

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

Genetische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit in Deutschland (1993-2010)

-

Charakterisierung dreier häufiger Mutationen in Abgrenzung zur
sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit und eine klinische Darstellung
von seltenen Mutationen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Gabi Bosold, geb. Schelzke
aus
Mühlhausen (Thür.)

Göttingen 2013

Dekan: Prof. Dr. Heyo K. Kroemer

I. Berichterstatterin: Prof. Dr. Inga Zerr

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Thomas Gerd Schulze

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Martin Oppermann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.04.2014

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1. Einleitung.....	1
1.1. Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK).....	3
1.1.1. Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJK).....	3
1.1.2. Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK).....	7
1.1.3. Die iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (iCJK).....	8
1.1.4. Die genetische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (gCJK).....	9
1.2. Diagnostik.....	14
1.2.1. EEG-Diagnostik.....	15
1.2.2. Liquordiagnostik.....	16
1.2.3. MRT-Diagnostik.....	16
1.2.4. Neuropathologische Diagnosesicherung.....	17
1.3. Fragestellung.....	18
2. Material und Methoden.....	19
3. Ergebnisse.....	21
3.1. Ergebnisse Publikation I.....	21
3.2. Ergebnisse Publikation II.....	26
3.3. Ergebnisse Publikation III.....	33
4. Quellenverzeichnis.....	37
5. Publikationen.....	47
5.1. Publikation I.....	47
5.2. Publikation II.....	57
5.3. Publikation III.....	61
6. Zusammenfassung.....	71
7. Weiter wissenschaftliche Beiträge zum Thema der Dissertation	75
Lebenslauf.....	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verteilung des Codon-129-Polymorphismus.....	5
Tabelle 2: Klinische und diagnostische Charakteristika der sCJK.....	6
Tabelle 3: Literaturübersicht der E196K-Mutation.....	11
Tabelle 4: Klinische und diagnostische Befunde der E196K-Mutationsträger.	25
Tabelle 5: Demografische Daten der E200K-Mutationsträger.....	27
Tabelle 6: Frequenz der klinischen Symptome zu Krankheitsbeginn und im Verlauf für E200K-und sCJK-Kontrollgruppe.....	27
Tabelle 7: Befunde der apparativen Diagnostik bei der E200K-Mutation mit direktem Vergleich der Ergebnisse der sCJK-Kontrollgruppe.....	29
Tabelle 8: Demografische Daten der V210I-Mutationsträger.....	30
Tabelle 9: Frequenz der klinischen Symptome zu Krankheitsbeginn und im Verlauf für V210I- und sCJK-Kontrollgruppe.....	30
Tabelle 10: Befunde der apparativen Diagnostik bei der V210I-Mutation mit direktem Vergleich der Ergebnisse der sCJK-Kontrollgruppe.....	32
Tabelle 11: Aufstellung demografischer Daten, Symptome, Ergebnisse diagnostischer Tests und Differentialdiagnosen der in Publikation III beschriebenen Fälle.....	35

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: a) PrP ^C in α -Helix-Struktur; b) PrP ^{Sc} in β -Faltblattstruktur.....	1
Abbildung 2: PrP-Typ 1 und 2 im Westernblot	2
Abbildung 3: Klassifikationskriterien der sporadischen CJK	4
Abbildung 4: Klassifikationskriterien der vCJK	7
Abbildung 5: Prävention einer iatrogenen Übertragung von CJK	9
Abbildung 6: Welle der Auswanderung sephardischer Juden aus Spanien im 15.Jhd.und damit verbundene potentielle Ausbreitung der E200K-Mutation..	14
Abbildung 7: EEG-Kriterien der CJK nach Steinhoff <i>et al.</i>	15
Abbildung 8: Beispiel für ein typisches EEG eines sCJK-Patienten mit PSWC	15
Abbildung 9: cMRT-Bilder mit typischen Befunden nach Subtypen geordnet	17
Abbildung 10: Prozentuale Verteilung von Mutationen im <i>PRNP</i> in Deutschland (1993-2010).....	21
Abbildung 11: cMRT von 2 Patienten mit E196K-Mutation	22
Abbildung 12: Ergebnisse der diagnostischen Tests der E196K-Mutation im Vergleich zu anderen genetischen Prionerkrankungen (E200K, FFI, GSS) und der sCJK.....	23
Abbildung 13: Häufigkeit von wml bei E196K-Mutation und sCJK.....	23
Abbildung 14: Pathologische Darstellung der E196K-Mutationsträger.....	24
Abbildung.15: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes. Vergleich der E200K-Mutation gegen die sCJK Kontrollgruppe.....	28
Abbildung 16: Tau-Protein-Werte bei E200K-Mutation sowie der sCJK-Kontrollgruppe.....	28
Abbildung 17: Inverse Korrelation zwischen Tau-Protein und E200K-Mutation.....	28
Abbildung18: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes. Vergleich der V210I-Mutation gegen die sCJK- Kontrollgruppe.....	31
Abbildung19: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes. Vergleich der E200K-Mutation gegen die V210I-Mutation..	31
Abbildung 20: Tau-Protein-Werte bei V210I-Mutation sowie der sCJK-Kontrollgruppe.....	32
Abbildung 21: cMRT von Patient 2 mit V203G-Mutation.....	35

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BSE	Bovine spongiforme Enzephalopathie
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CJK	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
cMRT	cerebrale Magnet-Resonanz-Tomografie
CT	Computer-Tomografie
CWD	Chronic Wasting Disease
DWI	Diffusionswichtung
EEG	Elektroenzephalogramm
EUE	Exotische Enzephalopathie
FFI	Letale familiäre Insomnie (fatal familial insomnia)
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery
FSE	Feline spongiforme Enzephalopathie
gCJK	genetische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom
iCJK	iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
Jhd.	Jahrhundert
MRT	Magnet-Resonanz-Tomografie
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Prionerkrankungen
<i>PRNP</i>	Prionproteingen
PrP	Prionprotein
PrP ^C	Prionprotein zellulär
PrP ^{Sc}	Prionprotein scrapie
PSWC	poly-sharp-wave Komplexe
RKI	Robert-Koch-Institut
sCJK	sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
Tab.	Tabelle
TME	Transmissible Mink-Enzephalopathie
TSE	Transmissible spongiforme Enzephalopathie
vCJD	Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
wml	white matter lesions
ZNS	Zentralnervensystem

1. Einleitung

Als Prionerkrankungen wird eine Gruppe von Erkrankungen zusammengefasst, welche durch ein fehlgefaltetes Protein im ZNS verursacht werden (proteinöses infektiöses Partikel-PRION). Diese Erkrankungen betreffen sowohl den Menschen als auch Tiere (Scrapie bei Schafen, bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) bei Rindern, Chronic Wasting Disease (CWD) bei Hirschen und Rehen, transmissible Mink-Enzephalopathie (TME) bei Nerzen, feline spongiforme Enzephalopathie (FSE) bei Katzen, exotische Enzephalopathie (EUE) bei exotischen Huftieren) und sind zwischen Arten in vivo und in vitro übertragbar (z.B. BSE → vCJD; Scrapie → BSE). Die biologischen Mechanismen wurden von Stanley B. Prusiner 1982 entschlüsselt und er wurde hierfür u.a. 1997 mit dem Nobelpreis für Medizin geehrt (Prusiner 1982). Er konnte zeigen, dass es sich bei dem Krankheitserreger um eine nukleinsäurefreie Eiweißstruktur handelt. Dadurch unterscheiden sich die Prionen von anderen Krankheitserregern wie Bakterien, Viren oder Pilzen. 1984 konnte das Gen, auf dem das Prionprotein verschlüsselt ist, auf dem kurzen Arm des Chromosoms 20 entdeckt werden (Prionproteingen (*PRNP*)) (Prusiner 1984). Es konnte belegt werden, dass PrP^{Sc} und PrP^{C} beide durch das *PRNP* verschlüsselt sind (Basler *et al.* 1986) und sich die pathologische und physiologische PrP Form in ihrer Aminosäurefrequenz nicht unterscheiden. Das gesunde/ physiologische Prionprotein (Prionprotein zellulär, PrP^{C}) liegt in der α -Helix-Struktur vor (Abb.1a) und ist Proteinase-K-sensitiv. Durch bisher nicht bekannte Mechanismen wird es bei Prionerkrankungen in die β -Faltblattstruktur umgewandelt (scrapie Prion Protein, PrP^{Sc}), welche nicht Proteinase-K-sensitiv ist (Abb.1b). In dieser Struktur kann es seine physiologischen Aufgaben nicht mehr erfüllen, reichert sich in der Zelle an und führt so zum Zelltod (Apoptose). Hierdurch ergeben sich die folgenden neuropathologischen Befunde: schwammartiger Auflockerung des Hirngewebes (spongiforme Degeneration),

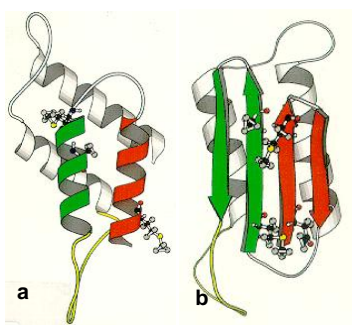


Abbildung 1: a) PrP^{C} in α -Helix Struktur; b) PrP^{Sc} in β -Faltblattstruktur (Informationsbroschüre für Angehörige 2010, S.8)

Vakuolisierung des Neuropils, Verlust der Neurone, Demyelinisierung sowie eine reaktive Gliazellvermehrung der Astrozyten (astrozytäre Gliose) (Kretzschmar und Feiden 2002; Hafiz und Brown DR 2000; Jeffrey *et al.* 2000). Die bisher bekannten/vermuteten physiologischen Funktionen des PrP^C sind synaptische Übertragung, antioxidative Wirkung, Neuroprotektion, zirkadiane Rhythmik sowie Kupferbindung und -transport (Tobler *et al.* 1996, Brown DR *et al.* 1997; Weise *et al.* 2004). Die Ausbreitung des PrP^{Sc} wird anhand des Umfaltungsmodells von Prusiner beschrieben (Prusiner 1982). Hiernach regt ein PrP^{Sc} beim direkten Kontakt mit einem PrP^C dieses an, sich ebenfalls in die pathologische Form umzuwandeln. Nach dem Dominoprinzip breitet sich das PrP^{Sc} im gesamten ZNS aus. Ein weiteres Modell ist das sogenannte Nukleationsmodell. Bei diesem Modell geht man davon aus, dass das PrP^{Sc} an seine Enden, an denen sich infektiöse Amyloidketten befinden, gesunde PrP^C-Moleküle anlagert und diese dann in die pathologische Form umwandelt. Diese entstehenden Ketten zerfallen wieder und bilden neue infektiöse Einheiten, welche dann in der selben Art und Weise weitere Moleküle umwandeln. Durch massive Apoptose kommt es so zu einem Hirngewebeverlust, der sich spongiform (schwammartig) darstellt und so zu der Krankheitsbezeichnung „spongiforme Enzephalopathie“ führte. Das PrP^{Sc} ist in zwei Formen nachweisbar, die sich aufgrund ihrer Bande im Westernblot nach Proteinase-K-Verdauung und ihrer molekularen Größe unterscheiden. Der PrP^{Sc}-Typ 1 hat eine molekulare Masse von 21 kDa während der PrP^{Sc}-Typ 2 eine geringere Masse von 19 kDa aufweist (Prusiner *et al.* 1983, Parchi *et al.* 1996) (Abb.2). Nachdem eine Übertragung der Erkrankung zwischen verschiedenen Rassen im Tierreich bereits in vivo beobachtet wurde, konnte man auch in vitro Prionerkrankungen übertragen. Diese Eigenschaft nutzte Prusiner bereits in den 70er Jahren des vergangenen Jhds. für seine Forschung, indem er die Scrapie-Krankheit auf Hamster übertrug und hier dann das PrP^{Sc} isolieren konnte (Prusiner *et al.* 1980). Die Übertragbarkeit/ Infektiosität ist ein wesentliches Merkmal der Prionerkrankungen, insbesondere da das PrP^{Sc} nicht durch alltägliche Desinfektionsmaßnahmen zerstörbar ist und hier eine potentielle Übertragbarkeit von Mensch zu Menschen möglich ist (siehe iatrogene CJK).

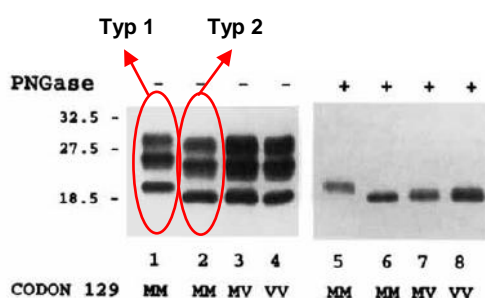


Abbildung 2: PrP-Typ 1 und 2 im Westernblot (Parchi *et al.* 1996, S.769)

1.1. Die Creutzfeldt-Jakob -Krankheit (CJK)

Die humane Prionerkrankung ist die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit. Sie wurde erstmalig durch die Hirnforscher Creutzfeldt und Jakob in den 20iger Jahren des 20. Jahrhunderts unabhängig voneinander als „eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems“ bzw. als „spastische Pseudosklerose“ beschrieben (Creutzfeldt 1920, Jakob A 1921). Die Inzidenz der Erkrankung liegt bei 1-2% pro 1.000.000 Einwohner. Die CJK wird anhand ihrer Ursachen in die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJK), iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (iCJK), Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) und genetische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (gCJK) eingeteilt. Eine Sonderform stellt die Kuru-Erkrankung dar. Hierbei handelt es sich eine 1957 durch Gajdusek bei einem Stamm in Papua-Neuguinea beobachtet Prionerkrankung, die durch Kannibalismus übertragen wird (Gajdusek und Zigas 1957).

1.1.1. Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJK)

Die sCJK ist mit 80-85% der Fälle die am häufigsten auftretende Form der CJK („sporadisch-Adjektiv - a. vereinzelt [vorkommend]; verstreut; b. gelegentlich, nur selten“ (www.duden.de)). Die Ursache, warum sich bei diesen Fällen das PrP^C in das PrP^{Sc} umwandelt, ist bisher nicht bekannt. Die Krankheit wird nach Klassifikationskriterien der WHO (Weltgesundheitsorganisation) in drei Gruppen eingeteilt. „Sichere“- „wahrscheinliche“- oder „mögliche“-CJK (WHO 1998). Die Kriterien, anhand derer diese Einteilung vorgenommen wird, sind in Abb.3 ersichtlich. Das klinische Spektrum, das Alter beim Symptombeginn und die Verlaufsdauer der Erkrankung werden durch den PrP^{Sc}-Typ und einen genetischen Polymorphismus am Codon 129 des PRNP bestimmt. Hierbei handelt es sich um einen Methionin/Valin-Polymorphismus an der Position 129 des PRNP, der in der Normalbevölkerung in den meisten Fällen heterozygot vorliegt (Tab.1). Bei der sCJK liegt hingegen in den meisten Fällen eine Homozygotie für Methionin vor, sodass diese Homozygotie als Suszeptibilitätsfaktor zur Entwicklung einer sCJK gilt (Alperovitch et al. 1999). Sie ist allerdings nicht als krankheitsauslösende Ursache anzusehen, sondern nur als Einflussfaktor auf die klinische Ausprägung der Erkrankung.

Parchi *et al.* konnten in einer Studie mit 300 Patienten aus Amerika und Europa die klinischen und pathologischen Charakteristika herausstellen (Parchi *et al.* 1999) (Tab.2). Häufig wird beobachtet, dass wenige Monate vor Ausbruch der Erkrankung Stressereignisse wie Operationen, beruflicher oder privater Stress vorliegen. Die ersten Symptome sind oft

Sichere CJK

- Neuropathologisch bestätigt und/oder
- Immunhistochemisch bestätigt und/oder
- Prion Protein positive im Western blot

Wahrscheinliche CJK

- Demenz
- Mindestens 2 der 4 unten genannten Symptome
- Periodische Sharp-wave-Komplexe im EEG oder
- Positiver Nachweis der 14-3-3 Proteine im Liquor oder
- Hyperintensitäten im cMRT in den Basal Ganglien und/oder in 2 kortikalen Regionen (temporal, okzipital, parietal, insular)

Mögliche CJK

- Demenz < 2 Jahre
- Mindestens 2 der 4 unten genannten Symptome

Symptome:

1. Myoklonien
2. Visuelle oder cerebelläre Symptome
3. Pyramidale oder extrapyramidale Symptome
4. Akinetischer Mustismus

Abbildung 3: Klassifikationskriterien der sporadischen CJK (WHO 1998, S.363; Zerr *et al.* 2009, S.2664)

unspezifisch, wie z.B. Kopfschmerzen, Wesensveränderungen, Schwindel oder Müdigkeit. Diese Symptome werden als Prodromalphase bezeichnet (Kirschbaum 1986). Die ersten, durch klinische oder neuropsychologische Untersuchungstechniken verifizierbaren Symptome sind zumeist eine Demenz oder Symptome die durch Störungen im Kleinhirn bedingt sind (Ataxie, Dysarthrie). Im Verlauf kann jedes neurologische System betroffen sein wodurch sich eine Heterogenität der Erkrankung ergibt. Der „klassische“ und häufigste Subtyp der CJK ist der MM1/MV1-Typ. Er tritt im Alter von 60-70 Jahren auf und hat eine mittlere Erkrankungsdauer von ca. sechs Monaten (Parchi *et al.* 1999; Zerr *et al.* 2000a). Initial zeigen die Patienten eine Demenz und im Verlauf Sehstörungen und Ataxie. Im Weiteren kommt es zu Störungen der Pyramidenbahn und des extrapyramidalmotorischen Systems, zu psychiatrischen Symptomen und später zu Myoklonien, Inkontinenz und akinetischem Mutismus (Fehlen von Willkürmotorik und Sprachproduktion beim wachen Patienten).

	MM	MV	VV
Normalbevölkerung ¹	39%	50%	11%
sCJK ¹	70%	13%	16%
E196K ²	60%	10%	30%
E200K Israel ³	74%	26%	-
Slowakei ⁴	79%	21%	-
Deutschland ⁵	50%	46%	4%
V210I Italien ⁶	73%	27%	-
Deutschland ⁵	76%	18%	6%

Tabelle 1: Verteilung des Codon-129-Polymorphismus (¹Alperovitch *et al.* 1999; ²Scholzke *et al.* 2011, ³Meiner *et al.* 1997
⁴Mitrova 1991, ⁵Scholzke *et al.* 2012, ⁶Ladogana *et al.* 2005),

Als Todesursache ist in den meisten Fällen von einer Infektion der Atemwege oder des Urogenitaltraktes auszugehen, welche sich aus der Bettlägerigkeit und Windel-/Katheterversorgung ergeben. Der zweithäufigste Typ der sCJK ist der VV2-Subtyp. Er zeigt ein ähnliches Erkrankungsalter und eine ähnliche Verlaufsdauer wie der MM1/MV1-Subtyp (Tab.2). Klinisch unterscheidet er sich dadurch, dass er primär mit einer Ataxie einhergeht und erst später im Krankheitsverlauf eine Demenz auftritt. Annähernd jeder zehnte Patient ist vom MV2-Subtyp betroffen. Er zeichnet sich durch eine wesentlich längere Krankheitsdauer von ca. 17 Monaten aus und die Patienten zeigen klinisch in 50 % der Fälle zu Beginn ein dementielles Syndrom, jedoch können auch Ataxie und extrapyramidale Symptome im Vordergrund stehen. Die Charakterisierung des klinischen Bildes der weiteren Subtypen ist durch ihr seltenes Vorkommen erschwert und muss durch die Beobachtung neuer Fälle immer wieder präzisiert werden (1-2% der Fälle).

