Aus der Abteilung Neurologie

(Prof. Dr. med. M. Bähr)

im Zentrum Neurologische Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Klinische und diagnostische Charakteristika des
VV2-Subtyps
der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Anna Cathrin Senske

aus

Göttingen

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

- I. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. I. Zerr**
- II. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Knauth**
- III. Berichterstatterin: Prof. Dr. rer. nat. Virsik-Köpp**

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.2011

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Historie der Prionerkrankungen	1
1.2 Übersicht der Prionerkrankungen	2
1.3 Epidemiologie und Pathogenese der CJD	2
1.3.1 Erreger der Prionerkrankungen	3
1.3.2 Physiologisches Prionprotein (PrP ^C)	4
1.4 Formen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	4
1.4.1 Sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJD)	5
1.4.2 Familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (fCJD)	5
1.4.3 Iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (iCJD)	6
1.4.4 Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD)	7
1.5 Klinik der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	8
1.6 Klassifikation der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit auf molekularer Ebene in 6 Subtypen	9
1.6.1 MM1 und MV1	10
1.6.2 VV2	11
1.6.3 MV2	13
1.6.4 MM2	14
1.6.4.1 MM2-thalamic Subtyp	14
1.6.4.2 MM2-kortikal Subtyp	15
1.6.5 VV1	16
1.7 Diagnostische Verfahren der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	18
1.7.1 Liquordiagnostik	18
1.7.1.1 Protein 14-3-3	18
1.7.1.2 Neuronenspezifische Enolase (NSE)	19
1.7.1.3 S100b-Protein	20
1.7.1.4 Tau-Protein	20
1.7.1.5 Amyloid- β 1-42 (A β 1-42)	21
1.7.2 Elektroenzephalographie (EEG)	21
1.7.3 Bildgebung	22
1.7.4 Genetische Diagnostik	23

1.7.4.1 Polymorphismus des Codons 129 im PrP-Gen	23
1.7.4.2 Apolipoprotein E (ApoE) Genotyp	23
1.7.5 Neuropathologische Diagnostik	24
1.7.5.1 Prionproteinnachweis und PrP ^{Sc} - Ablagerungsmuster	25
1.7.5.2 Bestimmung des Prionprotein-Typs	26
1.8 Fragestellung	27
2. Material und Methoden	28
2.1 Studien-Design zur Epidemiologie und Früherkennung der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung	28
2.2 Patientenkollektiv	31
2.3 Diagnostische Untersuchungen	31
2.3.1 Liquordiagnostik	32
2.3.2 Elektroenzephalographie (EEG)	33
2.3.3 Bildgebung	33
2.3.4 Genetische Analyse	34
2.3.4.1 Mutation des PrP-Gens	34
2.3.4.2 Codon-129-Genotypisierung	34
2.3.4.3 ApoE-Genotypisierung	34
2.3.5 Neuropathologische Diagnostik	35
2.3.5.1 Lichtmikroskopische Untersuchung	35
2.3.5.2 Prionproteinnachweis	35
2.3.5.3 Prionprotein-Typisierung	36
2.4 Statistische Analyse	36
3. Ergebnisse	37
3.1. Patientenkollektiv	37
3.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung	37
3.1.2 Krankheitsdauer	39
3.1.3 Überlebenszeit und Autopsierate	39
3.1.4 Familienanamnese	40
3.2 Klinischer Verlauf	40

3.2.1	Erkrankungsbeginn	40
3.2.2	Klinische Symptomatik im Verlauf	41
3.2.3	Erstdiagnose	44
3.3	Diagnostische Zusatzuntersuchungen	45
3.3.1	Elektroenzephalographie	45
3.3.2	Liquordiagnostik	47
3.3.2.1	Routine-Liquordiagnostik	47
3.3.2.2	Protein 14-3-3	48
3.3.2.3	Neuronenspezifische Enolase	50
3.3.2.4	S100b-Protein	51
3.3.2.5	Tau-Protein	52
3.3.2.6	Amyloid- β 1-42	53
3.4	Apolipoprotein-E (ApoE) -Genotyp	54
3.5	Bildgebung	54
3.5.1	Computertomographie	54
3.5.2	Kernspintomographie	55
4.	Diskussion	59
4.1	Patientenkollektiv	59
4.1.1	Alters- und Geschlechtsverhältnis	60
4.1.2	Krankheitsdauer	61
4.1.3	Erkrankungsbeginn	62
4.1.4	Klinische Symptomatik im Verlauf	64
4.1.5	Erstdiagnose	67
4.2	Diagnostische Zusatzuntersuchungen	67
4.2.1	Elektroenzephalographie	68
4.2.2	Liquordiagnostik	70
4.2.2.1	Routine-Liquordiagnostik	70
4.2.2.2	Protein 14-3-3	70
4.2.2.3	Neuronenspezifische Enolase	73
4.2.2.4	S100b-Protein	75
4.2.2.5	Tau-Protein	77
4.2.2.6	Amyloid- β 1-42	78

4.2.3 Apolipoprotein-E (Apo E) -Genotyp	79
4.2.4 Bildgebung	80
4.2.3.1 Computertomographie (CCT)	80
4.2.3.2 Kernspintomographie (cMRT)	80
5. Zusammenfassung	87
6. Anhang: Abb. 20: Standardisiertes MRT-Untersuchung- Auswertungsprotokoll	89
7. Literaturverzeichnis	90

1. EINLEITUNG

1.1 Historie der Prionerkrankungen

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) wurde als erste der humanen übertragbaren (Transmissible) spongiformen Enzephalopathien (TSE), auch als Prionerkrankungen bezeichnet, in den frühen 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts als seltene neurodegenerative Krankheit von dem Kieler Neurologen Hans Gerhard Creutzfeldt und dem Hamburger Neurologen Alfons Jakob beschrieben (Creutzfeldt 1920; Jakob 1921). Die CJD galt für lange Zeit als ein rein neurodegeneratives und erbliches Leiden. Erst Beobachtungen in den 60er Jahren lieferten einen wesentlichen Beitrag zur Aufklärung der CJD: Der Wissenschaftler Hadlow entdeckte neuropathologische Ähnlichkeiten zwischen Scrapie, einer übertragbaren spongiformen Enzephalopathie bei Schafen (Erstbeschreiber Leopoldt 1759), und Kuru, einer durch rituellen Kannibalismus im Fore-Volksstamm auf Papua-Neuguinea verbreiteten Erkrankung (Erstbeschreiber Gajdusek und Zigas 1957; Hadlow 1959). Die amerikanischen Virologen Gajdusek und Gibbs konnten durch die Inokulation von infiziertem Hirngewebe auf Primaten nachweisen, dass auch die CJD eine experimentell übertragbare Krankheit ist (Gajdusek et al. 1966; Gibbs et al. 1968). Im selben Jahr konnte die erste dokumentierte iatrogen bedingte CJD-Übertragung (iCJD) auf den Menschen durch einen neurochirurgischen Eingriff nachgewiesen werden. Später im Jahre 1985 zeigte sich, dass auch durch Injektionen von kontaminierten Wachstumshormonen die CJD auf den Menschen übertragbar ist (Powell-Jackson et al. 1985).

Mit der Veröffentlichung der „Prion-Hypothese“ trug Stanley B. Prusiner 1982 einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis der Pathogenese der CJD bei (Prusiner 1982). Mitte der 80er Jahre konnte der Genlokus des humanen PrP-Gens (*PRNP*) auf dem kurzen Arm des Chromosoms 20 nachgewiesen werden (Sparkes et al. 1986). Mit dem ersten und massenhaften Auftreten der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) in Großbritannien im Jahr 1986 kam es zum Ausbruch der BSE-Epidemie, die ihren Höhepunkt im Jahr 1993 fand. Zur epidemiologischen Untersuchung der CJD bzw. zur

Ermittlung einer möglichen Auswirkung der BSE-Epidemie auf den Menschen wurde im Jahr 1990 die CJD Surveillance Unit in Edinburgh, Großbritannien (Schottland) gegründet. Etwa 10 Jahre nach Ausbruch der BSE, im März 1996, wurden erste Fälle einer bislang unbekannten Variante der CJD (neue Variante der CJD, vCJD) veröffentlicht, die sich deutlich von der klassischen Form unterscheidet (Chazot et al. 1996; Will et al. 1996). Als Ursache wird ein Zusammenhang mit der BSE-Epidemie vermutet (Lasmézas et al. 1996; Will et al. 1996; Bruce et al. 1997).

1.2 Übersicht der Prionerkrankungen

Die Prionkrankheiten bilden eine Gruppe übertragbarer neurodegenerativer Erkrankungen, die Mensch und Tier befallen und stets einen letalen Ausgang nehmen. Diese Erkrankungen können als sporadische, vererbte oder iatrogene Form auftreten. Zu den ideopathisch erworbenen Formen zählt die sporadische letale Insomnie („sporadic fatal Insomnia“=SFI) und die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJD), welche die häufigste aller Prionerkrankungen des Menschen darstellt. Die infektiös erworbenen Prionerkrankungen schließen Kuru, die iatrogene sowie die neue Variante der CJD (iCJD; vCJD) ein. Als hereditäre Prionerkrankungen werden die letale familiäre Insomnie („fatal familial Insomnia“= FFI), das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) sowie die familiäre CJD bezeichnet. Ihre Gemeinsamkeit besteht in der Akkumulation der abnormen pathologischen Form des Prionproteins (PrP^{Sc} [Sc für scrapie]) und der schwammartigen Auflockerung des Klein- und Großhirns, aufgrund derer diese Erkrankungen die Bezeichnung „humane transmissible spongiforme Enzephalopathien“ erhielten.

1.3 Epidemiologie und Pathogenese der CJD

Seit dem Ausbruch der bovinen spongiformen Enzephalopathie in den späten 80er Jahren ist die Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung zunehmend in das Zentrum des öffentlichen Interesses gerückt. Die innerhalb weniger Monate stets tödlich verlaufende CJD ist eine seltene, aber weltweit vorkommende

Erkrankung mit einer Inzidenz von etwa einem Fall pro Jahr pro einer Million Einwohner.

In Deutschland wird die Epidemiologie der CJD in dem 1993 gegründeten nationalen TSE-Referenzzentrum der Georg-August-Universität Göttingen systematisch untersucht.

1.3.1 Erreger der Prionerkrankungen

Die Ätiologie und Pathogenese der Prionerkrankungen sind bis heute noch nicht vollständig geklärt. Lange Zeit wurde angenommen, dass es sich bei den spongiformen Enzephalopathien um „slow virus diseases“ handeln würde. Trotz intensiver Suche konnte aber keine Nukleinsäure nachgewiesen werden. Der Erreger erweist sich als ungewöhnlich resistent gegen hohe Temperaturen, Chemikalien sowie UV- und ionisierende Strahlung (Alper et al. 1967).

Um das infektiöse Agens von herkömmlichen Erregern wie Bakterien und Viren zu unterscheiden, führte 1982 der amerikanische Neurologe Prusiner den Begriff „Prion“ als Abkürzung für „proteinaceous infectious particle“ ein (Prusiner 1982). In der von ihm veröffentlichten Prionhypothese postuliert Prusiner, dass das infektiöse Agens lediglich aus Proteinen besteht und seine Replikation ohne Vorhandensein einer Nukleinsäure fortsetzt, indem es als pathologische Isoform (PrP^{Sc}) eines physiologischen zellulären Proteins (PrP^{C}) mit diesem interagiert. Diese Interaktion, verursacht durch somatische Mutationen oder spontane Konformationsänderungen, führt zu einer posttranslationalen Umfaltung des physiologischen Prionproteins PrP^{C} in die aggregierende, pathologische Isoform PrP^{Sc} . Es entwickelt sich eine Art Kettenreaktion, bei der immer mehr PrP in die infektiöse Form umgewandelt werden.

PrP^{Sc} zeigt eine hohe Resistenz gegen verschiedene Reagenzien und Nukleasen (Alper et al. 1967), die durch den hohen Anteil an β -Faltblattstrukturen und die damit verbundene verminderte Löslichkeit und hohe Protease-Resistenz zu erklären ist (Cohen und Prusiner 1998). Durch die Akkumulation großer Mengen an PrP^{Sc} kommt es zur Bildung von so genannten „scrapie associated fibrils“ (SAF) oder „prion-rods“ im Gehirn, die

zu Plaques konfluieren können (McKinley et al. 1991). Dadurch wird das Gehirn zerstört und eine schwammartige Struktur entsteht.

1.3.2 Physiologisches Prionprotein (PrP^C)

Das physiologische Prionprotein (PrP^C) ist ein normales Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-verankertes Membranprotein (Stahl und Prusiner 1991), welches ubiquitär vorkommt, jedoch in Neuronen besonders hoch exprimiert wird (Kretzschmar et al. 1986).

PrP^C und PrP^{Sc} stimmen in ihrer Primärstruktur überein (Stahl et al. 1993). Beide differieren lediglich in ihrer Konformation: Dabei besteht die Struktur von PrP^C hauptsächlich aus Alpha-helikalen Anteilen (42%) und wenigen β -Faltblattstrukturen (3%), während PrP^{Sc} mit 45% einen hohen Anteil von β -Faltblattstrukturen aufweist (Pan et al. 1993). Dadurch entstehen wesentlich unterschiedliche biochemische Eigenschaften: Im Gegensatz zu PrP^C ist PrP^{Sc} Proteinase-resistent und unlöslich in denaturierenden Lösungsmitteln und somit weitgehend resistent gegenüber den üblichen Sterilisationsmaßnahmen (Oesch et al. 1985; Meyer et al. 1986).

Die Funktion von PrP^C ist noch nicht endgültig geklärt. Es wird vermutet, dass das körpereigene Prion an der Signalübertragung (Mouillet-Richard et al. 2000) und an der Gedächtnisformierung (Collinge und Palmer 1994) beteiligt ist sowie eine neuroprotektive Funktion besitzt (Bounhar et al. 2001) und eine funktionale Rolle im Kupfermetabolismus spielt (Brown D et al. 1997). Des Weiteren wird dem PrP^C auch ein Einfluss in der Lymphozytenaktivierung und eine protektive Wirkung in Bezug auf oxidativen Stress zugeschrieben (Cashman et al. 1990; Vassallo und Herms 2003).

1.4 Formen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Die Unterteilung der CJD erfolgt in 3 Formen: ideopathisch (sporadische CJD), hereditär (familiäre CJD), infektiös/- erworben (iatrogene CJD, neue Variante der CJD (vCJD)).

1.4.1 Sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJD)

Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, bei der keine Infektionsquelle oder Ursache der Krankheitsentstehung bekannt ist, stellt mit circa 84% aller CJD-Fälle die häufigste Form dar. Die Mortalität und Inzidenz der sCJD beträgt weltweit etwa 1,4 pro Mio. Einwohner und eine Zunahme der Inzidenz sowie eine regionale Häufung konnte bisher nicht beobachtet werden (Ladogana et al. 2005).

Die Symptome der sCJD manifestieren sich in der Regel im 7. Lebensjahrzehnt, wobei das durchschnittliche Alter bei Krankheitsbeginn 66 Jahre bei einer Altersverteilung zwischen 19 und 90 Jahren beträgt. Frauen sind etwas häufiger betroffen als Männer (1,4:1; Heinemann et al. 2007b). Eine Verlängerung der Überlebenszeit korreliert mit einem jüngeren Alter bei Krankheitsbeginn, weiblichem Geschlecht, Codon-129-Heterozygotie (MV), Nachweis von 14-3-3-Protein im Liquor und PrP^{Sc} Typ2 (Pocchiari et al. 2004). Jüngere sCJD Patienten, welche die CJD-Symptome schon ab 50 Jahren oder früher entwickeln, wiesen schwerere neuropathologische Veränderungen auf im Vergleich zu älteren sCJD-Patienten (Boesenberg et al. 2005).

1.4.2 Familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (fCJD)

In 10-15% aller CJD-Fälle liegt eine familiäre CJD vor, die auf einer Mutation des Proinproteingens (*PRNP*) der DNA beruht und mit verschiedenen klinischen und pathologischen Verlaufsformen assoziiert ist. Der Vererbungsmodus erfolgt innerhalb einer Familie autosomal-dominant, was bedeutet, dass nur ein PrP-Allel eine dieser Mutationen aufweisen muss, um die Krankheit zu verursachen. Erstmals entdeckte der Wissenschaftler L.G.Goldfarb 1991 eine Mutation auf dem Codon 200 des Prionproteingens, das auf dem kurzen Arm des Chromosoms 20 lokalisiert ist (Goldfarb et al. 1991). Bisher ließen sich über 30 verschiedene Insertions- und Punktmutationen des *PRNP* nachweisen, wobei die E200K-Mutation (Codon-200-Mutation von Glutamat zu Lysin) am häufigsten beobachtet wird (Windl et al. 1999, Kovacs et al. 2002; Kovacs et al. 2005). Die Altersverteilung der

fCJD zu Krankheitsbeginn liegt mit 50-60 Jahren deutlich unterhalb derjenigen der sCJD (60-70 Jahre), und mit einer Krankheitsdauer von zum Teil einigen Jahren verläuft die fCJD meist deutlich länger als die sCJD, welche in der Regel innerhalb von 6 bis 12 Monaten zum Tod führt. Trotzdem ist die familiäre CJD in ihrem klinischen und neuropathologischen Erscheinungsbild meist nicht von der sporadischen Form zu unterscheiden (Goldfarb et al. 1991; Chapman et al. 1993; Kretzschmar und Feiden 2002).

1.4.3 Iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (iCJD)

Weniger als 3% aller CJD-Fälle sind iatrogen verursacht. Die Ursache besteht in der direkten Exposition mit infiziertem Gewebe oder Materialien bei medizinischen Eingriffen. Schon 1974 wurde der erste Fall einer iatrogenen Übertragungsmöglichkeit der CJD über ein Korneatransplantat veröffentlicht (Duffy et al. 1974). Inzwischen wurden weitere Fälle und Übertragungswege der iCJD weltweit veröffentlicht. Hierzu gehören Berichte über neurochirurgische Operationen, bei denen das gesunde Gewebe durch kontaminiertes Operationsbesteck infiziert wurde sowie die Therapie mit Wachstums- oder Geschlechtshormonen (Gonadotropin, FSH), die aus der Hypophyse verstorbener CJD-Patienten extrahiert wurden (Nevin et al. 1960; Powell-Jackson et al. 1985; Cochius et al. 1990). Seit 1985 sind heute nur noch gentechnisch hergestellte Wachstumshormone zur Therapie zugelassen. Auch durch Dura-mater- und Cornea- Implantationen von CJD-Spendern sowie intrazerebralen EEG-Elektroden kann die CJD übertragen werden (Heckmann et al. 1997; Will 2003).

Die Symptome und die Krankheitsdauer der iatrogenen Form entsprechen denen der sCJD. Das Alter bei Erkrankungsbeginn ist vom Zeitpunkt der Exposition mit dem prionproteininfizierten Material sowie von der Inkubationszeit abhängig, die wiederum von der Infektionsdosis und der Eintrittspforte (zentraler oder peripherer Übertragungsweg) beeinflusst wird. Die durchschnittliche Inkubationszeit bei Verwendung von Dura-mater-Transplantaten wird auf 5-6 Jahre, bei Behandlung mit infektiösem Human Growth Hormon (hGH) auf 9-12 Jahre und bei der Verwendung von

infizierten neurochirurgischen Instrumenten auf etwa 20 Monate geschätzt (Brown P et al. 2006).

1.4.4 Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD)

Die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) wurde erstmals 1996, ungefähr 10 Jahre nach Ausbruch der Rinderseuche (BSE), bei 10 erkrankten Briten und einem Patienten in Frankreich als eine bis dahin unbekannte Form der CJD beschrieben (Chazot et al. 1996; Will et al. 1996). Epidemiologische und experimentelle Beobachtungen lassen annehmen, dass die vCJD ihren Ursprung in der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) hat (Lasmézas et al. 1996; Bruce et al. 1997). Es wird ein enger Zusammenhang zwischen der vCJD und dem Verzehr von erregerhaltigen Rinderhirn- und Rückenmarkprodukten vermutet. Die neue Variante der CJD tritt mit einer Häufigkeit von etwa 3% aller CJD Fälle auf, und bislang wurden weltweit über 200 vCJD-Patienten registriert, wobei in Großbritannien mit einem Anteil von 172 Fällen die meisten Fälle gemeldet wurden (www.cjd.ed.ac.uk, Stand 10.04.2010). In Deutschland konnte bislang kein Fall der vCJD beobachtet werden (www.cjd-goettingen.de).

