Werte	26	42
1. Drittel	n=0	n=5
2. Drittel	n=8	n=13
3. Drittel	n= 18	n=24
Stadium des akinetischen Mutismus		
Anzahl vorliegender Werte	14	12
1. Drittel	n=0	n=0
2. Drittel	n=3	n=3
3. Drittel	n=11	n=9

Abbildung 3.16.: Erreichen der klinischen Endpunkte nach Krankheitsdritteln



3.7. Versuch einer klinischen

Prionprotein-Subtypen-Bestimmung

Aufgrund nicht ausreichender Informationen über die jeweiligen PrP-Typen musste bei der Auswertung auf eine Berücksichtigung dieses Faktors verzichtet werden.

Um dieses Problem zu umgehen und trotzdem einen glaubhaften Eindruck der Subtypen-Verteilung innerhalb des Kollektivs zu bekommen, wurde der Versuch unternommen, anhand von gesammelten Daten apparativer Untersuchungen (cMRT, EEG, Liquoranalyse der Proteine 14-3-3 und TAU-Protein) auf Basis von Literaturdaten zu den einzelnen Subtypen eine Bestimmung durchzuführen. Dabei ergab sich das Problem, dass die Sub-

typen MM1 und MV1 bisher bezüglich der genannten Parameter nicht ausreichend beschrieben wurden, um eine Abgrenzung zu den anderen Subtypen zu ermöglichen. Weiter konnten klinische Daten, wie das zeitliche Auftreten einzelner Symptome und die Krankheitsdauer, aufgrund der potentiellen, den Krankheitsverlauf verändernden Wirkung von Doxycyclin, nicht in den Klassifikationsprozess einbezogen werden. Aufgrund der genannten Probleme und der resultierenden Ungenauigkeit der Ergebnisse wurde letztendlich auf die hypothetische PrP-Subtypen-Bestimmung auf Basis indirekter/klinischer Daten verzichtet. Dementsprechend konnte keine Auswertung des Einflusses des Faktors PrP-Typ auf die potentielle Wirksamkeit durchgeführt werden.

3.8. Untersuchung des Behandlungszeitpunktes

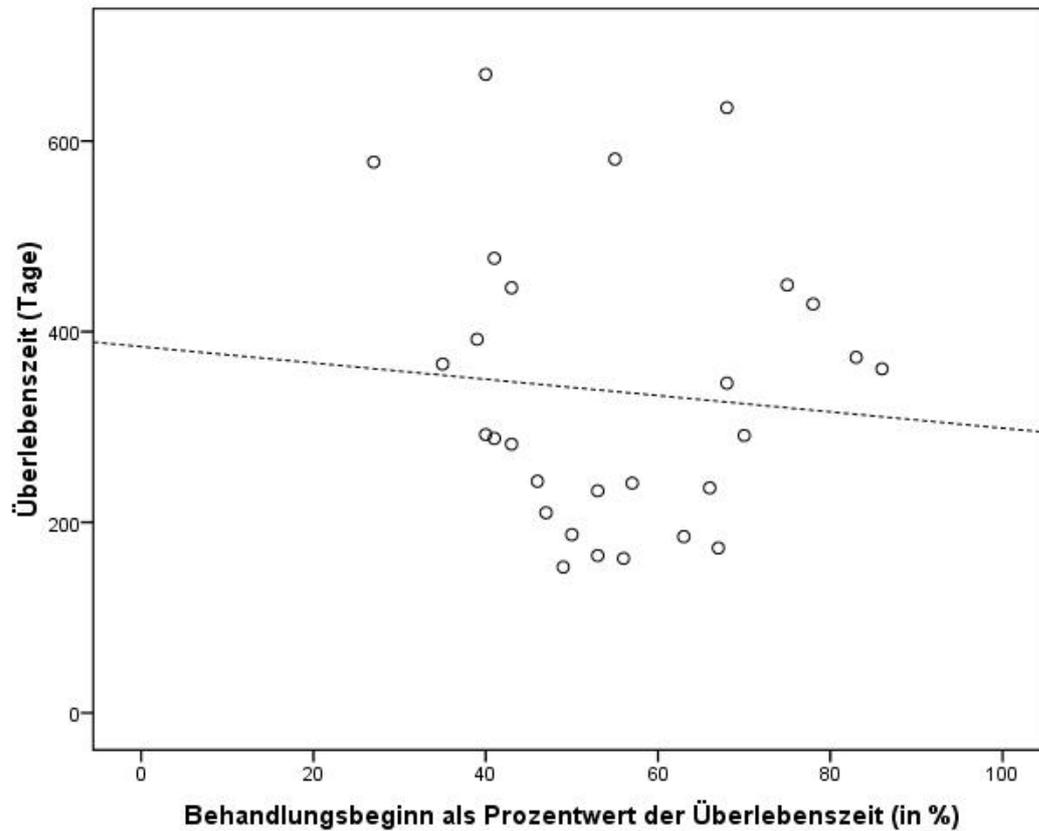
Hinsichtlich der Frage, ob der Zeitpunkt des Behandlungsbeginns für den postulierten krankheitsverzögernden Effekt eine Rolle spielt, wurde der Zusammenhang von Behandlungsbeginn und Überlebenszeit (Symptombeginn bis Exitus) gesondert untersucht. Bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten betrug die Zeit von Symptombeginn bis zum Behandlungsbeginn 145 Tage (Median) bzw. 183 Tage (Mittelwert).

Für die weitere Betrachtung wurde der Zeitraum Symptombeginn bis Behandlungsbeginn als Anteil der gesamten Überlebenszeit errechnet und als Prozentwert angegeben. Praktisch bedeutet dies, dass beispielsweise bei einem Patienten mit einer Gesamtüberlebenszeit von 400 Tagen, bei dem nach 200 Tagen mit der Doxycyclin-Behandlung begonnen wurde, ein Prozentwert von 50% errechnet wurde.

Bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten wurde im Median nach 53% der Gesamtüberlebenszeit (Mittelwert=55%) mit der Doxycyclin-Behandlung begonnen. Im Folgenden wurde mit dem Spearman-Rank-Test der Zusammenhang zwischen Gesamtüberlebenszeit und dem Behandlungsbeginn (als Prozentwert der Gesamtüberlebenszeit) untersucht. Der Korrelationskoeffizient betrug $r_s = -0,112$ und der p-Wert lag bei $p = 0,571$. Dieses Ergebnis spricht für eine sehr geringe Korrelation und ist als nicht signifikant zu werten.

Abbildung 3.17 zeigt den untersuchten Zusammenhang in Form eines Streu-Diagramms, mit eingefügter Anpassungsgeraden.

Abbildung 3.17.: Streu-Diagramm der Gesamtüberlebenszeit und des Behandlungsbeginns (als Prozentwert der Gesamtüberlebenszeit)



3.9. Zusammenfassung der Ergebnisse

Insgesamt fand sich im Vergleich des mit Doxycyclin behandelten und des nicht behandelten Kollektives ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der Überlebenszeit und des Erreichens der einzelnen klinischen Endpunkte als Parameter für die Krankheitsprogression. Die mit Doxycyclin behandelten Patienten haben signifikant länger gelebt. Diese Beobachtung fand sich auch bei allen untersuchten klinischen Endpunkten. Behandelte Patienten haben die jeweiligen Endpunkte signifikant später erreicht.

Für den *PRNP*-Codon-129-Genotyp konnte ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der Auswirkung auf den Überlebenszeitunterschied zwischen beiden Kollektiven festgestellt werden. Bei dem MM-Genotyp war die Überlebenszeit in dem behandelten Kollektiv statistisch signifikant länger als in dem nicht behandelten Kollektiv. Das Gleiche gilt auch für das Erreichen der definierten klinischen Endpunkte. Bei dem MV-Genotyp deutet sich, sowohl für die Überlebenszeit als auch für das Erreichen der klinischen Endpunkte, eine Tendenz zugunsten des Doxycyclin-behandelten Kollektivs an, die aber nicht statistisch signifikant ist. Bei dem VV-Genotyp waren das behandelte und das nicht behandelte Kollektiv in allen Auswertungen nah beieinander und unterschieden sich bei keiner der Auswertungen signifikant.