	% der Fälle	Alter [Jahre]	Erkrankungs- dauer [Monate]	Klinische Symptome	14-3-3 [%]	EEG [%]	MRT [%]	Pathologie
MM1/ MV1	70	62-66	4-5	„klassische Form“ rapide Demenz, früh Myoklonien, Sehstörungen zu Beginn	91	61	77	ausgeprägte Schädigung des okzipitalen Kortex, PrP ^{Sc} -Ablagerungen vom synaptischen- Typ
MM2- thalamisch	2	52	16	autonome Dysfunktion, Ataxie, Demenz	64	21	93	Atrophie des Thalamus und des Nucleus olivaris, Spongiose kann fehlen
MM2- kortikal	2	64	15	rapide Demenz				große konfluierende Vakuolen mit perivakuolären, PrP ^{Sc} -Ablagerung
MV2	9	60	17	Ataxie mit Demenz	88	0	100	fokale Schädigung des Kortex, Amyloid- ("Kuru"-) Plaques, fokale plaqueartige PrP ^{Sc} -Ablagerungen
VV1	1	40	15	rapide Demenz	100	50	100	Spongiose, Gliose, Nervenzellverlust der kortikalen Strukturen unter Aussparung des Hirnstamms und des Zerebellums
VV2	16	61	7	Ataxie, Demenz erst spät	93	0	60	ausgeprägte Schädigung der subkortikalen Strukturen sowie des Hirnstamms, Spongiose oft nur in den tiefen Rindenschichten, plaqueartige sowie perineuronale PrP ^{Sc} -Ablagerungen

Tabelle 2: Klinische und diagnostische Charakteristika der sCJK (Parchi *et al.* 1999; Zerr *et al.* 2008; Zerr *et al.* 2009)

1.1.2. Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK)

Diese erstmals in den 90er Jahren des letzten Jhd. aufgetretene Erkrankung unterscheidet sich von der sCJK durch ein abweichendes klinisches Bild mit sehr jungen Patienten (Median 26 Jahre (Range: 12-74 Jahre) (Spencer *et al.* 2002)) die häufig zu Beginn an psychiatrischen Symptomen (92%) und Sensibilitätsstörungen (63%) leiden. Nach circa sechs Monaten treten Ataxie, unwillkürliche Bewegungen und progrediente kognitive Defizite hinzu. Im Endstadium der Erkrankung präsentieren die vCJK-Patienten ebenfalls einen akinetischen Mutismus. Die mittlere Krankheitsdauer liegt bei 14 Monaten, was im Vergleich zum klassischen MM1/MV1-Subtyp der sCJD einer langen Verlaufszeit entspricht (Heath und Will 2008). Aufgrund der unterschiedlichen klinischen Präsentation zur sCJK gibt es für die vCJK gesonderte Klassifikationskriterien die in Abb.4 ersichtlich sind. Alle betroffenen Patienten waren bisher homozygot für Methionin am Codon 129 des *PRNP*, wodurch eine Homozygotie für Methionin nach aktuellem Wissenstand einen Risikofaktor für eine Infektion mit vCJK darstellt. Ein Valin im Codon 129 (homo- oder heterozygot) schützt dagegen eventuell vor einer Infektion.

I	a fortschreitende neuropsychiatrische Erkrankung b Krankheitsdauer > 6 Monate c Routineuntersuchungen weisen auf keine alternative Diagnose hin d keine Hinweise auf eine mögliche iatrogene Ursache e keine Hinweise auf eine familiäre Prionerkrankung
II	a frühe psychiatrische Symptome b anhaltende Sensibilitätsstörungen c Ataxie d Myoklonien oder andere Bewegungsstörungen e Demenz
III	a keine CJK-typischen Veränderungen im EEG b bilaterales „pulvinar sign“ im cMRT
IV	a Tonsillenbiopsie positiv
sichere vCJK	Ia und neuropathologische Bestätigung einer vCJK
wahrscheinliche vCJK	I und 4/5 von II und IIIa oder I und IVa
mögliche vCJK	I und 4/5 von II und IIIa

Abbildung 4: Klassifikationskriterien der vCJK (Will *et al.* 2000, S.576)

Die vCJK wird in Verbindung mit dem Verzehr von infizierten Rinderprodukten gebracht und in Untersuchungen wurde gezeigt, dass vermutlich Zellen der Immunabwehr an der Aufnahme des PrP^{Sc} über den Magen-Darm-Trakt beteiligt sind. Unterstützt wird diese These durch den Nachweis von PrP^{Sc} im lymphatischen Gewebe (Milz, Tonsillen, Appendix,

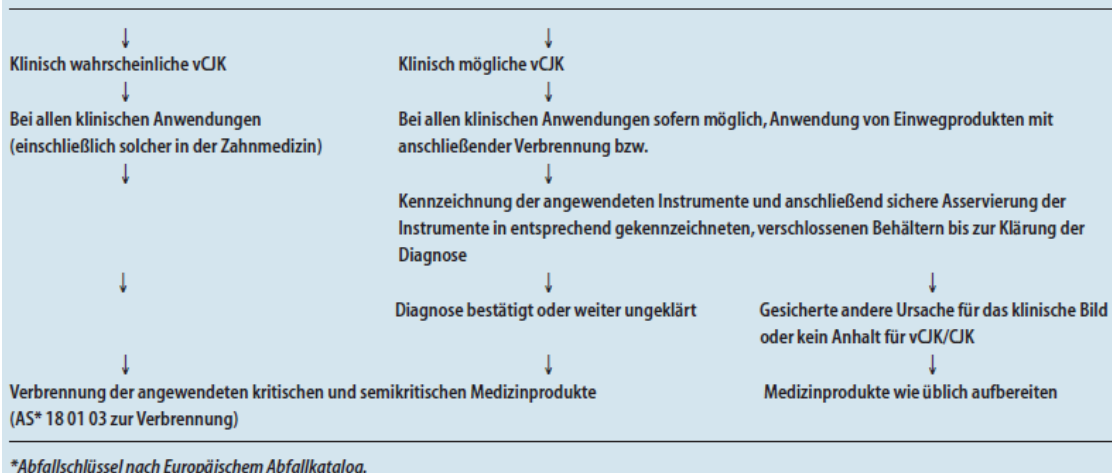
Lymphknoten) bei vCJK-Patienten (Hill *et al.* 1999). Der weitere Weg vom Darm ins ZNS erfolgt vermutlich über periphere Nerven die dann über den dorsalen Vagus Kern ins Gehirn oder über die Nervi splanchnici ins Rückenmark gelangen (Poser *et al.* 2002).

1.1.3. Die iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (iCJK)

Die iatrogene CJK ist eine durch medizinische Eingriffe übertragbare Form der CJK. Dies geschieht durch Gewebe/ Biomaterialien oder Instrumente die mit PrP^{Sc} kontaminiert sind und dann in das ZNS eingebracht werden. Dort wird das vorhandene PrP^C durch das eingebrachte PrP^{Sc} über eine Konformationsänderung in neues PrP^{Sc} transformiert. Historisch wurde das erstmals bei einer Korneatransplantation 1974 beobachtet (Duffy *et al.* 1974). Weitere bisher identifizierte Übertragungswege sind neurochirurgische Eingriffe, stereotaktische EEG-Sonden (Bernoulli *et al.* 1977; Will *et al.* 2003), Dura-mater-Transplantationen (CDC 1987) und Gabe von aus Leichen gewonnenen Wachstumshormonen (Powell-Jackson J *et al.* 1985; Cochius *et al.* 1990), wobei letzteres als periphere Infusion verabreicht wird und somit eine Übertragung über den Blutweg vermutet wird (Tintner *et al.* 1986). Eine Übertragung der Erkrankung über Blutprodukte ist für die sCJK und iCJK nicht bekannt, bei der vCJK wurde eine solche Übertragung allerdings bereits bei fünf Patienten nachgewiesen (Peden *et al.* 2004). Vier dieser Patienten (codon 129 PRNP-Methionin-homozygot) sind an der vCJK erkrankten und ein Patient (codon 129-PRNP-heterozygot) blieb klinisch inapparent. Bei ihm wurde die Infektion durch Nachweis des PrP^{Sc} in einer Tonsillenbiopsie festgestellt. Über 7000 Menschen haben Blutprodukte (Plasma) von vCJK-infizierten Patienten erhalten und sind über ihr potentiell Risiko einer Ansteckung („at-risk“-Status) informiert worden (Hewitt *et al.* 2006).

Bisher wurden weltweit 405 Fälle einer iCJK beschrieben (Brown P *et al.* 2006). In Deutschland konnten neun Patienten identifiziert werden (acht Dura-Mater-Transplantationen, eine Kornea-Transplantation (Parchi *et al.* 1999)). Die Inkubationszeiten einer iCJK sind je nach Infektionsquelle unterschiedlich - Neurochirurgische Eingriffe 1,6 Jahre, Dura-Mater-Transplantationen 6 Jahre, Therapie mit Wachstumshormonen 12 Jahre, Kornea-Transplantation bis zu 15 Jahre (Will 2003). Das PrP^{Sc} ist nicht nur im ZNS nachgewiesen worden, sondern auch in peripheren Nerven und an der neuromuskulären Synapse. Bei der vCJK wird das PrP^{Sc} auch im lymphatischen Gewebe (Lymphknoten, Tonsillen und Appendix) nachgewiesen. Aufgrund dessen wird zur Vermeidung einer iatrogenen Übertragung durch Operationen oder endoskopischen Eingriffen das in Abb.5 aufgeführte Vorgehen zur Verwendung von Medizinprodukten bei CJK empfohlen.

Patient/in mit Hinweisen auf das Vorliegen einer vCJK



1.1.4. Die genetische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (gCJK)

1986 wurde das 250 Aminosäuren verschlüsselnde *PRNP* auf dem kurzem Arm des Chromosoms 20 entdeckt (Sparkes *et al.* 1986) und im Verlauf wurde gezeigt, dass dieses Gen in verschiedenen Wirbeltierarten und bei Vögeln dem menschlichen Gen gleich ist und auch dort das Prionprotein kodiert (Basler *et al.* 1986; Westaway *et al.* 1987; Hsiao *et al.* 1989). Hsiao *et al.* entdeckten 1989 erstmalig eine Punktmutation im *PRNP* (P102L→GSS)

(Hsiao *et al.* 1989) und im weiteren Verlauf wurden über 30 Mutationen entschlüsselt (Punktmutationen, Deletionen, Insertmutationen), wobei nicht klar ist, ob jede Mutation zur Entwicklung der Erkrankung führt, da es sich zum Teil nur um Einzelfallberichte ohne familiäre Häufung handelt (Beck *et al.* 2010). Der Erbgang ist autosomal dominant.

Neben den genetischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheiten gibt es noch zwei weitere humane Prionerkrankungen die auf einer Mutation im *PRNP* beruhen. Das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS), dass sich klinisch durch eine sehr lange Krankheitsdauer (5-7 Jahre) mit Ataxie als prominentes und oft wochenlang einziges Symptom auszeichnet. Im Verlauf treten die für eine CJK-typischen-Symptome einer Demenz und extrapyramidalmotorische Störungen hinzu (Collins *et al.* 2001). Es wurden bisher sieben verschiedene Punktmutationen und auch Insertmutationen im *PRNP* gefunden, welche zu dem klinischen Bild des GSS führen (Tateishi *et al.* 1990; Itoh *et al.* 1994; Hainfellner *et al.* 1995; Mastrianni *et al.* 1995; Ghetti *et al.* 1996; Ironside und Head 2008). Die bekannteste und häufigste Mutation ist die P102L-Mutation bei der am Codon 102 *Prolin* (P) durch *Leucin* (L) ersetzt wird.

Die zweite bekannte genetische Prionerkrankung ist die letale familiäre Insomnie (fatal familial insomnia, FFI). Bei ihr liegt die D178N-Mutation auf dem mit Methionin-gekoppelten-Gen vor. Findet sich die Mutation auf einem Gen mit Valin, spricht man von einer genetischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (Goldfarb *et al.* 1992). Die FFI unterscheidet sich auch klinisch stark von der sCJK. Betroffene Patienten leiden zu Beginn der Erkrankung oft unter autonomer Dysregulation (Hyperhidrosis, Hyperthermie, Tachykardie, Hypertension) und Schlafstörungen und im Verlauf treten Ataxie, Doppelbilder und Myoklonien hinzu. Nach einer Krankheitsdauer von ca. einem Jahr versterben die Patienten. Sowohl das GSS als auch FFI betrifft Patienten im Alter um das 50. Lebensjahr.

E196K

Bei dieser Mutation liegt im *PRNP* eine G>A -Substitution im Codon 196 vor die zu einem Austausch der Aminosäure *Glutamine* (E) durch *Lysine* (K) führt (E196K). In der Literatur sind vier Fälle beschrieben, in denen diese Mutation nachgewiesen wurde (zwei in Frankreich, einer in Italien, einer in Deutschland) und in einer Übersichtsarbeit aus 2005 wurden für Europa insgesamt fünf Mutationsnachweise aufgeführt, wobei drei aus der deutschen Kohorte stammten (drei aus Deutschland, einer aus Frankreich, einer aus Österreich) (Peoc'h *et al.* 2000; Tumani *et al.* 2002; Kovacs *et al.* 2005; Clerici *et al.* 2008; Bejot *et al.* 2010). Der durch Tumani *et al.* dargestellte Kasus aus Deutschland ist in meine

Auswertung der gesamten deutschen Kohorte erneut mit eingeflossen und wurde nicht als Extrafall in die Analyse mit einbezogen. Tab.3 gibt einen Überblick über die klinischen Befunde und Ergebnisse der diagnostischen Tests, der in der Literatur beschriebenen Fälle. Aufgrund der kleinen Patientenzahl und ohne Stammbaumanalysen sind Angaben zur Penetranz und Abstammungsstudien bisher nicht bekannt bzw. durchgeführt worden. Nach Veröffentlichung von Publikation I (Schelzke *et al.* 2011) wurde ein weiterer Fall der E196K-Mutation beschrieben. Es handelt sich um eine 71jährige Chinesin (Shi *et al.* 2011) und somit den ersten bekannten asiatischen Fall. Die Familienanamnese ist negativ für Prionerkrankungen oder andere neurodegenerative Erkrankungen und es wurde keine neuropathologische Untersuchung vorgenommen. Weitere Familienmitglieder haben sich gegen eine genetische Testung entschieden.

	Alter [Jahre]	Dauer [Monate]	Codon 129	Initiale klinische Symptome	Symptome im Krankheits- verlauf	PSWC im EEG	14-3-3	MRT Basal- Ganglien	Kortex	White matter lesions
Peoc'h <i>et al.</i> 2000	69	12	MM	Anorexie, Mutismus, emotionale Instabilität, unangebrachtes Verhalten	Extra pyramidal- motorische Zeichen	Ø	+	Ø	Ø	Ø
Clerici <i>et al.</i> 2008	75	6	VV	Depression	Aphasie, Gangataxie, Pyramidenbah nzeichen, extra pyramidal- motorische Zeichen, Myoklonien, akinetischer Mutismus	–	+	+	+	–
Bejot <i>et al.</i> 2010	80	6	MM	Apraxie, Schlafstörungen	Optische Hallu- zinationen, Agitation, Apathie, Myoklonien, akinetischer Mutismus	–	+	+	+	+
Shi <i>et al.</i> 2011	71	7	MM	Abnahme der Spontan- sprache, Dysarthrie	Dysphagie, Apathie, Dysurie, Hallu- zinationen, Koma, akinetischer Mutismus	–	–	Ø	Ø	Ø

Tabelle 3: Literaturübersicht der E196K-Mutation (Peoc'h *et al.* 2000; Clerici *et al.* 2008; Bejot *et al.* 2010; Schelzke *et al.* 2011; Shi *et al.* 2011)

V210I

Bei dieser Mutation liegt im *PRNP* eine G>A-Substitution im Codon 210 vor, die zu einem Austausch der Aminosäure *Valin (V)* durch *Isoleucin (I)* führt (V210I). Erstmals wurde diese Mutation 1993 bei einem französischen Patienten beschrieben (Ripoll *et al.* 1993) und im weiteren Verlauf konnte das klinische Bild dieser Mutation in verschiedenen Einzelfallberichten wiedergegeben werden (Pocchiari *et al.* 1993; Shyu *et al.* 1996; Mouillet-Richard *et al.* 1999; Windl *et al.* 1999; Huang *et al.* 2001; Mastrianni *et al.* 2001; Ladogana *et al.* 2005). Die größte bekannte Kohorte dieser Mutation gibt es in Italien (Kovacs *et al.* 2005; Ladogana *et al.* 2005) aber auch in anderen europäischen Ländern ist diese Mutation nachgewiesen worden. Es gibt in der Literatur u.a. eine betroffene Patientin in Brasilien. Sie ist allerdings eine deutsche Auswanderin und nach einer persönlichen Kommunikation mit dem Letztautor konnten wir diese Patientin einer unserer betroffenen deutschen Patienten als Schwester zuordnen, welche vor vielen Jahren auswanderte (Huang *et al.* 2001). Auch in Asien ist die Mutation entdeckt worden, wobei dieser Fall zusätzlich zu der Mutation eine weitere Besonderheit zeigt (Shyu *et al.* 1996). Die beschriebene Patientin (48 Jahre) hat eine außerordentlich lange Überlebenszeit. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung des Artikels war sie bereits seit zwei Jahren krank und noch am Leben. Eine mutmaßliche Begründung hierfür findet sich im cMRT. Hier zeigt sie den in Asien verbreiteten panencephalopathischen-Typ der CJK, der mit großflächigen Veränderungen der weißen Substanz einhergeht und oft auch ohne lebensverlängernde Maßnahmen, wie z.B. künstliche Beatmung, zu einem mehrjährigen Verlauf der Erkrankung führt (siehe 1.2.4.). Molekulare Stammbaumanalysen wie für die E200K-Mutation sind bisher für die V210I-Mutation nicht durchgeführt worden. Ladogana *et al.* vermuten den Ursprung der Mutation in Süditalien und einen weiteren Ursprung in Japan oder China (Ladogana *et al.* 2005).

E200K

Bei dieser Mutation liegt eine A>G-Substitution am Codon 200 des *PRNP* vor, die zu einem Austausch der Aminosäure *Glutamine (E)* durch *Lysin (K)* führt. Die Erstbeschreibung erfolgte durch Goldfarb *et al.* 1990 und Hsiao *et al.* 1991 (Goldfarb *et al.* 1990a; Hsiao *et al.* 1991). Im Vorfeld der Genanalyse war unklar, warum manche Familien gehäuft von der CJK betroffen waren, insbesondere jüdische Familien in Libyen, Familien in der Slowakei und Chile. Damals wurde noch davon ausgegangen, dass die CJK eine Viruserkrankung ist (Masters *et al.* 1979) und verschiedene Theorien zur familiären Häufung wurden erstellt. Es könnte sich um eine vertikale Transmission handeln (Übertragung des Erregers von den Eltern auf die Nachkommen über die Keimzellen, intrauterine Infektion oder über die

Muttermilch) oder um eine horizontale Transmission (Übertragung eines Pathogens zwischen Individuen einer Generation) (Galvez *et al.* 1983; Baron *et al.* 1986). Ebenfalls wurde der Verzehr von infiziertem Schafhirn, Blut oder Augäpfeln als Ursache der Erkrankung diskutiert (Herzberg *et al.* 1974). Insgesamt wurde eher davon ausgegangen, dass Umweltfaktoren für eine Häufung der CJK-Fälle verantwortlich sind. Ein Argument hierfür war, dass betroffene Familienmitglieder im selben Alter erkrankten (keine Antizipation), also dem Erreger im selben Alter ausgesetzt gewesen seien müssen. Insbesondere wurde dies unter Geschwistern beobachtet. Gegen diese Theorie spricht ein Fall von zwei Brüdern die in Israel geboren wurden und aufwuchsen, nach Libyen auswanderten und dort erkrankten. In Israel gab es aber kein Scrapie, und somit keinen Erreger mit dem man sich hätte infizieren können (Nisipeanu *et al.* 1990). Ein weiteres Argument gegen Umweltfaktoren als krankheitsauslösende Ursache ist, dass die nicht-jüdische Bevölkerung in Libyen nicht gehäuft an CJK erkrankt ist und auch keine familiäre Häufung zeigte (Radhakrishnan und Mousa 1988). Parallel wurde unter der Annahme, dass genetische Faktoren einen Organismus dazu prädisponieren sich mit dem Erreger zu infizieren, eine genetische Suszeptibilität für eine Infektion mit dem „CJK-Virus“ diskutiert (Galvez *et al.* 1983).