Als Risikofaktoren der vCJD gelten ein junges Alter, Wohnsitz in Großbritannien und eine Methionin-Homozygotie am Codon 129 des Prionproteingens (Will 2003).

Im Jahr 2000 veröffentlichten Will und seine Mitarbeiter die diagnostischen Kriterien der vCJK. Diese tritt deutlich früher auf als die sCJD und weist eine längere Überlebenszeit auf (Spencer et al. 2002; Brandel et al. 2009; Heath et al. 2010). Im Frühstadium der neuen Variante der CJD zeigen die Patienten überwiegend psychiatrische Symptome (Zeidler et al. 1997; Brandel et al. 2009; Heath et al. 2010). Mit durchschnittlich 5 Monaten entwickeln die Patienten erst im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf erste Anzeichen einer progressiven Demenz gefolgt von Ataxie oder unwillkürlichen Bewegungen. Im Gegensatz zu der klassischen sCJD zeigt die neue Variante der CJD keine typischen EEG-Veränderungen im Sinne von periodic sharp and slow wave complexes (PSWCs) und nur in 50% wird der Liquor positiv auf die Proteine 14-3-3 getestet (Green et al. 2001; Brandel

et al. 2009; Heath et al. 2010). Eine besonders wichtige Rolle in der Diagnostik der vCJD lässt sich der Kernspintomographie zuschreiben: Es finden sich symmetrische Signalanhebungen im posterioren Thalamus (sog. „Pulvinar Sign“), das als typisches Merkmal für diese neue Variante gilt.

Zwei weitere Charakteristiken der vCJD zeigt die Neuropathologie auf: Es lassen sich so genannte „floride Plaques“ (auch als „Gänseblümchen-Plaques“ bezeichnet) im Gehirn nachweisen, wobei auch eine intensive PrP^{Sc}-Ablagerung in lymphoretikulären Geweben das neuropathologische Bild bestimmt (Kretzschmar et al. 1996; Ironside et al. 2000; Wadsworth et al. 2001; Ironside 2002; Brandel et al. 2009).

1.5 Klinik der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Die klinische Symptomatik der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit tritt zu Beginn oft vielfältig auf. Meist zeigen sich uncharakteristische Symptome in Form von sozialem Rückzug, Persönlichkeitsveränderungen, Depressionen, Schlafstörungen sowie Appetit- und Gewichtsverlust. Kognitive Einschränkungen in Form beginnender Demenz und Verhaltensauffälligkeiten stellen das Leitsymptom bei vielen Patienten dar. Allerdings können auch cerebelläre Symptome (häufig Gang- und Extremitätenataxie) oder visuelle Störungen den Beginn der Erkrankung dominieren. Die visuellen Störungen äußern sich oft in Form von Doppelbildern oder Verschwommensehen. Da aber in den meisten Fällen die Ursache kortikaler Natur ist, lässt sich ophthalmoskopisch keine erklärende Pathologie nachweisen. Sehr selten imponieren Parästhesien oder Myoklonien als erstes Symptom der CJD. Erst bei Auftreten einer rasch progredienten Demenz in Kombination mit Myoklonien wird der Verdacht auf eine CJD gestellt. Myoklonien bei der CJD sind typischerweise durch laute Geräusche oder taktile Reize auslösbar (startle response). Im weiteren Krankheitsverlauf treten neben Pyramidenbahnzeichen auch extrapyramidale Störungen wie Rigor hinzu (Zerr und Poser 2002). Das Endstadium ist durch das Auftreten des akinetischen Mutismus gekennzeichnet, der dem Verlust des spontanen Bewegungs- und Sprachantriebs entspricht, wobei die Fähigkeit der visuellen Fixation von Objekten sowie das Sprachverständnis

weitgehend erhalten bleiben (Otto et al. 1998). Die durchschnittliche Erkrankungsdauer der CJD beträgt etwa 6 Monate, wobei der Tod häufig durch Bronchopneumonien oder andere Folgen der Bettlägerigkeit eintritt (Poser und Zerr 2002).

1.6 Klassifikation der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit auf molekularer Ebene in 6 Subtypen

Mit Hilfe der Genanalyse wird ein Methionin-/Valin-Polymorphismus an der Aminosäureposition 129 des *PRNP* erfasst, der in gewissem Umfang die Erkrankungswahrscheinlichkeit und Inkubationszeit der Prionerkrankungen beeinflusst (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Parchi et al. 2009). Die Genanalyse des Prionproteins ergibt ein deutlich häufigeres Vorkommen für die Homozygotie der Aminosäuren Methionin (M/M) und Valin (V/V) am Codon 129 bei der sCJD-Population im Vergleich zur Normalbevölkerung: 70,6% unter den sCJD Fällen weisen eine Homozygotie für Methionin und 16,7% eine Homozygotie für Valin auf, wogegen Heterozygote mit 11,7% unterrepräsentiert sind. Bei Betrachtung der Kontrollgruppe zeigt die Mehrheit der Patienten eine Heterozygotie für den Methionin/Valin - Polymorphismus (51%), während eine Methionin-Homozygotie nur in 37% beobachtet wird. Der Valin-Homozygotismus präsentiert sich mit 12% innerhalb der Kontrollgruppe (Parchi et al. 1999).

Des Weiteren werden mit Hilfe der Western-Blot-Methode zwei Protease-K-resistente PrP-Isoformen mit jeweils unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften bezüglich ihrer Wanderungsgeschwindigkeit (Größe) nachgewiesen (PrP^{Sc}Typ 1: 20,5 kDa, PrP^{Sc}Typ 2: 18,7kDa; Parchi et al. 1996). PrP^{Sc}Typ 1 findet sich überwiegend bei Methioninhomozygoten, während PrP^{Sc}Typ 2 vermehrt bei Valinhomozygoten angetroffen wird (Parchi et al. 1999).

Basierend auf dem Methionin (M) / Valin (V) -Polymorphismus am Codon 129 des Prionproteingens (*PRNP*) zusammen mit den PrP^{Sc}Typen 1 und 2 erfolgt die Klassifikation der sCJD in sechs molekulare Subtypen: MM1, MM2, MV1, MV2, VV1 und VV2 (Parchi et al. 1999). Die Subtypen determinieren zum einen das klinische Erscheinungsbild und die Sensitivität

der diagnostischen Untersuchungsmethoden, zum anderen die neuropathologische Morphologie der Hirnveränderungen und das Ablagerungsmuster des Prionoproteins. Im Folgenden soll ein Überblick der einzelnen Typen gegeben werden.

1.6.1 MM1 und MV1

Dieser Subtyp betrifft Patienten mit einer Methionin - Homozygotie (MM) oder Methionin/ Valin-Heterozygotie (MV) am Polymorphismus des Codon 129 des PrP-Gens, die gemeinsam den PrP^{Sc}-Typ 1 präsentieren. Aufgrund der großen klinischen und neuropathologischen Ähnlichkeiten zwischen den Subtypen MM1 und MV1 sind diese kaum voneinander zu unterscheiden und werden deshalb in der Literatur als ein Subtyp zusammengefasst. Der als *klassisch* bezeichnete MM1/MV1-Subtyp stellt mit 75% den größten Anteil innerhalb der sCJD-Subtypen- Population dar (Richardson und Masters 1995; Parchi et al. 1999). Durch die Repräsentation der typischen Trias progrediente Demenz, Myoklonien und Nachweis von PSWCs im EEG entspricht dieser Subtyp dem klassischen Bild der CJD und kann klinisch am zuverlässigsten diagnostiziert werden.

Über 95% der Patienten gehören der MM-Gruppe an, während die MV-Patienten deutlich unterrepräsentiert sind. Die Erkrankung betrifft meist Patienten in der 7. Lebensdekade. Mit einer durchschnittlichen Erkrankungsdauer von 4-5 Monaten weisen beide Subtypen die signifikant kürzeste Krankheitsdauer unter allen Subtypen der sCJD auf (Parchi et al. 1999; Collins et al. 2006; Parchi et al. 2009).

Der Beginn der Erkrankung ist durch einen kognitiven Funktionsverlust in Form von Desorientierung oder Gedächtnisstörungen geprägt, der rasch in eine progredient verlaufende Demenz übergeht. Auch kortikale visuelle Störungen oder psychiatrische Symptome können zu Beginn der Erkrankung beobachtet werden, während eine Ataxie zu Beginn seltener beobachtet wird. Das Auftreten von initial einseitigen Symptomen (25% der Fälle) stellt eine weitere Besonderheit dieses Subtyps dar. In einigen Fällen können auch Myoklonien das erste Symptom sein (Parchi et al. 1999; Zerr und Poser 2002; Gambetti et al. 2003; Parchi et al. 2009). Im weiteren Verlauf kommt es

zu einer ausgeprägten Beteiligung des pyramidalen und extrapyramidalen Systems, die von Aphasie und Dyskinesien begleitet werden können (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b).

Neben den klassischen CJD-Symptomen ist der MM1/MV1-Subtyp durch das typische EEG geprägt, in dem PSWCs in nahezu 2/3 der Fälle nachgewiesen werden (Zerr et al. 2000b; Collins et al. 2006).

Die Diagnostik des Liquor cerebrospinalis (CSF) zeigt für beide Subtypen eine Sensitivität für den Nachweis des 14-3-3-Proteins von 90%. Das Tau-Protein ist bei 98% der MM1-Fälle nachweisbar (vs. 67% bei MV1), das S100b-Protein in 91% vs. 60% nachweisbar und die Sensitivität für NSE beträgt 75% für Subtyp-MM1 (vs. 100% bei MV1; Sanchez-Juan et al. 2006). Bezüglich der MRT-Untersuchung zeigen beide Subtypen unterschiedliche Beteiligungen und Lokalisationen. Das MRT der MM1-Patienten präsentiert in 70% Hyperintensitäten der Basalganglien, wobei in der Hälfte der Fälle auch eine Beteiligung des Kortex beobachtet wird. Hippocampus oder Thalamus sind in der Regel nicht involviert. Das MRT des MV1-Subtyps weist eine gleichermaßen hohe Beteiligung von Basalganglien und Kortex auf. Auch im Thalamus können zum Teil Signalanhebungen beobachtet werden (Meissner et al. 2009).

Die Histopathologie des Subtyps MM1/MV1 zeigt die für die CJD typische Trias in Form von spongiformer Degeneration, Astrogliosis und nur mäßigem Nervenzellverlust. Die Veränderungen sind im okzipitalen Kortex häufig stärker ausgeprägt als in den Basalganglien, Thalamus oder Cerebellum (Parchi et al. 1999).

1.6.2 VV2

CJD-Patienten, die dem VV2-Subtyp zugeordnet werden, repräsentieren mit 16% die zweithäufigste Gruppe, die zuvor unter dem Begriff „Ataxie-Variante“ der sCJD beschrieben wurde (Brownell und Oppenheimer 1965; Richardson und Masters 1995; Parchi et al. 1999). In Kontrast zu westlichen Ländern wird dieser Subtyp in Japan nur sehr selten beobachtet (Fukushima et al. 2004).

Der Erkrankungsbeginn des VV2-Subtyps wird vorwiegend nach dem 66. Lebensjahr beobachtet. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer liegt bei 6 Monaten (Collins et al. 2006).

In den bisher nur wenigen veröffentlichten Fallbeispielen zeigt sich zu Beginn der Erkrankung initial bei allen VV2-Patienten eine progrediente Gang- und Stand-Ataxie, die meist isoliert oder in 1/3 der Fälle von okulomotorischen und visuellen Störungen in Form von Doppelbildern oder Verschwommensehen begleitet wird. Eine progrediente Demenz zu Beginn steht nur selten im Vordergrund (27%) und kann erst in einem späteren Stadium der sCJD bei allen Betroffenen beobachtet werden (Parchi et al. 1999; Zerr und Poser 2002; Parchi et al. 2009). Im weiteren Verlauf traten Rigor und extrapyramidale Störungen hinzu. Nach durchschnittlich 4 Monaten ließen sich Myoklonien bei $\frac{3}{4}$ der Patienten nachweisen. Kortikale Zeichen wie Aphasie oder Apraxie wurden bei diesem Subtyp nicht beobachtet (Parchi et al. 1999).

Die elektroenzephalographische Untersuchung zeigte in der Mehrheit der VV2-Fälle unspezifische Verlangsamungen, und nur in wenigen Fällen ließen sich typische PCSWs beobachten (Parchi et al. 1999).

In der CSF-Diagnostik wurden die Liquorproteine 14-3-3 und NSE mit einer Sensitivität von 90% nachgewiesen, wobei die höchste Sensitivität unter allen CSF-Parametern des VV2-Subtyps das S100b-Protein mit 100% aufwies. Das Tau-Protein wurde in 88% der Fälle in erhöhter Konzentration bestimmt (Sanchez-Juan et al. 2006).

Die Sensitivität des MRT in Bezug auf hyperintense Basalganglien beträgt nahezu 80%. Neben den typischen Signalanhebungen in den Basalganglien weisen fast die Hälfte der VV2-Patienten Hyperintensitäten in weiten Bereichen des Thalamus auf. Kortikale Hyperintensitäten finden sich weitaus weniger häufig (Meissner et al. 2009).

Neuropathologisch zeigt der VV2-Subtyp eine ausgeprägte Beteiligung von Basalganglien, Thalamus und Cerebellum. Die spongiforme Degeneration tritt in einer gleichmäßigen Verteilung bevorzugt in den tieferen kortikalen Schichten auf. Der Frontallappen wies hierbei die prominenteste Schädigung auf, wobei der Grad der Beeinträchtigung mit der Krankheitsdauer korrelierte

und bei rapiden Krankheitsverläufen weitgehend ausgespart blieb (Gambetti et al. 2003).

1.6.3 MV2

Mit 9% bildet der früher als „Kuru-Plaque-Variante“ bezeichnete MV2-Subtyp die dritthäufigste Gruppe aller sCJD-Fälle (Chou und Martin 1971; Parchi et al. 1999). Patienten des MV2-Subtyps erkranken durchschnittlich im 64. Lebensjahr. Die lange Erkrankungsdauer mit durchschnittlich 12 Monaten stellt ein charakteristisches Merkmal dieser Subtyps dar (Krasnianski et al. 2006b).

Die Leitsymptome des MV2-Subtyps manifestieren sich in Form einer progredienten Demenz und cerebellären Ataxie, welche in den meisten Fällen schon zu Beginn der Erkrankung auftreten und im weiteren Verlauf bei allen MV2-Patienten zu beobachten sind. Auch psychiatrische Symptome können zu Krankheitsbeginn in 1/3 der Fälle auftreten und lassen sich im Verlauf bei allen Patienten nachweisen (Parchi et al. 1999, Krasnianski et al. 2006b).

Der weitere Krankheitsverlauf ist durch das Hinzutreten von extrapyramidalen Symptomen, Frontalhirnzeichen, Apraxie, Aphasie gefolgt von Pyramidenbahnzeichen gekennzeichnet. In nahezu 50% weisen die Patienten visuelle Störungen auf. In einigen Fällen (18%) wird ein monosymptomatischer Verlauf für länger als 6 Monate berichtet (Krasnianski et al. 2006b).

Im EEG werden in nur 8% der MV2-Fälle typische PSWCs registriert. Am häufigsten lassen sich uncharakteristische Verlangsamungen (73%) nachweisen; in 20% kommt es zum Auftreten von paroxysmalen PSWCs, die aber keiner Periodizität folgen (Parchi et al. 1999).

In der Liquoranalyse erweist sich das Tau-Protein mit 83% als der sensitivste CSF-Marker. In 76% wird ein positives 14-3-3-Protein nachgewiesen. Die Sensitivität für das A β -1-42-Protein beträgt 70%, die des S100b-Proteins beträgt 67% und in 63% der Fälle wird ein erhöhter NSE-Wert beobachtet. Die Kombination von Tau- mit 14-3-3-Protein ergibt mit 89% die höchste Sensitivität unter allen CSF-Markern (Krasnianski et al. 2006b).

Das MRT des MV2-Subtyps zeigt überwiegend charakteristische Hyperintensitäten in den Basalganglien (80%) sowie im Thalamus (43%; Meissner et al. 2009). Das für die Variante der CJD (vCJD) typische „Pulvinar sign“ konnte bei 4 Patienten mit sCJD des MV2-Subtyps beobachtet werden, unter denen ein einzelner ein so genanntes „hockey-stick sign“ aufwies. Signalanhebungen im Kortex werden hingegen selten beobachtet (Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2009).

Das charakteristische Kennzeichen des MV2-Subtyps ist der histopathologische Nachweis der so genannten „Kuru-Plaques“ im Cerebellum (Parchi et al. 1999; Krasnianski et al. 2006b). Histologische Veränderungen betreffen überwiegend Thalamus, Basalganglien und limbischen Kortex. Spongiforme Veränderungen sind das vorherrschende histologische Merkmal, das am ausgeprägtesten den Nucleus caudatus betrifft. Der Neuronenverlust betrifft vor allem kortikale Regionen sowie den Thalamus (Krasnianski et al. 2006b).

1.6.4 MM2

Der MM2-Subtyp wird durch zwei unterschiedliche Phänotypen charakterisiert und repräsentiert insgesamt 4% aller Patienten innerhalb der sCJD-Population (Parchi et al. 1999).

1.6.4.1 MM2-thalamic Subtyp

Der früher als „thalamische Variante“ der CJD klassifizierte MM2-thalamic Subtyp tritt durchschnittlich in einem Alter von 52 Jahren auf (Altersverteilung zwischen 36-71 Jahren) und endet nach etwa 15 Monaten tödlich (Stern 1939; Parchi et al. 1999).

Dominiert wird der Krankheitsbeginn durch Symptome in Form einer progredient verlaufenden Demenz und cerebellärer Ataxie, in 50% der Fälle können auch psychiatrische Symptome den Beginn der Erkrankung bestimmen (Parchi et al. 1999; Hamaguchi et al. 2005). Ein besonderes Merkmal stellt das Auftreten von progressiver Insomnie während des Krankheitsverlaufes dar, welches von psychomotorischer Unruhe,

okulomotorischen Symptomen sowie visuellen Halluzinationen begleitet werden kann. Myoklonien werden nach durchschnittlich neunmonatigem Krankheitsverlauf bei der Hälfte der Betroffenen beschrieben (Parchi et al. 1999).

Im EEG werden bei allen MM2-thalamic Patienten uncharakteristische Veränderungen im Sinne allgemeiner Rhythmusverlangsamungen nachgewiesen. PSWCs können bei keinem der Patienten angetroffen werden (Parchi et al. 1999).

In der Diagnostik des CSF weist der MM2-Subtyp allgemein eine 14-3-3-Sensitivität von 78% auf. Das S100b-Protein wird in 100% der Fälle erhöht nachgewiesen und Tau sowie NSE können in 86% bzw. 67% bestimmt werden (Sanchez-Juan et al. 2006).

Das MRT zeigt bei keinem der MM2-thalamic Patienten hyperintense Basalganglien. Stattdessen werden charakteristische thalamische Hypometabolismen (PET) oder Hypoperfusionen (SPECT) beobachtet (Hamaguchi et al. 2005). Allgemein weist der MM2-Subtyp weitflächige kortikale Signalanhebungen auf. Hyperintense Basalganglien werden im MM2-Subtyp weitaus weniger beobachtet (Meissner et al. 2009).

Der MM2-thalamic Subtyp ist in erster Linie durch eine prominente Atrophie des Thalamus gekennzeichnet und weist neuropathologisch große Ähnlichkeiten zu der FFI auf. Des Weiteren ist er durch einen prominenten Nervenzellverlust sowie Gliosis charakterisiert, wogegen spongiforme Degenerationen nur sehr selten beobachtet werden. Betroffen sind überwiegend Thalamus und inferiore Olive.

1.6.4.2 MM2-kortikal Subtyp

Der Erkrankungsgipfel der kortikalen MM2-Patienten liegt bei 67 Jahren bei einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von 14 Monaten (Krasnianski et al. 2006a).

Das Leitsymptom bei Erkrankungsbeginn präsentiert sich mit einer progressiv verlaufenden Demenz, die durch frühe und prominente neuropsychologische Defizite in Form von Aphasie oder Apraxie begleitet wird (Parchi et al. 1999; Krasnianski et al. 2006a). Der weitere Verlauf ist

durch extrapyramidale Symptome, Pyramidenbahnzeichen, Ataxie und den Auftritt vegetativer Symptome gekennzeichnet. Myoklonien werden mit durchschnittlich nach 8 Monaten erst in einem späten Krankheitsstadium beobachtet. Die Hälfte der Betroffenen weist einen monosymptomatischen Krankheitsverlauf (meist Demenz) für wenigstens 6 Monate auf (Krasnianski et al. 2006a).