In allen angestellten Beobachtungen lag die mediane Überlebenszeit des behandelten Kollektivs über der des unbehandelten Kollektivs. Dementsprechend wurde auch in keiner Betrachtung ein negativer (also die Überlebenszeit verkürzender Effekt) der Doxycyclin-Behandlung beobachtet.

Die multivariate Analyse der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Überlebenszeit ergab, dass die Faktoren Doxycyclinbehandlung, *PRNP*-Codon-129-Genotyp und das Alter bei Symptombeginn einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis haben. Doxycyclinbehandlung hatte dabei den größten Einfluss.

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Behandlungsbeginn fand sich nur eine sehr geringe, nicht signifikante Korrelation zugunsten eines frühen Behandlungsbeginns.

4. Diskussion

4.1. Die untersuchten Patientenkollektive

Der Vergleich der beiden Patientenkollektive (Doxycyclin-behandelte Patienten und un-behandelte Patienten) wurde durchgeführt mittels Analyse von Daten, die durch das NRZ für TSE erhoben wurden. Im Fall des behandelten Patientenkollektivs erfolgte die Selektion aus allen dem NRZ für TSE bekannten Patienten, die Doxycyclin erhielten. Wie unter 2.3.3 (Seite 28) dargestellt, wurden nur Patienten in die Auswertung einbezogen, die länger als 30 Tage mit Doxycyclin behandelt wurden. Dadurch ist theoretisch eine Selektion zugunsten langer Verläufe denkbar. Auf der anderen Seite wird durch dieses Kriterium der Möglichkeit einer Verfälschung der Ergebnisse durch Daten über nur kurzzeitig behandelte Patienten, bei denen keine klinisch messbare Wirkung zu erwarten war, entgegengewirkt.

Die Selektion des unbehandelten Kontrollkollektivs erfolgte nach den unter 2.4.1 (Seite 29) genannten Kriterien. Es wurde bewusst ein Zeitraum vor der ersten, dem NRZ für TSE bekannten, Behandlung eines CJK-Patienten mit Doxycyclin gewählt, um die mögliche Fehlerquelle einer Selektion hinsichtlich atypisch langer Verläufe für das behandelte Kollektiv und rasch progressiver Verläufe für das unbehandelte Kontrollkollektiv zu minimieren bzw. um sicher Daten von Patienten auszuschließen, die evtl. Doxycyclin erhielten, ohne dass es den Mitarbeitern des NRZ für TSE bekannt war. Bezüglich der Selektion des Kontrollkollektivs ist kritisch zu betrachten, dass der Einschluss u.a. auf dem Kriterium des Vorhandenseins von Daten über die definierten klinischen Endpunkte erfolgte. Diese Voraussetzungen waren v.a. bei Patienten mit verhältnismäßig kurzen,

zeitlich überschaubaren Verläufen gegeben. Daraus ergibt sich die denkbare Fehlerquelle, dass relativ kurze Verläufe in der Kontrollgruppe überrepräsentiert sein könnten.

Als den Krankheitsverlauf beeinflussende Faktoren konnten wie unter 1.1.6 (Seite 15) dargestellt bisher vier Prädiktoren des klinischen Verlaufs identifiziert werden: PrP-Typ, *PRNP*-Codon-129-Genotyp, Alter bei Symptombeginn und Geschlecht. Die Anpassung des Kontrollkollektivs an das behandelte Kollektiv erfolgte unter Berücksichtigung der genannten Prädiktoren, mit Ausnahme des PrP-Typs. Auf die Einbeziehung des PrP-Typs, als zu berücksichtigender Faktor, musste aufgrund nicht ausreichender Informationen verzichtet werden. Eine klinische PrP-Subtypen-Bestimmung konnte wie unter 3.7 beschrieben aufgrund einiger derzeit noch nicht ausreichend beschriebener Subtypen und damit einhergehender Ungenauigkeiten nicht durchgeführt werden. Die daraus resultierende Nichtbeachtung des PrP-Typs bei der Beschreibung des Patientenkollektivs und der Anpassung des Kontrollkollektivs an das behandelte Kollektiv stellt eine potentielle Fehlerquelle für die Ergebnisse und mögliche Schlussfolgerungen dieser Arbeit dar. Auf der anderen Seite stellen PrP-Typ 2 bei MM-Genotyp und PrP-Typ 1 bei VV-Genotyp eine absolute Minderheit dar. Deshalb ist der vermutete Fehler bei diesen Subtypen gering einzuschätzen. Tabelle 4.1 zeigt eine Übersicht der Häufigkeit der Subtypen.

Tabelle 4.1.: Häufigkeitsverteilung der einzelnen Subtypen

Subtyp	Häufigkeit	Literaturquelle
MM1 / MV1	70%	(Gambetti et al. 2003)
MM2	4 %	(Krasnianski et al. 2006 a)
MV2	9%	(Krasnianski et al. 2006 b)
VV1	1%	(Meissner et al. 2005)
VV2	16%	(Gambetti et al. 2003)

4.1.1. Vergleich des Kontrollkollektivs mit Literaturdaten

Hinsichtlich der Frage, inwieweit das im Rahmen dieser Arbeit gebildete Kontrollkollektiv den natürlichen (also unbehandelten) Verlauf der sCJK repräsentiert, wurden die

Überlebenszeiten mit Literaturangaben verglichen.

In epidemiologischen Studien wurde für die sporadische CJK eine mediane Überlebenszeit vom Symptombeginn von 6 Monaten ermittelt (Heinemann et al. 2007, Pocchiari et al. 2004). Die mediane Überlebenszeit in dem im Rahmen dieser Arbeit selektionierten Kontrollkollektiv entspricht ebenfalls 6 Monaten (194 Tage=6,46 Monate). Weiter entsprachen die Überlebenszeiten für den jeweiligen *PRNP*-Codon-129-Genotyp und für das Geschlecht weitgehend den Literaturdaten. Sowohl im Kontrollkollektiv wie auch in den Literaturdaten war die Überlebenszeit nach Symptombeginn bei dem MM-Genotyp am kürzesten und bei MV-Genotyp am längsten. Insgesamt sprechen diese Daten für eine gute Repräsentation des Krankheitsverlaufes einer unbehandelten CJK durch das für diese Arbeit gebildete Kontrollkollektiv.

Tabelle 4.2 zeigt eine Übersicht. Die sonst in dieser Arbeit in Tagen angegebenen Überlebenszeiten sind hier zur besseren Vergleichbarkeit in Monaten und als ganze Zahlen angegeben.

Tabelle 4.2.: Vergleich des unbehandelten Kontrollkollektivs mit Literaturdaten

	Literaturdaten	Kontrollkollektiv (K_{KTRL})
Überlebenszeit Gesamt:	6 Monate (Heinemann et al. 2007)	6 Monate
Überlebenszeit MM-Genotyp:	5 Monate (Heinemann et al. 2007)	4 Monate
Überlebenszeit MV-Genotyp:	12 Monate (Heinemann et al. 2007)	9 Monate
Überlebenszeit VV-Genotyp:	7 Monate (Heinemann et al. 2007)	6 Monate
Überlebenszeit Frauen:	5 Monate (Pocchiari et al. 2004)	7 Monate
Überlebenszeit Männer:	4 Monate (Pocchiari et al. 2004)	5 Monate

4.2. Überlebenszeiten

In vorausgegangenen Untersuchungen bezüglich der Thematik Doxycyclin bei Prionerkrankungen konnte eine statistisch signifikant verlängerte Überlebenszeit bei mit Doxycyclin behandelten Patienten im Vergleich zu nicht behandelten Patienten gezeigt werden. Die mediane Überlebenszeit war in diesen Untersuchungen bei behandelten Patienten etwa doppelt so lang wie bei unbehandelten Patienten (Tagliavini 2008 b).