Nachdem 1989 die E200K-Mutation in einer polnischen Familie (Goldgaber *et al.* 1989) sowie 1990 in slowakischen und chilenischen Familien, Familien amerikanischer sephardischer Juden (Goldfarb *et al.* 1990b) und auch bei jüdischen Libyern (Goldfarb *et al.* 1990a; Hsiao *et al.* 1991) gefunden wurde, stellte man sich die Frage, ob es einen gemeinsamen Ursprung der Mutation gibt, der sich dann durch Vererbung und Völkerwanderung ausgebreitet hat. Goldfarb *et al.* analysierten 1991 die bekannten Cluster der E200K-Mutation in Chile, in der Slowakei und bei den jüdischen Libyern. Nach Chile kam die Mutation vermutlich durch Auswanderung von Spaniern nach Südamerika. Hierfür spricht, dass 80% der betroffenen Patienten in Chile spanische Vorfahren hatten. Die Vertreibung sephardische Juden aus Spanien im 16. und 17. Jhd. führten sie in die Slowakei, nach Österreich, Tschechien, Tunesien, Libyen, Israel und Griechenland (Abb.6). Ende des 19. Jhd. emigrierten Europäer vermehrt nach Nordamerika und somit breitete sich die Mutation auch dort aus (Goldfarb *et al.* 1991). Diese Theorie war sehr umstritten, da die E200K-Mutation in Spanien nicht nachgewiesen werden konnte und auch bekannte Kosanguinität innerhalb der jüdischen Gemeinden bisher nicht als potentielle Ursache der Häufung von CJK Fällen in Familien diskutiert wurde (Chapman *et al.* 1993; Simon *et al.* 2000). Mittlerweile ist die E200K-Mutation auch in Spanien nachgewiesen worden, allerdings nicht in großen familiären Clustern wie in Chile, in der Slowakei oder unter den libyschen Juden (Kovacs *et al.* 2005; Morgado-Linares *et al.* 2007).

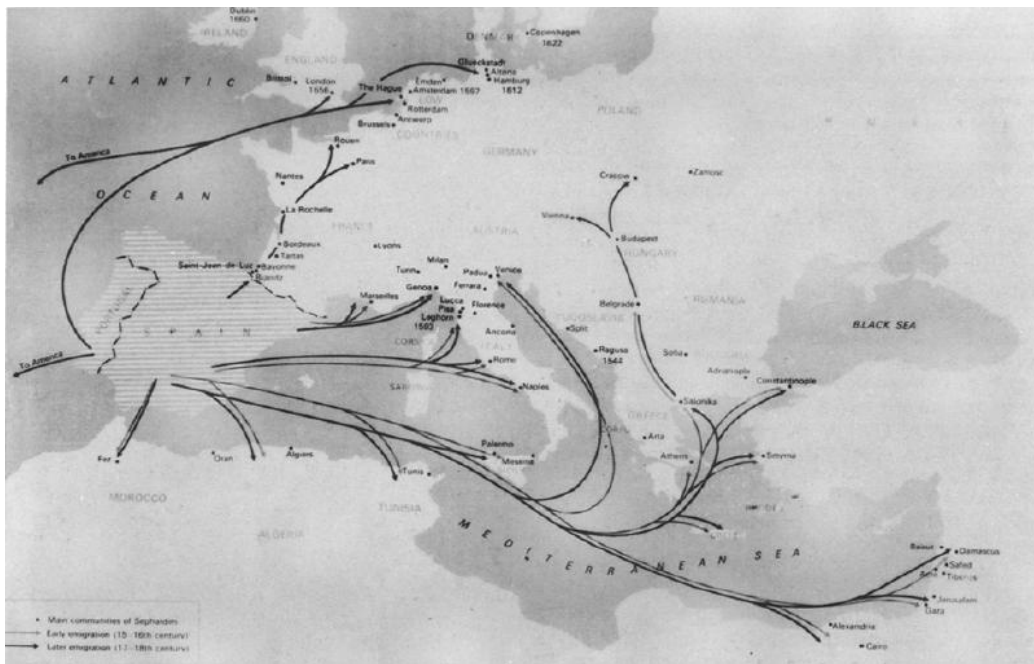


Abbildung 6: Welle der Auswanderung sephardischer Juden aus Spanien im 15.Jhd.und damit verbundene potentielle Ausbreitung der E200K-Mutation (Goldfarb *et al.*, 1991, S.484).

Neue Aspekte in der Frage des genetischen Ursprungs konnte die Arbeitsgruppe um Hee Suk Lee erbringen. Er markierte das *PRNP* mit Mikrosatelliten und konnte drei verschiedene mutationsassoziierte Haplotypen identifizieren. Den mediterranen Haplotyp bei libyschen Juden, Spaniern, Tunesiern, Italienern und Chilenen, welche vermutlich durch die o.g. Vertreibung aus Spanien in diese Regionen auswanderten. Den östlichen Haplotyp, der in der Slowakei gefunden wurde und dort vermutlich durch Einwanderung aus Rumänien und Russland ansässig wurde (Mitrova *et al.* 1991), und den west-europäische Haplotyp der bei Patienten in Deutschland, auf Sizilien und in Österreich einheitlich ist (Lee *et al.* 1999). Lee *et al.* unterstreichen somit die These, dass sich zumindest der mediterrane Haplotyp durch die Vertreibung der sephardischen Juden aus Spanien ausbreitete.

1.2. Diagnostik

Die diagnostischen Verfahren zur Diagnose einer CJK sind EEG, Liquoranalyse (Nervenwasser) und MRT des Kopfes (cMRT), wobei die CJK eine Ausschlussdiagnose darstellt. D.h. eine Reihe von Erkrankungen können ebenfalls die Symptome einer CJK aufweisen und müssen im Vorfeld ausgeschlossen werden. Die wichtigsten Differentialdiagnosen sind andere Demenzen, Entzündungen des Zentralnervensystems (ZNS), epileptische Anfälle, Tumorerkrankungen, Schlaganfälle, Blutungen im ZNS,

metabolische Erkrankungen, immunologische Erkrankungen und andere neurodegenerative Erkrankungen wie z.B. M.Parkinson (Zerr *et al.* 2002).

1.2.1. EEG-Diagnostik

Das EEG als diagnostisches Mittel wurde erstmals bereits in den 50er Jahren des 20. Jhds. beschrieben und war bereits Bestandteil der ursprünglichen Diagnosekriterien der CJK (Masters *et al.* 1979, Ajuriaguerra *et al.* 1953). Die typischen Veränderungen im EEG sind triphasische Wellen/ Poly-sharp-wave-Komplexe (PSWC), die den EEG-Klassifikationskriterien von Steinhoff *et al.* entsprechen (Abb.7, Abb.8) (Steinhoff *et al.* 1996, Steinhoff *et al.* 2004). Bei diesen Wellen handelt es sich wahrscheinlich um Aktivitäten aus dem Thalamus, welche später im Krankheitsverlauf nicht mehr nachweisbar sind (elektrische Inaktivität) (Lee und Blair 1973; Chiofalo *et al.* 1980). Die Sensitivität des EEG liegt bei 67% und die Spezifität bei 86%. Die prozentuale Verteilung der positiven Befunde bei den Subtypen der sCJK sind in Tab. 2 ersichtlich.

EEG- Kriterien nach Steinhoff *et al.* 1996:

- PSWC
- Periodizität → mindestens fünf sich wiederholende Intervalle mit einem zeitlichen Abstand von weniger als 500 ms
- Dauer zwischen 100 und 600 ms
- Sowohl generalisierte als auch lateralisierte oder regionale PSWC möglich
- Intervall zwischen 0,5 und 2 sec

Abbildung 7: EEG- Kriterien der CJK nach Steinhoff *et al.* 1996

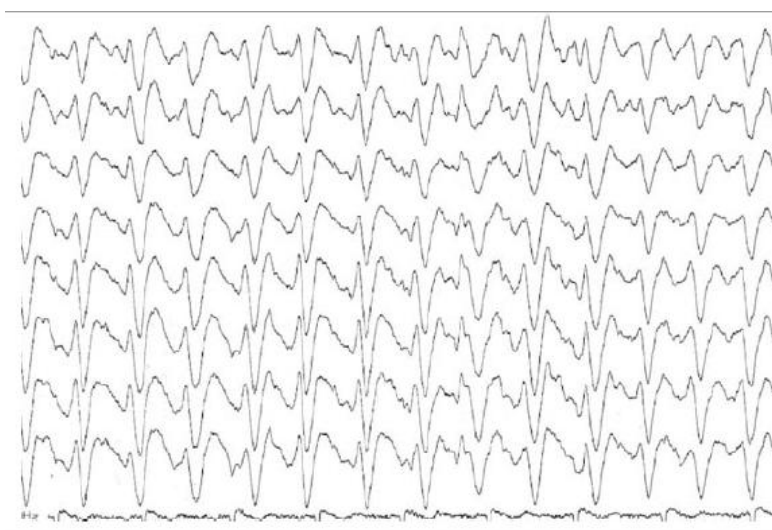


Abbildung 8: Beispiel für ein typisches EEG eines sCJK Patienten mit PSWC (Schelzke und Zerr 2010)

1.2.2. Liquoanalyse

Die Marker für die CJK im Nervenwasser (Liquor) sind das 14-3-3-Protein, Tau-Protein, NSE und S100-Protein, wobei das 14-3-3-Protein den spezifischsten Marker darstellt. Bei diesen Proteinen handelt es sich um intrazelluläre Proteine welche bei Nervenzelluntergang in den Liquor abgegeben werden und dort nachweisbar sind (Neurodestruktionsmarker) (Zerr *et al.* 1998; Zerr *et al.* 2000b). Bei einer CJK zeigen sich Entzündungsparameter im Liquor normwertig, die Blut-Hirn-Schranke ist intakt und die Demenzmarker A β 1-40, A β 1-42 und phosphoryliertes Tau Protein (pTau) sind nicht pathologisch verändert (Co-Erkrankungen ausgeschlossen). Neurodestruktionsmarker sind allgemein bei Nervenzelluntergang erhöht. Darin ist begründet, dass es bei Erkrankungen, die mit hohem Nervenzelluntergang einhergehen, wie z.B. Schlaganfall, Epilepsie, Entzündungen des ZNS, ebenfalls zu einem Anstieg der Neurodestruktionsmarker kommt (Spezifität der 14-3-3-Protein-Bestimmung: 93% (Stoeck *et al.* 2012). Die Sensitivität der 14-3-3-Proteinbestimmungen liegt bei 94% (Zerr *et al.* 2000b). Erhöht wird die Sensitivität durch Kombination mehrere Marker (Sanchez-Juan *et al.* 2006) (z.B. 14-3-3 Protein positiv + Tau Protein >1200pg/ml → Sensitivität 99%). Die unterschiedliche prozentuale Verteilung der 14-3-3 Proteine bei den molekularen Subtypen der sCJK ist in Tab. 2 ersichtlich.

1.2.3. MRT-Diagnostik

2009 hielt das cMRT offiziell Einzug in die Diagnosekriterien der CJK (Zerr *et al.* 2009). Bereits 1988 zeigten erste Studien von Gertz *et al.* (Gertz *et al.* 1988) symmetrische hyperintense Basalganglien in der T2- und Protonenwichtung. Im Verlauf konnte gezeigt werden, dass die sensitiveren MRT-Wichtungen die Diffusionwichtung (DWI) und Fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) sind und nicht nur die Basalganglien betroffen sind, sondern auch der Kortex betroffen ist (Schröter *et al.* 2000). Die Sensitivität der MRT-Untersuchung liegt bei 98% und die Spezifität bei 70,8% (Zerr *et al.* 2009). Eine durch MRT-Technik zur Kenntnis genommene Sonderform der CJK ist der hauptsächlich in Asien beschriebene panencephalopatische Typ, der bei der sporadischen oder bei der genetisch bedingten CJK beobachtet wurde und sich durch ausgedehnte hyperintense Veränderungen in der weißen Substanz auszeichnet. Diese Verlaufsform geht häufig mit einer sehr langen Krankheitsdauer einher (über Jahre) und in der Autopsie wird neben einer hochgradigen Atrophie, ein Verlust von Myelin und Axonen, spongiforme Veränderungen, vereinzelte Makrophagen und Proliferation von gemistozytischen Astrozyten berichtet. Die derzeitige Diskussion beinhaltet, ob diese Veränderungen eine primäre Veränderung der CJK sind oder

ein sekundärer Prozess im Krankheitsverlauf (Mizutani *et al.* 1981; Uchino *et al.* 1991; Matsusue *et al.* 2004; Jansen *et al.* 2009; Iwasaki *et al.* 2011). In Tab. 2 sind die Häufigkeiten der MRT-Veränderungen bei der sCJK nach molekularem Subtyp aufgelistet und in Abb.9 sind die typischen MRT-Bilder der Subtypen dargestellt.

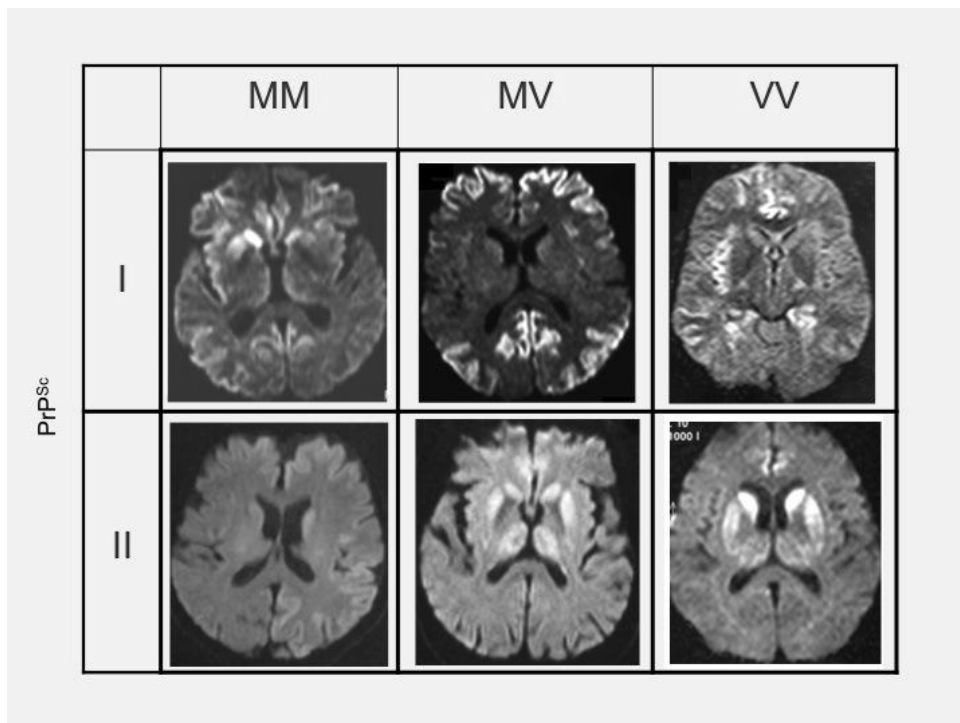


Abbildung 9: cMRT-Bilder mit typischen Befunden nach Subtypen geordnet (Zerr *et al.* 2012)

1.2.4. Neuropathologische Diagnosesicherung

Eine „sichere Creutzfeldt-Jakob-Krankheit“ kann nur durch die neuropathologische Diagnostik erfolgen. Hierbei werden makroskopische, histologische und immunhistochemische Befunde erstellt. Nachgewiesen werden Spongiformität (Vakuolenbildung), Nervenzellverlust, reaktive Astrozyten- und Mikroglia proliferation und Akkumulation des pathologischen Prionoproteins (Budka *et al.* 1995, Kretzschmar *et al.* 1996). Das Prionprotein kann sich in verschiedenen Formen ablagern (perivakuolär, synaptisch, neuronal, plaqueartig) und betrifft je nach Subtyp der sCJK und der anderen Prionerkrankungen unterschiedliche Hirnregionen (Tab.2).

1.3. Fragestellung

Alle drei Arbeiten beschäftigen sich mit gCJK in Deutschland. Publikation I und II spiegeln dabei die drei häufigsten gCJK wider, während in Publikation III vier bisher unbekannte Mutationen dargestellt werden.

- I) Die E196K-Mutation und das mit ihr verbundene Krankheitsbild wurde bisher viermal in der Literatur beschrieben. In Deutschland ist diese Mutation bei sieben Patienten bekannt und hierbei sind auch mehrere Patienten miteinander verwandt, sodass anzunehmen ist, dass die Mutation krankheitsrelevant ist. Mit 8,4% aller gCJK stellt sie in Deutschland die drittgrößte Gruppe der gCJK dar. Anhand aller klinischen und diagnostischen Daten soll versucht werden, die E196K-verursachte CJK zu charakterisieren und somit auch bei fehlender positiver Familienanamnese den Verdacht auf eine genetische Genese zu stellen. (Publikation I)
- II) In der Literatur werden das klinische Erscheinungsbild und die Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungsmethoden der häufigen *PRNP*-Mutationen E200K und V210I denen der sporadische CJK sehr ähnlich beschrieben und eine Unterscheidung zwischen genetischer und sporadischer Genese ist klinisch und diagnostisch, bei fehlender positiver Familienanamnese für eine CJK, sehr schwer zu treffen. Anhand der Auswertung der Krankenakten zu allen in Deutschland erfassten Mutationsträgern mit E200K- und V210I-Mutation zwischen 1993 und 2010, einschließlich aller klinischen Symptome und Ergebnisse diagnostischer Testverfahren, und Vergleich der Daten mit Alters, Geschlechts und Codon 129-Polymorphismus gematchten sCJK- Patienten, soll herausgestellt werden, ob es einen Unterschied zwischen der gCJK (E200K, V210I) und der sCJK gibt. Anhand der in der Literatur befindlichen Daten soll zusätzlich herausgestellt werden, ob es Unterschiede zwischen der deutschen Kohorte und den in der Literatur befindlichen Angaben aus anderen Ländern gibt. (Publikation II)
- III) Die in Publikation III dargestellten Fälle präsentieren Patienten bei denen bisher unbekannte Mutationen im *PRNP* gesehen worden sind. Diese Mutationen sind bisher auch nicht in Studien bei denen das *PRNP* nach Mutationen abgesucht wurde (CJK-Patienten, nicht-CJK-Patienten) gesehen worden. Die Relevanz für die Erkrankung ist derzeit nicht belegt. Das Vorkommen der jeweiligen Mutation nur bei CJK-Patienten lässt eine pathogenetische Relevanz annehmen. Ziel der Publikation soll es sein, die Fälle zu beschreiben und im Kontext mit bekannten Mutationen, die sich auf demselben Codon befinden oder in der Nähe des betroffenen Codons befindlich sind, zu interpretieren, ob eine Krankheitsrelevanz gegeben ist oder nicht. Des Weiteren sollen die Fallbeschreibungen Ärzten bei komplizierten Krankheitsfällen im differentialdiagnostischen Prozess helfen. (Publikation III)

2. Material und Methoden

Bereits 1993 wurde an der Universität Göttingen eine Surveillance Unit (Beobachtungseinheit) für Prionerkrankungen gegründet. Diese beinhaltet Labordiagnostik, konsiliarische Tätigkeit sowie Datensammlung und Auswertung. Das Ziel ist es die CJK in Deutschland zu erforschen und epidemiologisch zu überwachen. Seit dem 01.01.2006 wird dies im Rahmen eines durch das Robert-Koch-Institut etablierten nationalen Referenzzentrums für Prionerkrankungen (NRZ) durchgeführt. Die dem NRZ vom Robert-Koch-Institut zusätzlich übertragenen Aufgaben sind die Entwicklung, Verbesserung und Standardisierung diagnostischer Verfahren, Beratungstätigkeit für Ärzte, Labore und den öffentlichen Gesundheitsdienst, Durchführung von Weiterbildungsmaßnahmen, Aufdeckung von Ausbrüchen oder Ausbruchsgefahren und eine regelmäßige Berichterstattung sowie Beratung des Robert-Koch-Instituts und Mitwirkung bei der Erarbeitung von Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts für Diagnostik, Therapie und Prävention. Aus ganz Deutschland werden Patienten, mit dem Verdacht auf eine Prionerkrankung an das NRZ gemeldet. Zusammen mit den behandelnden Ärzten untermauern die Ärzte des NRZ die Diagnose oder ermitteln die eventuellen Differentialdiagnosen. Die Patienten bei denen sich der Verdacht auf eine Prionerkrankung erhärtet, werden vor Ort von einem Arzt des NRZ untersucht, die vorliegenden Untersuchungsergebnisse werden interpretiert, die Anamnese wird zusammen mit dem Patienten und der Familie erhoben, ein standardisierter Fragebogen zur Ermittlung von Risikofaktoren wird erstellt, Biomaterialien und Daten aus der Krankenakte werden mit dem Einverständnis des Patienten oder des gesetzlichen Betreuers gesammelt. Des Weiteren werden die betroffenen Patienten und Ihre Angehörigen über die Genese und den Verlauf von Prionerkrankungen ausführlich aufgeklärt sowie die Möglichkeit einer genetischen Diagnostik besprochen. Anhand der vorliegenden Symptome und Ergebnisse der diagnostischen Tests wird jeder Fall anhand der offiziellen Klassifikationskriterien klassifiziert (Abb.3) und dem zuständigen Gesundheitsamt nach §6 IfSG gemeldet. Die Mutationsanalyse erfolgte in der Abteilung Neuropathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (Prof. Dr. med. Dr. hc. H. A. Kretzschmar).