Das EEG zeigt in 42% die für die CJD charakteristischen PSWCs (Krasnianski et al. 2006a), wobei die Studie von Parchi keine typischen EEG-Veränderungen nachweisen konnte, und das EEG hier eine vornehmliche Prägung durch uncharakteristische Verlangsamungen zeigt (Parchi et al. 1999).

In der CSF-Analyse weist das Protein S100b mit 100% die höchste Sensitivität unter allen MM2-kortikalen Liquorparametern auf. Das 14-3-3-Protein wird in 91% nachgewiesen und erweist sich damit als der sensitivste Marker unter den etablierten Diagnostik-Untersuchungen. Die Sensitivität des Tau-Proteins beträgt 80%, die des NSE 70% der Fälle und das Amyloid- β 1-42 wird mit der niedrigsten Sensitivität von 38% bestimmt. Das MRT zeigt hyperintense Basalganglien in 13% der Fälle. Wesentlich häufiger werden kortikale Signalanhebungen beobachtet (Hamaguchi et al. 2005; Krasnianski et al. 2006a).

Das histopathologische Läsionsmuster des MM2-kortikalen Subtyps zeigt, mit Ausnahme des Cerebellums, schwerwiegende kortikale Veränderungen auf. Das histologische Hauptmerkmal bilden spongiforme Veränderungen, die durch große konfluierende Vakuolen in weiten Anteilen von Kortex und Basalganglien geprägt sind (Parchi et al. 1999; Krasnianski et al. 2006a).

1.6.5 VV1

Der VV1-Subtyp stellt mit 1% den seltensten Subtyp aller sCJD-Fälle dar (Parchi et al. 1999). Auffällig ist das ungewöhnlich junge Alter bei Krankheitsbeginn, das durchschnittlich 44 Jahre beträgt. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer beträgt 21 Monate (Meissner et al. 2005) bzw. 11 Monate (Collins et al. 2006).

Klinisch ist der Beginn der Erkrankung durch eine langsam verlaufende progrediente Demenz sowie Persönlichkeitsveränderungen geprägt. Mit fortgeschrittenem Krankheitsverlauf entwickeln sich Ataxie (Median 7 Monate), Rigor (Median 9 Monate), Myoklonien (Median 10 Monate) und pyramidale Symptome (Median 12 Monate). Zusätzlich weisen über die Hälfte der VV1-Patienten fokale neurologische Störungen auf, die sich durch Hemiparese, Hemineglect, Hemianopsie, Broca-Aphasie oder einseitige Apraxie äußern (Meissner et al. 2005). Aufgrund des langen Krankheitsverlaufes, der langsam progressiven Demenz und der Abwesenheit von typischen EEG-Veränderungen zählt der VV1-Subtyp zu einer der atypischen CJD-Varianten.

Das EEG-Bild ist durch unspezifische fokale Verlangsamungen gekennzeichnet. Bei keinem der VV1-Patienten konnten im EEG typische PSWCs nachgewiesen werden (Parchi et al. 1999; Meissner et al. 2005). Eine andere Studie beschreibt PSWCs in 41,7% aller VV1-Fälle (Collins et al. 2006).

Die Sensitivität des CSF-Proteins 14-3-3 beträgt 100% (Meissner et al. 2005; Sanchez-Juan et al. 2006). Das Tau-Protein lässt sich in 80% der Patienten nachweisen, wogegen das NSE eine Sensitivität von 50% aufweist. Bei 2 von 6 Patienten konnte ein erhöhtes S100b-Protein beobachtet werden (Sanchez-Juan et al. 2006).

Bei 86% aller VV1-Patienten werden im MRT weitverbreitete Signalerhöhungen im cerebralen Kortex gefunden. Hyperintense Basalganglien oder thalamische Signalanhebungen sind typischerweise nicht vorhanden oder lassen sich nur in wenigen Ausnahmen beobachten (Meissner et al. 2005; Meissner et al. 2009), wogegen in einer anderen Studie das Auftreten hyperintensiver Basalganglien mit 66,7% beschrieben wird (Collins et al. 2006).

Das histopathologische Hauptmerkmal besteht in einer generalisierten kortikalen Atrophie, die bei allen VV1-Patienten beobachtet werden kann. Die charakteristischen Läsionen des VV1-Subtyps, bedingt durch feine ausgeprägte spongiforme Degeneration, Gliosis und gelegentlich auch Nervenzellverlust, lassen sich vornehmlich im cerebralen Kortex sowie in den Basalganglien nachweisen (Parchi et al. 1999; Meissner et al. 2005).

1.7 Diagnostische Verfahren der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Die klinische Diagnose einer CJD stützt sich neben den typischen Krankheitssymptomen auf eine Reihe von Zusatzuntersuchungen, insbesondere auf die CSF-Diagnostik, das Elektroenzephalogramm und die Kernspintomographie. Letztendlich kann die Diagnose aber erst durch eine Autopsie und die neuropathologische Untersuchung gesichert werden (Kretzschmar et al. 1996).

1.7.1 Liquordiagnostik

Unter den bisher verfügbaren technischen Untersuchungen stellt die Analyse des CSF das wichtigste und sensitivste Verfahren zur Unterstützung der Verdachtsdiagnose der CJD dar. Außerdem dient sie der Abgrenzung der CJD von anderen neurodegenerativen Prozessen. Im Liquor werden abnorm erhöhte Konzentrationen von neuronalen (14-3-3-Protein; Neuronenspezifische Enolase; Tau-Protein) und astrozytären Proteinen (S100b-Protein) messbar. Allerdings sollten diese erhöhten Protein-Konzentrationen im CSF nicht allein zur Diagnose der CJD angewandt werden, sondern immer in Zusammenschau mit der Klinik der Patienten betrachtet werden.

Innerhalb der Routineparameter des CSF finden sich meist keine Auffälligkeiten, bzw. es lassen sich keine entzündlichen Reaktionen in Form von Erhöhung der Zellzahl oder des Gesamtproteins beobachten. Eine pathologische Schrankenfunktion (Q-Albumin>9) lässt sich nur in 25% nachweisen, während der Nachweis oligoklonaler Banden äußerst selten erbracht werden kann (Jacobi et al. 2000).

1.7.1.1 Protein 14-3-3

Das in Neuronen lokalisierte physiologische 14-3-3-Protein hat ein Molekulargewicht von 30kDa und dient der Signaltransduktion in Form der Bindung zwischen Kinasen, der Zelldifferenzierung, Proliferation und

Neurotransmission (Aitken 1995; Xiao et al. 1995; Broadie et al. 1997; van Hemert et al. 2001).

Der Nachweis des Proteins 14-3-3 gilt als einer der zuverlässigsten Marker in der Diagnostik der sCJD, das in einer Vielzahl veröffentlichter Studien bestätigt wird (Geschwind et al. 2003; Castellani et al. 2004; Collins et al. 2006; Sanchez-Juan et al. 2006).

Die Sensitivität der Proteine 14-3-3 bei der CJD beträgt 94% bei einer Spezifität von 84% (Zerr et al. 2000a; Gmitterová et al. 2009). Falsch positive Nachweise der Proteine 14-3-3 im Sinne einer CJD konnten unter anderem bei cerebraler Hypoxie, intracerebraler Blutung, paraneoplastischen Enzephalopathien, Multiplem Myelom und epileptischen Anfällen registriert werden (Zerr et al. 2000a).

Das 14-3-3-Protein gilt als ein sehr früh ansteigender Marker, der bereits beim Auftreten erster neurologischer Symptome einer CJD erhöht sein kann (Zerr et al. 1998). Der Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor findet sich zwar bei der CJD in 94%, allerdings variiert die Sensitivität unter den jeweiligen CJD-Formen und Subtypen (Zerr et al. 1998; Gmitterová et al. 2009). Die höchste Sensitivität ist mit einem *PRNP*-Codon-129-homozygoten Polymorphismus sowie dem PrP^{Sc}-Typ 1 und einem höheren Erkrankungsalter (>60 J) sowie kurzer Krankheitsdauer assoziiert (Baldeiras et al. 2009).

Der Nachweis der Proteine 14-3-3 fand Eingang in die diagnostischen Kriterien der CJD und führt bei positivem Nachweis und entsprechenden klinischen Kriterien zu der Diagnose einer *wahrscheinlichen* CJD (WHO1998; Zerr et al. 2000a; Zerr et al. 2009; Kapitel 2.1, Tabelle 1).

1.7.1.2 Neuronenspezifische Enolase (NSE)

Die Neuronenspezifische Enolase ist ein 78-kDa-Enzym der Glykolyse, die in ihrer Funktion als Marker für neurodestruktive Erkrankungen dient. Sie ist in Neuronen sowie in neuroendokrinen Zellen lokalisiert und kann signifikant erhöht im CSF von CJD-Patienten nachgewiesen werden. Schon bei milden kortikalen und subkortikalen Veränderungen können erhöhte NSE-Konzentrationen im Liquor nachgewiesen werden, die mit Zunahme der

subkortikalen Schädigungen ansteigen (Boesenberg-Grosse et al. 2006). Zwar können erhöhte NSE-Werte im CSF bei allen akuten hirnorganischen Schädigungen beobachtet werden, aber nach Ausschluss von cerebralen Blutungen, Hypoxien, Infarkten und cerebralen Neoplasien können NSE-Werte über 25 ng/ml die Diagnose der CJD bekräftigen. Die Sensitivität der NSE wird mit 80% und einer Spezifität mit 92% in der Literatur angegeben (Zerr et al. 1995; Beaudry et al. 1999).

1.7.1.3 S100b-Protein

Das S100b-Protein ist hauptsächlich im Nervensystem lokalisiert, dessen Konzentration die Aktivierung der neuronalen Gliose widerspiegelt. Mit Hilfe der ELISA-Methode konnten signifikant erhöhte Konzentrationen im CSF von CJD-Patienten nachgewiesen werden (Otto et al. 1997a). Ein S100b-Wert von mehr als 4,2 ng/ml im CSF unterstützt die Diagnose der CJD. Die Sensitivität beträgt 82% bei einer Spezifität von 76% für die sCJD (Sanchez-Juan et al. 2006).

1.7.1.4 Tau-Protein

Das Tau-Protein stellt ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein dar, das in hohen Konzentrationen in den Gliazellen und den Axonen des zentralen Nervensystems lokalisiert ist (Green 2002). Bisher sind im menschlichen Gehirn 6 verschiedene Isoformen beschrieben worden (Neve et al. 1986). Bei neurodegenerativen Prozessen findet sich oftmals eine Erhöhung der Gesamtfraction des Tau-Proteins, wobei die jeweiligen Konzentrationsunterschiede im CSF die CJD von dem Morbus Alzheimer abgrenzen (Otto et al. 1997b). Die niedrigsten Tau-Konzentrationen weisen dabei Patienten mit einer langen Krankheitsdauer auf und werden am niedrigsten zu Beginn und im Endstadium der CJD beobachtet (van Everbroeck et al. 2003). Bei einem cut-off von 1300 pg/ml mit Hilfe eines ELISA konnte eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 90% für die Diagnose einer CJD erreicht werden (Otto et al. 2002). In einigen Studien wurde das Tau-Protein als der sensitivste Marker im Liquor in den frühen

Stadien der sCJD beschrieben. Es wird vermutet, dass das Tau-Protein einen pathologischen Marker für die Krankheitsprogression der CJD-Patienten in einen akinetischen Mutismus darstellt (Sato et al. 2007).

1.7.1.5 Amyloid- β 1-42 (A β 1-42)

Das Amyloid- β 1-42 findet sich als Hauptbestandteil in den senilen Plaques bei Morbus-Alzheimer-Patienten. Konzentrationen im CSF unter 450 pg/ml werden als pathologisch interpretiert. Auch bei CJD-Patienten sind zum Teil senile Plaques im Gehirn und erniedrigte Werte von A β 1-42 zu beobachten, die unter dem Einfluss des ApoE-Allel ϵ 4 stehen. Es besteht zwar ein wesentlicher Konzentrationsunterschied von Amyloid- β 1-42 in Bezug zu anderen neurologischen Krankheiten, allerdings ist kein erheblicher Unterschied zu anderen Demenzen wie zum Beispiel dem Morbus Alzheimer eruierbar (van Everbroeck et al. 1999; van Everbroeck et al. 2003; Baldeiras et al. 2009).

1.7.2 Elektroenzephalographie (EEG)

Für die Klassifikation einer *wahrscheinlichen* CJD ist der Nachweis der Proteine 14-3-3, eine Signalsteigerung der Basalganglien und/oder des Kortex im cMRT oder der Nachweis von PSWCs im EEG notwendig (WHO1998, Zerr et al. 2000a, Zerr et al. 2009; Kapitel 2.1, Tabelle 1). Die meist im mittleren Krankheitsstadium einer CJD auftretenden PSWCs werden als CJD-typische EEG-Veränderungen interpretiert.

Bei Auswertung nach festgelegten Kriterien (Steinhoff et al. 1996; Steinhoff et al. 2004; Kapitel 2.3.2) ergibt sich eine diagnostische Sensitivität von 64% bei einer Spezifität von 91% (Steinhoff et al. 2004). Die PSWCs können mono-, bi- oder triphasisch auftreten, wobei ein typisches Maximum der Verteilung über den anterioren und zentralen Elektrodenpositionen abgeleitet wird. Die Komplexdauer der PSWCs beträgt in der Regel zwischen 100 und 600 ms und ihre Frequenz zwischen 500 und 2000 ms. Das Auftreten periodischer Sharp-Wave-Komplexe konnte auch im Verlauf anderer Erkrankungen wie zum Beispiel bei Epilepsie, schwerer Enzephalopathie

oder Barbituratüberdosierung beobachtet werden. In der Frühphase der CJD zeigt das EEG oft eine unspezifische Verlangsamung der Grundaktivität, wobei die physiologische Alphaaktivität mehr und mehr von generalisierten irregulären Einlagerungen von Theta- und Deltawellen unterbrochen wird. In der mittleren bis späteren Krankheitsphase werden meist bilaterale PSWCs abgeleitet. Das Endstadium der CJD ist durch eine Amplitudenabflachung in Form eines niedergespannten EEGs gekennzeichnet: PSWCs lassen sich ab diesem Stadium nicht mehr nachweisen. Ein Übergang in eine elektroenzephalographische Inaktivität ist möglich (Steinhoff et al. 1998).

1.7.3 Bildgebung

Die cerebrale Kernspintomographie (cMRT) hat sich als eine der wichtigsten Zusatzuntersuchungen in der CJD-Diagnostik etabliert. Sie dient nicht nur dem Ausschluss anderer cerebraler Prozesse, sondern erweist sich auch in der differenzialdiagnostischen Abgrenzung der sCJD von der vCJD als sehr nützlich. Bei der sCJD imponieren in den T2-, FLAIR- („fluid-attenuated inversion recovery“) und diffusions-gewichteten Aufnahmen (DWI) neben einer unspezifischen Hirnatrophie oftmals bilaterale, symmetrische Hyperintensitäten in den Basalganglien, die vor allem im Nucleus caudatus und Putamen lokalisiert sind. In der T1-gewichteten Sequenz konnte keine dieser Veränderungen nachgewiesen werden (Finkenstaedt et al. 1996; Meissner et al. 2004; Zerr et al. 2009). Das cMRT in der T2-Wichtung erreicht eine Sensitivität von 67% mit einer Spezifität von 93% (Schroeter et al. 2000). Der Nachweis hyperintenser Basalganglien in den T2-Sequenzen zeigt eine Assoziation mit einer rasch progredienten Demenz in einem frühen Krankheitsstadium und einer kürzeren Krankheitsdauer, während Patienten ohne hyperintense Basalganglien häufiger extrapyramidale Symptome und eine verlängerte Krankheitsdauer aufweisen (Meissner et al. 2004). Eine Mitbeteiligung des Kortex in Form von Hyperintensitäten kann in FLAIR-Sequenzen oder in diffusionsgewichteten Aufnahmen (DWI) dargestellt werden, wobei sich das DWI als die sensitivere Methode darstellt, da sie Hyperintensitäten der Basalganglien in 60% (vs. 47% in FLAIR) und kortikale Signalanhebungen in 91% der Fälle (vs. 76% in FLAIR) zeigt. In 2/3 der

sCJD-Fälle finden sich hyperintense Basalganglien kombiniert mit Signalanhebungen im Kortex in der diffusionsgewichteten Aufnahme (Meissner et al. 2008). Isolierte kortikale Hyperintensitäten lassen sich in 1/3 der sCJD-Fälle beobachten, welche vorwiegend im temporalen, parietalen oder okzipitalen Kortex lokalisiert sind und neben hyperintensiven Basalganglien typische MRT-Veränderungen der sCJD repräsentieren (Meissner et al. 2008; Zerr et al. 2009). Das kombinierte Auftreten von Hyperintensitäten in Basalganglien und Kortex ist mit einer kürzeren Krankheitsdauer (Median: 5 Monate) assoziiert, wogegen Patienten mit isolierten kortikalen Hyperintensitäten einen signifikant längeren Krankheitsverlauf (Median: 12 Monate) aufweisen (Meissner et al. 2008). Die Studie von Zerr et al. (2009) konnte zeigen, dass sich bei Aufnahme des MRT in die CJD-Diagnosekriterien die Sensitivität der bislang geltenden Kriterien von 92% auf 98% erhöht. Seit 2009 ist das MRT in den Diagnosekriterien der sCJD erfasst (WHO1998, Zerr et al. 2000a, Zerr et al. 2009; Kapitel 2.1, Tabelle 1).

1.7.4 Genetische Diagnostik

1.7.4.1 Polymorphismus des Codons 129 im PrP-Gen

Die Erfassung von Polymorphismen im PrP-Gen wird durch die Genanalyse ermöglicht. Viele der bekannten Polymorphismen sind sehr selten und haben keinen erkennbaren Einfluss auf die Erkrankung und den Krankheitsverlauf. Einzig für den Polymorphismus am Codon 129 konnte bisher ein Einfluss auf die Klinik und die Erkrankungswahrscheinlichkeit der sCJD nachgewiesen werden (siehe Punkt 1.6).

1.7.4.2 Apolipoprotein-E (ApoE)-Genotyp

Der ApoE-Polymorphismus umfasst die 3 Allele (ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4), die sich auf einem einzelnen Genlocus befinden, wodurch 6 ApoE-Genotypen unterteilt werden können: 3 homozygote (ϵ_2/ϵ_2 , ϵ_3/ϵ_3 , ϵ_4/ϵ_4) und 3 heterozygote (ϵ_2/ϵ_3 , ϵ_2/ϵ_4 , ϵ_3/ϵ_4). Mit 60% stellt der ApoE Genotyp ϵ_3/ϵ_3 die häufigste

Form dar (Utermann et al. 1982). Das ApoE- ϵ 4-Allel ist als Risikofaktor für das Auftreten des Morbus Alzheimer bekannt (Saunders et al. 1993) und geht mit erniedrigtem CSF-Spiegel des A β 1-42 einher (Galasko et al. 1998; Hulstaert et al. 1999; Tapiola et al. 2000; Smach et al. 2008). Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der ApoE-Genotyp- Verteilung und der Allelfrequenz der sCJD-Patienten im Vergleich mit Kontrollfällen beobachtet werden (Salvatore et al. 1995; Baldeiras et al. 2009; Varges et al. im Druck 2010), jedoch geht das ApoE- ϵ 4-Allel mit verstärkt reduziertem A β 1-42 Spiegel im CSF bei sCJD einher (Varges et al. im Druck 2010).

1.7.5 Neuropathologische Diagnostik

Der *sichere* CJD-Nachweis erfolgt nach wie vor in der Mehrheit der Fälle erst post mortem durch neuropathologische Untersuchung des Gehirns.

Die makroskopische Untersuchung des Gehirns von CJD-Patienten stellt sich sehr unterschiedlich dar. Zum Teil sind keine oder nur geringförmige atrophische Veränderungen zu sehen. In anderen Fällen, die meist mit einem längeren Krankheitsverlauf assoziiert sind, lassen sich ausgeprägte Atrophien des Kortex, eine Erweiterung der inneren CSF-Räume und eine Abnahme des Hirngewichts nachweisen, die jedoch alle als unspezifische Befunde bewertet werden müssen (Kretzschmar und Feiden 2002).