Wie in Kapitel 3.2 beschrieben, zeigte sich auch bei der Auswertung der im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten eine statistisch signifikant längere Überlebenszeit zwischen Symptombeginn und Exitus bei mit Doxycyclin behandelten Patienten. Insgesamt wurde eine Verlängerung der Überlebenszeit um den Faktor 1,78 beobachtet, der p-Wert lag bei $p=0,004$. Tabelle 4.3 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 4.3.: Übersichtstabelle der Überlebenszeiten der untersuchten Kollektive

	Doxycyclin behandelt	unbehandelt
Anzahl	n=28	n=42
Überlebenszeit (Tage, Median)	346	194
Standardfehler	57	23
95%-Konfidenzintervall	234-459	150-238
Streuung (Tage)	153 - 670	52 - 741
Log-Rank-Test	p= 0,004	

Des Weiteren zeigte sich bei der multivariaten Analyse der Einflussfaktoren auf die Überlebenszeit (siehe 3.5), dass die Behandlung mit Doxycyclin unter den untersuchten Faktoren den größten Einfluss hat. Von den anderen Faktoren, die in dieser Auswertung einen signifikanten Einfluss haben (*PRNP*-Codon-129-Genotyp und Alter bei Symptombeginn), ist dies bereits aus epidemiologischen Studien bekannt (Pocchiari et al. 2004).

Die Größenordnung des gesehenen Effekts entspricht weitgehend den Ergebnissen der vorausgegangenen Untersuchungen. Der Faktor der Verlängerung der Überlebenszeit war in dieser Arbeit mit 1,78 etwas kleiner als in den auf Fachtagungen genannten Beobach-

tungen aus Italien (Tagliavini 2008 a), bei denen eine Verdoppelung beobachtet worden war. Diese Abweichung ist am ehesten auf die im Rahmen dieser Arbeit vorgenommene genaue Anpassung des Kontrollkollektivs an das behandelte Patientenkollektiv hinsichtlich der bekannten Prädiktoren des klinischen Verlaufs zurückzuführen. Durch diese Anpassung waren in dem verwendeten Kontrollkollektiv einzelne Prädiktoren, die mit einem längeren Krankheitsverlauf assoziiert sind, häufiger vorhanden als in den Kontrollkollektiven von früheren Untersuchungen.

Die beobachtete Verlängerung der Überlebenszeit lässt sich am ehesten durch den angenommenen therapeutischen (in diesem Fall krankheitsverzögernden) Anti-Prion-Effekt von Doxycyclin erklären. Unwahrscheinlich, aber denkbar wäre auch eine Verlängerung der Überlebenszeit durch die antibiotische Wirkung von Doxycyclin und den damit einhergehenden Schutz vor bakteriellen Infektionen (siehe 4.5).

Eine andere Erklärung für die Verlängerung der Überlebenszeit stellt die Möglichkeit einer unbeabsichtigten Selektion hinsichtlich atypisch langer Verläufe innerhalb des mit Doxycyclin behandelten Kollektivs dar. Um dieser potentiellen Fehlerquelle entgegenzuwirken, wurde das nicht behandelte Kontrollkollektiv dem behandelten Patientenkollektiv hinsichtlich der bekannten (und eruierbaren) den Krankheitsverlauf modifizierenden Faktoren angepasst.

4.2.1. Auswirkungen des Faktors „Geschlecht“

Bei der gesonderten Betrachtung nach Geschlecht (siehe 3.3.1, Seite 35) wurde bezüglich der Überlebenszeit für Frauen ein größerer Unterschied zwischen behandeltem und unbehandeltem Patientenkollektiv gefunden als für Männer. Bei den Frauen war der Unterschied mit einem p-Wert von $p=0,01$ signifikant, während der p-Wert in dem Kollektiv der Männer mit $p=0,087$ knapp oberhalb der definierten Grenze für eine statistische Signifikanz lag. Es ist bekannt, dass die CJK bei Frauen häufiger auftritt und einen etwas längeren Krankheitsverlauf hat (Pocchiari et al. 2004). Analog dazu könnte basierend auf den Ergebnissen, hypothetisiert werden, dass die mögliche krankheitsverzögernde Wirkung von Doxycyclin ebenfalls vom Faktor Geschlecht beeinflusst wird, also der

therapeutische Effekt bei Frauen ausgeprägter ist als bei Männern. Dabei muss jedoch kritisch betrachtet werden, dass der berechnete Unterschied nicht besonders groß ist und die Patientenzahlen durch die Auftrennung des Gesamtkollektivs relativ klein waren (Frauen: $n=12$ vs. $n=18$, bzw. Männer: $n=16$ vs. $n=24$). Insgesamt erscheint die angedeutete geschlechtsspezifische Wirkung von Doxycyclin möglich, aber wegen der kleinen Fallzahlen nicht zuverlässig belegbar.

4.2.2. Auswirkungen des Faktors „Alter“

Bei der gesonderten Betrachtung der Überlebenszeiten der verschiedenen Altersgruppen (siehe 3.3.2, Seite 36) zeigte sich bei den bei Krankheitsbeginn 0-59 Jahre alten Patienten kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem behandeltem und dem unbehandelten Patientenkollektiv. Der p-Wert lag bei $p=0,879$. In den folgenden Altersgruppen war der Unterschied deutlich ausgeprägter, $p=0,01$ bei den 60-70 Jahre alten Patienten und $p=0,045$ bei den über 70 Jahre alten Patienten. Durch diese Ergebnisse wird ein mit dem Alter zunehmender Effekt von Doxycyclin angedeutet. Dieser Effekt könnte z.B. durch altersbedingte Veränderungen an der Blut-Hirn-Schranke und einer damit einhergehenden erhöhten intracerebralen Konzentration von Doxycyclin erklärt werden. Eine mit dem Alter zunehmende Permeabilität der Blut Hirn-Schranke wurde beschrieben (Pakulski et al. 2000). Wie diese sich auf die am Transport von Tetracyclinen beteiligten Mechanismen auswirkt, ist noch unklar.

Kritisch ist bezüglich dieser Beobachtung zu sehen, dass durch die Bildung der Altersgruppen die anderen beiden untersuchten, den Krankheitsverlauf beeinflussenden Faktoren (*PRNP*-Codon-129-Genotyp und Geschlecht) ungleich auf die drei Altersgruppen verteilt wurden (siehe Tabelle 3.2, Seite 37). Es ist also denkbar, dass der angedeutete Effekt weniger durch das tatsächliche Alter bei Symptombeginn sondern mehr durch die Konstellation der anderen (gewichtigeren) Faktoren bedingt wird.

4.2.3. Auswirkungen des Faktors „*PRNP*-Codon-129-Genotyp“

Wie bereits in umfangreichen epidemiologischen Studien gezeigt, hat der *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus einen signifikanten Einfluss auf Krankheitsverlauf und Krankheitsdauer (Heinemann et al. 2007). Bei der nach Genotyp stratifizierten Betrachtung (siehe 3.3.3) zeigte sich im Vergleich beider Kollektive bei dem MM-Genotyp eine statistisch signifikante Verlängerung der Überlebenszeit um den Faktor 3,8. Bei dem MV-Genotyp konnte keine statistisch signifikante Verlängerung der Überlebenszeit beobachtet werden, auch wenn sich beim Vergleich der medianen Überlebenszeiten eine Verlängerung um den Faktor 1,74 andeutet. Bei dem VV-Genotyp konnte ebenfalls keine statistisch signifikante Verlängerung der Überlebenszeiten beobachtet werden, hier war nur eine geringe Verlängerung um den Faktor 1,15 zu beobachten. Diese Betrachtung spricht für die Möglichkeit einer *PRNP*-Codon-129 abhängigen Wirksamkeit von Doxycyclin.