Für Publikation I wurden klinische und diagnostische Details von sieben Patienten mit E196K-Mutation im *PRNP* analysiert und zusammen mit den verfügbaren Informationen aus der Fachliteratur die Charakteristika herausgestellt. Hierfür wurden die zur Verfügung stehenden Akten genutzt.

In der zweiten Publikation wurden Patienten mit E200K- (n=24) und V210I- (n=18) Mutation im *PRNP* analysiert. Hierfür wurden ebenfalls die klinischen und diagnostischen Details aus den Akten analysiert, wobei in dieser Studie die Ergebnisse mit sCJK-Patienten verglichen wurden. Die Kontrollgruppe (sCJK) wurde nach Alter, Geschlecht und Polymorphismus am Codon 129 des *PRNP* gematcht und eine Mutation wurde explizit ausgeschlossen. Statistische Analysen erfolgten zwischen den Mutationen und ihrer Kontrollgruppe sowie zwischen den Mutationen (E200K, V210I). Zur statistischen Analyse in Publikation II wurden die klinischen Symptome betrachtet, welche in die folgenden Gruppen aufgeteilt wurden: Prodromalphase, Demenz, cerebelläre Zeichen, Myoklonien, Pyramidenbahnzeichen, extrapyramidalmotorische Symptome, psychiatrische Symptome und Sensibilitätsstörungen. Die Häufigkeit der Symptome und der Zeitpunkt des erstmaligen Symptomauftrittes wurden analysiert. Aus dem Liquor wurden die Häufigkeit der 14-3-3-Protein bestimmt und die Höhe der Tau-Proteine, wobei hier insbesondere geschaut wurde, ob die Höhe der Tau-Proteine einen Abhängigkeitsfaktor wie Alter oder Verlaufsdauer der Erkrankung besitzen. Der Liquor wurde im Referenzlabor des NRZ nach standardisierten Techniken untersucht (Zerr *et al.* 2000a). Die vorhandenen EEGs wurde nach den CJK-Kriterien von Steinhoff *et al.* (Steinhoff *et al.* 1996) beurteilt (Abb.7) und in „PSWC“, „non-PSWC“ und „unspezifische Veränderungen“ eingeteilt. Die verfügbaren MRTs in T2-Wichtung, DWI und/ oder FLAIR wurden nach den Kriterien von Zerr *et al.* (Zerr *et al.* 2009) beurteilt. Die Veränderungen der weißen Substanz (white matter lesions, wml) wurden durch CT und T2-Wichtung im MRT erfasst. Die Einteilung der CJK-Veränderungen erfolgten als „typisch“ oder „nicht typisch“. Wml wurden mit „positiv“ oder „negativ“ angegeben. Für die erste Publikation wurden auch neuropathologische Untersuchungen vorgenommen. Diese wurden durch die Abteilung Neuropathologie der Ludwig-Maximilians-Universität-München geleistet. Die statistischen Analysen wurden mit IBM®SPSS 19 durchgeführt und folgende Tests wurden genutzt: Mann-Whitney-U-Test, t-Test, Fischer-Exakt-Test, Chi-Quadrat-Test, Log-Rank-Test, Korrelation, Häufigkeitsberechnungen, Median- und Mittelwertberechnungen, Kreuztabellen. Gegeneinander verglichen wurden E200K-Mutation gegen sCJK-Kontrollgruppe, V210I-Mutation gegen sCJK-Kontrollgruppe, E200K-Mutation gegen V210I-Mutation. Zur Analyse wurden folgende Untergruppen gebildet: anhand des Codon 129-Polymorphismus, jünger oder älter als medianes Alter, kürzerer oder längerer Verlauf als die mediane Krankheitsdauer.

Für Publikation III wurden alle erhältlichen Daten nach Aktenlage zusammengeführt und analysiert sowie ein detailliertes Literaturstudium (Pub Med) durchgeführt.

3. Ergebnisse

Von 1993 bis 2010 wurden 2367 Fälle von Prionerkrankungen an der Universitätsmedizin Göttingen registriert. Bei 138 von diesen Patienten konnte eine Mutation im *PRNP* festgestellt werden. Die prozentuale Verteilung der Mutationen ist in Abbildung 10 dargestellt. Von den gefundenen Mutationen sind 24 Patienten von einer E200K-Mutation betroffen, 18 von einer V210I-Mutation und bei 7 Patienten konnte die E196K-Mutation festgestellt werden. Diverse Mutationen sind nur einmalig aufgetreten. Hiervon sind die N173K-, Q212H-, Q52P- und V203G-Mutation bisher noch nicht in der Literatur beschrieben worden und auch in Studien in denen CJK-Patienten und gesunde Kontrollgruppen auf Mutationen untersucht worden sind, sind diese Mutationen noch nie gesehen worden.

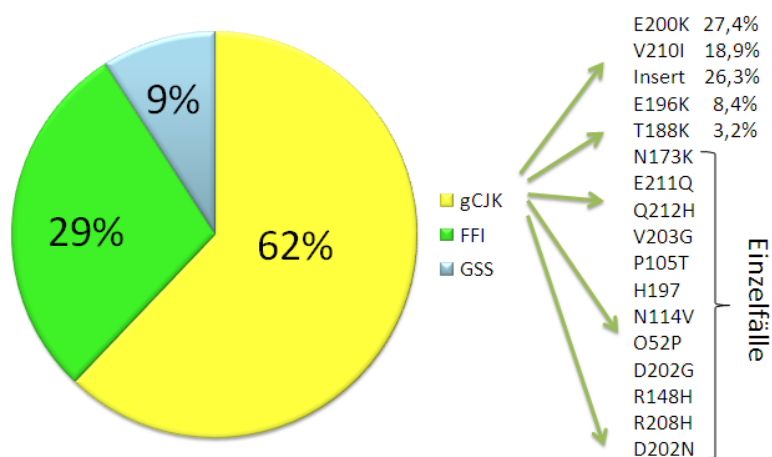


Abbildung 10: Prozentuale Verteilung von Mutationen im *PRNP* in Deutschland (1993-2010); Insert-Mutationen zählen klinisch zum GSS.

3.1. Ergebnisse Publikation I

Sieben Patienten mit der E196K-Mutation konnten in Deutschland identifiziert werden, vier Frauen und drei Männer mit einem medianen Erkrankungsalter von 71 Jahren (Range: 63-80 Jahre) und einer medianen Erkrankungsdauer von 6,5 Monaten (Range: 2-12 Monate). Patient 2 und 3 sowie Patient 6 und 7 sind jeweils Geschwisterpaare. Ein gemeinsamer Vorfahre aller Patienten ist aus der Aktenlage nicht zu erkennen. Der Polymorphismus am Codon 129 zeigt, dass die Geschwister jeweils homozygot für Methionin sind. Bei den drei nicht verwandten Patienten ist jeweils mindestens ein Valin am Codon-129 des *PRNP* vorhanden (zweimal Valin homozygot, einmal heterozygot). Der Prionprotein Typ konnte nur bei den 4 autopsierten Patienten bestimmt werden und sowohl der Typ 1 als auch der Typ 2 konnte nachgewiesen werden.

Im Liquor konnte bei allen Patienten das 14-3-3-Protein bestimmt werden. Das Tau-Protein ist in 90% der Fälle im CJK-typischen Bereich über 1300 pg/ml bestimmt worden (Median: 7221 pg/ml, Range: 850-19537 pg/ml). Lediglich bei vier Patienten konnten periodische sharp-wave-Komplexe im EEG gesehen werden, die allerdings nicht den Kriterien von Steinhoff *et al.* komplett entsprachen. MRT-Untersuchungen in den sensitiven Wichtungen T2, DWI und FLAIR waren nur in 4 Fällen verfügbar. Bei zwei Patienten konnten hier die typischen Hyperintensitäten in den Basalganglien und/ oder Kortex gesehen werden (Abb.11). Ein Vergleich der Resultate der diagnostischen Tests bei E196K-Mutationsträgern mit anderen genetischen Prionerkrankungen und der sCJK ist in Abbildung 12 ersichtlich.

Ein Zusatzbefund im cMRT war, dass alle Patienten, bei denen ein cMRT zur Verfügung stand, sich wml zeigten. Diese wml zeigten sich bei allen Patienten unter 70 Jahren und bei $\frac{1}{3}$ der über 70-jährigen. Ein Vergleich mit sCJK-Patienten ergab, dass hier die wml eher bei Patienten über 70 Jahren auftreten und bei jüngeren Patienten deutlich weniger häufig waren (Abb.13). Die Ergebnisse der diagnostischen Verfahren im Vergleich zu anderen häufigen genetischen Prionerkrankungen und sCJK zeigen sich in Abbildung 12. Es zeigt sich, dass die Ergebnisse der Liquoranalyse mit den Befunden in der E200K-Mutation und der sCJK vergleichbar sind und MRT und EEG seltener positiv sind als bei der E200K-Mutation und der sCJK.

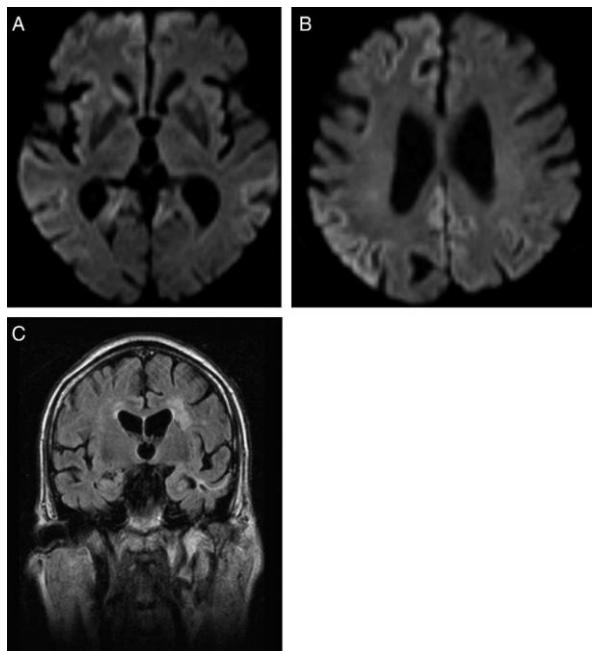


Abbildung 11: cMRT von 2 Patienten mit E196K Mutation (A) Hyperintensitäten im Nucleus caudatus Kopf und im temporalen Kortex beidseits, Patient 7 (B) kortikale Hyperintensitäten frontal und temporal rechts betont, Patient 7 (C) hyperintenser Kortex links temporal und wml periventrikulär links betont, Patient 6. (Schelzke *et al.* 2011, S.756.e3)

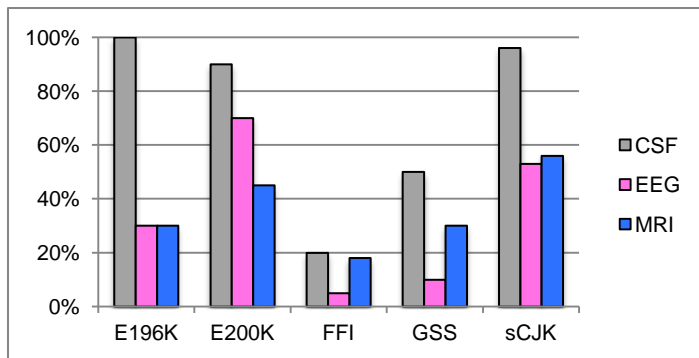


Abbildung 12: Ergebnisse der diagnostischen Tests der E196K-Mutation im Vergleich zu anderen genetischen Prionerkrankungen (E200K, FFI, GSS) und der sCJK (Schelzke *et al.* 2011, S.756.e2).

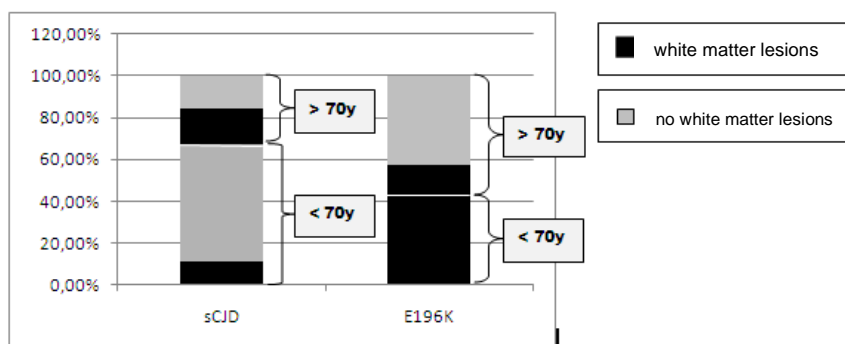


Abbildung 13: Häufigkeit von wml bei E196K-Mutation und sCJD (Schelzke *et al.* 2011, S.756.e8).

Als erste Symptome traten zumeist unspezifische Symptome wie Schwindel, Schlafstörungen oder Kopfschmerzen sowie Demenz und psychiatrische Symptome auf. Im Krankheitsverlauf traten die typischen Symptome einer CJK hinzu (Ataxie, Tremor, Sprachstörungen, kortikale Sehstörungen, Halluzinationen, Pyramidenbahnzeichen, extrapyramidalmotorische Symptome, Myoklonien, akinetischer Mutismus). Die einzelnen Fälle mit ihren klinischen und diagnostischen Befunden sind in Tabelle 4 abgebildet.

Bei vier Patienten wurde eine Autopsie durchgeführt. Die neuropathologischen Veränderungen dieser Patienten wurden am Nationalen Referenzzentrum am Standort Ludwig-Maximilian-Universität München untersucht und in einer weiteren gemeinsamen Publikation detailliert veröffentlicht (Eigenbrod *et al.* 2011). Auch die in Publikation I dargestellten neuropathologischen Befunde wurden durch Eigenbrod *et al.* für die Publikation zur Verfügung gestellt. Folgende Befunde konnten erhoben werden (Abb.14): Bei Patient 2 und 4 zeigten sich milde bis schwere CJK-Veränderungen in Kortex, Basal-Ganglien, Thalamus, Hippokampus und Cerebellum mit PrP^{Sc}-Ablagerungen vom synaptischen Typ. Der Hirnstamm zeigte keine CJK-Veränderungen. Bei Patient 4 zeigten sich, passend zu

eine Veränderungen der kleinen Gefäße, zusätzliche microvaskuläre Veränderungen in der weißen Substanz. Bei Patienten 5 fanden sich milde bis moderate CJK-Veränderungen mit prominenter Beteiligung von Basal-Ganglien, Thalamus, Cerebellum und den Hirnstammkernen sowie massive Veränderungen im Hippokampus. PrP^{Sc}-Ablagerungen vom synaptischen- und perineuronalen-Typ im Kortex und Hippokampus sowie vom plaqueartigen-Typ im Cerebellum und in der weißen Substanz. Patient 7 zeigte schwere CJK-Veränderungen in Kortex, Basal-Ganglien, Thalamus und Cerebellum. Der Hirnstamm zeigte sich ebenfalls ohne CJK-Veränderungen. Die PrP^{Sc}-Ablagerungen im Hippokampus waren synaptisch und im Kortex zeigten sich fokale plaqueartige-Ablagerungen. Bei diesem Patienten fanden sich ebenfalls milde microvaskuläre Veränderungen, passend zu einer Veränderung der kleinen Gefäße.