Bei der neuropathologischen Begutachtung des routinemäßigen gefärbten Hirnmaterials unter dem Lichtmikroskop stellen die histo-morphologischen Veränderungen in Form von spongiformer Degenerationen (schwammartige Auflockerung des Hirnparenchyms mit Vakuolen im Neuropil), Nervenzellverlust und astrozytäre Gliose die wichtigsten Kriterien für den histologischen Nachweis der CJD dar (Kretzschmar 1993). In 15% der Fälle lassen sich so genannte Kuru-Plaques nachweisen, die das pathologische Prionprotein enthalten (Kretzschmar und Feiden 2002). Es lassen sich keine Zeichen einer zellulären Entzündungsreaktion erkennen. Die morphologischen Veränderungen sind individuell sehr verschieden, und sind am häufigsten im Neokortex, im Thalamus, in den Basalganglien und im Cerebellum lokalisiert (Kretzschmar et al. 1996). Der fast vollständige Nervenzellverlust einhergehend mit ausgeprägter astrozytärer Gliosis und

spongiformen Veränderungen mit großen perizellulären Vakuolen wird als „Status Spongiosis“ bezeichnet (Kretzschmar und Feiden 2002), der außer bei Prionerkrankungen auch im Endstadium anderer neurodegenerativer oder metabolischer Erkrankungen beobachtet werden kann (Kretzschmar und Neumann 2000).

1.7.5.1 Prionproteinnachweis und PrP^{Sc}-Ablagerungsmuster

Das sicherste Kriterium für die Bestätigung der Diagnose einer CJD ist der Nachweis der pathologischen Isoform des Prionproteins (PrP^{Sc}) im Hirnmaterial. Der spezifische Nachweis des PrP^{Sc} gelingt durch verschiedene Techniken beispielsweise durch immunhistochemische Untersuchung, Westernblot-Verfahren oder durch den elektronenmikroskopischen Nachweis von Scrapie-assoziierten Fibrillen (SAF)/ prion rods. Die immunhistochemische Darstellung des PrP^{Sc} hat sich dabei als der sicherste Nachweis einer Prionerkrankung im Hirngewebe bewährt und gilt als Goldstandard in der neuropathologischen Diagnostik. Dieses Färbeverfahren beruht auf der Reaktion von spezifischen Antikörpern (z.B. L42, 3F4) gegen das Prionprotein, wobei die Lokalisationen und die Morphologie der pathologischen Ablagerungen mit einer Sensitivität und Spezifität von 100% erfasst werden können (Kretzschmar et al. 1996; Kretzschmar und Feiden 2002). Allerdings gibt es einige Störfaktoren in Bezug auf die Empfindlichkeit der immunhistochemischen Diagnostik und es lassen sich bei einzelnen Unterformen der Prionerkrankungen, beispielsweise FFI und VV1 Subtyp, das PrP^{Sc} kaum oder gar nicht nachweisen. Deshalb wird die immunhistochemische Untersuchung durch die Technik des so genannten PET-Blot („paraffin-embedded tissue blot“) zunehmend ersetzt, dass das PrP^{Sc} in fast allen Hirnregionen und auch innerhalb der Unterformen nachweist (Schulz-Schaeffer et al. 2000).

Das Ablagerungsmuster des PrP^{Sc} kann in sehr unterschiedlichen Morphologien erfolgen: Zum einen in Form von Kuru-Plaques, die die sich außer bei Kuru auch zum Teil bei sCJD und iCJD vorfinden lassen, als „plaqueartige“ PrP-Ablagerungen, die wesentlich kleiner sind als Kuru-Plaques und sich überwiegend in sCJD VV2-Patienten darstellen, sowie als

multizentrische Plaques (auch „Kokardenplaques“ genannt), die sich regelmäßig bei GSS finden. Des Weiteren kann das PrP^{Sc} sich in Form der „floriden Plaques“ ablagern, die aus einem zentralen Kern mit ringförmig umgebenen spongiformen Veränderungen bestehen und ein wichtiges Charakteristikum der vCJD darstellen (Kretzschmar et al. 1996; Kretzschmar und Feiden 2002; Will et al. 1996).

Synaptische PrP-Ablagerungen entsprechen feinen PrP^{Sc}-Ablagerungen, die sich vor allem in der Körnerzellschicht und der Molekularschicht des Cerebellums antreffen lassen, aber auch zum Teil im Neocortex erkennbar sind (Kitamoto et al. 1992). Weitere Formen sind die perivakuoläre PrP^{Sc}-Ablagerungen, die sich in einem Drittel bei MM1/MV1 und MM2-Fällen der sCJD nachweisen sowie die bei VV2-Patienten beobachtete perineuronale Ablagerungen.

1.7.5.2 Bestimmung des Prionprotein-Typs

Mit Hilfe des Western-Blot-Verfahrens können in frischen, unfixierten Schnittpräparaten des infizierten Hirnmaterials PrP^{Sc}Typ 1 und PrP^{Sc}Typ 2 bei sCJD-Fällen identifiziert werden (Parchi et al. 1996, siehe Punkt 1.6).

1.8 Fragestellung

Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit wird in sechs molekulare Subtypen basierend auf dem Prionproteintyp (PrP^{Sc} 1 oder 2) sowie dem Methionin (M) / Valin (V) Polymorphismus am Codon 129 eingeteilt. Diese Phänotypen bestimmen zum einen den klinischen Krankheitsverlauf der sCJD, zum anderen die Morphologie der Hirnveränderungen und die Verteilung der Prionproteinablagerungen. Während der häufige Subtyp wie MM1 eindeutig charakterisiert ist, wurden über den Subtyp VV2 nur wenige Informationen bisher veröffentlicht. Das klinische Erscheinungsbild wie auch eventuelle diagnostische Besonderheiten sind bisher nicht in einem großen Kollektiv untersucht worden.

Ziel dieser retrospektiven Studie ist die Charakterisierung dieses VV2-Subtyps der sCJD unter besonderer Berücksichtigung des klinischen Erscheinungsbildes, des Verlaufs und der diagnostischen Methoden wie Kernspintomographie, Elektroenzephalographie sowie Biomarkern aus CSF-Proben. Ein besonderer Schwerpunkt soll dabei auf Parameter oder Parametermuster klinischer, biochemischer oder bildmorphologischer Natur liegen, die mit dem VV2-Subtyp korrelieren, um feststellen zu können, welche Methode die höchste Sensitivität in der Diagnostik des VV2-Subtypen erreicht. Da die Abgrenzung der einzelnen Subtypen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit häufig ein Problem darstellt, sollen diese untereinander verglichen und Diagnosekriterien für den VV2-Subtyp aufgestellt werden. Dabei ist die Differenzierung zwischen den atypischen Erscheinungsformen der CJD-Subtypen gegenüber dem „klassischen“ Erscheinungsbild von großer Bedeutung.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studien-Design zur Epidemiologie und Früherkennung der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung

In Deutschland werden seit dem 1. Juni 1993 alle bundesweiten Verdachtsfälle der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) an das nationale Transmissible-spongiforme-Enzephalopathien (TSE) -Referenzzentrum der Georg - August-Universität Göttingen gemeldet und systematisch untersucht. Diese Prionforschungsgruppe setzt sich aus Ärztinnen und Ärzten sowie anderen Naturwissenschaftlern und medizinisch- und -biologisch-technischen Assistenten zusammen. Im Jahr 2000 wurde die CJD-Surveillance Unit Göttingen/München gegründet, die eng zusammenarbeiten und sich gegenseitig ergänzen. Im Göttinger Referenzzentrum für Prionerkrankungen erfolgt die Klinik und Frühdiagnose der CJD-Verdachtsfälle, während in der Münchener Forschungsgruppe der Schwerpunkt in der neuropathologischen und genetischen Untersuchung dieser Patienten liegt. Gefördert wird dieses Projekt „Untersuchung zur Epidemiologie, Früherkennung und molekularen Pathologie der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit“ vom Bundesministerium für Gesundheit.

Im November 1993 wurden in Deutschland erstmals über 1300 neurologische und psychiatrische Kliniken schriftlich über CJD informiert und um die Meldung von Verdachtsfällen gebeten. Regelmäßig wird seitdem ein Rundschreiben an Ärzte der Krankenhäuser in ganz Deutschland versendet mit der Bitte, bei Verdacht auf CJD die Prionforschungsgruppe zu kontaktieren. Hauptaugenmerk soll auf Fällen mit rasch progredienter Demenz unklarer Ätiologie liegen, die zusätzlich charakteristische klinische Merkmale der CJD aufweisen.

Seit Juli 1994 sind die Erkrankung und der Tod an der CJD nach dem Bundesseuchengesetz in Deutschland meldepflichtig.

Nach der Meldung des CJD-Verdachts an die Göttinger Forschungsgruppe erfolgt eine Untersuchung durch einen der Projektärzte vor Ort, das heißt in der meldenden Klinik, im Pflegeheim oder bei dem Patienten zu Hause. Zusammen mit dem behandelnden Arzt sowie den Angehörigen werden eine

ausführliche Anamnese und ein klinisch-neurologischer Untersuchungsstatus des Patienten erhoben. Die Angehörigen werden dabei über die CJD und über die Tätigkeit der Forschungsgruppe des nationalen TSE-Referenzzentrums informiert und haben die Möglichkeit, alle ihnen wichtige Fragen und Bedenken bezüglich des erkrankten Familienmitglieds zu besprechen. Zur einheitlichen Erfassung der Patientendaten und aller möglichen Risikofaktoren der CJD wird mit den Angehörigen ein standardisierter und detaillierter Fragenkatalog ausgefüllt. Dieser beinhaltet Fragen zur Krankengeschichte, Familien- und Sozialanamnese, geographischen Veränderungen, Schulbildung, Tierkontakten sowie Fragen bezüglich Ernährungs- und Lebensgewohnheiten. Dieser Fragebogen entstand durch die Zusammenarbeit der europäischen CJD-Zentren (Großbritannien, Frankreich, Italien, den Niederlanden, Deutschland) und dient einer europaweiten einheitlichen Erfassung und Vergleichbarkeit der epidemiologischen Daten.

Die Objektivierung einer Demenz erfolgt durch den Projektarzt mit Hilfe des Mini-Mental-Status-Tests, vorausgesetzt, dass der Patient neuropsychologisch testbar ist. Die Diagnose Demenz gilt als gesichert, wenn die Gesamtpunktzahl unter 24 der maximal möglichen 30 Punkte liegt. Im schriftlichen Einverständnis mit den Angehörigen oder eines gesetzlichen Vertreters sowie der Zustimmung der Ethikkommission werden Blut- und CSF-Proben der Patienten gewonnen, um diese weiter in dem Prionforschungslabor in Göttingen bzw. in dem Referenzzentrum München genetisch auswerten zu können. Die Einsicht in die Krankenakten des Patienten und die Anfertigung von Kopien aller wichtigen diagnostischen Befunde einschließlich EEG-Ableitungen und kranialer Bildmaterialien (MRT) vervollständigen die für eine umfassende Beurteilung notwendigen Informationen.

Die erhobenen Daten eines jeden Verdachtsfalles werden gemeinsam in der Göttinger Forschungsgruppe basierend auf der Anamnese, der klinischen Untersuchung und der Zusatzdiagnostik (CSF-Diagnostik, EEG, Kernspintomogramm) analysiert und nach den derzeit geltenden klinischen Klassifikationskriterien der CJD nach einem einheitlichen Schema eingeteilt (WHO 1998; Zerr et al. 2000a; Zerr et al. 2009; Tabelle 1).

Die Zuordnung der Patienten erfolgt in eine der folgenden Kategorien: *wahrscheinliche CJD*, *mögliche CJD* oder *andere* Erkrankung. Dies bildet die Grundlage für die Vergleichbarkeit epidemiologischer Untersuchungen.

Tabelle 1: Klassifikationskriterien der sCJD nach der WHO (1998); Zerr et al. (2000a); Zerr et al. (2009)

<i>SICHER:</i>	<ul style="list-style-type: none"> - neuropathologisch bestätigt und / oder - immunhistochemisch bestätigt und / oder - Prion-Protein-positiv (Westernblots) und / oder - SAF (Scrapie-assoziierte Fibrillen) / prion rods positiv
<i>WAHRSCHEINLICH:</i>	<ul style="list-style-type: none"> - progressive Demenz und mindestens 2 von den folgenden 4 klinischen Erscheinungsformen: <ol style="list-style-type: none"> 1. Myoklonus 2. visuelle oder cerebelläre Symptome 3. pyramidale / extrapyramidale Störungen 4. akinetischer Mutismus und - typische EEG-Veränderungen (periodische Sharp- and Slow-Wave-Komplexe [PSWCs]) oder - Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor bei Demenzdauer < 2 Jahren oder - Hyperintensitäten im Nucleus caudatus und Putamen oder in mindestens 3 kortikalen Regionen (temporal-parietal-okzipital) in der MRT-Wichtung DWI oder FLAIR
<i>MÖGLICH:</i>	<ul style="list-style-type: none"> - progressive Demenz von weniger als 2 Jahren und 2 von den oben genannten 4 klinischen Erscheinungen, jedoch - kein vorliegendes EEG oder untypisches EEG bzw. - keine Liquoruntersuchung oder negativer 14-3-3-Befund oder - keine MRT-Untersuchung oder untypischer MRT-Befund
<i>ANDERE:</i>	<ul style="list-style-type: none"> - oben genannte Kriterien sind nicht vollständig erfüllt

Die Diagnose einer *sicheren* CJD kann derzeit nur durch neuropathologische oder biochemische Untersuchungen des Gehirns gestellt werden.

Die Klassifikation oder eventuell mögliche Differenzialdiagnosen werden der meldenden Klinik mit der Bitte um Informationen zum weiteren Verlauf

mitgeteilt. Sie wird korrigiert, wenn die Katamnese (zum Beispiel klinische Besserung, typische Veränderungen im EEG) sich verändert oder eine Autopsie eine sichere Diagnose bestätigt.

Nach dem Tod eines CJD-Verdachtsfalles schicken die jeweiligen Pathologen, sofern die Angehörigen einer Obduktion zugestimmt haben, die Gehirne mit Spezialtransporten an das Institut für Neuropathologie der LMU München, dem Referenzzentrum für Prionerkrankung der deutschen Gesellschaft für Neuropathologie. Dort werden die Gehirne der CJD-Patienten zentral ausgewertet, und die Ergebnisse an das Göttinger-Referenzzentrum weitergeleitet.

2.2 Patientenkollektiv

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Patienten, die im Zeitraum 1993 bis 2009 von der Prionforschungsgruppe des nationalen TSE-Referenzzentrums in Göttingen untersucht wurden und deren Daten im Archiv des Göttinger Referenzzentrums für Prionerkrankungen vorliegen. Im Rahmen der Untersuchung über Epidemiologie, Diagnostik und Genetik der CJD in Deutschland wurde ein Kollektiv aus 60 an CJD verstorbenen Patienten erhoben, bei denen die Diagnose einer sCJD neuropathologisch gesichert und die Homozygotie für Valin (V/V) am Polymorphismus des Codons 129 sowie der Prionproteintyp Typ 2 nachgewiesen werden konnten. Alle iatrogenen und familiären CJD-Fälle wurden ausgeschlossen.

2.3 Diagnostische Untersuchungen

Die klinische Diagnose der CJD stützt sich neben dem charakteristischen Erscheinungsbild auf eine Reihe von Zusatzuntersuchungen wie der Liquordiagnostik, dem EEG und der Kernspintomographie. Erst in Zusammenschau dieser Zusatzuntersuchungen ist es möglich, die klinische Verdachtsdiagnose zu erhärten bzw. mögliche differentialdiagnostische Krankheiten aus zu schließen.

2.3.1 Liquordiagnostik

Von den Zusatzuntersuchungen erweist sich die Liquoranalyse als wichtigstes Verfahren zur Untermauerung der klinischen Diagnostik und zur Abgrenzung möglicher Differenzialdiagnosen.

Wird ein Verdachtsfall der CJD gemeldet, so werden von der meldenden Klinik CSF-Proben des Patienten durch eine Lumbarpunktion gewonnen und diese in das Konsiliarlabor für spongiforme Enzephalopathien in Göttingen geschickt. Blut-kontaminierte Liquorproben wurden von dieser Studie ausgeschlossen. Die erhaltenen Liquorproben werden in Eppendorf-Gefäße umpipettiert und bei - 80°C eingefroren. Insgesamt erfolgt ein dreimaliges Auftauen und Wiedereinfrieren der Proben während der gesamten Untersuchung.

Mit Hilfe anerkannter ELISA Methoden erfolgt die Messung des Tau-Protein (INNOTEST® hTau Ag; Innogenetics, Ghent, Belgium, Nachweisgrenzwert 75 pg/ml), S100b-Protein (Dia Sorin Saluggia (Vercelli), Italien, Nachweisgrenzwert 20 pg/ml), NSE (Dia Sorin Saluggia (Vercelli), Italien, Nachweisgrenzwert 40 pg/ml), A β 1-42 (hAmyloid β 42 ELISA, Genetics company, Schlieren, Schweiz, Nachweisgrenzwert 100 pg/ml) und A β 1-40 (hAmyloid β 40 ELISA, Genetics company, Schlieren, Schweiz, Nachweisgrenzwert 100 pg/ml) entsprechend den Instruktionen des Herstellers. Die 14-3-3-Proteine werden durch das Verfahren des Westernblot nachgewiesen, wobei bei jeder CSF-Probe das Verfahren mindestens zweimal wiederholt wird (Zerr et al. 2000a). Bei der Bestimmung der Proteine 14-3-3 werden eine Positiv-Kontrolle eines Patienten mit CJD und eine Negativ-Kontrolle auf das Gel aufgetragen.

Die Routineparameter wie Zellzahl, Gesamteiweiß, Parameter für eine Schrankenfunktionsstörung und der Nachweis von oligoklonalen Banden der CJD- Patienten werden von den meldenden Kliniken erhoben und die Ergebnisse an das Göttinger Konsiliarlabor weitergeleitet. Gemeinsam mit den Ergebnissen der speziellen Liquorparameter werden diese befundet und ausgewertet.

In unklaren Fällen wird die Liquorpunktion im Verlauf wiederholt und die Parameter erneut analysiert.

2.3.2 Elektroenzephalographie (EEG)

Die Kopien der EEG-Kurven der jeweiligen Verdachtsfälle werden gemeinsam innerhalb der Göttinger Forschungsgruppe nach den für die CJD charakteristischen Kriterien von Steinhoff und seinen Kollegen beurteilt. Diese beinhalten als Hauptkriterium eine strikte periodische cerebrale Aktivität, die eine Komplexdauer zwischen 100-600 ms und eine Frequenz von 500-2000 ms aufweisen müssen. Zudem sollte eine Akzeptanz von generalisierten und lateralisierten Komplexen vorliegen und mindestens 5 wiederholende Intervalle folgen, deren Dauer sich weniger als 500 ms unterscheiden (Steinhoff et al. 1996).

Bestätigt sich im EEG der Nachweis von periodischen Sharp-Wave-Komplexen (PSWCs), so sind bei entsprechender klinischer Symptomatik die Kriterien einer *wahrscheinlichen* CJD erfüllt.

Die EEGs in dieser Studie werden nicht nur nach den PSWCs bewertet, sondern es erfolgt auch die Berücksichtigung der allgemeinen EEG-Befunde im Sinne von Allgemeinveränderungen (Unregelmäßigkeiten des Kurvenbildes, Grad der diffusen Verlangsamung) und Herdbefunde (umschriebene Verlangsamung des Rhythmus).

2.3.3 Bildgebung

Die vorhandenen CCT- und cMRT-Aufnahmen werden innerhalb der Göttinger Forschungsgruppe gemeinsam nach typischen oder charakteristischen Merkmalen der CJD bewertet und asserviert. Die MRT-Auswertung erfolgte durch einen Neuroradiologen (K.K.) nach einem standardisiertem Protokoll im Hinblick auf hyperintense Signalsteigerungen in 6 verschiedenen kortikalen Regionen- Hippocampus, weiße Substanz sowie 3 Regionen der Basalganglien und der 3 thalamischen Nuclei und Cerebellum (siehe Kapitel 6., Abbildung 20). Die Qualität der MRT-Aufnahmen wurde von 1 bis 6 graduiert (1= excellent, 6= schlecht). Scans die höher als Grad 4 eingestuft wurden, waren von dieser Studie ausgeschlossen.

2.3.4 Genetische Analyse

Am Institut für Neuropathologie der LMU München erfolgt die genetische Untersuchung der von einem Projektarzt bei den CJD-verdächtigen Patienten abgenommenen Blutprobe. Durch die Genanalyse ist neben dem Nachweis einzelner Mutationen auch die Aufschlüsselung des Codon 129-Polymorphismus des PrP-Gens möglich.