Hypothetische Erklärung des *PRNP*-Codon-129-abhängigen Effekts von Doxycyclin

Ein möglicher Ansatz, diese oben genannten Befunde zu erklären, ist die Tatsache, dass die an einer Position (Codon 129) abweichende Primärstruktur des Prionproteins zu einer unterschiedlichen Tertiärstruktur von PrP^C und PrP^{Sc} für den jeweiligen *PRNP*-Codon-129-Genotyp führt. Bezüglich dieser Thematik konnte bereits gezeigt werden, dass PrP^C vom MM-Genotyp, im Vergleich zu PrP^C vom VV-Genotyp, eine exponiertere Helix 1 aufweist und leichter aggregiert (Pham et al. 2008). In der Literatur ist beschrieben, dass die Helix 1 der Residuen PrP 144-154 von PrP^C, im Gegensatz zu den anderen α -Helices, aufgrund der Zusammensetzung ihrer Residuen über ungewöhnliche, hydrophile Eigenschaften verfügt und nur verhältnismäßig locker, über zwei Salzbrücken, mit dem Kern des Proteins verbunden ist. Es wird angenommen, dass der vorrangig aus β -Faltblättern bestehende, hydrophile Kern von PrP^{Sc} hauptsächlich aus, bei PrP^C der Helix 1 entsprechenden Residuen gebildet wird (Morrissey und Shakhnovitch 1999). Daraus folgernd wird diskutiert, dass die Helix 1 von PrP^C einen entscheidenden Einfluss auf die beschriebene Konformationsänderung von PrP^C zur pathologischen Form PrP^{Sc} hat

und maßgeblich zu deren Stabilisierung beiträgt (Ziegler et al. 2003). Es ist denkbar, dass sich die beschriebene Codon-129-Genotyp spezifische Ausrichtung der Helix 1 von PrP^C auch auf die Konformation des pathologischen Korrelats PrP^{Sc} auswirkt. Diese Unterschiede könnten einen entscheidenden Einfluss auf die Bindungsaffinität und die postulierte Wirkung von Doxycyclin haben.

4.3. Krankheitsprogression

In der vorliegenden Arbeit wurden die folgenden klinischen Endpunkte definiert und untersucht:

- Zeitraum zwischen Symptombeginn und dem Verlust der eigenständigen Ernährung,
- Zeitraum zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Sphinkterkontrolle,
- Zeitraum zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Sprache,
- Zeitraum zwischen Symptombeginn und dem Verlust der Mobilität,
- Zeitraum zwischen Symptombeginn und dem Stadium des akinetischen Mutismus.

Die Untersuchung der Endpunkte erfolgte mit dem Ziel, beide Kollektive hinsichtlich der Krankheitsprogression vergleichen zu können. Die definierten Endpunkte entsprechen in weiten Teilen einzelnen Unterpunkten, die auch im Rahmen von klinisch etablierten Skalen, wie z.B. dem Barthel-Index (Mahoney und Barthel 1965), verwendet werden. Der Barthel-Index wird klinisch benutzt, um den Grad der Selbständigkeit bei Aktivitäten des täglichen Lebens zu bestimmen (Wade und Collin 1988).

Bei dem Vergleich des Zeitraumes zwischen Symptombeginn und dem Erreichen der jeweiligen klinischen Endpunkte zeigte sich, dass das mit Doxycyclin behandelte Kollektiv jeden der untersuchten klinischen Endpunkte statistisch signifikant später erreicht hat als das unbehandelte Kontrollkollektiv. Tabelle 4.4 zeigt eine Übersicht der Ergebnisse. Diese Daten deuten darauf hin, dass bei dem behandelten Patientenkollektiv ein insgesamt langsamerer Krankheitsverlauf vorgelegen hat. Weiter lässt sich daraus ableiten, dass sich die beobachtete Verlängerung der Überlebenszeit nicht nur auf Spätstadien (z.B. den akinetischen Mutismus) ausgewirkt hat.

Tabelle 4.4.: Zeitraum von Symptombeginn bis zum Erreichen der einzelnen Endpunkte

Endpunkt	K _{DOXY} (Tage, Median)	K _{KTRL} (Tage, Median)	Log-Rank-Test
Verlust der eigenständigen Ernährung	190	122	p=0,009
Verlust der Sphinkterkontrolle	184	122	p=0,006
Verlust der Sprache	259	137	p=0,014
Verlust der Mobilität	214	122	p=0,037
Stadium des akin. Mutismus	228	88	p=0,018

In der unter 3.6 (Seite 51) dargestellten Betrachtung wurde das zeitliche Auftreten der Endpunkte in Relation zur Krankheitsdauer gesetzt. Dazu wurde die individuelle Krankheitsdauer in Drittel aufgeteilt und die Endpunkte dem jeweiligen Drittel, in dem sie aufgetreten sind, zugeordnet. Dabei zeigte sich die Tendenz, dass die Endpunkte in dem behandelten Kollektiv in einem späteren Überlebenszeit-Drittel erreicht wurden als in dem Kontrollkollektiv (vgl. Abbildung 3.16, Seite 53). Analog zu der klinischen Bedeutung der Endpunkte kann diese Tendenz als Hinweis gewertet werden, dass behandelte Patienten über eine längere Zeitspanne von weniger körperlichen Einschränkungen betroffen waren als das Kontrollkollektiv.

4.4. Einfluss des Behandlungsbeginns

Wie unter 3.8 (Seite 54) beschrieben, konnte bei der Betrachtung von Überlebenszeit und Behandlungsbeginn keine statistisch signifikante Korrelation ermittelt werden. Im Spearman-Rang-Test lag der Korrelationskoeffizient bei $r_s = -0,112$ und der p-Wert bei $p = 0,571$. Dieses Ergebnis spricht für eine sehr geringe Korrelation. Auch der nur leicht negative Verlauf der Anpassungsgeraden im Streudiagramm (Abbildung 3.17, Seite 55) spricht gegen eine Korrelation.

Der vermuteten Wirkweise von Doxycyclin bei Prionerkrankungen zufolge wäre eine Korrelation zwischen Überlebenszeit und Behandlungsbeginn zu erwarten gewesen, in

dem Sinne, dass eine frühe Doxycyclingabe mit einem langem Krankheitsverlauf einhergeht und umgekehrt. Kritisch anzumerken ist, dass die Fallzahlen ($n=28$) für eine solche Auswertung relativ klein waren und der Behandlungsbeginn eine hohe Streubreite aufwies.

4.5. Effekt von Doxycyclin bei CJK

Basierend auf den unter 1.2.2 (Seite 20) beschriebenen Beobachtungen aus Labormodellen und Tierversuchen ist zu vermuten, dass Doxycyclin einen pathophysiologisch kausalen Anti-Prion-Effekt hat. Die therapeutische Anwendung bei Menschen unterscheidet sich in einigen Punkten von den Tiermodellen. In den Tiermodellen erfolgte die Applikation von Doxycyclin und damit die postulierte Interaktion zwischen Doxycyclin und PrP^{Sc} gleichzeitig oder kurz nach der Inokulation mit dem Krankheitserreger. Im Gegensatz dazu erfolgte die Behandlung von Patienten mit CJK erst nach Symptombeginn und Diagnosestellung, also zu einem Zeitpunkt, an dem vermutlich bereits ausgeprägte neuropathologische Veränderungen vorgelegen haben. Außerdem erfolgte die Applikation von Doxycyclin nicht direkt an dem angenommenen Wirkort (PrP^{Sc}-Aggregate im ZNS), sondern peripher durch orale Gabe.

Die verlängerte Überlebenszeit und der insgesamt verzögerte Krankheitsverlauf deuten darauf hin, dass Doxycyclin einen therapeutischen Effekt haben könnte. Es kann also hypothetisiert werden, dass die Substanz ihren Wirkort erreicht und in der Lage ist, durch Bindung an PrP^{Sc} eine verminderte Neubildung von Aggregaten zu bewirken, die sich klinisch in einer Verlangsamung der Krankheitsprogression widerspiegelt.

Insgesamt bestätigen die Ergebnisse dieser Arbeit demnach die vorausgegangenen Beobachtungen über den Anti-Prion-Effekt von Doxycyclin und unterstreichen die klinische Anwendbarkeit.