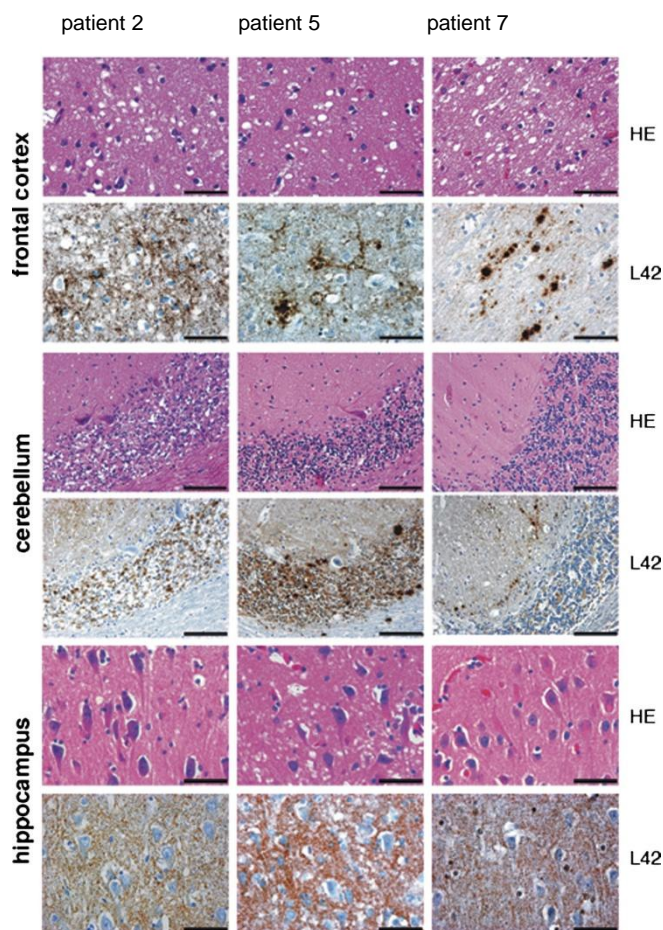


Abbildung 14: Pathologische Darstellung der E196K-Mutationsträger mit spongiformen Veränderungen in Hämatoxylin und Eosin (H&E) im frontalen Kortex, Cerebellum und Hippokampus sowie Detektion von PrP^{Sc}-Ablagerungen durch PrP-spezifische Antikörper (L42). (Eigenbrod *et al.* 2011, S.194)

	Alter [Jahre]	Dauer [Monate]	Codon 129	Initiale klinische Symptome	Symptome im Krankheits- verlauf	PSWC in EEG	14-3-3	MRT Basal- Ganglien	Kortex	White matter lesions
Patient 1	65	9	VV	Depression, Schwindel, Vergesslichkeit, Dysarthrie	Gangataxie, Tremor, Gewichts- verlust, Myoklonien, akinetischer Mutismus	-	+	-	-	+
Patient 2	77	2	MM1	Schlaf- störungen, Ataxie, Demenz, zeitliche Desorientierung	Pyramiden- bahnzeichen, akinetischer Mutismus	+	+	Ø	Ø	Ø
Patient 3	80	12	MM	Desorientierung, Demenz, Dysarthrie, Gangataxie	Aphasie, Pyramiden- bahnzeichen, extrapyramidal- motorische Zeichen, Myoklonien, akinetischer Mutismus	-	+	+	-	+
Patient 4	73	5	MV 1	Kopfschmerzen, Gangataxie, Schwindel, Doppelbilder	Myoklonien, Dysphagie, Sehstörungen, Depression, akinetischer Mutismus	-	+	Ø	Ø	+
Patient 5	71	3,5	VV 2	Delir, Gedächtnis- störungen, Ahasie, Apathie, Tremor	Gangataxie, extrapyramidal- motorische Zeichen, Dysphagie, Halluzinationen, Myoklonien, akinetischer Mutismus	+	+	Ø	Ø	Ø
Patient 6	64	6	MM	Hemiparese, Dysarthrie, Aphasie, Depression, Halluzinationen	Spastik, Myoklonien, akinetischer Mutismus	+	+	-	-	+
Patient 7	68	9	MM1 +2	Tremor, Konzentrations- störungen, Gewichtsverlust	Pyramiden- bahnzeichen, extrapyramidal- motorische Zeichen, Myoklonien, akinetischer Mutismus	+	+	+	+	+

Tabelle 4: Klinische und diagnostische Befunde der E196K-Mutationsträger. Farbliche Markierung der Geschwisterpaare.
(Schelzke *et al.* 2011, S.756.e4)

Alle Patienten die einen Verwandten mit E196K-Mutation haben waren homozygot für Methionin. Innerhalb der Familien tritt die Erkrankung in einem ähnlichen Alter auf. Die Patientin im Fall 2 war 77 Jahre alt und ihr Bruder (Patient 3) war 80 Jahre alt. Patient 6 war bei Erkrankungsbeginn 64 Jahre alt und seine Schwester (Patient 7) erkrankte mit 68 Jahren.

3.2. Ergebnisse Publikation II

E200K

24 Patienten mit der E200K-Mutation wurden zwischen 1993 und 2010 diagnostiziert. Das mediane Erkrankungsalter lag bei 63 Jahren (Range 29-75 Jahre) und die mediane Erkrankungsdauer lag bei 9 Monaten (Range: 2-19 Monate). 16 Frauen und 8 Männer waren von der Mutation betroffen (Tab.5). In 47% fand sich mindestens ein weiterer Verwandter mit E200K-Mutation. Am Codon 129 des *PRNP* waren zwölf Patienten Methionin-homozygot, elf waren Methionin/Valin-heterozygot und ein Patient war Valin-homozygot. Der Valin-homozygote Patient wurde nicht in die statistische Auswertung eingeschlossen. Auch der PrP^{Sc}-Typ wurde aus der statistischen Analyse herausgelassen, da er nur bei einem geringen Teil der Patienten bekannt war. Bei den heterozygoten Patienten war die Mutation in acht Fällen auf dem Allel zu finden, auf dem auch Methionin codiert war (E200K-M) und in drei Fällen war die Mutation an Valin gekoppelt (E200K-V).

Das mediane Erkrankungsalter unterschied sich nicht bei homo- und heterozygoten Patienten (MM: 65±10 Jahre, MV: 62±12 Jahre; p=0,728) aber es unterschied sich signifikant bei E200K-M und E200K-V (E200K-M: 65 Jahre, E200K-V: 61Jahre; p=0,025). Die mittlere Erkrankungsdauer zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen homo- und heterozygoten Patienten (MM: 6±3 Monate, MV: 12±5 Monate; p≤0,001) während sie zwischen E200K-M und E200K-V annähernd gleich war (E200K-M: 6,5 Monate, E200K-V: 11,3 Monate; p=0,808). Bezüglich der Erkrankungsdauer fand sich zwischen sCJK-Kontrollgruppe und der Mutation nur in einem Punkt ein signifikanter Unterschied. Die an Valin gekoppelten Mutationsträger waren signifikant jünger als die heterozygoten sCJK-Patienten (E200K-V: 51 Jahre, MV sCJK: 64 Jahre; p=0,036). Eine positive Familienanamnese für die E200K-Mutation beeinflusste weder Erkrankungsalter noch Erkrankungsdauer.

Die häufigsten Symptome zu Beginn der Erkrankung können als Symptome der Prodromalphase zusammengefasst werden (Schwindel, Kopfschmerzen, Wesensänderung).

Sie fanden sich bei 74% der Patienten. Des Weiteren waren Demenz (61%) und cerebelläre Symptome (52%) häufige Symptome in der ersten Phase der Erkrankung.

	E200K			
	total n=24	MM n=12	MV n=11	VV n=1
Männlich; weiblich	1:1.8	1:1	4.5:1	weiblich
Alter [Jahre]	63 (29-75)	65 (43-73)	62 (29-75)	44
Krankheitsdauer [Monate]	9 (2-19)	6 (2-11)	12 (5-19)	11

Tabelle 5: Demografische Daten der E200K- Mutationsträger. (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012)

Im Verlauf der Erkrankung entwickelten 83% der Patienten Pyramidenbahnzeichen, 70% extrapyramidalmotorische Symptome, 65% litten unter Myoklonien und alle Patienten zeigten cerebelläre Symptome (Ataxie oder Dysarthrie). Die Frequenz der Symptome unterschied sich in keiner Weise zwischen sCJK und E200K (Tab.6). Der Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes wurde berechnet und zwischen Mutation und sCJK-Kontrollgruppe und den unter 2. beschriebene Subgruppen verglichen. Bei der E200K-Mutation fanden sich keine signifikanten Unterschiede zur sCJK-Kontrollgruppe (Abb.15), aber zwischen homo- und heterozygoten Mutationsträgern fand sich, dass Myoklonien ($p=0,007$), Pyramidenbahnzeichen ($p=0,015$), extrapyramidalmotorische Symptome ($p=0,003$) und psychiatrische Symptome ($p=0,003$) bei den heterozygoten Patienten signifikant später auftraten. Bei Vergleich E200K-M mit E200K-V konnte dies nicht bestätigt werden.

	Erkrankungs- beginn [%]		Im Verlauf [%]	
	E200K	sCJK	E200K	sCJK
Prodromalphase	74	83	74	83
Demenz	61	48	87	87
cerebelläre Symptome	52	78	100	100
Myoklonien	9	4	65	87
Pyramidenbahnzeichen	35	17	83	57
extrapyramidale Symptome	13	9	70	52
psychiatrische Symptome	30	48	70	70
Sensibilitätsstörungen	30	13	30	13

Tabelle 6: Frequenz der klinischen Symptome zu Krankheitsbeginn und im Verlauf für E200K- und sCJK-Kontrollgruppe (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012).

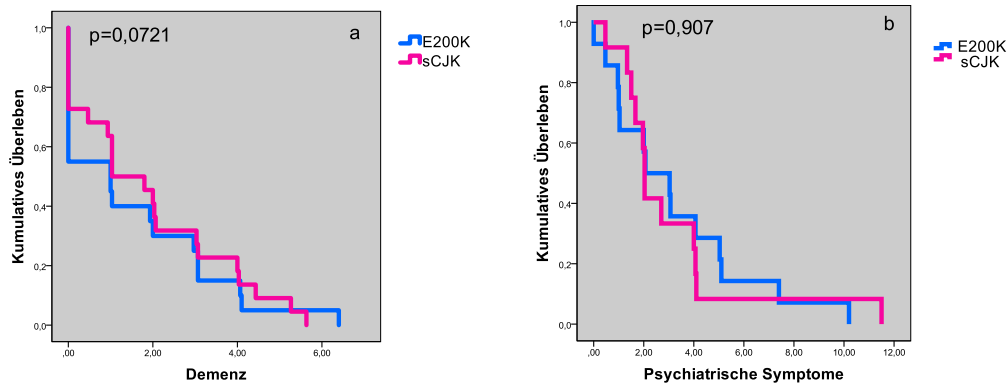


Abbildung 15: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftritts. Vergleich der E200K-Mutation gegen die sCJK-Kontrollgruppe (a) Demenz, Mantel-Cox-Test $p=0,721$; (b) psychiatrische Symptome, Mantel-Cox-Test $p=0,907$.

In der Liquoranalyse konnte bei 91% der Mutationsträger ein positiver 14-3-3-Protein-Nachweis erfolgen (MM: 100%, MV: 82%, E200K-M: 96%, E200K-V: 100%) und bei allen wurde der cut-off-Wert für das Tau-Protein (>1300 pg/ml) erreicht mit einem medianen Tau-Protein von 6400 pg/ml (Range: 1300-24638 pg/ml). Methionin-homozygote Patienten zeigten ein medianes Tau-Protein von 8628 pg/ml, während heterozygote Patienten ein nicht-signifikant niedrigeres Tau-Protein von 4172 pg/ml zeigten ($p=0,071$). Innerhalb der sCJK-Kontrollgruppe konnte gesehen werden, dass die homozygoten Mutationsträger ein signifikant höheres Tau-Protein aufwiesen als die heterozygoten Mutationsträger (MM: 11472 pg/ml, MV: 2319 pg/ml, $p=0,004$) (Abb.16). Zwischen Tau-Protein und dem Alter der Patienten (E200K) bestand eine inverse Korrelation (Abb.17) mit niedrigeren Tau-Level bei älteren Patienten ($r=-0,555$, $p=0,007$). Bei Betrachtung ausschließlich der Methionin-homozygoten Patienten zeigte sich diese inverse Korrelation noch deutlicher ($r=-0,789$, $p=0,004$).

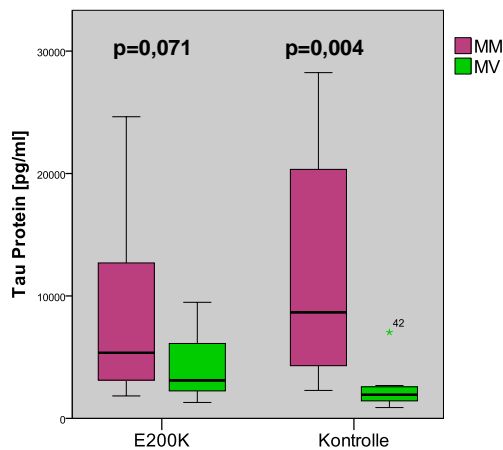


Abbildung 16: Tau-Protein-Werte bei E200K-Mutation sowie der sCJK-Kontrollgruppe, aufgeteilt nach Codon -129-PRNP-Polymorphismus.

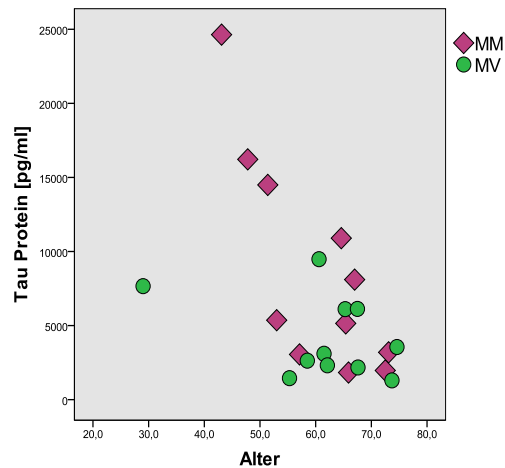


Abbildung 17: Inverse Korrelation zwischen Tau-Protein und E200K-Mutation.

27% der E200K-Mutationsträger, bei denen ein EEG durchgeführt worden ist, zeigten den typischen Befund einer CJK. Weitere 27% zeigten PSWC ohne Periodisierung und in 46% konnten nur unspezifische Veränderungen gesehen werden. 89% der in den sensitiven Wichtungen durchgeführten cMRTs zeigten Hyperintensitäten in den Basalganglien und/oder dem Kortex. Bei 60% fanden sich wml, wobei die Patienten mit wml deutlich älter waren (wml 63 Jahre, keine wml 58 Jahre; $p \leq 0,05$) (Tab.7). Bei der sCJK-Kontrollgruppe war der Anteil der Patienten mit wml mit 90% noch deutlich höher, wobei hier das Alter des Patienten keinen Risikofaktor darstellte. Im Vergleich zur sCJK-Kontrollgruppe fanden sich weder beim Liquorbefund, beim EEG oder cMRT signifikante Unterschiede für die CJK-typischen Befunde.

	E200K		sCJD	
	MM	MV	MM	MV
14-3-3	100%	89%	100%	82%
Tau Protein [pg/ml]	8628 (1831-24638)	4172 (1300-9481)	11472 (2282-28240)	2319 (883- 7034)
EEG	27%	27%	42%	10%
MRT	88%	90%	90%	100%

Tabelle 7: Befunde der apparativen Diagnostik bei der E200K-Mutation mit direktem Vergleich der Ergebnisse der sCJK-Kontrollgruppe (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012).

V210I

Bei 17 Patienten konnte die V210I-Mutation diagnostiziert werden. Das mittlere Erkrankungsalter lag bei 63 Jahren (Range: 45-80 Jahre), die mittlere Erkrankungsdauer bei 6 Monaten (Range: 1-20 Monate). Zehn Frauen und sieben Männer waren betroffen. In 13 Fällen waren die Patienten homozygot für Methionin, in drei Fällen heterozygot (Methionin/ Valin). Bei allen heterozygoten Mutationsträgern waren die Mutationen an das Allel mit Methionin gekoppelt. Ein Patient war homozygot für Valin. Er wurde nicht mit in die statistische Auswertung einbezogen (Tab.8). Beim Vergleich der demografischen Daten der V210I-Mutationsträger und sCJK-Kontrollpatienten fanden sich keine signifikanten Unterschiede; Ebenso bei den Codon-129-Polymorphismen oder den anderen unter 2. beschriebenen Subgruppen gab es keine Unterschiede bezüglich der demografischen Daten.

	V210I			
	total n=17	MM n=13	MV n=3	VV n=1
männlich:weiblich	1:1	1.6:1	1:2	weiblich
Alter [Jahre]	63 (45-80)	61 (52-80)	55 (48-64)	80
Krankheitsdauer [Monate]	6 (1-20)	5 (1-20)	2 (2-3)	5,5

Tabelle 8: Demografische Daten der V210I-Mutationsträger. (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012)

75% der Patienten zeigten zum Erkrankungsbeginn Symptome der Prodromalphase. Demenz (69%) und Ataxie (63%) waren ebenfalls prominente Symptome zu Beginn der Erkrankung. Im Verlauf entwickelten alle Patienten cerebelläre Symptome, 88% zeigten eine Demenz und Myoklonien und 81% hatten extrapyramidalmotorische Symptome. Die Frequenz der Symptome unterschied sich nicht signifikant zwischen sCJK und V210I (Tab.9).

	Erkrankungs- beginn [%]		Im Verlauf [%]	
	V210I	sCJK	V210I	sCJK
Prodromalphase	75	81	75	81
Demenz	69	69	88	100
cerebelläre Symptome	63	75	100	100
Myoklonien	25	19	88	88
Pyramidenbahnzeichen	13	31	38	75
extrapyramidale Symptome	31	6	81	75
psychiatrische Symptome	13	25	31	63
Sensibilitätsstörungen	19	6	38	6

Tabelle 9: Frequenz des klinischen Symptoms zu Krankheitsbeginn und im Verlauf für V210I und sCJK-Kontrollgruppe (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012).

Die Analyse des ersten Symptomauftrittes ergab das psychiatrische Symptome bei den sCJK-Patienten signifikant später auftraten ($p=0,008$). Homo- und heterozygote Mutationsträger unterschieden sich darin, dass homozygote Mutationsträger signifikant später cerebelläre Symptome entwickelten ($p=0,019$) (Abb.18).

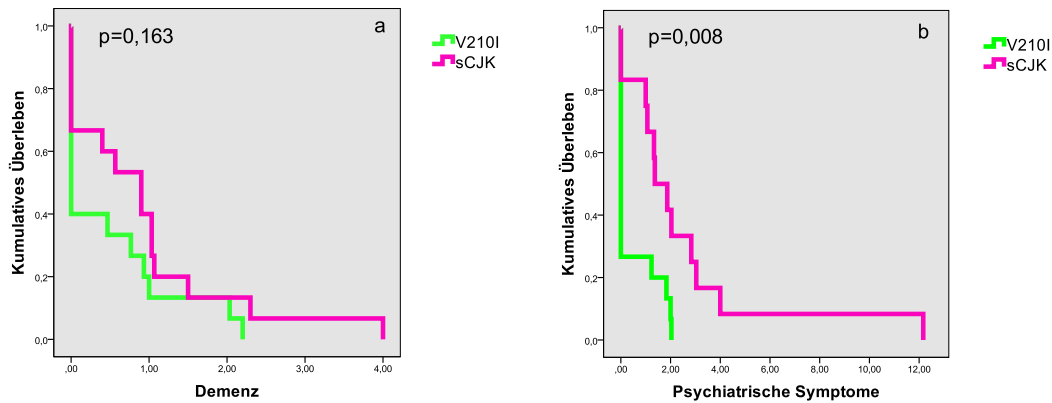


Abbildung 18: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes. Vergleich der V210I-Mutation gegen die sCJK-Kontrollgruppe (a) Demenz, Mantel-Cox-Test $p=0,163$; (b) psychiatrische Symptome, Mantel-Cox-Test $p=0,008$.

Zusätzlich wurde der Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes auch zwischen E200K- und V210I-Mutationsträgern untersucht. Es ergab sich das folgende Symptome bei der E200K-Mutation signifikant später auftreten: Demenz ($p=0,019$), Pyramidenbahnzeichen ($p=0,041$), extrapyramidalmotorische Symptome ($p=0,004$) und psychiatrische Symptome ($p\leq 0,001$). (Abb.19).