2.3.4.1 Mutationen des PrP-Gens

Zur DNA-Analyse wird Vollblut verwendet. Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird der gesamte Protein-kodierende Teil des PrP-Gens aus der genomischen DNA amplifiziert (vervielfacht) und anschließend durch die Restriktionsnuklease Nspl auf potenziell vorhandene Mutationen untersucht (Windl et al. 1999). Das humane Gen des Prionproteins (*PRNP*) ist auf dem Chromosom 20 lokalisiert. In dem untersuchten Patientenkollektiv dieser Studie konnten bei keinem der 60 Patienten Mutationen im *PRNP* nachgewiesen werden.

2.3.4.2 Codon-129-Genotypisierung

Die Bestimmung des Codon-129-Genotyps erfolgt durch die direkte Sequenzierung der DNA mit Hilfe der Restriktionsnuklease Nspl (Parchi et al. 1999). Alle der 60 untersuchten sCJD Patienten wiesen eine Valin-Homozygotie am Codon 129 Polymorphismus auf.

2.3.4.3 ApoE- Genotypisierung

Zur Analyse des ApoE-Genotyps wird DNA aus Blutproben mittels der Qiaamp DNA Blood Mini Kit Verfahren (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) extrahiert und durch die Polymersaseketten-Reaktion (PCR) nachgewiesen (Mollenhauer et al. 2006).

2.3.5 Neuropathologische Diagnostik

Die Diagnose einer sCJD kann bislang nur durch die neuropathologische Untersuchung des Hirngewebes gesichert werden. Daher erfolgt - unter Einverständnis der Angehörigen bzw. des gesetzlichen Betreuers - bei den verstorbenen klinischen sCJD-Verdachtsfällen eine Hirnsektion sowie anschließende histologische Aufarbeitung des Hirnmaterials.

Die neuropathologische Untersuchung inklusive Immunhistochemie bzw. PET-Blot und Western-Blot wurde an allen der 60 untersuchten Patienten durchgeführt und bei dem gesamten Kollektiv konnte die Diagnose einer sporadischen CJD neuropathologisch gesichert werden.

Mehrere Frontalschnitte aus der Großhirn-Hemisphäre und ein keilförmiger Gewebestück aus dem Cerebellum wurden zur Untersuchung angefertigt und fixiert.

Wenn möglich wird vor der Fixierung ein Teil des Hirngewebes für die biochemische Prionproteintypisierung bei -20 bis -80°C eingefroren (Kretzschmar und Feiden 2002).

2.3.5.1 Lichtmikroskopische Untersuchung

Der histologische Nachweis der neuropathologischen Diagnose CJD basiert auf den klassischen Trias: spongiforme Degeneration (Vakuolen im Neuropil), Nervenzellverlust und astrozytäre Gliose.

Die in 4%iger Formalinlösung fixierten Gewebestücke werden zuerst in konzentrierter Ameisensäure dekontaminiert und durch Formalin nachfixiert, ehe sie dann in Paraplast eingebettet und der histologischen Aufarbeitung zugeführt werden können (Brown P et al. 1990; Kretzschmar und Feiden 2002). Die lichtmikroskopische Routinefärbung erfolgt durch Hämatoxylin und Eosin.

2.3.5.2 Prionproteinnachweis

Der spezifische Nachweis der pathologischen Isoform des Prionproteins (PrP^{Sc}) im Hirngewebe erfolgt im Institut für Neuropathologie der LMU

München seit 2000 zunehmend durch das so genannte PET-Blot-Verfahren („paraffin-embedded tissue blot“). Bei diesem Verfahren wird unter starker Proteinase K-Einwirkung formalinfixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe direkt auf eine Nitrozellulosemembran übertragen und anschließend das Prionprotein PrP^{Sc} mit Hilfe der spezifischen Antikörper Gö138 und L42 hochsensibel nachgewiesen (Schulz-Schaeffer et al. 2000).

2.3.5.3 Prionprotein-Typisierung

Die Identifizierung der Prionproteintypen PrP^{Sc}Typ 1 und Typ 2 erfolgt an frischem unfixiertem Hirnmaterial mittels Western-Blot-Verfahren. Bei diesem Verfahren werden die Proteine zunächst nach Größe bzw. Wanderungsgeschwindigkeit elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend auf einer Nitrocellulosemembran mit Hilfe spezifischer Antikörper sichtbar gemacht (PrP^{Sc}Typ 1: 20,5 kDa; PrP^{Sc}Typ 2: 18,7kDa; Parchi et al. 1996, Parchi et al. 1999). Alle Patienten dieser Studie wiesen PrP^{Sc} Typ 2 auf.

2.4 Statistische Analyse

Die deskriptive Statistik, das Erstellen der Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurve und Box-Plots wurde mit Hilfe des Programms „Statistica“ (Version 9.0) erarbeitet. Das Balkendiagramm konnte mit Hilfe von Windows-Excel 2007 erstellt werden.

3. ERGEBNISSE

3.1 Patientenkollektiv

Valin-Homozygie am Codon 129 des *PRNP* und der PrP^{Sc}Typ 2 wurden bei 60 Patienten mit sporadischer CJD (14% von 429 untersuchten sCJD - Patienten) durch Molekularanalyse und Western-Blot Analyse des Hirnmaterials von Patienten diagnostiziert, die in die Studie zur Epidemiologie und Früherkennung humaner spongiformer Enzephalopathien in dem Zeitraum von 1993 bis 2009 eingeschlossen wurden. Dieses Kollektiv wurden unter dem Verdacht einer Creutzfeldt-Jakob Krankheit dem Referenzzentrum für Prionerkrankungen in Göttingen nach einem Median von 3,6 Monaten nach Krankheitsbeginn gemeldet, von einem der Studienärzte untersucht und nach den bestehenden Kriterien der CJD (nach der WHO 1998; Zerr et al. 2000; Zerr et al. 2009; vgl. Kapitel 2.1, Tabelle 2) klassifiziert. In dem untersuchten VV2-Kollektiv fanden sich 43 *wahrscheinliche* CJD-Fälle, 12 *mögliche* Fälle und 2 Patienten, die als *anderer Fall* eingeordnet wurden, da sie weder Kriterien für eine *sichere*, noch für eine *wahrscheinliche* oder *mögliche* Creutzfeldt-Jakob-Krankheit erfüllten. Drei Patienten wurden initial als eine *Frühform* beschrieben. Das bedeutet, dass sie zum Untersuchungszeitpunkt zwar CJD-verdächtig waren, aber noch nicht anhand der Klassifikationskriterien zugeordnet werden konnten.

3.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung

Die Altersverteilung bei Krankheitsbeginn umfasste einen Bereich zwischen 40 bis 81 Jahren. Der Mittelwert betrug bei Beginn des ersten Krankheitssymptoms 67,7 Jahre bei einem Median von 69 Jahren. Bei der Auswertung klinischer Patientendaten (untersuchtes Kollektiv n=60) hinsichtlich des Geschlechts fanden sich 34 Frauen und 26 Männer in einem Verhältnis von 3:2 (Abbildung 1).

In Bezug auf die Überlebenswahrscheinlichkeit zeigt das Geschlecht keinen signifikanten Unterschied ($p= 0,057$; Abbildung 1), wobei Frauen allerdings

eine längere Überlebenszeit aufweisen. Die Altersverteilung zu Krankheitsbeginn der VV2-Patienten >60 Jahre bzw. <60 Jahre spielt keine signifikante Rolle für die Überlebenswahrscheinlichkeit ($p=0,208$; Abbildung 2).

Abbildung 1: Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurve der VV2-Patienten (n=60) im Vergleich der Geschlechter

Abbildung 2: Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurve der VV2-Patienten (n=60) im Vergleich der Altersgruppen <60. LJ und >60. LJ zu Krankheitsbeginn

3.1.2 Krankheitsdauer

Die Dauer der CJD-Erkrankung wurde vom ersten Krankheitssymptom bis zum Zeitpunkt des Todes berechnet. Die Krankheitsdauer der VV2-Patienten zeigte eine Spannweite von 2,3 Monaten bis zu 30,8 Monaten. Die durchschnittliche Krankheitsdauer lag bei 5,6 Monaten (Median; Tabelle 3).

3.1.3 Überlebenszeit und Autopsierate

Zur Berechnung der Überlebenszeit wurde die Dauer vom Auftreten des ersten Symptoms der CJD-Erkrankung bis zum Zeitpunkt des Todes erhoben. In Abbildung 3 ist eine Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurve der 60 VV2-Patienten erstellt. Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug im Median 5,6 Monate bei einem Minimum von 2,3 Monaten und einem Maximum von 30,8 Monate (siehe Tabelle 2).

Abbildung 3: Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurve der VV2-Patienten (n=60)

3.1.4 Familienanamnese

Bei keinem der 60 VV2-Patienten konnte eine positive Familienanamnese in Bezug auf eine CJD eruiert werden.

Allerdings fand sich bei 7 Patienten eine dementielle Erkrankung in der Familie.

Tabelle 2: Patientencharakteristika der VV2-Patienten

Patientencharakteristika	Alle VV2-Patienten (n= 60)
Männer (%)	43
Frauen (%)	57
Erkrankungsalter in Jahren (Median)	69
Krankheitsdauer bis Meldung in Monaten (Median)	3,6
Überlebenszeit in Monaten (Median)	5,6
Überlebenszeit in Monaten (Median) Frauen	6,0
Überlebenszeit in Monaten (Median) Männer	4,8
Familienanamnese Demenz (%)	11,6
Familienanamnese CJD (%)	0

3.2 Klinischer Verlauf

3.2.1 Erkrankungsbeginn

Der Median bei Erkrankungsbeginn der 60 VV2-Patienten lag im 69. Lebensjahr bei einem mittleren Erkrankungsbeginn mit 67,7 Jahren. Der jüngste Patient war bei Erkrankungsbeginn 40 Jahre, der älteste in dem untersuchten Patientenkollektiv 81 Jahre. Zu Erkrankungsbeginn zeigte sich eine Vielzahl unterschiedlicher Symptome. Als Hauptsymptome stand bei allen VV2-Patienten im ersten Krankheitsdrittel zu Beginn eine cerebelläre Ataxie (n=60), Frontalhirnzeichen (n=60) im Sinne von Aufmerksamkeitsstörungen (n= 35), Antriebsstörung (n=34) und Verlangsamung (n=48) im Mittelpunkt und eine schnell fortschreitende kognitive Einschränkung in Form einer Demenz (n=46). Bei 43 der 60 VV2-Patienten wurde Schwindel als erstes Symptom beobachtet. Fünf Patienten zeigten Übelkeit als erstes Zeichen.

Eine psychiatrische Symptomatik in Form einer Depression trat in 19 Fällen bei Krankheitsbeginn auf. In der Tabelle 3 werden die Symptome und

Zeichen dargestellt, die zu Beginn oder während der ersten Wochen nach Krankheitsausbruch im Vordergrund standen.

Tabelle 3: Frühsymptome und Zeichen zu Erkrankungsbeginn

Frühsymptome	n (%)	Median (Monate)
Ataxie	60 (100)	0
Demenz	46 (76,6)	1
Frontalhirnzeichen	60 (100)	0
-Antriebsstörung	34 (56)	1
-Aufmerksamkeitsstörung	35 (58)	0
-Distanzlosigkeit	6 (10)	3
-Unzuverlässigkeit	6 (10)	0,5
-Verlangsamung	48 (80)	1
Schwindel	43 (71)	0
Depression	9 (31)	0
Übelkeit	5 (8)	0

Die Demenz als eines der Hauptsymptome zeigte bei allen der 60 VV2-Kollektivpatienten einen progredient schnellen Verlauf, gekennzeichnet durch den fortschreitenden Verlust kognitiver und intellektueller Fähigkeiten in Tagen, Wochen oder selten in wenigen Monaten. Zwei Fälle zeigten einen ungewöhnlich langen Krankheitsverlauf bis zur Entwicklung einer schnell progredienten Demenz (10 und 22 Monate).

Bei 32 der 60 VV2-Patienten mit einer Demenz wurde ein Mini-Mental-Status durchgeführt. Dieser zeigte im Mittelwert 15 von 30 möglichen Punkten. Bei drei VV2-Patienten wurde nach maximal 12 Tagen ein zweiter Mini-Mental-Status erhoben. Dieser zeigte im Mittelwert nur noch 13 von 30 zu erreichenden Punkten an. Bei mehr als 10 Patienten musste die Erhebung eines zweiten Mini-Mental-Tests abgebrochen werden, da zu diesem Zeitpunkt keine Kooperation oder Verständigung mit dem Patienten mehr möglich war.

3.2.2 Klinische Symptomatik im Verlauf

Während des Krankheitsverlaufes entwickelten alle VV2-Patienten (n=60) eine schnell progredient verlaufende Demenz. In der Tabelle 4 und Abbildung 4 sind die Hauptsymptome während des Krankheitsverlaufes der VV2-Patienten dargestellt.

Tabelle 4: Klinische Symptome während des Krankheitsverlaufes bei 60 Patienten

Symptome	n (%)	Median-Zeit (Monate)
Demenz	60 (100)	1
Ataxie	60 (100)	0
Extrapyramidal	39 (65)	3
-Rigor	29 (48)	4
-Akinese	1 (1)	4
-Ruhetremor	9 (15)	2
-Hypokinese	6 (10)	2
-Hyperkinese	2 (3)	2,5
-Ballismus	1 (1)	4
-Choreatiforme Störungen	1 (1)	3
-Dystonie	1 (1)	5
Myoklonus	46 (76)	3
-startle response	25 (15)	2
Visuelle/Okulomotorik	35 (58)	1
-Doppelbilder	20 (33)	1
-Bilckparese	14 (23)	2,5
-Verschwommensehen	14 (23)	1
-Gesichtsfeldeinschränkung	5 (8)	1
Pyramidale Störungen	26 (43)	3
-Babinski-Reflex	18 (30)	3
-Gordon-Reflex	3 (5)	5
-Oppenheim-Reflex	2 (3)	6
-Spastik	9 (15)	3
Akinetischer Mutismus	22 (36)	4
Vegetativ	42 (70)	3
-Gewichtsverlust	16 (26)	3
-Hyperhidrosis	14 (23)	3
-Dysautonome Störungen	38 (63)	4
Primitivreflexe	19 (31)	4
-Palmomentarreflex	10 (17)	4
-Schnauzreflex	9 (15)	4
-Greifreflex	8 (13)	2,5
-Glabellareflex	4 (6)	2
Andere		
Dysarthrie	40 (66)	3
Schlafstörungen	31 (50)	2
Dysphagie	37 (61,6)	3
Sensibilitätsstörungen	21 (35)	2
Epileptische Anfälle	1 (1)	6
Kopfschmerzen	9 (15)	0

Für die Diagnose einer CJD ist neben einer schnell progredienten Demenz und cerebellären Störungen noch ein weiteres von den folgenden Symptomen erforderlich: Myoklonien, visuelle Symptome, pyramidale oder extrapyramidale Störungen und akinetischer Mutismus. Im weiteren

Krankheitsverlauf traten als diagnostisch bedeutende CJD-Symptome neben den extrapyramidalen Symptomen wie Rigor (n=29) und Ruhetremor (n=9) auch Myoklonien (n=46) in den Vordergrund. In 25% der VV2-Fälle trat ein startle response 1 Monat vor dem Ausbruch von Myoklonien auf.

Abbildung 4: Hauptsymptome des VV2-Subtyps

Visuelle bzw. okulomotorische Störungen zeigten sich durch Doppelbilder (33%), Blickparese und Verschwommensehen (23%) sowie Gesichtsfeldeinschränkungen (8%) in 35 der VV2-Fälle.

Nach 3 Monaten traten Pyramidenbahnzeichen bei 43% der VV2-Patienten hinzu. Bei 18 der 60 VV2-Patienten trat ein Babinski-Reflex auf, bei 3 Patienten wurde ein Gordon-Reflex beobachtet und bei 9 Patienten eine Spastik festgestellt. Nach der Hälfte der durchschnittlichen Krankheitsdauer wurden Faszikulationen (n=10) und pseudobulbäre Störungen (n=43) beobachtet. Diese zeigten sich durch Schluck- und Sprachstörungen sowie durch eine Dysarthrophonie.

Das letzte Drittel des Krankheitsverlaufs wurde durch das Auftreten von Primitivreflexen (Schnauz-, Greif-, Palmomental- und unerschöpflicher

Glabellarreflex) und akinetischer Mutismus (n=22) gekennzeichnet (Tabelle 4).

Neben der klinisch-neurologischen Symptomatik wurde der weitere Krankheitsverlauf durch eine vegetative Symptomatik in Form von Gewichtsverlust, Hyperhidrosis und dysautonomen Störungen begleitet sowie durch psychiatrische Symptome geprägt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Psychiatrische und neuropsychologische Symptome (n=60)

	Zu Beginn % (n)	Median (Monate)
Psychiatrische Symptome		
Optische Halluzinationen	51 (31)	2,5
Akustische Halluzinationen	10 (6)	1,5
Depressionen	31 (19)	0
Angst	10 (6)	1,5
Aggressivität	15 (9)	1
Paranoia	20 (12)	2
Euphorie	10 (6)	1
Psychose	21 (13)	2
Psychiatrische Schreckhaftigkeit	3 (2)	2
Parathymie	3 (2)	3
Echolalie	1 (1)	1
	Zu Beginn % (n)	Median (Monate)
Neuropsychologische Ausfälle		
Frontalhirnzeichen	100 (60)	0
Apraxie	31 (19)	3
Aphasie	81 (49)	3
Agnosie	5 (3)	2
Akalkulie	25 (15)	3

3.2.3 Erstdiagnose

Bei keinem der 60 VV2-Patienten wurde bei Aufnahme in die Klinik initial die Verdachtsdiagnose Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung gestellt. Als häufigste Erstdiagnose wurde auf ein dementielles Syndrom unklarer Genese oder auf eine paraneoplastische Enzephalopathie geschlossen (Tabelle 6). Erst 3,6 Monaten nach Krankheitsbeginn (Median) wurde der Verdacht einer CJD erstmals gestellt.

Tabelle 6: Erstdiagnose in 60 VV2-Patienten

Erstdiagnose	n
Dementielles Syndrom unklarer Genese	14
Paraneoplastische Enzephalopathie	12
Hirnorganisches Psychosyndrom	7
Demenz und Polyneuropathie	5
Multisystematrophie	4
Parkinson-Syndrom	3
M. Alzheimer	2
Unklare Ataxie	2
Cerebellär-ataktisches Syndrom	1
Neurolues	1
Cerebrovaskuläre Insuffizienz	1
Lewy-Körperchen-Demenz	1
Conn-Syndrom	1
M. Wilson	1
Parainfektiöse Enzephalomyelitis	1
Restless-legs-Syndrom	1
Progressive Enzephalopathie unklarer Genese	1
Autoimmun-Vaskulitis	1
Wernicke-Enzephalopathie	1

3.3 Diagnostische Zusatzuntersuchungen

3.3.1 Elektroenzephalographie

Eine elektroenzephalographische Untersuchung (EEG) wurde bei 59 der 60 VV2-Patienten durchgeführt. Bei 47 Patienten wurden mindestens zwei weitere EEG-Untersuchungen im Verlauf abgeleitet. Nur bei 5 Patienten konnten die für die CJD typischen periodischen Sharp-Wave-Komplexe (PSWCs) im ersten EEG nachgewiesen werden. Die Tabelle 7 zeigt den Krankheitsmonat und die Dauer bis zum Tod bei Auftreten dieser für die CJD typischen EEG-Veränderungen.

Am häufigsten wurden leichte (n=20) und mittelschwere (n=21) Allgemeinveränderungen im EEG beobachtet, die zwar häufig unilateral auftraten aber keine spezifische Lokalisation zeigten. Bei 9 Patienten traten im EEG triphasische Wellen auf, die aber aufgrund der fehlenden Periodizität und der damit nicht erfüllten Kriterien von Steinhoff nicht als CJD-typische EEG-Veränderungen bewertet werden konnten (Abbildung 5).

Tabelle 7: Patienten mit PSWCs im EEG (n=5)

Geschlecht w= weiblich m= männlich	Alter (Jahre)	Krankheitsmonat	Monate bis Tod (Median)
w	65	7	1,7
m	56	12	1
m	70	8	2
m	68	5	0,2
w	61	2	4

Abbildung 5: Nicht generalisierte triphasische Wellen im EEG**(gemeinsame Abbildung der Prionforschungsgruppe Göttingen)** **VV2-Patient, männlich, 69 Jahre, 4. Krankheitsmonat, Tod nach 5 Monaten**

Die erste EEG-Untersuchung erfolgte im Median nach 3 Monaten, die letzte nach 3,7 Monaten nach Krankheitsbeginn. Die allgemeinen EEG-Ergebnisse der VV2-Patienten sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Allgemeine EEG-Beurteilung (n =54), (Mehrfachnennungen)

EEG-Befund	n
Physiologisches EEG-Muster	3
Fokale Verlangsamung	7
Leichte Allgemeinveränderungen	21
Mittelschwere Allgemeinveränderungen	20
Epilepsietypische Potenziale	2
Triphasische Wellen	9

3.3.2 Liquordiagnostik

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Liquoruntersuchung bei den VV2-Patienten besprochen.