Der antibiotische Effekt von Doxycyclin als alternative Erklärung

Theoretisch liesse sich argumentieren, dass sich der beobachtete Effekt in dem mit Doxycyclin behandelten Patientenkollektiv auch durch die antibiotische Wirkung der Substanz erklären lässt. In diesem Sinn würde die Doxycyclin-Medikation also vor potentiell letalen bakteriellen Infektionen (z.B. Pneumonien) schützen. Gegen diese Erklärung spricht, dass nicht nur die Überlebenszeiten, sondern auch die klinischen Endpunkte im Verlauf signifikant später erreicht wurden, was einen insgesamt verlangsamten Krankheitsverlauf andeutet. Demnach hat sich die Verlängerung der Überlebenszeiten nicht nur auf späte Stadien ausgewirkt, in denen bakterielle Infektionen, bedingt durch den schlechten Allgemeinzustand, typischerweise auftreten. Außerdem wäre die unter 4.2.1 diskutierte *PRNP*-Codon-129-Genotyp abhängige Wirksamkeit durch den Schutz vor Infektionen nicht erklärbar, da es keine Hinweise dafür gibt, dass der jeweilige Genotyp eine Auswirkung auf die Empfänglichkeit gegenüber bakteriellen Infektionen hat.

4.6. Offene Fragen

Die Frage, ob Doxycyclin tatsächlich einen therapeutischen Effekt bei der sporadischen CJK hat, kann letztendlich nur durch randomisierte, placebokontrollierte Doppelblindstudien beantwortet werden.

Weiter stellt sich die Frage, inwieweit die bekannten Prädiktoren der sporadischen CJK (Alter bei Symptombeginn, Geschlecht, Prionproteintyp und *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus) den postulierten therapeutischen Effekt von Doxycyclin beeinflussen. Den Ergebnissen dieser Arbeit zufolge hat v.a. der *PRNP*-Codon-129-Genotyp einen wichtigen Einfluss auf die therapeutische Wirksamkeit. Der Prionproteintyp konnte, wie unter 3.7 (Seite 53) beschrieben, in der Auswertung nicht berücksichtigt werden. Das etablierte Klassifikationssystem der sporadischen CJK nach Parchi et al. basiert aber genau auf der Kombination dieser Faktoren. Es ist demnach denkbar, dass der Prionproteintyp, ggf. in Kombination mit dem *PRNP*-Codon-129-Genotyp, einen massgeblichen Faktor für die therapeutische Wirksamkeit von Doxycyclin darstellt.

Des Weiteren stellt sich die Frage der Dosierung von Doxycyclin. Nach den in dieser Arbeit vorliegenden Daten, wurde, analog zu der in Italien durchgeführten Beobachtungsstudie (Tagliavini 2008 a), eine Dosis von 100 mg Doxycyclin pro Tag als Dauermedikation gegeben. Analog zu der unter 2.1.1 beschriebenen angenommenen Wirkweise von Doxycyclin ist denkbar, dass Doxycyclin in höheren Dosen einen größeren Anti-Prion-Effekt hat.

4.7. Schlussfolgerungen

Die Auswertung der im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten ergab, dass mit Doxycyclin behandelte Patienten eine signifikant längere Überlebenszeit und einen langsameren Krankheitsverlauf aufwiesen als nicht behandelte Patienten aus dem Kontrollkollektiv. Daraus lässt sich folgern, dass Doxycyclin-Behandlung, auch wenn keine Heilung bewirkt wird, möglicherweise einen Effekt bei der sporadischen CJK hat, der sich durch eine Verzögerung der Krankheitsprogression und eine damit einhergehende Verlängerung der Überlebenszeit auswirkt. Diese Beobachtung lässt sich gut vereinbaren mit Ergebnissen aus vorausgegangenen Arbeiten über die Wirkung von Doxycyclin bei Prionerkrankungen in Tiermodellen (De Luigi et al. 2008) und bei Patienten mit CJK (Tagliavini 2008 b). Ob diese vermutete Wirkung auf einen Anti-Prion-Effekt von Doxycyclin zurückzuführen ist, lässt sich derzeit noch nicht zweifelsfrei belegen.

Weiter war auffällig, dass der *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus anscheinend einen signifikanten Einfluss auf die therapeutische Wirksamkeit von Doxycyclin hat. Diese Beobachtung unterstreicht die Bedeutung des *PRNP*-Codon-129-Polymorphismus als Einflussgrösse des klinischen Verlaufes der CJK.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit dafür, dass die Doxycyclinbehandlung bei sporadischer CJK, auch in Ermangelung anderer Therapieoptionen, einen vielversprechenden Ansatz darstellt. Für die weitere Untersuchung der Wirkung von Doxycyclin bei CJK bietet sich die Durchführung einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie an.

Außerdem können die positiven Ergebnisse hinsichtlich der potentiell therapeutischen Wirksamkeit von Doxycyclin als ein Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Substanzen mit betontem Anti-Prion-Effekt auf Basis von Tetracyclinen oder strukturähnlichen Substanzen dienen.

5. Zusammenfassung

Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist eine seltene neurodegenerative Erkrankung aus der Gruppe der Prionerkrankungen. Als zentraler pathophysiologischer Mechanismus wird die Ablagerung von pathologischem Prionprotein (PrP^{Sc}) angenommen. Klinisch charakteristisch sind v.a. eine rasch progrediente Demenz sowie Funktionsstörungen in verschiedenen Bereichen des ZNS. Die Krankheit verläuft immer tödlich, und die mittlere Überlebenszeit nach Symptombeginn beträgt 6 Monate. Bis heute ist trotz verschiedener Ansätze keine kausale Therapie der CJK bekannt. In Labormodellen konnte gezeigt werden, dass Tetracycline wohl durch direkte Interaktion mit PrP^{Sc} einen Anti-Prion-Effekt haben und in Tierversuchen wurde bei behandelten Tieren eine signifikant verlängerte Überlebenszeit festgestellt. Doxycyclin ist ein Medikament aus der Gruppe der Tetracycline und wird seit vielen Jahren vor allem als Antibiotikum bei Menschen eingesetzt und ist hinsichtlich seiner Anwendung gut charakterisiert.

In den Jahren 2006-2008 wurden in Deutschland einzelne Patienten mit sporadischer CJK mit 100 mg Doxycyclin als Dauermedikation behandelt. Die dem NRZ für TSE vorliegenden Katamnesen von Patienten mit solchen Behandlungen und von nicht behandelten Patienten als Kontrollkollektiv wurden in dieser Arbeit systematisch ausgewertet. In der vorliegenden Arbeit wurde das behandelte Patientenkollektiv hinsichtlich der Überlebenszeit und des Erreichens von definierten klinischen Endpunkten als Parameter für die Krankheitsprogression mit einem unbehandelten Patientenkollektiv verglichen. Dazu wurden Daten des NRZ für TSE ausgewertet und ein nicht behandeltes Kontrollkollektiv gebildet, das dem behandelten Kollektiv hinsichtlich der bekannten Prädiktoren (Alter, Geschlecht, *PRNP*-Codon-129-Genotyp) des klinischen Verlaufs angepasst wurde.

Der Vergleich beider Patientenkollektive zeigte bei dem behandelten Patientenkollektiv eine signifikant verlängerte Überlebenszeit.

Bei dem behandelten Patientenkollektiv lag die mediane Überlebenszeit bei 346 Tagen, bei dem unbehandelten Kollektiv bei 194 Tagen, der p-Wert im Log-Rank-Test war $p=0,004$. Weiter zeigte sich, dass das behandelte Patientenkollektiv die einzelnen definierten klinischen Endpunkte signifikant später erreichte. Auffällig ist außerdem, dass sich bei der Auswertung ein *PRNP*-Codon-129-Genotyp-abhängiger Effekt zeigt.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass Doxycyclin die sporadische CJK zwar nicht heilen kann, aber möglicherweise in der Lage ist, das weitere Fortschreiten der Krankheit zu verlangsamen. Um die positiven Ergebnisse dieser Arbeit weiter zu überprüfen, bietet sich die Durchführung einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie zu der Thematik Doxycyclin bei sporadischer CJK an.