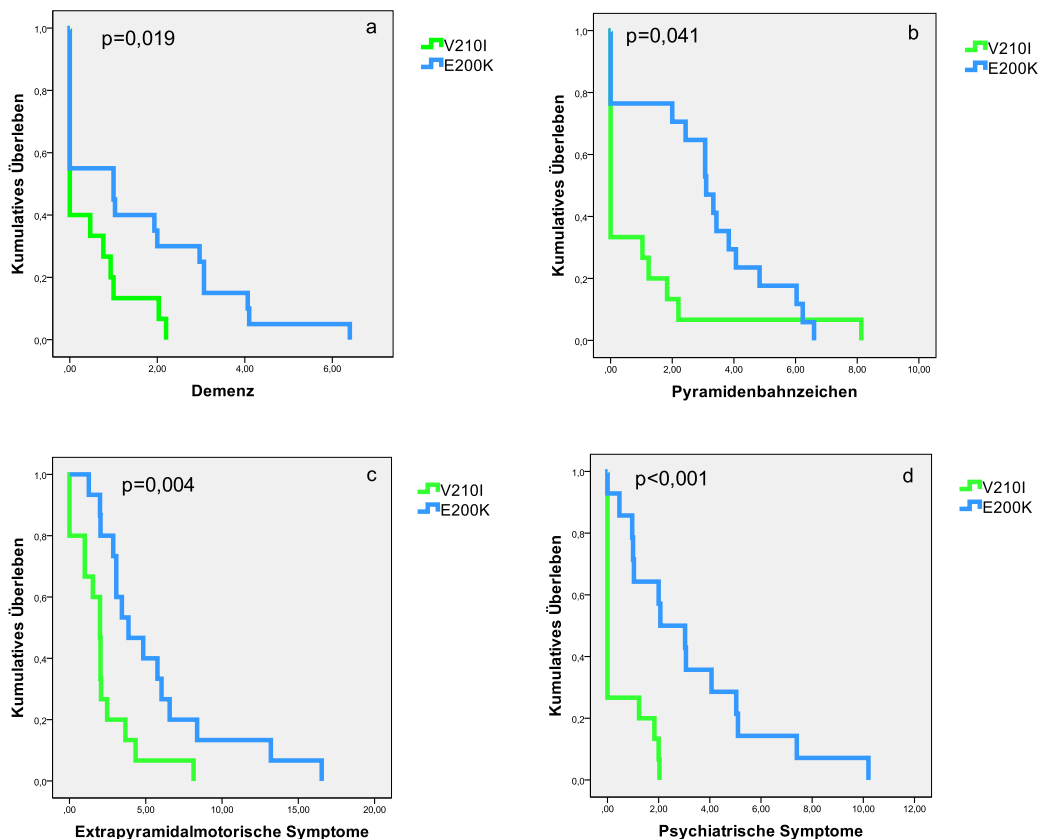


Abbildung 19: Beispielhafte Kaplan-Meier-Kurven für den Zeitpunkt des ersten Symptomauftrittes. Vergleich der E200K-Mutation gegen die V210I-Mutation (a) Demenz, Mantel-Cox-Test $p=0,019$; (b) Pyramidenbahnzeichen, Mantel-Cox-Test $p=0,041$ (c) Extrapyramidalmotorische Zeichen, Mantel-Cox-Test $p=0,004$ (d) psychiatrische Symptome, Mantel-Cox-Test $p<0,001$.

Bei allen Mutationsträgern konnte das 14-3-3-Protein im Liquor nachgewiesen werden. Das mediane Tau-Protein war 7640 pg/ml (Range: 910-21912 pg/ml). Zwischen homo- und heterozygoten Mutationsträgern gab es keinen Unterschied der medianen Tau-Werte (MM: 7628 pg/ml; MV: 7686 pg/ml; $p=0,991$), aber innerhalb der sCJK-Kontrollgruppe lag ein signifikanter Unterschied zwischen homo- und heterozygoten Patienten vor (MM: 8762 pg/ml, MV: 1529 pg/ml; $p\leq 0,001$) (Abb.20). Das EEG zeigte bei 44% der Mutationsträger den typischen Befund einer CJK. Bei 38% konnten PSWC gesehen werden, die nicht den vollständigen EEG-Kriterien entsprachen und in 19% fanden sich nur unspezifische Veränderungen. Das cMRT zeigte bei allen verfügbaren Aufnahmen den positiven Befund für eine CJK und in 30% der Fälle konnten ebenfalls wml nachgewiesen werden (Tab.10). Im Vergleich zur sCJK-Kontrollgruppe fanden sich weder beim Liquorbefund, beim EEG noch cMRT signifikante Unterschiede für die CJK-typischen Befunde.

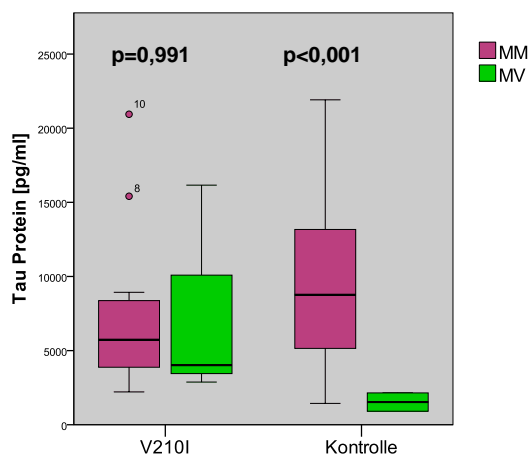


Abbildung 20: Tau-Protein Werte bei V210I-Mutation sowie der sCJK-Kontrollgruppe, aufgeteilt nach Codon-129-PRNP - Polymorphismus.

	V210I		sCJD	
	MM	MV	MM	MV
14-3-3	100%	100%	100%	67%
Tau Protein [pg/ml]	7628 (2213-20940)	7686 (2880-16160)	10716 (1449-21912)	2348 (910-3986)
EEG	46%	33%	50%	50%
MRT	100%	100%	80%	100%

Tabelle 10: Befunde der apparativen Diagnostik bei der V210I-Mutation mit direktem Vergleich der Ergebnisse der sCJK-Kontrollgruppe (abgeleitet aus Schelzke *et al.* 2012).

3.3. Ergebnisse Publikation III

In Publikation III werden das klinische Bild und die Ergebnisse der diagnostischen Tests von vier Patienten beschrieben. Bei allen Patienten ist im Rahmen der Diagnosefindung eine genetische Testung vorgenommen worden, in der eine Mutation im *PRNP* nachgewiesen wurde. In allen vier Fällen standen plausible Differentialdiagnosen im Raum, sodass primär nicht an eine CJK gedacht wurde. Auch das Erkrankungsalter und die Verlaufsduer ist in allen Fällen atypisch für eine CJK und auch nur in zwei Fällen sprechen technische Befunde für die CJK (Fall1: positives EEG, Fall 2: positiver Liquor- und MRT-Befund). Keiner dieser Patienten wurde autopsiert und bei keinem Patienten liegen eine positive Familienanamnese für Prionerkrankungen, neurodegenerative Erkrankungen oder eine ähnliche Symptomatik, wie die in den Fallbeschreibungen geschilderten, vor.

Im Folgenden werden die wesentlichen Aspekte der Erkrankungen jedes Patienten kurz dargestellt und Tabelle 11 gibt einen Überblick über die demografischen Daten, Symptome und Befunde der apparativen Diagnostik.

Fall 1: Dies ist eine 70-jährige Patientin mit symptomatischer Epilepsie nach Schädel-Hirn-Trauma infolge rezidivierender Stürze. Sie wurde medikamentös auf Valproinsäure eingestellt. Im Verlauf wurde bei Schulterschmerzen, Gewichtsverlust, Sehstörungen, erhöhter BSG und positivem Rheumafaktor im Blut eine Polymyalgia diagnostiziert. Nach einigen Monaten traten erneute epileptische Anfälle auf und unter dem Verdacht einer Valproatenzephalopathie wurde die Therapie auf Phenobarbital umgestellt. Zwischenzeitlich entwickelt sie multiple weitere Symptome (Tab.11) und nachdem PSWCs im EEG gesehen wurden, wurde der Verdacht auf eine CJK diskutiert. Der Liquor war allerdings negativ für 14-3-3-Protein und das Tau-Protein war normwertig. Ein MRT wurde nicht durchgeführt. Ihr klinischer Zustand verschlechterte sich zunehmend und sie wurde mit einer Ernährungssonde versorgt. Nach 7,5 Jahren verstarb sie. In der genetischen Analyse zeigte sich die Q52P-Mutation und Heterozygotie am Codon 129 im *PRNP*. Die Klassifikationskriterien einer wahrscheinlichen waren in diesem Fall erfüllt.

Fall 2: In diesem Fall wurde eine 74-jährige Frau zur Klärung eines seit sechs Monaten bestehenden unklaren neurologischen Krankheitsbildes, mit Demenz, Ataxie, Apraxie, Wesensänderung und Depression stationär aufgenommen. Bei der Patientin war ein metastasiertes Mamma-Karzinom bekannt und bei zusätzlich bestehendem Gewichtsverlust und autonomer Dysregulation wurde die Patientin unter Annahme einer paraneoplastischen Erkrankung weiter internistisch betreut. Da sie sich weiter klinisch verschlechterte, wurde eine Liquorpunktion durchgeführt die einen positiven Nachweis der 14-3-3-Proteine und ein deutlich über die Norm erhöhtes Tau-Protein von 6332 pg/ml (Norm: <1300 pg/ml) zeigte.

Das EEG zeigte keine triphasischen Wellen, aber im cMRT sah man typische kortikale Hyperintensitäten (Abb.21). Nach insgesamt zwölf Monaten verstarb sie im Stadium eines akinetischen Mutismus. Die Patientin wurde unter dem Verdacht eines paraneoplastischen Syndroms behandelt, allerdings waren die Klassifikationskriterien einer wahrscheinlichen CJK erfüllt, sodass diese Diagnose hätte gestellt werden konnte. In der genetischen Testung zeigte sich dann die V203G-Mutation im *PRNP* und am Codon 129 war sie homozygot für Valin.

Fall 3: Diese Patientin litt hauptsächlich unter Sehstörungen (Visusminderung, Doppelbilder) und erhielt deswegen ein cMRT indem ein Raumforderung im medialen Keilbeinflügel gesehen wurde. Diese stellte sich als Prolaktinom heraus und wurde operativ entfernt. Postoperativ entwickelte er eine Diabetes insipidus und die neurologischen Ausfälle nahmen zu (Tab.11). In der Rehabilitationseinrichtung zeigte die Patientin eine Besserungstendenz ihrer Symptomatik. Nur die Aphasie blieb weiter in derselben Ausprägung bestehend. Wenige Wochen nach Ende der Rehabilitationsmaßnahme verschlechterte sich ihr Zustand allerdings wieder dramatisch. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Liquor auf 14-3-3-Proteine und Tau- Protein untersucht. Beide Werte waren unauffällig und auch das cMRT zeigte nur den postoperativen Defekt und keine CJK-Pathologien. Das EEG war ebenso unauffällig. Aufgrund der klinischen Symptomatik wurde die Diagnose einer corticobasalen Degeneration gestellt und die Patientin wurde entlassen. Die Liquordiagnostik wurde bei weiterer Verschlechterung der Symptomatik nach drei Monaten wiederholt, zeigte aber wieder keine pathologischen Befunde. Nach insgesamt fünf Jahren war sie akinetisch mutistisch und verstarb nach einer Gesamtkrankheitsdauer von sieben Jahren. In der genetischen Testung zeigten sich dann die Q212H-Mutation und ein stiller Polymorphismus (N179N). Am Codon 129 war sie homozygot für Methionin.

Fall 4: Dieser 73-jährige Patient wurde aufgrund einer Verschlechterung seiner vorbestehenden koronaren Herzkrankheit stationär aufgenommen. Beim Aufenthalt in der Klinik zeigte er dementielle Symptome, sodass er zusätzlich neurologisch abgeklärt wurde. Er beschreibt, dass er seit zwei Jahren subjektive Gedächtnisstörungen und Schlafproblem hat. Binnen der folgenden zwei Monate entwickelte er prominente neurologische Symptome einschließlich Ataxie und Myoklonien (Tab.11). Die Liquoranalyse zeigte Normwerte für das Tau-Protein und 14-3-3-Protein war nicht nachweisbar. Im cMRT sah man eine Arachnoidalzyste in der rechten Hemisphäre und subcortikale white matter lesions. CJK-typische-Befunde ließen sich nicht erheben. Er verstarb 2,5 Jahre nach dem Beginn der ersten subjektiven Veränderungen und 4,6 Monate, nachdem er stationär aufgenommen wurde, ohne dass eine Diagnose gestellt wurde. In der genetischen Testung zeigte sich dann die N173K-Mutation im *PRNP*. Am Codon 129 war er homozygot für Methionin.

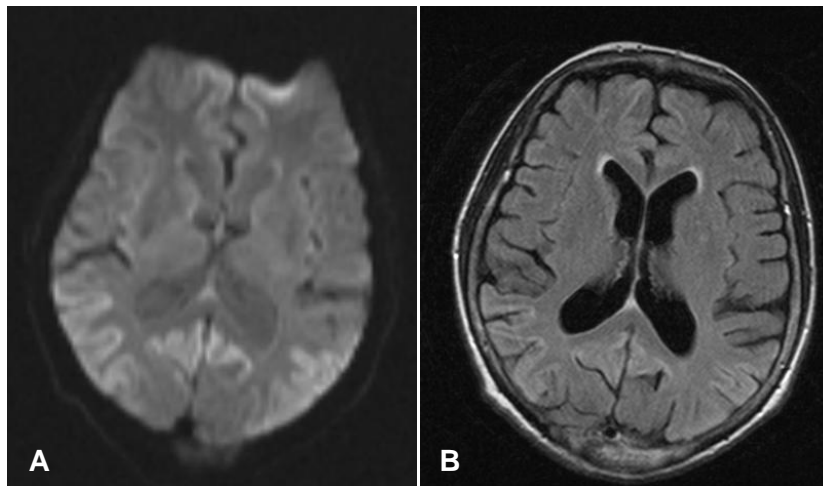


Abbildung 21: cMRT von Patient 2 mit V203G-Mutation (A) DWI; Hyperintensitäten im temporalen Kortex beidseits. (B) FLAIR; kortikale Hyperintensitäten temporal beidseits. (Schelzke *et al.* 2013)

Patient	Mutation/ codon 129	Geschlecht	Alter [Jahre]	Krankheitsdauer [Jahre]	Symptome	14-3-3	tau Protein (pg/ml)	EEG	MRT	Weitere Diagnosen/ Differential Diagnosen
1	Q52P MV	w	80	7.5	Schwindel, Fatigue, Ataxie, Demenz, Störung des Tag-, Nachtrhythmus, Apraxie, Epileptische Anfälle, Paresen, Primitivreflexe, Pyramidenbahnzeichen, erhöhter Muskeltonus, Tremor	-	277	-	Ø	Epilepsie, Polymyalgie
2	V203G VV	w	74	1	Demenz, Apraxie, zerebelläre Symptome, Depression, Primitivreflexe, Sensibilitätsstörungen, Myoklonien, akinetischer Mutismus	+	6332	-	+	Brustkrebs
3	Q212H N179N MM	w	63	7	Sehstörungen, Doppelbilder, Kopfschmerzen, Demenz, psychomotorische Retardierung, Sturzneigung, Dystonie, Hypästhesien, Dysdiadochokinese, Aphasie, Hemiparese, Apraxie, Inkontinenz, Babinsky-Zeichen, Depression, Rigor, Mutismus	-	114	-	-	Prolaktinom, primärer Hyperpara- thyreoidismus, Corticobasale Degeneration
4	N173K MV	m	73	2.5	Demenz, Schwindel, Sturzneigung, Ataxie, Myoklonien	-	457	-	-	Koronare Herzerkrankung, Bypass

Tabelle 11: Aufstellung demografischer Daten, Symptome, Ergebnisse diagnostischer Tests und Differentialdiagnosen der in Publikation III beschriebenen Fälle. (Schelzke *et al.* 2013)

Ob in den hier beschriebenen Fällen die Mutationen krankheitsverursachend sind ist unklar. Dafür spricht, dass gCJK dafür bekannt sind negative Befunde in der apparativen Diagnostik zu erbringen und auch seltener typische CJK-Symptome wie Myoklonien zu zeigen. Was gegen diese Vermutung spricht, ist das in diesen Fällen beschriebene hohe Alter bei Erkrankungsbeginn, da Patienten mit gCJK zumeist in jüngerem Alter erkranken. Klinisch und diagnostisch entspricht Fall 2 am ehesten einer CJK. Auch Fall 4 entspricht zumindest den Klassifikationskriterien einer möglichen CJK (Demenz, Ataxie, Myoklonien). Fall 1 und 3 haben sehr lange Krankheitsverläufe und multiple Begleiterkrankungen, sodass hier eine Abschätzung, ob eine mutationsvermittelte CJK vorliegt, ohne einen neuropathologischen Nachweis von PrP^{Sc} schwer zu treffen ist.

In der Literatur gibt es weitere Fälle mit langen Krankheitsverläufen, wie z.B. ein Patient mit D202G-Mutation und einer Krankheitsdauer von 16 Jahren (Heinemann *et al.* 2008) oder eine Patient mit G131V-Mutation und neun Jahren Verlaufsdauer sowie neuropathologischer Sicherung einer CJK (Panegyres *et al.* 2001), sodass durchaus eine Möglichkeit besteht, dass die gefundenen Mutationen krankheitsverursachend sind.

4. Quellenverzeichnis

- Ajuriaguerra J de**, Hecaen H, Layani F, Sadoun R (1953): Degeneration cortico.strio-spinale, etude anatomiclinique, a propos de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Rev Neurol 89: 81-100.
- 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: 1673-4.
- Appleby BS**, Appleby KK, Hall RC, Wallin MT (2010): D178N, 129Val and N171S, 129Val genotype in a family with Creutzfeldt-Jakob disease. Dement Geriatr Cogn Disord 30: 424-3
- Baron HF**, Cathala F, Brown P, Chatelain J, Gajdusek DC (1986): Familial Creutzfeldt-Jakob disease in France: epidemiological implications. Eur J Epidemiol 2: 252-64.
- Basler KB**, Oesch B, Scott M, Westaway D, Wälchli M, Groth DF, McKinley MP, Prusiner SB, Weissmann C (1986): Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. Cell 46: 417-28.
- Beck JA.**, Poulter M, Campbell TA, Adamson G, Uphill JB, Guerreiro R, Jackson GS, Stevens JC, Manji H, Collinge J, Mead S (2010): PRNP allelic series from 19 years of prion protein gene sequencing at the MRC Prion Unit. Hum Mutat 31: 1551-63.
- Bejot Y**, Osseby GV, Caillier M, Moreau T, Laplanche JL, Giroud M (2010): Rare E196K mutation in the PRNP gene of a patient exhibiting behavioral abnormalities. Clin Neurol Neurosurg 112: 244-7.
- Bernoulli C**, Siegfried J, Baumgartner G, Regli F, Rabinowicz T, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr (1977): Danger of accidental person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by surgery. Lancet 1977, i: 478-9.
- Brown DR**, Qin K, Herms JW, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser PE, Kruck T, von Bohlen A, Schulz-Schaeffer W, Giese A, Westaway D, Kretzschmar H (1997): The cellular prion protein binds copper in vivo. Nature 390: 684-7.
- Brown P**, Galvez S, Goldfarb LG, Nieto A, Cartier L, Gibbs CJ, Jr., Gajdusek DC (1992): Familial Creutzfeldt-Jakob disease in Chile is associated with the codon 200 mutation of the PRNP amyloid precursor gene on chromosome 20. J Neurol Sci 112: 65-7
- Brown P**, Brandel JP, Preece M, Sato T (2006): Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: the waning of an era. Neurology 67: 389-93.
- Budka H**, Aguzzi A, Brown P, Brucher JM, Bugiani O, Gullotta F, Haltia M, Hauw JJ, Ironside JW, Jellinger K *et al.* (1995): Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases). Brain Pathol 5: 459-66

- Centers for disease control (CDC) (1987)** Update: Creutzfeldt-Jakob disease in a patient receiving a cadaveric dura mater graft. *Morb Mortal Wkly Rep* 36: 324-5.
- Chapman J, Brown P, Goldfarb LG, Arlazoroff A, Gajdusek DC, Korczyn AD (1993)**: Clinical heterogeneity and unusual presentations of Creutzfeldt-Jakob disease in Jewish patients with the PRNP codon 200 mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 56: 1109-12.
- Chiofalo N, Fuentes A, Gálvez S (1980)**: Serial EEG findings in 27 cases of Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 37: 143-5.
- Clerici F, Elia A, Girotti F, Contri P, Mariani C, Tagliavini F, Di Fede G (2008)**: Atypical presentation of Creutzfeldt-Jakob disease: the first Italian case associated with E196K mutation in the PRNP gene. *J Neurol Sci* 275: 145-7.
- Cochius JI, Burns RJ, Blumbergs PC, Mack K, Alderman CP (1990)**: Creutzfeldt-Jakob disease in a recipient of human pituitary-derived gonadotrophin. *Aust N Z J Med* 20: 592-3.
- Collins S, McLean CA, Masters CL (2001)**: Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome, fatal familial insomnia, and kuru: a review of these less common human transmissible spongiform encephalopathies. *J Clin Neurosci* 8: 387-97.
- Creutzfeldt HG (1920)**: Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z Gesamt Neurol Psychiatr* 57: 1-18
- Duffy P, Wolf J, Collins G, DeVoe AG, Streeten B, Cowen D (1974)**: Letter: Possible person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* 290: 692-3.
- Eigenbrod S, Frick P, Giese A, Schelzke G, Zerr I, Kretzschmar HA (2011)**: Comprehensive neuropathologic analysis of genetic prion disease associated with the E196K mutation in PRNP reveals phenotypic heterogeneity. *J Neuropathol Exp Neurol* 70: 192-200.
- Gajdusek DC und 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: 974-8.
- Gajdusek DC und Zigas V (1959)**: Kuru; clinical, pathological and epidemiological study of an acute progressive degenerative disease of the central nervous system among natives of the Eastern Highlands of New Guinea. *Am J Med* 26: 442-69.
- Gajdusek DC, Gibbs CJ, Alpers M (1966)**: Experimental transmission of a Kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 209: 794-6.
- Galvez S, Cartier L, Monari M, Araya G (1983)**: Familial Creutzfeldt-Jakob disease in Chile. *J Neurol Sci* 59: 139-47.
- Gertz HJ, Henkes H, Cervos-Navarro J (1988)**: Creutzfeldt-Jakob disease: correlation of MRI and neuropathologic findings. *Neurology* 38: 1481-2.