3.3.2.1 Routine-Liquordiagnostik

Bei 55 der VV2-Patienten lagen detaillierte Daten zur Routine-Liquordiagnostik vor. Bei den meisten der untersuchten Patienten waren keine Auffälligkeiten in den Standardparametern wie Zellzahl, Eiweiß- und Q-Albuminwert im Liquor feststellbar. Bei allen der untersuchten Patienten fand sich ein klarer Liquor ohne Blutbeimengungen, die die Ergebnisse verfälschen könnten.

Bei 2 von 55 Fällen (4%) fand sich eine erhöhte Zellzahl (>5 Zellen/ μ l) in der ersten Liquorpunktion (min 6 - max 14 Zellen/ μ l). Bei 17 Patienten erfolgte eine 2. Liquoruntersuchung mit Bestimmung der Zellzahl. Hier zeigte sich in 4 Proben eine leichte Zellzahlerhöhung (jeweils 6-8 Zellen/ μ l) am ehesten bedingt durch eine Reizpleozytose (23%). Die restlichen Proben zeigten Werte <5 Zellen/ μ l (min 0 – max 4 Zellen/ μ l) im Sinne einer normwertigen Zellzahl.

Bei 9 Patienten wurde eine Eiweißerhöhung (>500 mg/dl; 16%) festgestellt (Median 410 mg/dl). Eine Verlaufsliquorpunktion erfolgte bei 19 Patienten, unter denen 9 (47%) eine leichte Eiweißerhöhung aufwiesen.

Bei 46 VV2-Patienten erfolgte die Bestimmung des Q-Albumin-Wertes als Indikator für eine Schrankenfunktionsstörung. Neben einer leichten Schrankenfunktionsstörung bei 5 Patienten (Q-Albumin 9,1-9,6) und einer mittelgradigen Schrankenfunktionsstörung bei 2 Patienten (Q-Albumin 14,5-16,8), konnte in 2 Fällen eine schwere Schrankenfunktionsstörung (Q-Albumin 28,7-30,7) im Liquor nachgewiesen werden. In 15 Fällen wurde nach einem Median von 3,4 Monaten eine zweite Q-Albumin-Bestimmung durchgeführt. Hier zeigte sich bei einem Patienten mit zuvor normalem Q-Albumin eine mittelgradige Schrankenfunktionsstörung in Form eines Q-Albumin-Wertes von 11,5. Bei den restlichen 14 Patienten zeigten sich stabile Q-Albumin-Werte.

Spezifische oligoklonale Banden wurden in 3 der 55 untersuchten VV2-Patienten im Liquor gefunden.

3.3.2.2 Protein 14-3-3

Die Liquoruntersuchung auf die Proteine 14-3-3 erfolgte bei 57 VV2-Patienten. Bei allen der untersuchten Patienten (n=57) konnte das Protein 14-3-3 im Liquor nachgewiesen werden (Tabelle 9). Die erste Liquorpunktion wurde im Median 3 Monate nach Krankheitsbeginn durchgeführt. Der Nachweis des Proteins 14-3-3 gelang bei 56 Patienten (98,2%) in der ersten Liquoruntersuchung.

Tabelle 9: Liquorparameter bei VV2-Patienten

Liquormarker	14-3-3	NSE cut-off >25 ng/ml	S100b cut-off >4,2 ng/ml	Tau cut-off >1300 pg/ml	Aß 1-42 cut-off< 450 pg/ml
Range	-	7,0-244 ng/ml	2,5-31,8 ng/ml	473-25950 pg/ml	95-1083 pg/ml
Median	-	75 ng/ml	15,1 ng/ml	6620 pg/ml	471 pg/ml
1. LP	56/57	50/55	40/43	54/55	24/48
Sensitivität 1. LP	98,2 %	91 %	93 %	98,1 %	50 %
Median 1. LP Monate	3	3	3,1	3,4	3
2. LP	11/12	9/9	3/4	6/7	1/6
Sensitivität 2. LP	91,6 %	100 %	75 %	86 %	16 %
Median 2. LP Monate	3,6	3,5	5,8	6,1	6,5

Im nächsten Schritt dividierten wir jede individuelle Krankheitsdauer in Drittel und korrelierten den Zeitpunkt der Liquorpunktion mit dem Erkrankungsstadium in Drittel (siehe Tabelle 10). Bei 16 VV2-Patienten erfolgte die erste Liquoruntersuchung mit Bestimmung des 14-3-3-Proteins nach einem Median von 1,4 Monaten (erstes Erkrankungsdrittel), das bei allen der 16 untersuchten Patienten positiv nachweisbar war. Im zweiten Erkrankungsdrittel (Median 2,85 Monate) ließen sich bei 94,7% der untersuchten Patienten das 14-3-3-Protein im Liquor nachweisen, das im

dritten Erkrankungsdrittel bei 22 VV2-Patienten (100%) nachweisbar war (Tabelle 10).

Tabelle 10: Zeitpunkt der Liquorpunktion in Bezug auf das Krankheitsdrittel bei VV2-Patienten

<u>1. Liquorpunktion</u>	14-3-3	NSE > 25 ng/ml	S100b > 4,2 ng/ml	Tau >1300 pg/ml	Aß 1-42 < 450 pg/ml
1. Krankheitsdrittel					
n/Total	16/16	13/13	9/10	14/14	3/11
Median (Range)	-	82 (33-159)	14,5 (3,67-39,2)	6177,5 (1560-15100)	748 (96-901)
2. Krankheitsdrittel					
n/Total	18/19	20/23	14/16	19/20	11/20
Median (Range)	-	73,6 (7-264)	10,4 (2,5-23,0)	5344,5 (473-20100)	4,22,5 (95-837)
3. Krankheitsdrittel					
n/Total	22/22	17/19	17/17	21/21	10/17
Median (Range)	-	89,45 (4-276)	17,9 (6,6-34,1)	7498 (3116-25950)	307,5 (444-904)
<u>2. Liquorpunktion</u>	14-3-3	NSE >25 ng/ml	S100b >4,2 ng/ml	Tau >1300 pg/ml	Aß 1-42 <450 pg/ml
1. Krankheitsdrittel					
n/Total	1/1	-	-	-	-
Median (Range)	-	-	-	-	-
2. Krankheitsdrittel					
n/Total	6/6	6/6	1/1	2/2	2/2
Median (Range)	-	74,8 (59-165)	11	16330 (11500-21160)	815,5 (8770-861)
3. Krankheitsdrittel					
n/Total	4/5	3/3	2/3	4/5	1/3
Median (Range)	-	114 (75-155)	21,4 (1,85-23,3)	10645 (262-14651)	502,5 (444-904)

Nach einem Median von 6 Wochen erfolgte bei insgesamt 12 Patienten eine zweite Liquoruntersuchung (siehe Tabelle 10). Diese wies bei einem zuvor 14-3-3-Protein-negativen Patienten ein positives 14-3-3-Protein im Liquor nach. In einem Fall konnte das zuvor positive Protein 14-3-3 in der zweiten Liquorpunktion während des Endstadiums drei Wochen später nicht mehr nachgewiesen werden. In den übrigen 10 VV2-Patienten zeigte sich konstant der Nachweis des Proteins 14-3-3 (91,5%; siehe Tabelle 10).

3.3.2.3 Neuronenspezifische Enolase

Die Liquoruntersuchung der Neuronenspezifischen Enolase (NSE) erfolgte bei 55 VV2-Patienten. Bei 50 Patienten konnte ein Wert gemessen werden, der über dem cut-off der CJD (25 ng/ml) lag. Die gemessenen NSE-Werte lagen zwischen 7 und 244 ng/ml bei einem Median von 75 ng/ml (Mittelwert 94 ng/ml; Tabelle 9; Abbildung 6). Die erste Liquoruntersuchung zeigte eine Sensitivität von 91% und erfolgte im Median 3 Monate nach Beginn des ersten Krankheitssymptoms.

Abbildung 6: NSE in ng/ml des VV2-Subtyps

In Bezug zu den Krankheitsstadien zeigten im ersten Krankheitsdrittel (Median 1,86 Monate) 100% der Fälle eine erhöhte NSE (>25ng/ml; siehe

Tabelle 10). Im zweiten Krankheitsdrittel (Median 3,72 Monate) lag die Sensitivität der NSE bei 86,9% (siehe Tabelle 10).

In 9 Fällen erfolgte im Verlauf (Median 5 Wochen nach der 1. Liquorpunktion) eine erneute Bestimmung der NSE im Liquor. Der Nachweis der NSE über den cut-off gelang in 100% (siehe Tabelle 9). Ein zuvor unter dem cut-off gelegener Wert zeigte zu diesem Zeitpunkt einen deutlichen Anstieg >25 ng/ml. In den weiteren 8 Fällen zeigte sich in der einen Hälfte ein erneuter Anstieg der NSE, in den anderen kam es zum Absinken des NSE-Wertes, wobei dieser noch deutlich über dem cut-off der CJD lag. Anhand der medianen NSE-Konzentration zeigt sich, dass diese, ähnlich wie in der ersten Liquoruntersuchung, den höchsten Wert während des späten Krankheitsstadiums erreicht (siehe Tabelle 10).

3.3.2.4 S100b-Protein

Das S100b-Protein wurde bei 43 VV2-Patienten gemessen. Der Bereich der gemessenen Werte lag zwischen 2,5 und 31,8 ng/ml bei einem Median von 15,1 ng/ml (Mittelwert 15,6 ng/ml; Abbildung 7). 40 Patienten wiesen einen S100b-Protein-Wert auf, der über dem cut-off der CJD von 4,2 ng/ml lag (93%; Tabelle 9).

Abbildung 7: S100b in ng/ml des VV2-Subtyps

Die Konzentration des S100b lag im ersten Krankheitsdrittel (Median 1,86 Monaten) bei einem Median von 14,5 ng/ml und sank im zweiten Krankheitsdrittel (Median 3,72 Monate) auf einen Median von 10,4 ng/ml. Ähnlich zur NSE kam es im dritten Krankheitsdrittel (Median 5,6 Monaten) zu einem Anstieg auf 17,9 ng/ml (Median; siehe Tabelle 10).

In 4 Fällen erfolgte nach 2,7 Monaten (Median) eine erneute Bestimmung des S100b-Proteins. Die S100b-Sensitivität lag in der zweiten Liquoruntersuchung bei 75%. In einem Fall zeigte sich in der zweiten Liquoruntersuchung ein Abfall des S100b Proteins von initial > 4,2 ng/ml unter den cut-off Wert der CJD.

Die höchste Konzentration konnte während des späten Krankheitsstadium gemessen werden (Median 21,4 ng/ml; siehe Tabelle 10).

3.3.2.5 Tau-Protein

Bei 55 VV2-Patienten erfolgte die Bestimmung des Tau-Proteins im Liquor. Der niedrigste gemessene Tau-Protein-Wert lag bei 473 pg/ml, der höchste bei 25950 pg/ml. Der Median lag bei 6620 pg/ml (Mittelwert 8006,77 pg/ml; Abbildung 8).

Abbildung 8: Tau-Protein in pg/ml des VV2-Subtyps

In 54 der VV2-Fälle lag der gemessene Tau-Wert über dem cut-off der CJD von 1300 pg/ml (98%; Tabelle 9). Während der Krankheitsstadien zeigte sich im zweiten Krankheitsdrittel (Median 3,72 Monaten) ein Konzentrationsabfall von initial 6177,5 pg/ml in dem ersten Krankheitsdrittel (Median 1,86 Monaten) auf 5344,5 pg/ml. Diese stieg im dritten Krankheitsdrittel (Median 5,6 Monate) auf 7498 pg/ml an.

Nach einem Median von 2,7 Monaten erfolgte bei 7 Patienten mit einem initialen Tau-Wert > 1300 pg/ml eine weitere Bestimmung des Tau-Proteins. In 6 Fällen zeigte sich ein weiterer Anstieg des Tau-Proteins S100b Sensitivität 86%), in einem Fall kam es zum Absinken < 1300 pg/ml (cut-off der CJD) des Tau-Proteins. Die höchste Tau-Konzentration zeigte sich mit einem Median von 16330 pg/ml während des zweiten Krankheitsdrittel (siehe Tabelle 10).

3.3.2.6 Amyloid- β 1-42

Die Liquoruntersuchung des Amyloid- β 1-42 erfolgt bei 48 der VV2-Patienten. Die gemessenen Werte lagen zwischen 95 und 1083 pg/ml bei einem Median von 471 pg/ml (Mittelwert 470,9 pg/ml; Abbildung 9).

Abbildung 9: Amyloid- β 1-42 in pg/ml des VV2-Subtyps

In 24 Fällen (50%) lag der gemessene Amyloid- β 1-42-Wert im pathologischen Bereich (< 450 pg/ml; Tabelle 9). Die höchste Amyloid- β 1-42-Konzentration konnte im ersten Krankheitsdrittel (Median 1,86 Monate) bestimmt werden, die während der folgenden Krankheitsdrittel auf einen Median von 307,5 pg/ml absank (Tabelle 10).

Im weiteren Krankheitsverlauf (Median 3,5 Monate nach der ersten Liquorpunktion) erfolgte bei 6 Patienten, bei denen fünf Patienten einen Amyloid-Wert bisher >450 pg/ml und einer <450 pg/ml aufwiesen, eine erneute Liquorbestimmung des Amyloid- β 1-42 (16,6%) mit weitgehend unveränderten Werten (siehe Tabelle 10).

3.4 Apolipoprotein-E (Apo E)-Genotyp

In dem VV2-Patientenkollektiv wurde in 17 Fällen der Apolipoprotein-Genotyp bestimmt. Elf der 17 Patienten zeigten dabei einen homozygoten $\epsilon 3/\epsilon 3$ Typ, fünf der Fälle einen $\epsilon 3/\epsilon 4$ Genotyp und ein Patient wies einen $\epsilon 2/\epsilon 3$ ApoE Genotypen auf. Von den 5 $\epsilon 3/\epsilon 4$ Genotypen gingen 3 Fälle mit einem erniedrigten Amyloid- β 1-42 ($A\beta 1-42 < 450$ mg/ml; Median 120 mg/ml) einher, während in einer Probe sich ein $A\beta 1-42 > 450$ mg/ml ($A\beta 1-42$ 783 mg/ml) fand und in der anderen Probe keine $A\beta 1-42$ Bestimmung erfolgte.

3.5 Bildgebung

3.5.1 Computertomographie

Bei 44 der VV2-Patienten erfolgte eine cerebrale Computertomographie (CCT). In nahezu der Hälfte der Fälle ($n=21$) fand sich ein unauffälliges CCT. 23 Patienten zeigten unspezifische atrophische Veränderungen. Bei 2 Patienten fanden sich Zeichen einer Stammganglienverkalkung (Tabelle 11). Die CCT-Untersuchung wurde im Median 3 Monate nach Beginn des ersten Krankheitssymptoms durchgeführt.

Tabelle 11: CCT-Befunde bei 44 VV2-Patienten (Mehrfachnennungen)

cCT-Befund	n
Unauffälliger Befund	21
Globale Atrophie	7
Kortikale Atrophie	9
Cerebellumatrophie	4
Frontal betonte Atrophie	3
Fronto-temporal betonte Atrophie	2

3.5.2 Kernspintomographie

Bei 51 der 60 VV2 Patienten waren cerebrale Kernspintomographie – Aufnahmen (MRT) vorhanden. Die Bildqualität der MRT-Sequenzen war in der Mehrheit der Fälle als Grad 4 eingestuft, wobei 4 MRT-Befunde bei qualitativ nicht ausreichender Bildqualität (Grad >4) nicht auswertbar waren und aus dieser Studie ausgeschlossen wurden. Keine späteren Aufnahmen waren von diesen Patienten vorhanden. Bei den restlichen 9 Patienten des VV2-Kollektivs wurden kein MRT durchgeführt.

T2-Aufnahmen wurden bei 43 Patienten durchgeführt, FLAIR-Sequenzen waren in 23 der Fälle, PD-Aufnahmen in 13 der Fälle und DWI-Sequenzen bei 15 der 47 VV2 Patienten vorhanden (siehe Tabelle 12).

Die mediane Zeit von Krankheitsbeginn bis zur ersten MRT-Durchführung betrug 3,4 Monate. Nur bei 2 Patienten erfolgte eine zweite MRT-Untersuchung nach einem Median von 2 Monaten. In keinem MRT fand sich ein Normalbefund.

In 34 (72%) der untersuchten Fälle fanden sich die CJD-typischen hyperintensiven Basalganglien im MRT.

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen zeigt Tabelle 12.

Hyperintensitäten innerhalb der Basalganglien konnten in der T2-Wichtung (63%), in der Protonen-gewichteten Aufnahme (PD; 62%) und in der diffusionsgewichteten Aufnahme (Diffusion-weighted imaging, DWI) (73%) beobachtet werden. Mit 43% stellten sich Hyperintensitäten der Basalganglien in der Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) mit einer weitaus niedrigeren Sensitivität dar.

Innerhalb der Basalganglien fanden sich die prominentesten Hyperintensitäten im Putamen und Nucleus caudatus, während das Pallidum weitgehend ausgespart blieb.

Tabelle 12: Signalhyperintensitäten im MRT bei 47 VV2-Patienten

Lokalisation	PD n=13	T2 n=43	FLAIR n=23	DWI n=15
Kortex	8 (62%)	24 (56%)	23 (100%)	11 (73%)
Frontal	2 (15%)	8 (19%)	3 (13%)	7 (47%)
Gyrus cinguli	5 (38%)	5 (12%)	10 (43%)	10 (67%)
Parietal	4 (31%)	3 (7%)	3 (13%)	5 (33%)
Temporal	1 (8%)	3 (7%)	2 (9%)	4 (27%)
Insula	0	0	2 (9%)	4 (27%)
Okzipital	2 (15%)	1 (2%)	0	3 (20%)
Hippocampus	3 (23%)	5 (12%)	13 (57%)	8 (53%)
Weiß Substanz	4 (31%)	21 (49%)	15 (65%)	0
Basalganglien	8 (62%)	27 (63%)	10 (43%)	11 (73%)
Pallidum	0	9 (21%)	0	1 (7%)
Putamen	8 (62%)	21 (49%)	6 (26%)	7 (47%)
Nucleus caudatus	7 (54%)	21 (49%)	9 (39%)	11 (73%)
Thalamus	4 (31%)	5 (12%)	5 (22%)	4 (27%)
Nucleus AL	3 (23%)	3 (7%)	1 (4%)	4 (27%)
Nucleus DM	3 (23%)	4 (9%)	4 (17%)	4 (27%)
Pulvinar	3 (23%)	5 (12%)	5 (22%)	4 (27%)
Hockey stick sign	0	0	0	0
Pulvinar - Zeichen	0	0	0	0
Cerebellum	4 (31%)	5 (12%)	11 (48%)	8 (53%)

Die höchste Sensitivität für kortikale Hyperintensitäten konnte mit 100% in der FLAIR-Wichtung beobachtet werden. Bei 57% der Fälle konnten kortikale Hyperintensitäten innerhalb des Hippocampus nachgewiesen werden, gefolgt von Gyrus cinguli mit 43% und Frontal- und Parietalregion mit jeweils 13%. Bei jeweils 2 Patienten (9%) fanden sich kortikale Hyperintensitäten innerhalb der Temporalregion und Insula. Bei keinem der VV2-Patienten konnten okzipitale Hyperintensitäten innerhalb der FLAIR-Wichtung beobachtet werden. In der DWI-Wichtung fanden sich in 73% Hyperintensitäten des Kortex mit prominentester Signalanhebung im Gyrus cinguli.

Hyperintensitäten innerhalb des Thalamus konnten bei jeweils 5 Patienten (T2; FLAIR) bzw. 4 Patienten (PD; DWI) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 10a,b). Hier zeigte die DWI-Wichtung mit 31% die höchste Sensitivität. Im Bereich des Thalamus konnten die drei folgenden Regionen

näher analysiert werden: In jeweils nahezu einem Drittel fanden sich Signalanhebungen im Nucleus anteriorlateralis (Nucleus AL), im Nucleus mediodorsalis (Nucleus DM) sowie im Pulvinar (siehe Abbildung 10b).