6. Tabellenverzeichnis

1.1. Unterschiede zwischen PrP ^C und PrP ^{Sc}	11
1.2. Übersichtstabelle von Substanzen mit Anti-Prion-Effekt	19
3.1. Übersichtstabelle der Gruppeneigenschaften der untersuchten Kollektive .	33
3.2. Übersichtstabelle der Altersgruppenverteilung	37
3.3. Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse	51
3.4. Übersichtstabelle der klinischen Endpunkte nach Krankheitsdritteln für beide Patientenkollektive	52
4.1. Häufigkeitsverteilung der einzelnen Subtypen	58
4.2. Vergleich des unbehandelten Kontrollkollektivs mit Literaturdaten	59
4.3. Übersichtstabelle der Überlebenszeiten der untersuchten Kollektive . . .	60
4.4. Zeitraum von Symptombeginn bis zum Erreichen der einzelnen Endpunkte	65
B.1. Verlust der eigenständigen Ernährung: Vergleich nach Geschlecht, Alter und <i>PRNP</i> -Codon-129-Genotyp	78
B.2. Verlust der Sphinkterkontrolle: Vergleich nach Geschlecht, Alter und <i>PRNP</i> - Codon-129-Genotyp	79
B.3. Verlust der Sprache: Vergleich nach Geschlecht, Alter und <i>PRNP</i> -Codon- 129-Genotyp	80
B.4. Verlust der Mobilität: Vergleich nach Geschlecht, Alter und <i>PRNP</i> -Codon- 129-Genotyp	81

B.5. Stadium des akinetischen Mutismus: Vergleich nach Geschlecht, Alter und <i>PRNP</i> -Codon-129-Genotyp	82
--	----

7. Abbildungsverzeichnis

1.1. Strukturformel von Tetracyclin	20
2.1. Strukturformel von Doxycyclin	25
3.1. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn	34
3.2. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn, Frauen .	35
3.3. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn, Männer	36
3.4. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe 0-59 Jahre .	38
3.5. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe 60-70 Jahre .	39
3.6. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten der Altersgruppe > 70 Jahre .	40
3.7. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (MM- Genotyp)	41
3.8. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (MV- Genotyp)	42
3.9. Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenszeiten vom Symptombeginn (VV-- Genotyp)	43
3.10. Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung	45
3.11. Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkon- trolle	46
3.12. Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache . . .	47
3.13. Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität . . .	48

3.14. Kaplan-Meier-Kurve: Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus	49
3.15. Übersicht über das Erreichen der klinischen Endpunkte	50
3.16. Erreichen der klinischen Endpunkte nach Krankheitsdritteln	53
3.17. Streu-Diagramm der Gesamtüberlebenszeit und des Behandlungsbeginns (als Prozentwert der Gesamtüberlebenszeit)	55

Anhang

A. Diagnostische Kriterien der sporadischen CJK

Definitive CJK

- Neuropathologisch bestätigt und/oder
- immunhistochemisch bestätigt und/oder
- Prion-Protein-positiv (Westernblot)

Wahrscheinliche CJK

- Rasch progrediente Demenz und mindestens 2 von 4 klinischen Symptomen,
 1. Myoklonien
 2. Cerebelläre oder visuelle Symptome
 3. Pyramidale oder extrapyramidale Zeichen
 4. Akinetischer Mutismus
- typische EEG-Veränderungen (periodische Sharp-wave-Komplexe) oder
- Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor bei Krankheitsdauer <2 Jahre

Mögliche CJK

- Klinische Symptomatik wie bei wahrscheinlicher CJK
- Keine typischen EEG-Veränderungen
- Kein Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor
- Krankheitsdauer <2 Jahre

B. Zusammenfassung: Endpunkte

B.1. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der eigenständigen Ernährung

Tabelle B.1.: Verlust der eigenständigen Ernährung: Vergleich nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp

	Median (Tage)	Standardfehler	95% Konf.	Log-Rank-Test
Gesamt				p=0,009
Doxycyclin	190	±26	139-240	
Unbehandelt	122	±20	83-160	
Frauen				p=0,073
Doxycyclin	180	±58	66-294	
Unbehandelt	148	±34	81-215	
Männer				p=0,118
Doxycyclin	190	±58	76-304	
Unbehandelt	122	±18	88-156	
Altersgruppe 0-59 Jahre				p=0,176
Doxycyclin	302	±182	0-658	
Unbehandelt	87	±87	64-110	
Altersgruppe 60-70 Jahre				p=0,137
Doxycyclin	153	±35	85-221	
Unbehandelt	123	±28	66-180	
Altersgruppe >70 Jahre				p=0,102
Doxycyclin	219	±32	157-281	
Unbehandelt	101	±47	8-194	
MM-Genotyp				p=0,001
Doxycyclin	304	±81	145-463	
Unbehandelt	78	±12	55-101	
MV-Genotyp				p=0,122
Doxycyclin	302	±124	59-545	
Unbehandelt	148	±46	56-240	
VV-Genotyp				p=0,995
Doxycyclin	140	±13	114-165	
Unbehandelt	151	±27	99-203	

B.2. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Sphinkterkontrolle

Tabelle B.2.: Verlust der Sphinkterkontrolle: Vergleich nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp

	Median (Tage)	Standardfehler	95% Konf.	Log-Rank-Test
Gesamt				p=0,006
Doxycyclin	184	±34	118-250	
Unbehandelt	122	±23	76-167	
Frauen				p=0,078
Doxycyclin	180	±36	109-251	
Unbehandelt	153	±20	114-192	
Männer				p=0,068
Doxycyclin	184	±77	33-334	
Unbehandelt	122	±12	99-145	
Altersgruppe 0-59 Jahre				p=0,213
Doxycyclin	251	±106	44-458	
Unbehandelt	122	±38	48-196	
Altersgruppe 60-70 Jahre				p=0,045
Doxycyclin	184	±40	105-263	
Unbehandelt	132	±23	86-178	
Altersgruppe >70 Jahre				p=0,224
Doxycyclin	174	±26	122-226	
Unbehandelt	102	±1	99-105	
MM-Genotyp				p=0,001
Doxycyclin	304	±41	224-384	
Unbehandelt	92	±34	25-159	
MV-Genotyp				p=0,116
Doxycyclin	251	±55	143-359	
Unbehandelt	154	±60	36-272	
VV-Genotyp				p=0,885
Doxycyclin	140	±6	129-151	
Unbehandelt	153	±36	82-224	

B.3. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Sprache

Tabelle B.3.: Verlust der Sprache: Vergleich nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp

	Median (Tage)	Standardfehler	95% Konf.	Log-Rank-Test
Gesamt				p=0,014
Doxycyclin	259	±52	157-361	
Unbehandelt	137	±39	60-214	
Frauen				p=0,110
Doxycyclin	228	±54	122-334	
Unbehandelt	163	±75	16-310	
Männer				p=0,104
Doxycyclin	285	±88	122-458	
Unbehandelt	132	±33	68-196	
Altersgruppe 0-59 Jahre				p=0,420
Doxycyclin	228	±119	0-461	
Unbehandelt	163	±100	0-358	
Altersgruppe 60-70 Jahre				p=0,075
Doxycyclin	188	±76	39-337	
Unbehandelt	137	±28	81-193	
Altersgruppe >70 Jahre				p=0,019
Doxycyclin	322	±112	103-541	
Unbehandelt	67	±3	62-72	
MM-Genotyp				p=0,001
Doxycyclin	351	±10	332-369	
Unbehandelt	86	±27	33-139	
MV-Genotyp				p=0,163
Doxycyclin	322	±40	243-401	
Unbehandelt	163	±36	93-233	
VV-Genotyp				p=0,947
Doxycyclin	161	±22	118-204	
Unbehandelt	181	±67	50-312	

B.4. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Verlust der Mobilität

Tabelle B.4.: Verlust der Mobilität: Vergleich nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp

	Median (Tage)	Standardfehler	95% Konf.	Log-Rank-Test
Gesamt				p=0,037
Doxycyclin	214	±26	162-265	
Unbehandelt	122	±18	86-158	
Frauen				p=0,192
Doxycyclin	214	±37	141-286	
Unbehandelt	148	±31	88-208	
Männer				p=0,105
Doxycyclin	225	±119	0-458	
Unbehandelt	109	±10	89-128	
Altersgruppe 0-59 Jahre				p=0,735
Doxycyclin	214	±89	39-389	
Unbehandelt	101	±46	11-191	
Altersgruppe 60-70 Jahre				p=0,082
Doxycyclin	166	±26	115-217	
Unbehandelt	122	±26	72-172	
Altersgruppe >70 Jahre				p=0,089
Doxycyclin	225	±54	120-300	
Unbehandelt	109	±50	12-207	
MM-Genotyp				p=0,001
Doxycyclin	341	±50	243-439	
Unbehandelt	83	±19	45-121	
MV-Genotyp				p=0,236
Doxycyclin	304	±127	56-552	
Unbehandelt	148	±72	5-291	
VV-Genotyp				p=0,536
Doxycyclin	140	±7	125-154	
Unbehandelt	151	±23	107-195	

B.5. Zusammenfassung: Symptombeginn bis zum Stadium des akinetischen Mutismus

Tabelle B.5.: Stadium des akinetischen Mutismus: Vergleich nach Geschlecht, Alter und *PRNP*-Codon-129-Genotyp

	Median (Tage)	Standardfehler	95% Konf.	Log-Rank-Test
Gesamt				p=0,018
Doxycyclin	228	±31	167-289	
Unbehandelt	88	±29	32-144	
Frauen				p=0,052
Doxycyclin	208	±54	102-313	
Unbehandelt	122	±37	49-195	
Männer				p=0,001
Doxycyclin	365	±162	47-683	
Unbehandelt	77	±29	21-133	
Altersgruppe 0-59 Jahre				p=0,265
Doxycyclin	228	±160	0-541	
Unbehandelt	122	±38	47-197	
Altersgruppe 60-70 Jahre				p=0,009
Doxycyclin	208	±54	103-313	
Unbehandelt	61	±15	31-91	
Altersgruppe >70 Jahre				p=0,586
Doxycyclin	241	± *	*- *	
Unbehandelt	318	± *	*- *	
MM-Genotyp				p=0,002
Doxycyclin	412	±51	311-512	
Unbehandelt	87	±11	66-108	
MV-Genotyp				p=0,433
Doxycyclin	152	±*	*- *	
Unbehandelt	61	±*	*- *	
VV-Genotyp				p=0,570
Doxycyclin	167	±1	164-170	
Unbehandelt	120	±35	51-189	

*= nicht bestimmbar;

Literaturverzeichnis

Aguzzi A, Heikenwalder M (2006), Pathogenesis of prion diseases: current status and future outlook., *Nat Rev Microbiol* 4, 765-775.

Alperovitch A, Zerr I, Pocchiari M, Mitrova E, de Pedro Cuesta J, Hegyi I, Collins S, Kretzschmar H, van Duijn C, Will RG (1999): Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 353, 1673-1674.

Alpers MP (2008): Review. The epidemiology of Kuru: monitoring the epidemiology from its peak to its end. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 363, 3707-3713.

Brown DR, Wong BS, Hafiz F, Clive C, Haswell SJ, Jones IM (1999): Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem J* 344, 1-5.

Budka H (2003): Neuropathology of prion diseases. *Br Med Bull* 66 121-130.

Chopra I, Roberts M (2001): Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 65 232-260.

Collinge J (1999): Variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 354, 317-323.

Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF (1996): Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of new variant CJD. *Nature* 383, 685-690.

Creutzfeldt HG (1920): Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z Ges Neurol Psychiatr* 57, 1-18.

Cuille J, Chelle PL (1939): Experimental transmission of trembling to the goat. *Comptes Rendus des Seances Acad Sci* 208 1058–160.

De Luigi A, Colombo L, Diomede L, Capobianco R, Mangieri M, Miccolo C, Limido L, Forloni G, Tagliavini F, Salmona M (2008): The efficacy of tetracyclines in peripheral and intracerebral prion infection. *PLoS ONE* 3, e1888, 1-7.

Domercq M, Matute C (2004): Neuroprotection by tetracyclines. *Trends Pharmacol Sci* 25, 609-612.

Dotevall L, Hagberg L (1989): Penetration of doxycycline into cerebrospinal fluid in patients treated for suspected Lyme neuroborreliosis. *Antimicrob Agents Chemother* 33, 1078-1080.

Forloni G, Iussich S, Awan T, Colombo L, Angeretti N, Girola L, Bertani I, Poli G, Caramelli M, Bruzzone MG, Farina L (2002): Tetracyclines affect prion infectivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 10849-10854.

Gajdusek DC, Zigas V (1957): Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea; the endemic occurrence of kuru in the native population. *N Engl J Med* 257, 974-978

Gambetti P, Kong Q, Zou W, Parchi P, Chen SG (2003): Sporadic and familial CJD: classification and characterisation. *Br Med Bull* 66, 213-239.

Gibbs CJ, Gajdusek DC, Asher DM, Alpers MP, Beck E, Daniel PM, Matthews WB (1968): Creutzfeldt-Jakob disease (spongiform encephalopathy): transmission to the chimpanzee. *Science* 161, 388-389

Gu Y, Singh N (2004): Doxycycline and protein folding agents rescue the abnormal phenotype of familial CJD H187R in a cell model. *Brain Res Mol Brain Res* 123, 37-44.

Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Varges D, Kallenberg K, Schulz-Schaeffer WJ, Steinhoff BJ, Grasbon-Frod EM, Kretschmar HA (2007): Creutzfeldt-Jakob disease in Germany: a prospective 12-year surveillance. *Brain* 130, 1350-1359.

Hill AF, Joiner S, Wadsworth JDF, Sidle KCL, Bell JE, Budka H, Ironside JW, Collinge J (2003): Molecular classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 126, 1333-1346.

Jakob A (1921): Über eigenartige Erkrankungen des Zentralnervensystems mit bemerkenswerten anatomischen Befunden (spastische Pseudosklerose-Encephalomyelopathie mit disseminierten Degenerationsherden). *Z Ges Neurol Psychiatr* 64, 147-228

Korth C, Peters PJ (2006): Emerging pharmacotherapies for Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 63, 497-501.

Krasnianski A, Meissner B, Schulz-Schaeffer WJ, Kallenberg K, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Kretschmar HA, Zerr I (2006 a): Clinical features and diagnosis of the MM2 cortical subtype of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 63, 876-880.

Krasnianski A, Schulz-Schaeffer WJ, Kallenberg K, Meissner B, Collie DA, Roeber S, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Kretzschmar HA (2006 b): Clinical findings and diagnostic tests in the MV2 subtype of sporadic CJD. *Brain* 129, 2288-2296.

Loeb MB, Molloy DW, Smieja M, Standish T, Goldsmith CH, Mahony J, Smith S, Borrie M, Decoteau E, Davidson W, McDougall A (2004), A randomized, controlled trial of doxycycline and rifampin for patients with Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc* 52, 381-387.

Ludewigs H, Zuber C, Vana K, Nikles D, Zerr I, Weiss S (2007): Therapeutic approaches for prion disorders. *Expert Rev Anti Infect Ther* 5, 613-630.

Mahoney FI, Barthel DW (1965): Functional evaluation: The Barthel index. *Md State Med J* 14, 61-5.

Meissner B, Westner IM, Kallenberg K, Krasnianski A, Bartl M, Varges D, Bösenberg C, Kretzschmar HA, Knauth M, Schulz-Schaeffer WJ (2005): Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: clinical and diagnostic characteristics of the rare VV1 type. *Neurology* 65, 1544-1550.

Meissner B, Kallenberg K, Sanchez-Juan P, Collie D, Summers DM, Almonti S, Collins SJ, Smith P, Cras P, Jansen GH (2009): MRI lesion profiles in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 72, 1994-2001.