- Ghetti B**, Piccardo P, Frangione B, Bugiani O, Giaccone G, Young K, Prelli F, Farlow MR, Dlouhy SR, Tagliavini F **(1996)**: Prion protein amyloidosis. *Brain Pathol* 6: 127-45.
- Goldfarb LG**, Korczyn AD, Brown P, Chapman J, Gajdusek DC **(1990a)**: Mutation in codon 200 of scrapie amyloid precursor gene linked to Creutzfeldt-Jakob disease in Sephardic Jews of Libyan and non-Libyan origin. *Lancet* 336: 637-8.
- Goldfarb LG**, Brown P, Goldgaber D, Garruto RM, Yanagihara R, Asher DM, Gajdusek DC **(1990b)**: Identical mutation in unrelated patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 336: 174-5.
- Goldfarb LG**, Brown P, Mitrovà E, Cervenáková L, Goldin L, Korczyn AD, Chapman J, Gálvez S, Cartier L, Rubenstein R, et al. **(1991)**: Creutzfeldt-Jacob disease associated with the PRNP codon 200Lys mutation: an analysis of 45 families. *Eur J Epidemiol* 7: 477-86.
- Goldfarb LG**, Petersen RB, Tabaton M, Brown P, LeBlanc AC, Montagna P, Cortelli P, Julien J, Vital C, Pendelbury WW et al. **(1992)**: Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: disease phenotype determined by a DNA polymorphism. *Science* 258: 806-8.
- Goldgaber D**, Goldfarb LG, Brown P, Asher DM, Brown WT, Lin S, Teener JW, Feinstone SM, Rubenstein R, Kascsak RJ et al. **(1989)**: Mutations in familial Creutzfeldt-Jakob disease and Gerstmann-Straussler-Scheinker's syndrome. *Exp Neurol* 106: 204-6.
- Hafiz FB und Brown DR**, **(2000)**: A model for the mechanism of astrogliosis in prion disease. *Mol Cell Neurosci* 16: 221-32.
- Hainfellner JA**, Brantner-Inthaler S, Cervenáková L, Brown P, Kitamoto T, Tateishi J, Diringer H, Liberski PP, Regele H, Feucht M et al. **(1995)**: The original Gerstmann-Straussler-Scheinker family of Austria: divergent clinicopathological phenotypes but constant PrP genotype. *Brain Pathol* 5: 201-11.
- Heath CA und Will RG**, **(2008)**: Clinical aspects of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol* 89: 765-78.
- Heinemann U**, Krasnianski A, Meissner B, Grasbon-Frodl EM, Kretzschmar HA, Zerr I **(2008)**: Novel PRNP mutation in a patient with a slow progressive dementia syndrome. *Med Sci Monit* 14: 41-43.
- Herzberg L**, Herzberg BN, Gibbs CJ Jr, Sullivan W, Amyx H, Gajdusek DC **(1974)**: Letter: Creutzfeldt-Jakob disease: hypothesis for high incidence in Libyan Jews in Israel. *Science* 186: 848.
- Hewitt PE**, Llewelyn CA, Mackenzie J, Will RG **(2006)**: Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: results of the UK Transfusion Medicine Epidemiological Review study. *Vox Sang* 91: 221-30.

- Hill AF**, Butterworth RJ, Joiner S, Jackson G, Rossor MN, Thomas DJ, Frosh A, Tolley N, Bell JE, Spencer M et al. **(1999)**: Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 353: 183-9.
- Hilton DA**, Head MW, Singh VK, Bishop M, Ironside JW **(2009)**: Familial prion disease with a novel serine to isoleucine mutation at codon 132 of prion protein gene (PRNP). *Neuropathol Appl Neurobiol* 35:111-115.
- Hsiao K**, Baker HF, Crow TJ, Poulter M, Owen F, Terwilliger JD, Westaway D, Ott J, Prusiner SB **(1989)**: Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Straussler syndrome. *Nature* 338: 342-5.
- Hsiao K**, Meiner Z, Kahana E, Cass C, Kahana I, Avrahami D, Scarlato G, Abramsky O, Prusiner SB, Gabizon R **(1991)**: Mutation of the prion protein in Libyan Jews with Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* 324: 1091-7.
- Huang N**, Marie SK, Kok F, Nitrini R **(2001)**: Familial Creutzfeldt-Jakob disease associated with a point mutation at codon 210 of the prion protein gene. *Arq Neuropsiquiatr* 59: 932-5.
- Informationsbroschüre für Angehörige (2010)**: Nationales Referenzzentrum für Prionerkrankungen, www.cjd-goettingen.de
- Ironside JW and Head MW (2008)**: Biology and neuropathology of prion diseases. *Handb Clin Neurol* 89: 779-97.
- Itoh Y**, Yamada M, Hayakawa M, Shozawa T, Tanaka J, Matsushita M, Kitamoto T, Tateishi J, Otomo E. **(1994)**: A variant of Gerstmann-Straussler-Scheinker disease carrying codon 105 mutation with codon 129 polymorphism of the prion protein gene: a clinicopathological study. *J Neurol Sci* 127: 77-86.
- Iwasaki Y**, Mori K, Ito M, Nagaoka M, Ieda T, Kitamoto T, Yoshida M, Hashizume Y **(2011)**: An autopsied case of V180I Creutzfeldt-Jakob disease presenting with panencephalopathic-type pathology and a characteristic prion protein type. *Neuropathology* 31: 540-8.
- Jacob H**, Pyrkosch W, Strube H **(1950)**: The hereditary form of Creutzfeldt-Jakob disease (the Backer family). *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr* 184: 653-74.
- Jakob A (1921)**: Über eine der multiplen Sklerose klinisch nahestehende Erkrankung des Zentralnervensystems (spastische Pseudosklerose) mit bemerkenswerten anatomischen Befunden. Mitteilung eines vierten Falles. *Med Klein* 17:372-376
- Jansen C**, Head MW, Rozemuller AJ, Ironside JW **(2009)**: Panencephalopathic Creutzfeldt-Jakob disease in the Netherlands and the UK: clinical and pathological characteristics of nine patients. *Neuropathol Appl Neurobiol* 35: 272-82.
- Jeffrey M**, Halliday WG, Bell J, Johnston AR, MacLeod NK, Ingham C, Sayers AR, Brown DA, Fraser JR **(2000)**: Synapse loss associated with abnormal PrP precedes neuronal

- degeneration in the scrapie-infected murine hippocampus. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26: 41-54.
- Jeong B**, Lee KH, Lee YJ, Yun J, Park YJ, Cho HJ, Kim YH, Cho YS, Choi EK, Carp R *et al.* (2010): Absence of association between two HECTD2 polymorphisms and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 31: 146-51
- Kirschbaum WR (1986)**: Jakob-Creutzfeldt Disease. *JAMA* 206: 2746-2747
- Kovacs GG**, Puopolo M, Ladogana A, Pocchiari M, Budka H, van Duijn C, Collins SJ, Boyd A, Giulivi A, Coulthart M *et al.* (2005): Genetic prion disease: the EUROCCJD experience. *Hum Genet* 118: 166-74.
- Kretzschmar HA und Feiden W (2002)**: Human prion diseases. *Pathologie* 23: 241-51.
- Kretzschmar HA**, Ironside JW, DeArmond SJ, Tateishi J (1996): Diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 53: 913-20.
- Ladogana A**, Puopolo M, Pileggi A, Almonti S, Mellina V, Equestre M, Pocchiari M (2005): High incidence of genetic human transmissible spongiform encephalopathies in Italy. *Neurology* 64: 1592-7.
- Lee HS**, Sambuughin N, Cervenakova L, Chapman J, Pocchiari M, Litvak S, Qi HY, Budka H, del Ser T, Furukawa H *et al.* (1999): Ancestral origins and worldwide distribution of the PRNP 200K mutation causing familial Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Hum Genet* 64: 1063-70.
- Lee RG and Blair RD (1973)**: Evolution of EEG and visual evoked response changes in Jakob-Creutzfeldt disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 35: 133-42.
- Masters CL**, Harris JO, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr, Bernoulli C, Asher DM (1979): Creutzfeldt-Jakob disease: patterns of worldwide occurrence and the significance of familial and sporadic clustering. *Ann Neurol* 5: 177-88.
- Mastrianni JA**, Curtis MT, Oberholtzer JC, Da Costa MM, DeArmond S, Prusiner SB, Garbern JY (1995): Prion disease (PrP-A117V) presenting with ataxia instead of dementia. *Neurology* 45: 2042-50.
- Mastrianni JA**, Capellari S, Telling GC, Han D, Bosque P, Prusiner SB, DeArmond SJ (2001): Inherited prion disease caused by the V210I mutation: transmission to transgenic mice. *Neurology* 57: 2198-205.
- Matsusue E**, Kinoshita T, Sugihara S, Fujii S, Ogawa T, Ohama E (2004): White matter lesions in panencephalopathic type of Creutzfeldt-Jakob disease: MR imaging and pathologic correlations. *AJNR Am J Neuroradiol* 25: 910-8.
- Mead S**, Stumpf MP, Whitfield J, Beck JA, Poulter M, Campbell T, Uphill JB, Goldstein D, Alpers M, Fisher EM *et al.* (2003): Balancing selection at the prion protein gene consistent with prehistoric kurulike epidemics. *Science*.300: 640-3

- Meiner Z**, Gabizon R, Prusiner SB. (1997): Familial Creutzfeldt-Jakob disease. Codon 200 prion disease in Libyan Jews. *Medicine (Baltimore)* 76: 227-37
- Meiner Z**, Kahana E, Baitcher F, Korczyn AD, Chapman J, Cohen OS, Milo R, Aharon-Perez J, Abramsky O, Gabizon R *et al.* (2011): Tau and 14-3-3 of genetic and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease patients in Israel. *J Neurol* 258: 255-62
- Mitrova E** (1991): Some new aspects of CJD epidemiology in Slovakia. *Eur J Epidemiol* 7: 439-49.
- Mizutani T**, Okumura A, Oda M, Shiraki H (1981): Panencephalopathic type of Creutzfeldt-Jakob disease: primary involvement of the cerebral white matter. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 44: 103-15.
- Morgado-Linares RY**, Ruiz-Pena JL, Páramo MD, Díaz-Delgado M, Izquierdo G (2007): Clinical features of familial Creutzfeldt-Jakob disease and the E200K mutation in Spain. *Rev Neurol* 44: 150-3.
- Mouillet-Richard S**, Teil C, Lenne M, Hugon S, Taleb O, Laplanche JL (1999): Mutation at codon 210 (V210I) of the prion protein gene in a North African patient with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 168: 141-4.
- Nisipeanu P**, El ad B, Korczyn AD (1990): Spongiform encephalopathy in an Israeli born to immigrants from Libya. *Lancet* 336: 686.
- Panegyres PK**, Toufexis K, Kakulas BA, Cernevakova L, Brown P, Ghetti B, Piccardo P, Dlouhy SR (2001): A new PRNP mutation (G131V) associated with Gerstmann-Straussler-Scheinker disease. *Arch Neurol* 58: 1899-1902.
- Parchi P**, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, Farlow M, Dickson DW, Sima AA, Trojanowski JQ *et al.* (1996): Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 39: 767-78.
- Parchi P**, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer W, Windl O, Zerr I, Budka H, Kopp N, Piccardo P *et al.* (1999): Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol* 46: 224-33.
- Peden AH**, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW (2004): Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 364: 527-9.
- Peoc'h K**, Manivet P, Beaudry P, Attane F, Besson G, Hannequin D, Delasnerie-Lauprêtre N, Laplanche JL (2000): Identification of three novel mutations (E196K, V203I, E211Q) in the prion protein gene (PRNP) in inherited prion diseases with Creutzfeldt-Jakob disease phenotype. *Hum Mutat* 15: 482.
- Piccardo P**, Dlouhy SR, Lievens PM, Young K, Bird TD, Nochlin D, Dickson DW, Vinters HV, Zimmerman TR, Mackenzie IR *et al.* (1998): Phenotypic variability of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease is associated with prion protein heterogeneity. *J Neuropathol Exp Neurol* 57: 979-88.

- Pocchiari M**, Salvatore M, Cutruzzolá F, Genuardi M, Alloatelli CT, Masullo C, Macchi G, Alemá G, Galgani S, Xi YG *et al.* **(1993)**: A new point mutation of the prion protein gene in Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 34: 802-7.
- Poser S**, Zerr I, Felgenhauer K **(2002)**: New variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Dtsch Med Wochenschr* 127: 331-4.
- Powell-Jackson J**, Weller RO, Kennedy P, Preece MA, Whitcombe EM, Newsom-Davis J **(1985)**: Creutzfeldt-Jakob disease after administration of human growth hormone. *Lancet* 1985, II: 244-6.
- Prusiner SB (1982)**: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216: 136-44.
- Prusiner SB**, Cochran SP, Baringer JR, Groth D, Masiarz F, McKinley M, Bildstein C, Garfin D, Hadlow WJ, Race RE, Eklund CM **(1980)**: Slow viruses: molecular properties of the agents causing scrapie in mice and hamsters. *Prog Clin Biol Res* 39: 73-89.
- Prusiner SB**, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG **(1983)**: Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 35: 349-58.
- Prusiner SB**, Groth DF, Bolton DC, Kent SB, Hood LE **(1984)**: Purification and structural studies of a major scrapie prion protein. *Cell* 38: 127-34
- Radhakrishnan K und Mousa ME (1988)**: Creutzfeldt-Jakob disease in Benghazi, Libya. *Neuroepidemiology* 7: 42-3.
- Ripoll LJ**, Laplanche L, Salzmann M, Jouvét A, Planques B, Dussaucy M, Chatelain J, Beaudry P, Launay JM **(1993)**: A new point mutation in the prion protein gene at codon 210 in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 43: 1934-8.
- RKI (2002)**: Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) - Epidemiologie, Erkennung, Diagnostik und Prävention unter besonderer Berücksichtigung der Risikominimierung einer iatrogenen Übertragung durch Medizinprodukte, insbesondere chirurgische Instrumente – Abschlussbericht der Task Force vCJK zu diesem Thema . *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 45:376–394
- Rowe DB**, Lewis V, Needham M, Rodriguez M, Boyd A, McLean C, Roberts H, Masters CL, Collins SJ **(2007)**: Novel prion protein gene mutation presenting with subacute PSP-like syndrome. *Neurology* 68: 868-870.
- Samaia HB**, Mari JJ, Vallada HP, Moura RP, Simpson AJ, Brentani RR **(1997)**: A prion-linked psychiatric disorder. *Nature* 390: 241
- Sanchez-Juan P**, Green A, Ladogana A, Cuadrado-Corrales N, Sáñez-Valle R, Mitrováa E, Stoeck K, Sklaviadis T, Kulczycki J, Hess K *et al.* **(2006)**: CSF tests in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 67: 637-43.

- Schelzke G und Zerr I (2010):** Pathologie und Diagnostik von Prionerkrankungen. *Der Neurologe und Psychiater* 9: 1-7
- Schelzke G, Eigenbrod S, Romero C, Varges D, Breithaupt M, Taratuto AL, Kretzschmar HA, Zerr I (2011):** Genetic prion disease with codon 196 PRNP mutation: clinical and pathological findings. *Neurobiol Aging* 32: 756 e1-9.
- Schelzke G, Kretzschmar HA, Zerr I (2012):** Clinical aspects of common genetic Creutzfeldt-Jakob disease *Eur J Epidemiol.* 27: 147-9
- Schelzke G, Stoeck K, Eigenbrod S, Grasbon-Frodl E, Raddatz LM, Ponto C, Kretzschmar HA, Zerr I (2013):** Report about four novel mutations in PRNP. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 35: 229-37
- Schröter A, Zerr I, Henkel K, Tschampa HJ, Finkenstaedt M, Poser S (2000):** Magnetic resonance imaging in the clinical diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 57: 1751-7.
- Shi QC, Chen, Song XN, Gao C, Tian C, Zhou W, Song XH, Yao LS, Han J, Dong XP (2011):** A Chinese Creutzfeldt-Jakob disease patient with E196K mutation in PRNP. *Prion* 5: 117-20.
- Shyu WC, Hsu D, Kao MC, Tsao WL (1996):** Panencephalitic Creutzfeldt-Jakob disease in a Chinese family. Unusual presentation with PrP codon 210 mutation and identification by PCR-SSCP. *J Neurol Sci* 143: 176-80.
- Simon ES, Kahana E, Chapman J, Treves TA, Gabizon R, Rosenmann H, Zilber N, Korczyn AD (2000):** Creutzfeldt-Jakob disease profile in patients homozygous for the PRNP E200K mutation. *Ann Neurol* 47: 257-60.
- Sparkes RS, Simon M, Cohn VH, Fournier RE, Lem J, Klisak I, Heinzmann C, Blatt C, Lucero M, Mohandas T *et al.* (1986):** Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 7358-62.
- Spencer MD, Knight RS, Will RG (2002):** First hundred cases of variant Creutzfeldt-Jakob disease: retrospective case note review of early psychiatric and neurological features. *Bmj* 324: 1479-82.
- Steinhoff BJ, Racker S, Herrendorf G, Poser S, Grosche S, Zerr I, Kretzschmar H, Weber T (1996):** Accuracy and reliability of periodic sharp wave complexes in Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 53: 162-6.
- 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: 702-8.
- Stoeck K, Sanchez-Juan P, Green A, Gawinecka J, Ladogana A, Pocchiari M, Sanchez-Valle R, Mitrova E, Sklaviadis T, Kulczycki T, Slivarichova D, Saiz A, Calero M, Knight R, Schelzke G, van Duijn CM, Zerr I (2012):** Cerebrospinal fluid biomarker supported

- diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease and rapid dementias: a longitudinal multicentre study over 10 years. *Brain*. 135: 3051-61
- Tateishi J**, Kitamoto T, Doh-ura K, Sakaki Y, Steinmetz G, Tranchant C, Warter JM, Heldt N (1990): Immunochemical, molecular genetic, and transmission studies on a case of Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome. *Neurology* 40: 1578-81.
- Tintner R**, Brown P, Hedley-Whyte ET, Rappaport EB, Piccardo CP, Gajdusek DC (1986): Neuropathologic verification of Creutzfeldt-Jakob disease in the exhumed American recipient of human pituitary growth hormone: epidemiologic and pathogenetic implications. *Neurology* 36: 932-6.
- Tobler I**, Gaus SE, Deboer T, Achermann P, Fischer M, Rüdliche T, Moser M, Oesch B, McBride PA, Manson JC (1996): Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Nature* 380: 639-42.
- Tsai MT**, Su YC, Chen YH, Chen CH (2001): Lack of evidence to support the association of the human prion gene with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6: 74-8.
- Tumani H**, Windl O, Kretzschmar HA, Ludolph AC (2002): Clinically atypical CJD: diagnostic relevance of cerebrospinal fluid markers and molecular genetic analysis? *Dtsch Med Wochenschr* 127: 318-20.
- Uchino A**, Yoshinaga M, Shiokawa O, Hata H, Ohno M (1991): Serial MR imaging in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuroradiology* 33: 364-7.
- Weise J**, Crome O, Sandau R, Schulz-Schaeffer W, Bähr M, Zerr I (2004): Upregulation of cellular prion protein (PrP_c) after focal cerebral ischemia and influence of lesion severity. *Neurosci Lett* 372: 146-50.
- Westaway D**, Goodman PA, Mirenda CA, McKinley MP, Carlson GA, Prusiner SB (1987): Distinct prion proteins in short and long scrapie incubation period mice. *Cell* 51: 651-62.
- WHO (1998)**: Human transmissible spongiform encephalopathies. *Wkly Epidemiol Rec* 47: 361-5.
- Will RG (2003)**: Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull* 66: 255-65.
- Will RG**, Zeidler M, Stewart GE, Macleod MA, Ironside JW, Cousens SN, Mackenzie J, Estibeiro K, Green AJ, Knight RS (2000): Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 47: 575-82.
- 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: 244-52.