Abbildung 10: a) DWI-Wichtung, 66 jährige VV2-Patientin im 4. Krankheitsmonat: Hyperintensitäten innerhalb der Basalganglien (Nucleus caudatus, Putamen) und des Thalamus (Pulvinar) b) FLAIR-Wichtung, 51 jährige VV2-Patientin im 4. Krankheitsmonat: Hyperintensitäten innerhalb der Basalganglien (Nucleus caudatus, Putamen) und des Thalamus (Nucleus AL, Nucleus DM, Pulvinar)

a)

b)

Das klassische Pulvinarzeichen konnte in keinem unserer VV2-Patienten nachgewiesen werden. Cerebelläre Hyperintensitäten wurden am sensitivsten mit 53% in der DWI-Wichtung beobachtet.

Bei 2 Patienten erfolgte nach einem Median von 2 Monaten eine zweite MRT- Verlaufskontrolle, in der sich keine Veränderungen zum Vorbefund zeigten. Insgesamt zeigten sich im MRT bei 26 VV2-Patienten keine Atrophiezeichen, während 17 eine globale und 4 Patienten eine fokale Atrophie zeigten.

Im Vergleich mit unseren radiologischen Befunden zu dem Auftreten einer schnell verlaufenden Demenz zeigte sich, dass bei den 34 VV2-Patienten mit hyperintensiven Basalganglien im MRT eine Demenz nach 1 Monat (Median) auftrat. Bei den restlichen VV2-Patienten ohne hyperintense Basalganglien (n=17) trat diese erst nach einem Median von 1,5 Monaten auf. Im Bezug auf die Krankheitsdauer zeigten VV2-Patienten mit hyperintensiven Basalganglien

einen kürzeren Krankheitsverlauf (Median 5 Monate) als VV2-Patienten ohne hyperintense Basalganglien im MRT. Diese wiesen eine Krankheitsdauer von 6,3 Monaten (Median) auf.

Zusammenfassend weisen unsere VV2-Patienten im MRT eine starke Signalerhöhung innerhalb der Basalganglien und des cerebralen Kortex auf. Innerhalb der kortikalen Regionen zeigte sich der Gyrus cinguli am prominentesten betroffen. Auffallend ist die in fast 1/3 unserer VV2-Patienten beobachtete thalamische Beteiligung im MRT, die sich mit Hyperintensitäten des Nucleus anterolateralis und dorsomedialis sowie des Pulvinars präsentierte.

4. DISKUSSION

4.1 Patientenkollektiv

In der vorliegenden Arbeit wurde das Kollektiv der Falldaten des Prionproteintyps VV sowie des PrP^{Sc}-Typ 2 der sporadischen CJD-Fälle im Hinblick auf klinische und diagnostische Merkmale innerhalb eines Landes analysiert. Ähnlich zu der Studie von Parchi und Kollegen (Parchi et al. 1999), die über 16% der VV2-Fälle und damit VV2 als den zweithäufigsten Typ innerhalb der 6 sCJD-Subtypen beschreibt, fanden sich in Deutschland 13,9 % VV2 der sCJD-Fälle.

Eine Übersicht der Codon 129 Genotyp-Verteilung anhand der Studie von Heinemann et al. (2007a) zeigt Abbildung 11.

Abbildung 11: Verteilung des Codon 129 Genotypes während der Jahre 1994-2005 mit dem Trend des Anstieges der atypischen Genotypen MV und VV (aus der Studie von Heinemann et al. 2007a, S.330)

Die größten Studien wurden zum einen von Parchi et al. mit 47 VV2-Patienten aus den Vereinigten Staaten und Europa (Deutschland, Frankreich, Österreich, Italien) beschrieben, bei denen allerdings keine radiologischen Untersuchungen durchgeführt wurden, und zum Anderen von Collins et al., die ein VV2-Kollektiv von 100 Patienten aus Frankreich, Deutschland, Italien, Niederlande, Slowakei, UK, Australien, Österreich, Kanada, Spanien und der Schweiz beschreiben, wobei keine detaillierte

Beschreibung der klinischen Symptomatik erfolgt ist (Parchi et al. 1999; Collins et al. 2006).

Unseres Erachtens nach stellt diese Arbeit die größte klinische und diagnostische Studie über den VV2-Subtyp der sCJD dar und bezieht sich auf 60 VV2-Patienten aus Deutschland, die in den Jahren 1993 bis 2009 dem Referenzzentrum der Georg-August- Universität Göttingen gemeldet wurden.

4.1.1 Alters- und Geschlechtsverhältnis

Im Vergleich zu früheren Studien, die über einen Erkrankungsbeginn der VV2-Patienten im mittleren Lebensalter von 61-66 Jahren berichteten, zeigte sich in der vorliegenden Arbeit bei dem untersuchten Patientenkollektiv ein höheres Erkrankungsalter (Parchi et al. 1999; Kovacs et al. 2000; Zerr et al 2000b; Collins et al. 2006; Parchi et al. 2009). Auch in der Literatur wird ein jüngeres Lebensalter mit dem Valin-Homozygoten verbunden (Alperovitch et al. 1999).

Bei den 60 untersuchten VV2-Patienten unserer Studie betrug das durchschnittliche Alter bei Erkrankungsbeginn 67,7 Jahre (Mittelwert) bei einem Median von 69 Jahren.

Im Vergleich zu dem als *klassisch* bezeichneten MM1 weist der VV2-Subtyp ein etwa gleiches Lebensalter bei Erkrankungsbeginn auf (Collins et al. 2006). Dies steht in Kontrast zu den Untersuchungsergebnissen von Parchi et al. (2009), der die MM1/MV1-Patienten mit 70 Jahren als die ältesten aller Subtypen postuliert.

Eine Zusammenfassung des Alters bei Krankheitsbeginn ist in Tabelle 13 dargestellt. Unser VV2-Kollektiv weist ein höheres Erkrankungsalter auf, das heißt VV2-Patienten erkranken später, als Patienten der atypischen Subtypen (Parchi et al. 1999; Meissner et al. 2005; Collins et al. 2006; Krasnianski et al. 2006b; Parchi et al. 2009).

Die Auswertung klinischer Patientendaten hinsichtlich des Geschlechts ergab 34 weibliche (57%) und 26 männliche (43%) Patienten in einem Verhältnis von 3:2. Im deutschen VV2-Patientenkollektiv erkrankten demnach auffallend mehr Frauen als Männer an dem VV2-Typ der sCJD. Dies steht im Einklang

mit früheren Untersuchungen, bei denen der Frauenanteil des VV2-Subtyp mit 73,3% (Zerr et al. 2000b) und 56% (Collins et al. 2006) beschrieben wird. In Tabelle 13 ist eine Übersicht der Geschlechtsverteilung innerhalb der sCJD-Subtypen dargestellt.

Tabelle 13: Zusammenfassung von Alter bei Erkrankungsbeginn, Geschlecht und Krankheitsdauer innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien im Vergleich zu unserem VV2-Subtyp

	MM1 Collins et al. 2006	MV1 Collins et al. 2006	MM2 Collins et al. 2006	MV2 Krasnianski et al. 2006b	VV1 Meissner et al. 2005	VV2
Alter Median, Jahre (n= Total)	67,8 (444)	65,5 (n=37)	60,3 (31)	64 (26)	44 (9)	69 (60)
Geschlecht F: Frauen % (n) M: Männer % (n)	F: 53,8 (239) M: 46,2 (205)	F: 48,6 (18) M: 51,4 (19)	F: 48,4 (15) M: 51,6 (16)	F: 57,6 (15) M: 42,3 (11)	F: 11 (1) M: 88 (8)	F: 57 (34) M: 43 (26)
Krankheitsdauer	4,0	5,0	12,5	12	21	5,6

4.1.2 Krankheitsdauer

Die durchschnittliche Krankheitsdauer der VV2-Fälle beträgt 5,6 Monate (2,3 bis 30,8 Monate).

Collins et al. beschreiben in ihrer Studie über das Spektrum der sCJD-Subtypen 100 VV2-Patienten eine mittlere Krankheitsdauer des VV2-Subtyp mit 6,0 Monaten, was mit unseren Untersuchungsergebnissen bei 60 VV2-Patienten in etwa vergleichbar ist (Collins et al. 2006). In Studien mit kleineren Patientenzahlen wird die Krankheitsdauer der VV2-Patienten mit 6,3; 6,5 und sogar 7,5 Monaten angegeben (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Parchi et al. 2009). Die kürzeste Krankheitsdauer für einem VV2-Patienten wird mit 2,0 Monaten, die längste mit 25,0 Monaten beschrieben (Collins et al. 2006).

Kurze Krankheitsverläufe wurden bisher nur über den *klassischen* Subtyp MM1/MV1 berichtet, während die atypischen Subtypen VV1, MV2 sowie MM2 einen deutlich längeren Krankheitsverlauf aufweisen (siehe Tabelle 13;

Parchi et al. 1999; Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2005; Collins et al. 2006; Parchi et al. 2009).

4.1.3 Erkrankungsbeginn

In Übereinstimmung mit früheren veröffentlichten Studien an kleineren Patientenkollektiven ist eine Gang- und Standataxie das führende Krankheitssymptom, das initial bei allen VV2-Patienten zu Krankheitsbeginn im Vordergrund steht (Parchi et al. 1999; Kovacs et al. 2000; Zerr et al. 2000b; Fukushima et al. 2004; Pauri et al. 2004; Stoeck et al. 2008; Parchi et al. 2009).

Eine kognitive Beeinträchtigung in Form einer schnell progredienten Demenz tritt erst, wie in früheren Veröffentlichungen bereits beschrieben, im weiteren Krankheitsverlauf auf (Median 1 Monat). Diese zeigte sich jedoch mit 76,6% deutlich überpräsentiert als im Vergleich zu den Studien von Parchi mit 25-27% und Zerr mit 33% zuvor angegeben (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Parchi et al. 2009).

Bei allen untersuchten VV2-Patienten fanden sich zu Beginn Frontalhirnzeichen in Form von Antriebsstörungen (56%), Aufmerksamkeitsstörungen (58%) oder Unzuverlässigkeit (10%) sowie allgemeiner Verlangsamung (80%). 43 der 60 VV2-Patienten wiesen zu Krankheitsbeginn Schwindel auf. In selteneren Fällen (20%) traten visuelle Störungen als eines der ersten Krankheitssymptome auf, die im Einklang zu früheren Beobachtungen (20% von 15 VV2-Fällen) stehen (Zerr et al. 2000b).

Bisher nicht für den VV2-Subtyp beschrieben, wiesen 4 der 60 VV2-Patienten als initiales Symptom eine Aphasie sowie jeweils ein Patient Myoklonien und Pyramidenbahnzeichen zu Krankheitsbeginn auf.

Der als *klassisch* bezeichnete MM1/MV1-Subtyp grenzt sich durch das fortgeschrittene Erkrankungsalter, das Auftreten einer schnell progredienten Demenz, kognitiven und visuellen Störungen zu Erkrankungsbeginn sowie dem Nachweis von PSWCs im EEG von den restlichen als *atypisch* bezeichneten MM2, MV2, VV1 und VV2 ab, da diese gewöhnlich keine

PSWCs im EEG sowie keine Myoklonien bei Erkrankungsbeginn zeigen (Parchi et al. 1999; Zerr 2000b). Zudem weisen diese ein sehr heterogenes Krankheitsbild bei Beginn durch prominente Ataxie, Hirnstammzeichen, langsame progressive kognitive Einschränkungen und jüngeres Alter zu Krankheitsbeginn auf (Parchi et al. 1996, 1999). Im Gegensatz zu VV2- zeigen MM1/MV1-Patienten nur in einem Drittel der Fälle eine Ataxie zu Krankheitsbeginn (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b).

Die Abbildung 12 fasst die wichtigsten Symptome bei Erkrankungsbeginn der jeweiligen Subtypen zusammen.

Abbildung 12: Häufigkeit von Symptomen bei Erkrankungsbeginn innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien im Vergleich zu unserem VV2-Subtyp

Im Vergleich der Subtypen untereinander ist zusammenfassend zu erkennen, dass eine cerebelläre Ataxie sowie ein leicht verzögertes Auftreten einer schnell progredienten Demenz bei Erkrankungsbeginn die Differenzierung zwischen VV2 und MM1/MV1, MM2 sowie im Vergleich zu VV1 erleichtert. Schwieriger gestaltet sich die Differenzierung zwischen den beiden Subtypen VV2 und MV2, die beide eine Ataxie und Demenz als Erstsymptom aufweisen. Eine Unterscheidungshilfe wäre hierbei, dass im Gegensatz zum VV2-Subtyp beide Symptome im MV2-Subtyp zum selben Zeitpunkt gemeinsam beobachtet werden, und bei VV2-Patienten die initiale Ataxie von ausgeprägten Frontalhirnsymptomen begleitet wird.

4.1.4 Klinische Symptomatik im Verlauf

In Übereinstimmung mit früheren Studien entwickelten alle VV2-Patienten unserer Studie während des klinischen Krankheitsverlaufes eine Ataxie und Demenz (Parchi et al. 1999; Kovacs et al. 2000). Dieser Phase folgten weitere CJD-typische Symptome, wie extrapyramidale Symptome (z.B. Rigor; Median 4 Monate), visuelle und okulomotorische Störungen (z.B. Doppelbilder; Median 1 Monat), Pyramidenbahnzeichen (Median 3 Monate), Myoklonien (Median 3 Monate) sowie akinetischer Mutismus (Median 4 Monate).

Im Gegensatz zu den bisher veröffentlichten Studien zeigen in der vorliegenden Studie VV2-Patienten ein häufigeres Auftreten einer Aphasie (81%) und einer Apraxie (31%) nach 3 Monaten (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Stoeck et al. 2008). Ähnlich den Ergebnissen von Stoeck et al. traten in 65% der Fälle extrapyramidale Zeichen während des Krankheitsverlaufes auf (Stoeck et al. 2008). Während visuelle Störungen bisher nur in 20% (Zerr et al. 2000b) oder für den VV2-Subtyp gar verneint wurden (Parchi et al. 1999), fanden sich diese in der vorliegenden Studie in 58% der Fälle vornehmlich als Doppelbilder, Blickparese oder Verschwommensehen. Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte die relativ hohe Patientenzahl dieser VV2-Studie sein.

Ähnlich zu früheren Veröffentlichungen fanden sich in nahezu 50% Pyramidenbahnzeichen. Im Gegensatz zu der Studie von Parchi und seinen Kollegen, die Myoklonien in 66% mit einem Median von 4,2 Monaten beschrieben und der Studie von Zerr und Kollegen, die bei keinem der 15 untersuchten VV2-Fälle Myoklonien nachweisen konnten, zeigten sich Myoklonien mit 76% in unserem VV2-Kollektiv nach 3 Monaten (Median) ein weitaus häufigeres und deutlich früheres Auftreten als bisher beschrieben (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b).

Über die Hälfte der VV2-Patienten entwickelten psychiatrische Symptome während des Krankheitsverlaufes. Die Häufigkeit der psychiatrischen Symptome in diesem Studienkollektiv lag deutlich höher als im Vergleich zu früheren Studien über den VV2-Subtyp (Parchi et al. 1999). Optische Halluzinationen konnten in 51% der VV2 Fälle beobachtet werden, während

akustische Halluzinationen, die bisher nicht in der Literatur für den VV2-Subtyp beschrieben wurden, sich in 10% der Fälle fanden. Dagegen waren die Symptome Angst und Aggression mit 10% und 15% deutlich unterpräsentiert als in der Literatur zuvor angegeben (Stoeck et al. 2008).

Im Gegensatz zu VV2 treten bei dem als *klassisch* bezeichneten MM1/MV1-Subtyp Myoklonien mit einem Median von 2 Monaten in einem sehr frühen Krankheitsstadium auf und bilden mit nahezu 100% ein wesentliches Leitsymptom (Parchi et al. 1999). Des Weiteren treten mehr als die Hälfte aller MM1/MV1-Patienten am Ende des Krankheitsverlaufes in das Stadium des akinetischen Mutismus über, das in unserem VV2-Kollektiv nur in rund ein Drittel der Betroffenen festgestellt werden konnte.

Die Leitsymptome des MV2-Subtyp, auch als „Kuru-Plaque-Variante“ bezeichnet, präsentieren sich ähnlich wie im VV2-Subtyps. Im Gegensatz zum VV2-Subtyp weisen alle MV2-Patienten psychiatrische Symptome auf. Diese treten ähnlich wie bei VV2 hauptsächlich in Form von optischen Halluzinationen (15% akustische Halluzinationen), Unruhezuständen, Depression und Angst auf (Krasnianski et al. 2006b). Seltener wird ein akinetischer Mutismus (15%; Median 9,5 Monate) beobachtet, der in unserem VV2-Studienkollektiv mit 36% (Median 4 Monate) mehr als doppelt so oft beobachtet wird und deutlich früher auftritt (Krasnianski et al. 2006b). Eine Übersicht über die Hauptsymptome der verschiedenen sCJD-Subtypen ist in Tabelle 14 zusammengefasst.

Im klinischen Vergleich des VV2-Subtyps mit den anderen Subtypen der sCJD lässt sich zusammenfassend feststellen, dass eine Demenz in nahezu allen Subtypen repräsentiert ist, wobei eine Ataxie als eines der Leitsymptome des VV2-Subtyps hier signifikant häufiger angetroffen wird als bei MM1/MV1, MM2 und VV1 bisher beschrieben. Auch das frühe und prominente Auftreten von Frontalhirnzeichen und Aphasie, die in dem gesamten bzw. in mehr als zwei Drittel des VV2-Kollektives nachgewiesen werden konnten, unterscheiden den VV2-Subtyp von den restlichen Subtypen und grenzen ihn zu dem sehr ähnlich verlaufenden MV2-Subtyp ab.

Tabelle 14: Hauptsymptome der sCJD-Subtypen während des Krankheitsverlaufes anhand publizierter Studien im Vergleich zu unserem VV2-Subtyp

sCJD-Subtyp	Hauptsymptome während des Krankheitsverlaufes
MM1/MV1 (Parchi et al. 1999; n=211)	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell progredient verlaufende Demenz (75-94%) • Myoklonien (97-100%; Median 2 Monate) • Pyramidale Störungen (60-67%) • Ataxie (52-87%)
MM2-thalamic (Parchi et al. 1999; n=6)	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell progredient verlaufende Demenz (100%) • Ataxie (100%) • Insomnia, nächtliche Unruhe (67%) • Myoklonien (50%; Median 9 Monate)
MM2- kortikal (Krasnianski et al. 2006a; n= 12)	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell progredient verlaufende Demenz (100%) • Extrapyramidale Symptome (92%) • Apraxie (83%) • Myoklonien (92%; Median 8 Monate) • Monosymptomatischer Verlauf (50%)
MV2 (Krasnianski et al. 2006b; n=26)	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell progredient verlaufende Demenz (100%) • Ataxie (100%) • Psychiatrische Symptome (100%) • Frontalhirnsymptome (65%) • Myoklonien (69%; Median 7,5 Monate)
VV1 (Meissner et al. 2005; n=9)	<ul style="list-style-type: none"> • Langsam verlaufende Demenz (100%) • Psychiatrische Symptome (100%) • Myoklonien (55%; Median 10 Monate) • Fokal-neurologische Defizite (z.B. Hemiparese, Broca-Aphasie)
VV2 (n=60)	<ul style="list-style-type: none"> • Ataxie (100%) • Schnell progredient verlaufende Demenz (100%) • Frontalhirnzeichen (100%) • Dysarthrie (66%) • Myoklonien (76%; Median 3 Monate)

Pyramidalzeichen in unserer Studie über VV2-Patienten waren zwar häufiger zu beobachten als im MV2-Subtyp (Krasnianski et al. 2006b), jedoch weitaus weniger nachzuweisen als in den restlichen Subtypen (Parchi et al. 1999; Meissner et al. 2005). Myoklonien in dem beschriebenen VV2-Patientenkollektiv fanden sich seltener als für den *klassischen* Subtyp in der Literatur beschrieben (Parchi et al. 1999). Die klinischen Symptome wie visuelle- und okulomotorische Störungen sind in dieser Studie weitaus häufiger als in dem *klassischen* MM1/MV1- und atypischen MM2-, MV2- oder VV1-Subtypen präsentiert (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000; Meissner et al.

2005; Krasnianski et al. 2006a; Krasnianski et al. 2006b; Stoeck et al. 2008). Die Häufigkeit von extrapyramidalen Symptomen der untersuchten VV2-Patienten zeigte keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den anderen Subtypen.