Minagar A Alexander JS, Schwendimann RN, Kelley RE, Gonzalez-Toledo E, Jimenez JJ, Mauro L, Jy W, Smith S J: (2008): Combination therapy with interferon beta-1a and doxycycline in multiple sclerosis: an open-label trial., *Arch Neurol* 65, 199-204.

Morrissey MP, Shakhnovich EI (1999): Evidence for the role of PrP(C) helix 1 in the hydrophilic seeding of prion aggregates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 11293-11298.

Nurmi MH, Bishop M, Strain L, Brett F, McGuigan C, Hutchison M, Farrell M, Tilvis R, Erkkilä S, Simell O (2003): The normal population distribution of PRNP codon 129 polymorphism. *Acta Neurol Scand* 108, 374-378.

Otto M, Cepek L, Ratzka P, Doehlinger S, Boekhoff I, Wiltfang J, Irle E, Pergande G, Ellers-Lenz B, Windl O (2004): Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study. *Neurology* 62, 714-718.

Pakulski C, Drobnik L, Millo B (2000): Age and sex as factors modifying the function of the blood-cerebrospinal fluid barrier. *Med Sci Monit* 6, 314-318.

Parchi P, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, Farlow M, Dickson DW, Sima AA, Trojanowski (1996): Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 39, 767-778.

Parchi P, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer WJ, Windl O, Zerr I, Budka H, Kopp N, Piccardo P (1999): Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol* 46, 224-233.

Pham N, Yin S, Yu S, Wong P, Kang S, Li C, Sy M (2008): Normal cellular prion protein with a methionine at position 129 has a more exposed helix 1 and is more prone to aggregate. *Biochem Biophys Res Commun* 368, 875-881.

Pocchiari M, Puopolo M, Croes EA, Budka H, Gelpi E, Collins S, Lewis V, Sutcliffe T, Guilivi A, Delasnerie-Laupretre N (2004): Predictors of survival in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease and other human transmissible spongiform encephalopathies. *Brain* 127, 2348-2359.

Prusiner SB (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216, 136-144

Prusiner SB (1991): Molecular biology of prion diseases. *Science* 252, 1515-1522

Prusiner SB (1998): Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 13363-13383.

Riesner D (2003): Biochemistry and structure of PrP(C) and PrP(Sc). *Br Med Bull* 66, 21-33.

Sanchez-Juan P, Green A, Ladogana A, Cuadrado-Corrales N, Sáanchez-Valle R, Mitrováa E, Stoeck K, Sklaviadis T, Kulczycki J, Hess K (2006): CSF tests in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 67, 637-643.

Smilack JD (1999): The tetracyclines. *Mayo Clin Proc* 74, 727-729.

Steinhoff BJ, Zerr I, Glatting M, Schulz-Schaeffer W, Poser S, Kretzschmar HA (2004): Diagnostic value of periodic complexes in Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 56, 702-708.

Stewart LA, Rydzewska LHM, Keogh GF, Knight, RSG (2008): Systematic review of therapeutic interventions in human prion disease. *Neurology* 70, 1272-1281.

Tagliavini F (2008 a): Prion therapy: Tetracyclic compounds in animal models and patients with Creutzfeldt-Jakob disease. Zitiert nach Inhaltsangabe des Vortrages (gehalten 29.07.2008) in: Alzheimers Association International Conference on Alzheimers Disease, Chicago, 26. Juli 2008 bis 31. Juli 2008. Programm und Inhaltsangabe, hrsg. Alzheimers and Dementia 4, Supplement, 2008, (T149-T150)

Tagliavini F (2008 b): Italian Trial with doxycycline in Creutzfeldt-Jakob disease: background, study protocol and update on study population. Zitiert nach Inhaltsangabe des Vortrages (gehalten am 09.10.2008) in: Prion 2008 Conference, Madrid, 08. Oktober bis 10. Oktober 2008, Book of Abstracts; hrsg. v. NeuroPrion, Fontenay-aux-roses, 2008, 36 (OC10.05).

Tagliavini F, McArthur AR, Canciani B, Giaccone G, Porro M, Bugiani P, Lievens MJ, Bugiani O, Peri E, Dall'Ara P (1997): Effectiveness of anthracycline against experimental Prion Disease in Syrian Hamsters. *Science* 276, 1119-1122.

Tagliavini F, Forloni G, Colombo L, Rossi G, Girola L, Canciani B, Angeretti N, Giampaolo L, Peressini E, Awan T (2000): Tetracycline affects abnormal properties of synthetic PrP peptides and PrP(Sc) in vitro. *J Mol Biol* 300, 1309-1322.

Tschampa HJ, Kallenberg K, Urbach H, Meissner M, Nicolay C, Kretzschmar HA, Knauth M, Zerr I (2005): MRI in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a study on inter-observer agreement. *Brain* 128, 2026-2033.

Wade DT, Collin C (1988): The Barthel ADL Index: a standard measure of physical disability? *Int Disabil Stud* 10, 64-67.

Weissmann C, Enari M, Kluhn P, Rossi D, Flechsig E (2002): Transmission of prions. *J Infect Dis* 186, S157-S165.

WHO=World Health Organisation (1998): Human transmissible spongiform encephalopathies. *Wkly Epidemiol Rec* 47, 361-365.

Will RG (2003): Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull* 66, 255-265.

Windl O, Giese A, Schulz-Schaeffer W, Zerr I, Skworc K, Arendt S, Oberdieck C, Bodemer M, Poser S, Kretzschmar HA (1999): Molecular genetics of human prion diseases in Germany. *Hum Genet* 105, 244-252.

Yim CW, Flynn NM, Fitzgerald FT (1985): Penetration of oral doxycycline into the cerebrospinal fluid of patients with latent or neurosyphilis. *Antimicrob Agents Chemother* 28, 347-348.

Zerr I, Poser S (2002) Clinical diagnosis and differential diagnosis of CJD and vCJD. With special emphasis on laboratory tests. *APMIS* 110, 88-98.

Zerr I, Pocchiari M, Collins S, Brandel JP, de Pedro Cuesta J, Knight RS, Bernheimer H, Cardone F, Delasnerie-Laupretre N, Corrales NC (2000): Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 55, 811-815.

Zerr, I, Kallenberg K, Summers DM, Romero C, Taratuto A, Heinemann U, Breithaupt M, Vargas D, Meissner B, Ladogana A (2009), Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 132, 2659-2668.

Ziegler J, Sticht H, Marx UC, Müller W, Rösch P, Schwarzinger S (2003): CD and NMR studies of prion protein (PrP) helix 1. Novel implications for its role in the PrPC-PrPSc conversion process. *J Biol Chem* 278, 50175-50181.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Inga Zerr für das in meine Arbeit gesetzte Vertrauen, ihre Unterstützung und die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe.

Frau Dr. med. Uta Heinemann danke ich für die hervorragende Betreuung bei meiner Tätigkeit und der Anfertigung meiner Doktorarbeit. Für ihre Vorarbeit bezüglich der Thematik meiner Dissertation danke ich Frau Dr. med. Anna Krasnianski.

Darüber hinaus danke ich allen Mitgliedern der Prionforschungsgruppe Göttingen für eine gute Arbeitsatmosphäre und ihre große Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Am 29. August 1978 wurde ich als Sohn von Dagmar Fincke und Manfred Fincke in Hannover geboren. An der Integrierten Gesamtschule Wilhelmshaven erwarb ich im Jahr 1998 meine allgemeine Hochschulreife.

Nach dem Abitur leistete ich beim Rettungsdienst Friesland meinen Zivildienst ab. Im Sommersemester 2000 begann ich mein Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität Göttingen. Mein praktisches Jahr mit dem Wahlfach Neurologie verbrachte ich am Klinikum Lüneburg. Im Juni 2007 habe ich mit Ablegen der 2. Ärztlichen Prüfung mein Studium beendet. Anschließend habe ich ein Jahr im Rahmen eines stipendiengeförderten Forschungsaufenthaltes an der Universitätsmedizin Göttingen verbracht. Seit März 2009 arbeite ich als Assistenzarzt in der Abteilung für Neurologie im Evangelischen Krankenhaus Oldenburg.