- Zerr I**, Bodemer M, Gefeller O, Otto M, Poser S, Wiltfang J, Windl O, Kretzschmar HA, Weber T (1998): Detection of 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 43: 32-40.
- Zerr I**, Schulz-Schaeffer WJ, Giese A, Bodemer M, Schröter A, Henkel K, Tschampa HJ, Windl O, Pfahlberg A, Steinhoff BJ *et al.* (2000a): Current clinical diagnosis in Creutzfeldt-Jakob disease: identification of uncommon variants. *Ann Neurol* 48: 323-9
- Zerr I**, Pocchiari M, Collins S, Brandel JP, de Pedro Cuesta J, Knight RS, Bernheimer H, Cardone F, Delasnerie-Lauprêtre N, Cuadrado Corrales N *et al.* (2000b): Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 55: 811-5.
- Zerr I**, Mollenhauer B, Werner Ch, Poser S (2002): Early and differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Dtsch Med Wochenschr* 127: 323-7.
- Zerr I** (2008): Leitlinien für die Diagnostik und Therapie in der Neurologie, Georg Thieme Verlag, 4. überarb. Auflage, Stuttgart 2008
- Zerr I**, Kallenberg K, Summers DM, Romero C, Taratuto A, Heinemann U, Breithaupt M, Vargas D, Meissner B, Ladogana A *et al.* (2009): Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease" *Brain* 132: 2659-68.
- Zerr I**, Gawinecka J, Stoeck K (2012). in: Prions and Diseases, Volume II: Pathogenesis and neuropathology, Chapter 13: Diagnosis of Prion Disease: Conventional Approach. Springer Science & Business Media, New York, US

5. Publikationen

5.1. Publikation I

Schelzke G, Eigenbrod S, Romero C, Varges D, Breithaupt M, Taratuto AL, Kretzschmar HA, Zerr I, **(2011)**: Genetic prion disease with codon 196 *PRNP* mutation: clinical and pathological findings. *Neurobiol Aging*. 32:756.e1-9.

5.2. Publikation II

Schelzke G, Kretzschmar HA, Zerr I **(2012)**: Clinical aspects of common genetic Creutzfeldt-Jakob disease Eur J Epidemiol. 27: 147-9

5.3. Publikation III

Schelzke G, Stoeck K, Eigenbrod S, Grasbon-Frodl E, Raddatz LM, Ponto C, Kretschmar HA, Zerr I (2013): Report about four novel mutations in PRNP. Dement Geriatr Cogn Disord. 35: 229-37

6. Zusammenfassung

Ziel aller Publikationen war es genetische Prionerkrankungen in Deutschland klinisch und diagnostisch zu charakterisieren. Dabei wurde in Publikation I eine Mutation beleuchtet, die weltweit noch nicht als häufige Mutation in Erscheinung getreten ist, aber in Deutschland die drittgrößte Gruppe der gCJK ausmacht (8,4%). Das mittlere Erkrankungsalter liegt mit 71 Jahren deutlich höher als es für genetische Prionerkrankungen üblich ist (FFI: 51 Jahre, GSS: 52 Jahre, E200K: 60 Jahre (Kovacs *et al.* 2005)). Die mittlere Erkrankungsdauer ist mit 6,5 Monaten vergleichbar mit der Erkrankungsdauer bei einer sCJK oder der häufigen gCJK - E200K (sCJK: 6,2 Monate, E200K: 5 Monate (Parchi *et al.* 1999; Kovacs *et al.* 2005)). Im klinischen Bild ist eine hohe Anzahl von psychiatrischen Symptomen bei diesen Patienten zu Beginn der Erkrankung auffällig (Depression, unangebrachtes Verhalten, emotionale Labilität). Im Verlauf entwickelten die Patienten dann alle die für die CJK-typischen-Symptome, sodass bei allen Patienten klinisch und diagnostisch die Diagnose einer wahrscheinlichen CJK gestellt werden konnte (WHO-Kriterien). Sehr auffällig zeigte sich auch, dass bei allen Mutationsträgern unter 70 Jahren ausgeprägte white matter lesions nachweisbar waren, in ähnlicher Ausprägung wie bei den über Siebzijährigen. Innerhalb der deutschen Kohorte konnten auch erstmalig Familien mit je zwei betroffenen Geschwistern gesehen werden. Hieraus, und aus dem neuropathologischen Nachweis von CJK-Veränderungen, lässt sich schließen, dass die Mutation tatsächlich als krankheitsursächlich anzusehen ist und nicht nur einen Zufallsbefund darstellt.

In Publikation II wurden die beiden häufigsten gCJK (E200K- und V210I-Mutation) nach ihrem klinischen Bild, allgemeinen demografischen Daten und Ergebnissen der paraklinischen Tests analysiert und Patienten mit der sporadischen Form der CJK in vergleichbarem Alter, selben Geschlecht und selben Codon 129-*PRNP*-Polymorphismus gegenübergestellt. In der Literatur werden der klinische Phänotyp und die Ergebnisse der diagnostischen Tests beider Mutationen ähnlich den Befunden bei der sCJK beschrieben, sodass bei Fehlen einer positiven Familienanamnese die Differenzierung zwischen genetischer und sporadischer Ursache des vorliegenden Krankheitsbildes erschwert ist. Ein detaillierter statistischer Vergleich der Mutationen zur sCJK, zur Überprüfung der These, ist allerdings bisher nicht erfolgt. Die demografischen Daten der in Publikation II beschriebenen Kohorte sind mit vorab beschriebenen Zahlen vergleichbar. So fand sich zwischen den Mutationen und der sCJK eine vergleichbare Krankheitsdauer (das Alter wurde nicht verglichen, da die Kontrollgruppe altersgematcht war). Bei der E200K-Mutation fand sich im Vergleich der am Codon-129-*PRNP*-homozygoten mit -heterozygoten Patienten, wie in der Literatur beschrieben, dass die homozygoten eine deutlich kürzere Erkrankungsdauer

hatten. In der klinischen Analyse konnte gezeigt werden, dass die Häufigkeit der Symptome zwischen den Mutationsträgern und sCJK-Patienten tatsächlich ähnlich ist und keine signifikanten Unterschiede zwischen Mutation und der sporadischen Form ersichtlich waren. Es wurde geschaut, wann die Symptome bei den Patienten das erste Mal beschrieben wurden. Hierbei zeigten sich bei der E200K-Mutation keine Unterschiede gegenüber der sCJK-Kontrollgruppe. Bei der V210I-Mutation fand sich, dass die psychiatrischen Symptome, die genauso häufig auftraten, bei Mutationsträgern früher beobachtet wurden. Bei der Analyse des Liquors zeigten sich äquivalente Ergebnisse zwischen den Patienten mit Mutationen und sCJK. Des Weiteren glichen sich die Ergebnisse der EEG- und der cMRT-Untersuchungen zwischen den Mutationsträgern und der sCJK-Kontrollgruppe. Nicht erwartete Nebenefunde dieser Studie waren zum einen die Auffälligkeit, dass gerade homozygote Patienten (E200K, V210I und sCJK) sehr hohe Tau-Werte (>10000 pg/ml) aufwiesen. Für die E200K-Mutation konnte eine Abhängigkeit vom Alter gesehen werden, wobei die jüngeren Patienten die höheren Tau-Werte präsentierten. In der Literatur wurden bisher hohe Tau-Werte mit der Erkrankungsdauer in Verbindung gebracht werden (Meiner *et al.* 2011, kurze Krankheitsdauer, niedrigere Tau-Werte, nur E200K-Mutation). Dies konnten wir nicht bestätigen. Ein zweiter Aspekt, der auch schon in Publikation I diskutiert wurde, ist, dass bei vielen Patienten white matter lesions im cMRT sichtbar waren. Bei der E200K konnte eine Altersabhängigkeit festgestellt werden (mehr wml bei älteren Patienten), was sich nicht bei der V210I-Mutation und der sCJK bestätigte.

Es wurde auch ein Vergleich der E200K-Mutation mit der V210I-Mutation durchgeführt. Diese beiden Gruppen waren nicht nach Alter, Geschlecht oder Codon-129-PRNP-Polymorphismus gematcht. Sie zeigten in der Analyse keine Unterschiede in der Häufigkeit von Symptomen. Signifikante Unterschiede zeigten sich allerdings darin, dass bei der V210I-Mutation schon früher im Krankheitsverlauf eine Demenz, Pyramidenbahnzeichen, extrapyramidalmotorische Symptome und psychiatrische Symptome auftraten. Des Weiteren hatten die V210I-Patienten häufiger wml im cMRT. Dies hilft nicht in der klinischen Unterscheidung, ob eine Mutation oder die sporadische Form bei einem Patienten vorliegt, ermöglicht allerdings eine eventuelle Zuordnung, ob es sich um eine E200K-Mutation oder V210I-Mutation handeln könnte.

Die deutsche Kohorte stellt eine vergleichbar kleine Gruppe von Patienten mit E200K- und V210I-Mutation dar. Große Cluster der E200K-Mutation bestehen in der Slowakei und in Israel. Lee *et al.* haben gezeigt, dass beide Kohorten unterschiedliche Vorfahren haben (östlicher und mediterraner Haplotyp) und sich diese auch von den deutschen Patienten unterscheiden (westlicher Haplotyp) (Lee *et al.* 1999). Der Großteil der V210I-Patienten lebt

in Italien (Kovacs *et al.* 2005). In weiteren Analysen wäre es interessant zu schauen, ob sich die verschiedenen Haplotypen der E200K-Mutation in ihren klinischen Ausprägungen und den Resultaten der klinischen Tests unterscheiden oder im Vergleich zur sCJK deutliche Unterscheidungsmerkmale finden, gleiches gilt für die verschiedenen Kohorten der V210I-Mutation.

In der dritten Publikation werden vier Punktmutationen beschrieben, die bisher nicht in der Literatur berichtet wurden. Bei allen vier Fällen präsentieren die Patienten nicht die typischen Symptome einer CJK und auch die Ergebnisse der Zusatzdiagnostik sind unterschiedlich. Zwei der vier Patienten wurden letztendlich nicht als CJK klassifiziert, es wurde jedoch auch keine alternative Diagnose gestellt. Nur der Nachweis einer Mutation im *PRNP* lässt vermuten, dass es sich doch um eine CJK gehandelt haben könnte. Da leider bei keinem der Patienten eine Obduktion erfolgte, kann derzeit nicht bewiesen werden, dass die Mutationen tatsächlich ursächlich für die Erkrankung der Patienten waren. In keinem der vier Fälle wurden Angehörige einem Bluttests unterzogen, um zu schauen, ob hier ebenfalls die Mutation vorliegt, und die Familien wurden auch im weiteren Verlauf nicht beobachtet um die Entwicklung eventueller Symptome zu registrieren.

Um die Relevanz der hier aufgeführten Mutationen für eine CJK genauer einzuschätzen, wurden aus der Literatur bereits bekannte Mutationen zum Vergleich herangezogen. Auf Codon 203-*PRNP* ist neben der in Publikation III beschriebenen V203G-Mutation so bereits eine G>A -Substitution bekannt, die zur V203I-Mutation führt (Jeong *et al.* 2010; Peoc'h *et al.* 2000). Diese wurde bereits zweimal in der Literatur beschrieben und bei einem dieser Fälle wurde eine neuropathologische Untersuchung durchgeführt, in der die typischen Befunde einer CJK nachgewiesen werden konnten. Ein Zusammenhang zwischen dieser Mutation und der CJK ist somit sehr wahrscheinlich. Auf dem Codon 203-*PRNP* wurde darüber hinaus bisher keine weitere Mutation gefunden, aber am Codon 210-*PRNP* ist eine der häufigsten bekannten Mutationen gelegen, welche in Publikation II ausführlich beschrieben wird.

Am selben Codon, wo die Q212H-Mutation zu finden ist, ist auch die Q212P-Mutation bekannt. Auch diese Mutation wurde bereits zweimal in der Literatur beschrieben und wird vom klinischen Aspekt zum GSS gezählt (Piccardo *et al.* 1998; Beck *et al.* 2010). Einer dieser beiden Fälle ist ebenfalls neuropathologisch gesichert worden.

Am Codon 173-*PRNP* wurde noch keine weitere Irregularität beschrieben, aber auf einem weiteren Codon zwei Positionen früher, am Codon 171-*PRNP*, ist eine Mutation bekannt (N171S). Die Relevanz dieser Mutation für die CJK wird derzeit noch diskutiert. Zum einen

ist sie in einer Familie bekannt, die unter psychiatrischen Symptomen und CJK Symptomen litt, zum anderen ist sie auch in gesunden Probanden gefunden worden (Samaia *et al.* 1997; Tsai *et al.* 2001). Sie ist allerdings nicht in einer Genomstudie bei Patienten mit familiärer Schizophrenie oder normaler Schizophrenie gefunden worden, aber in einer anderen Familie mit D178N-129V-Mutation und N171S-Mutation, in der klinisch ebenfalls psychiatrische Symptome dominant waren (Beck *et al.* 2010; Mead *et al.* 2003; Appleby *et al.* 2010).

Neben den hier in Publikation III beschriebenen Einzelfallberichten, bei denen die Krankheitsrelevanz der Mutationen letztendlich nicht geklärt werden konnte, gibt es weiter Einzelfälle in der Literatur mit klinisch atypischen Verläufen. Bei einigen dieser Berichte wurden die Patienten neuropathologisch untersucht und ein Nachweis von PrP^{Sc} konnte erbracht werden, sodass auch bei atypischen klinischen Verläufen und bisher unbekannten Mutationen im *PRNP* eine CJK neuropathologisch bestätigt werden konnte (Panegyres *et al.* 2001, Rowe *et al.* 2007, Heinemann *et al.* 2008, Hilton *et al.* 2009). Der Verdacht, dass die Mutationen hierfür schließlich der Auslöser waren wird sich erst erhärten, wenn weitere Blutsverwandte mit gleicher Mutation erkranken.

Zusammenfassend haben die ersten beiden Publikationen das Bild bestätigt, dass ohne eine genetische Testung die gCJK oft nicht von einer sCJK unterscheidbar ist, insbesondere, da nicht bei allen Patienten eine positive Familienanamnese vorliegt. Die bisherige Grundregel, dass gCJK-Patienten durchschnittlich zehn Jahre jünger sind als sCJK-Patienten (gCJK: 50-55 Jahre, sCJK: 60-65 Jahre (Brown P *et al.* 1992) ist durch unsere Analyse auch widerlegt worden, da das durchschnittliche Erkrankungsalter der E196K-Mutationsträger 71 Jahre beträgt, und das der E200K- und V210I-Mutationsträger bei 63 Jahre liegt.

Durch die dritte Publikation wurde gezeigt, dass auch Patienten, bei denen klinisch nicht der Verdacht auf eine CJK besteht, Auffälligkeiten im *PRNP* vorhanden sein können, auch wenn die Krankheitsrelevanz nicht geklärt ist.

Eine genetische Diagnostik sollte somit in jedem Fall im Rahmen der Diagnosefindung einer CJK durchgeführt werden, um den Nachfahren der Patienten Klarheit über die Genese zu ermöglichen. Hieraus verringert sich auch das Risiko einer iatrogenen Verbreitung, insofern das OP-Instrumentarium bei gCJK-Patienten (auch asymptomatischen) entsprechend den RKI-Richtlinien aufbereitet werden sollten.

7. Weitere wissenschaftliche Beiträge zum Thema der Dissertation

Publikationen in Erstautorenschaft:

Schelzke G, Zerr I. (2010): Pathologie und Diagnostik von Prionenerkrankungen. Der Neurologe und Psychiater 9: 52

Publikationen in Co-Autorenschaft:

Eigenbrod S, Frick P, Giese A, **Schelzke G**, Zerr I, Kretzschmar HA. (2011): Comprehensive neuropathologic analysis of genetic prion disease associated with the E196K mutation in PRNP reveals phenotypic heterogeneity. J Neuropathol Exp Neurol 70: 192-200.

Breithaupt M, Romero C, Kallenberg K, Begue C, Sanchez-Juan P, Kretzschmar HA, **Schelzke G**, Meichtry E, Taratuto AL, Zerr I. (2013): Magnetic resonance imaging in E200K and V210I-Mutation of the prion protein gene. Alzheimer Dis Assoc Disord. 27: 87-90

Poster:

Schelzke G, Breithaupt M, Zerr I (2011): The E200K mutation correlating with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (sCJD). Prion, Montreal 2012

Vorträge:

Schelzke G (2010): Genetic prion disease with codon 196 *PRNP* mutation – clinical and pathological characterization. EUROCD meeting, Rotterdam 2010

Lebenslauf

Ich wurde am 28.08.1983 als zweites von drei Kindern von Volkmar und Viola Schelzke in Mühlhausen (Thür.) geboren. 2002 erlangte ich die allgemeine Fachhochschulreife am Tilesius-Gymnasium Mühlhausen und begann im Sommersemester 2003 das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität Göttingen. Den erfolgreichen Abschluss des Studiums erlangte ich im Dezember 2009 und ab dem Januar 2010 begann ich meine Arbeit an der Dissertation im Rahmen eines Promotionsstudiums mit Stipendienförderung über das Nationale Referenzzentrum für Prionerkrankungen (Prof. Dr. I. Zerr). Von Januar 2011 bis März 2012 war ich in der Klinik für Neurologie der Georg-August-Universität Göttingen als Weiterbildungsassistentin zur Fachärztin der Neurologie angestellt. Seit April 2012 führe ich diese Ausbildung im St. Georg-Klinikum Eisenach fort.