4.1.5 Erstdiagnose

Der initiale Verdacht einer Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung konnte in keinem der VV2-Patienten dieser Studie gestellt werden, und kam erst nach 3,6 Monaten (Median) nach Krankheitsbeginn auf. Das dominierende Auftreten einer Ataxie als initiales Symptom, das zeitlich verzögerte Auftreten einer Demenz, das relativ späte Auftreten von Myoklonien sowie das Fehlen von typischen PSWCs im EEG könnten für die späte sCJD-Diagnose in VV2-Patienten verantwortlich sein. Im Gegensatz zu der sCJD wurden als häufigste Differenzialdiagnosen ein dementielles Syndrom unklarer Genese sowie ein paraneoplastisches Geschehen in Form einer Enzephalopathie gestellt. Hingegen erweist sich der Morbus Alzheimer als die häufigste Differenzialdiagnose der sCJD (Zerr et al. 1998).

4.2 Diagnostische Zusatzuntersuchungen

Die Klassifikation einer *wahrscheinlichen* CJD basiert neben dem Auftreten entsprechender klinischer Symptome entweder auf dem Nachweis von periodischen Sharp-Wave-Komplexen (PSWCs) im EEG, dem Nachweis der Proteine 14-3-3 im Liquor oder dem Nachweis von hyperintensiven Basalganglien bzw. mindestens zwei von drei Hyperintensitäten in kortikalen Regionen (temporal-parietal-okzipital; nach der WHO 1998; Zerr et al. 2000a; Zerr et al. 2009). Frühere Studien konnten zeigen, dass die Sensitivität unter den diagnostischen Zusatzuntersuchungen abhängig von dem jeweiligen Subtyp der sCJD ist (Zerr et al. 2000b; Castellani et al. 2004; Meissner et al. 2004; Collins et al. 2006; Meissner et al. 2009, Zerr et al. 2009; Gmitterová et al. 2009).

4.2.1 Elektroenzephalographie

Entgegen der beschriebenen diagnostischen Sensitivität für PSWCs bei sCJD von 64% (Steinhoff et al. 2004) konnten in dem VV2-Kollektiv dieser Studie nur in 5 von 59 untersuchten Patienten typische PSWCs im EEG nachgewiesen werden (Sensitivität von 8,5%). Weitere durchgeführte EEG-Ableitungen (Median 3,7 Monate) brachten keine neuen Ergebnisse.

Dies unterstützt die Vermutung, dass die Wahrscheinlichkeit von PSWCs mit der Valin-Homozygotie sinkt. Auch in den bereits publizierten Studien wurde die niedrigste Rate von PSWCs für den VV2-Subtyp beschrieben (Kovacs et al. 2000; Collins et al. 2006).

Die EEG-Befunde stehen im Einklang mit bisher veröffentlichten Literaturangaben, die das Auftreten von PSWCs im VV2-Subtyp als unwahrscheinlich beschreiben. In der Studie von Collins et al. (2006), mit dem bisher größten diagnostisch untersuchten VV2-Kollektiv bestehend aus 100 Patienten, wurde das Auftreten von PSWCs mit 12,8% beschrieben. In weiteren Studien mit kleineren Fallzahlen fanden sich PSWCs in keinem oder nur in maximal 10% der VV2-Patienten (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Fukushima et al. 2004; Pauri et al. 2004; Stoeck et al. 2008; Zerr et al. 2009). In Übereinstimmung mit dieser Studie konnten leichte bis mittelschwere EEG-Veränderungen in Form allgemeiner Rhythmusverlangsamungen in den meisten VV2-Fällen nachgewiesen werden (Parchi et al. 1999; Stoeck et al. 2008).

Weiter fanden sich in über 10% fokale Verlangsamungen, die mit den dominant auftretenden fokal-neurologischen Symptomen im Zusammenhang stehen könnten.

Ähnlich zu der Studie von Stoeck et al., konnte bei 3 Patienten ein physiologisches EEG-Muster nachgewiesen werden (Stoeck et al. 2008). Bisher nicht für VV2-Patienten beschrieben, fanden sich paroxysmale triphasische Wellen in 9 VV2-Patienten. Diese zeigten allerdings keine Periodizität und konnten demnach nicht als PSWCs klassifiziert werden. Auch in weiteren EEG-Ableitungen waren keine Veränderungen dieser triphasischen Wellen zu verzeichnen.

Anhand der erhobenen Daten dieser Studie konnte die Dauer vom Auftreten der PSWCs bis zum Tod der 5 VV2-Patienten errechnet werden, die einen Median von 1,7 Monate zeigte. Dies legt die Vermutung nahe, dass das Auftreten von PSWCs ein prognostisch ungünstiger Faktor ist.

Im Vergleich der Subtypen untereinander weist der *klassische* Subtyp MM1/MV1 die höchste Sensitivität unter allen Subtypen im EEG auf (Parchi et al. 1999; Zerr et al. 2000b; Collins et al. 2006). Diese können schon nach einem Median von 2 Monaten im EEG registriert werden (Parchi et al. 1999). Die restlichen Subtypen zeigen mit unter 50% eine weitaus niedrigere Sensitivität von PSWCs im EEG. Eine Übersicht über die bisher veröffentlichten EEG-Sensitivitäten bezüglich der PSWCs gibt Abbildung 13.

Abbildung 13: Die Sensitivität des Nachweises der PSWCs im EEG innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien im Vergleich zu unserem VV2-Subtyp

Die vorliegende Studie zeigt, dass neben dem MV2- und dem VV1-Subtyp, der VV2-Subtyp mit 8,5% eine der niedrigsten Sensitivitäten der PSWCs im EEG unter allen Subtypen aufweist und somit das EEG zwar in differentialdiagnostischer Hinsicht hilfreich sein könnte, aber keine große Bedeutung in der Diagnostik des VV2-Subtyps der sporadischen CJD aufweist.

4.2.2 Liquordiagnostik

Die Liquordiagnostik ist eine der wichtigsten Zusatzuntersuchungen zur Diagnosestützung der sCJD und dient der Ausschlussdiagnostik möglicher Differenzialdiagnosen, insbesondere den *infektiös/entzündlichen* Erkrankungen.

4.2.2.1 Routine-Liquordiagnostik

Die Routineparameter (Zellzahl, Schrankenfunktion und Entzündungsparameter) in sCJD-Patienten befinden sich meist im Normbereich. Bei 5% der untersuchten *sicheren* CJD-Fälle konnte eine leichte Zellzahlerhöhung (>5 Zellen/ μ l) und bei 26% eine Schrankenfunktionsstörung im Liquor nachgewiesen werden.

Oligoklonale Banden wiesen 7% der neuropathologisch bestätigten CJD-Patienten auf (Jacobi et al. 2000; Jacobi et al. 2005). Allerdings konnten Studien zeigen, dass auch bei 5% der gesunden Kontrollen spezifische oligoklonale Banden im Liquor auftreten, so dass der Nachweis spezifischer oligoklonaler Banden im Liquor bei der CJD keine Abgrenzung zur Normalbevölkerung zulässt (Kostulas 1985; Tourtellotte 1985).

Unser VV2-Kollektiv unterscheidet sich mit einer Zellzahlerhöhung (>5 Zellen/ μ l) von 4% und einer Schrankenfunktionsstörung von 16% kaum von den publizierten *sicheren* CJD-Fällen. In 16% konnte eine Eiweißerhöhung (>500 mg/dl) nachgewiesen werden. Auch spezifische oligoklonale Banden fanden sich nur in 5% der untersuchten VV2-Patienten, was die Vermutung bestätigt, dass das Auftreten spezifischer oligoklonaler Banden im Liquor bei der CJD etwa der Normalbevölkerung entspricht.

4.2.2.2 Protein 14-3-3

Die Proteine 14-3-3 erreichen eine Sensitivität von 94% und Spezifität von 84% (Hsich et al. 1996; Zerr et al. 2000a; Gmitterová et al. 2009).

Das 14-3-3-Protein konnte in allen der untersuchten VV2-Patienten (n=57) in mindestens einer Punktion nachgewiesen werden.

In 98,2% konnte ein positives Protein 14-3-3 bereits in der ersten durchgeführten Liquorpunktion (Median 3 Monate) bestimmt werden, wobei der Patient mit initial negativem Befund in der zweiten Liquoruntersuchung (4 Wochen später) ein positives Protein 14-3-3 zeigte.

Eine jüngst veröffentlichte Studie beschreibt eine Assoziation zwischen einer höheren Sensitivität des 14-3-3-Proteins im spätern Krankheitsverlauf: In der ersten Krankheitsperiode werden 80%, in der zweiten 100% und in der dritten Krankheitsperiode 94% beschrieben (Gmitterová et al. 2009). Im Vergleich zeigten die VV2-Patienten unseres Kollektivs eine gleichbleibende hohe Sensitivität des Proteins 14-3-3 unabhängig vom Krankheitsstadium (siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 10).

Die Ergebnisse dieses VV2-Kollektivs unterstützen die Beobachtung, dass eine erhöhte Sensitivität des Proteins 14-3-3 mit einer Krankheitsdauer unter 6 Monaten assoziiert ist (Collins et al. 2006; Sanchez-Juan et al. 2006; Heinemann et al. 2007a).

In unserer Studie konnte bei einem zuvor positiven Protein 14-3-3 gemessenen Patienten dieses nach 3 Wochen in einer weiteren Liquoruntersuchung nicht mehr nachgewiesen werden. Dies scheint sich durch die Hypothese der Studie von Shiga und Kollegen zu erklären, welche das Protein 14-3-3 als einen unspezifischen Marker für neuronalen Zelluntergang beschreibt, der das höchste Niveau zum Zeitpunkt des progressiven Krankheitsstadiums erreicht, während im Endstadium dieser, aufgrund der schwer fortgeschrittenen Atrophie des Gehirns sowie des nahezu kompletten Nervenzellunterganges praktisch nicht mehr nachweisbar ist (Shiga et al. 2006).

Mit einer Sensitivität von 98,2% stellt die 14-3-3-Proteinbestimmung im Liquor die sensitivste Untersuchungsmethode des VV2-Subtyp der sCJD dar. Dies stimmt mit früheren publizierten Daten über den VV2-Subtyp überein:

In der Studie von Collins et al. erreicht das 14-3-3-Proteins eine Sensitivität von 95% (Collins et al. 2006). Neben dieser größeren Studie existieren in der Literatur mehrere kleinere VV2-Kollektive mit Beschreibung des Nachweises der Proteine 14-3-3, die eine Sensitivität mit 90% bis 100% angeben (Zerr et al. 2000b; Sanchez-Juan et al. 2006; Stoeck et al. 2008; Gmitterová et al. 2009; Zerr et al. 2009).

Eine andere Studie an 19 VV2-Patienten zeigte nur in 84% den Nachweis der Proteine 14-3-3 (Castellani et al. 2004). Für diese Diskrepanz mit unseren Werten ist eventuell die unterschiedliche Fallzahl zu sehen.

Im Vergleich der sCJD Subtypen untereinander weisen homozygote Träger des *PRNP* Codon 129 sowie der PrP^{Sc}Typ 1 eine höhere Sensitivität des Protein 14-3-3 im Liquor auf, als heterozygote Träger und PrP^{Sc}Typ 2 Träger (Zerr et al. 2000b; Otto et al. 2002; Castellani et al. 2004; Collins et al. 2006; Sanchez-Juan et al. 2006; Heinemann et al. 2007a; Baldeiras et al. 2009; Gmitterová et al. 2009; Pennington et al. 2009).

Im Hinblick auf die klinischen Phänotypen konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass die atypischen Subtypen mit 75-93% eine niedrigere Sensitivität für den Nachweis der Proteine 14-3-3 aufweisen als der *klassische* Subtyp der sCJD mit 94-100% (Castellani et al. 2004; Baldeiras et al. 2009; Gmitterová et al. 2009). Eine Übersicht über die verschiedenen Subtypen ist in der Abbildung 14 dargestellt.

Abbildung 14: Die Sensitivität des Nachweises der Proteins 14-3-3 innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien

Die Sensitivität der Proteine 14-3-3 in dem *klassischen* Subtyp liegt über 90%, dennoch erreicht der VV2-Subtyp unserer Studie eine weitaus höhere Sensitivität (Zerr et al. 2000b; Collins et al. 2006; Sanchez-Juan et al. 2006). Auch im Vergleich zum MM2-Subtyp sowie zum MV2-Subtyp weist das

14-3-3-Protein beim VV2-Subtyp einen weitaus höheren Stellenwert auf (Abbildung 14). Ähnlich zu VV2 wird die Sensitivität der 14-3-3-Proteine für VV1-Subtyp mit 90-100% beschrieben (Castellani et al. 2004; Meissner et al. 2005; Collins et al. 2006; Sanchez-Juan et al. 2006; Gmitterová et al. 2009; Zerr et al. 2009).

Die aktuelle Studie von Gmitterová et al. konnte zeigen, dass der Nachweis der Proteine 14-3-3 innerhalb des VV-Genotyp des Codons 129 mit 100% die sensitivste Untersuchungsmethode darstellt, gefolgt von dem MM-Kollektiv mit 95,8% und MV mit 89% (Gmitterová et al. 2009).

Entgegen der in der Literatur angegeben niedrigeren Sensitivität für PrP^{Sc}Typ 2 (91,6%) im Vergleich zu Patienten mit Typ 1 (97%) kann dies im Vergleich des VV1-Subtyps mit unserem VV2-Subtyp nicht bestätigt werden (Sanchez-Juan et al. 2006; Gmitterová et al. 2009).

4.2.2.3 Neuronenspezifische Enolase

Die Neuronenspezifische Enolase (NSE) stellt einen weiteren Liquorparameter der CJD dar, der bei Erkrankungen mit einer progressiven neuronalen Schädigung in hoher Konzentration gefunden wird (Zerr et al. 1995; Beaudry et al. 1999; Kohira et al. 2000; Zerr and Poser 2002; Boesenberg-Grosse et al. 2006).

Bei einem cut-off der NSE von 25 ng/ml konnte eine Sensitivität von 79,7% und eine Spezifität von 91,5% für die CJD erreicht werden (Beaudry et al. 1999). Die Sensitivität der sporadischen CJD ist mit 73% bei einer Spezifität von 95% beschrieben, die dabei die niedrigste Sensitivität unter allen Liquormarkern der sCJD aufweist (Sanchez-Juan et al. 2006).

In unserem VV2-Kollektiv lagen 91% der Fälle über dem cut-off der CJD. Wenn man die Werte in Zusammenhang mit der Krankheitsdauer des VV2-Subtyps betrachtet, bestätigt sich die Vermutung, dass Patienten mit einer Krankheitsdauer < 6 Monate mit einer signifikanten höheren Sensitivität der NSE einhergehen (Sanchez-Juan et al. 2007; siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 10).

Mit einem Median von 75 ng/ml lagen die NSE-Werte des VV2-Subtyps niedriger als bei der CJD beschrieben (Median der NSE von 94 ng/ml; Zerr et al. 1995; siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 9).

Auch die Verlaufsuntersuchung der NSE stellt neben den einzelnen NSE-Werten eine wichtige Beobachtung dar, da diese während des Krankheitsverlaufes der CJD ansteigt und auch im letzten Krankheitsstadium eine Persistenz der erhöhten Werte zeigt (Zerr et al. 1995; siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 10).

Die Sensitivität der NSE unserer VV2-Patienten steht mit den bisher in der Literatur veröffentlichten Daten im Einklang, die eine Sensitivität der NSE für VV2 mit 91% (Sanchez-Juan et al. 2006) und 93% (Zerr et al. 2000b) beschreiben.

Eine Abhängigkeit der Sensitivität der NSE ist auch von dem vorliegenden *PRNP* Codon 129 sowie dem PrP^{Sc}-Typ 1 oder 2 beschrieben (Zerr et al. 2000b; Sanchez-Juan et al. 2006). Eine Übersicht über die NSE-Sensitivität innerhalb der verschiedenen sCJD-Subtypen ist in der Abbildung 15 dargestellt.

Abbildung 15: Die Sensitivität der NSE innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien

Ähnlich des Proteins 14-3-3 weist der *klassische* sCJD Subtyp mit 79% eine höhere Sensitivität als atypische Subtypen (68%) auf. Heterozygote

Patienten zeigen eine niedrigere Sensitivität als Homozygote (Sanchez-Juan et al. 2006).

Über dem cut-off Wert liegende NSE-Werte werden öfters bei Patienten des PrP^{Sc}Typ 1 beschrieben, als bei PrP^{Sc}Typ 2 (Zerr et al. 2000b).

Der *klassische* Subtyp weist in der Literatur unter allen Subtypen die höchste Sensitivität der NSE auf. Als zweithöchste Sensitivität unter den jeweiligen sCJD-Subtypen erweist sich der VV2-Subtyp. Die in der Literatur angegebenen Werte liegen im Einklang mit unseren Ergebnissen, die somit diese Hypothese bestätigen. Die atypischen Subtypen hingegen weisen geringere Sensitivitäten der NSE auf (siehe Abbildung 15).

Zusammenfassend lässt sich anhand des NSE-Wertes im Vergleich des *klassischen* MM1/MV1 mit dem VV2-Subtyp keine Differenzierung feststellen. Im Vergleich des VV2-Subtyps mit den restlichen Subtypen unterscheidet sich dieser aufgrund der deutlich höheren Sensitivität der NSE im Liquor der Betroffenen. Dies gilt auch für den der VV2 ähnlichen MV2-Subtyp.

4.2.2.4 S100b-Protein

Die Konzentration des neuronalen S100b-Proteins spiegelt die Aktivität der neuronalen Glia wider (Zerr und Poser 2002; Cepek et al. 2005).

Bei einem cut-off von >4,2 ng/ml im Liquor erreicht das S100b-Protein eine Sensitivität von 82% bei einer Spezifität von 76% für die sporadische CJD (Sanchez-Juan et al. 2006).

In unserem Kollektiv der VV2-Patienten lag der Median bei 15,1 ng/ml und erreichte eine Sensitivität von 93%.

Der Median der CJD von 25 ng/ml zeigt dabei einen höheren Wert (Otto et al. 1997a). Auch für das S100b-Protein ist in der Literatur eine Abhängigkeit von dem jeweiligen *PRNP* Codon 129, dem PrP^{Sc}Typ sowie klassisch oder atypisch verlaufenden Subtyp beschrieben (Sanchez-Juan et al. 2006; Pennington et al. 2009). Eine Übersicht über die verschiedenen Subtypen ist in der Abbildung 16 dargestellt.

Im Vergleich weist der klassische Subtyp der sCJD eine höhere Sensitivität als atypisch verlaufende Subtypen auf (Sanchez-Juan et al. 2006).

Die höchste Sensitivität unter allen sCJD Subtypen ist für die Subtypen MM2 bzw. MM2-kortikal und VV2 beschrieben (100%; Krasnianski et al. 2006a; Sanchez-Juan et al. 2006; siehe Abbildung 16).

Abbildung 16: Die Sensitivität des S100b-Proteins der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien

Allerdings kann der Wert für MM2 nicht als signifikant bezeichnet werden, da bisher nur 5 bzw. 9 MM2-Patienten auf das S100b-Protein untersucht wurden.

Unter diesem Gesichtspunkt weist das S100b-Protein mit 93% unseres VV2-Kollektives zusammen mit dem MM1-Subtyp (91%) die höchste Sensitivität unter allen Subtypen auf (Sanchez-Juan et al. 2006).

Letztendlich lässt sich durch das S100b-Protein zwar eine tendenzielle Unterscheidung zwischen VV2 und MV2 bzw. VV1 treffen, aber eine Differenzierung in Bezug auf den *klassischen* und den VV2-Subtyp ist dadurch nicht möglich.

In der Literatur wurden S100b-Werte über dem cut-off der CJD bei akuten cerebralen Ischämien und intrakraniellen Blutungen beschrieben (Persson et al. 1987), so dass eine Abgrenzung des VV2-Subtyps allein basierend auf dem S100b-Protein nicht möglich erscheint.

4.2.2.5 Tau-Protein

Das Tau-Protein im Liquor ist bei neurodegenerativen Prozessen wie der CJD erhöht und erreicht bei einem cut-off von mehr als 1300 pg/ml eine Sensitivität von 94% bei einer Spezifität von 90% für die CJD (Otto et al. 2002).

Innerhalb der einzelnen CJD-Formen erreicht die Sensitivität des Tau-Proteins unterschiedliche Werte. Für die sporadische CJD ergibt sich eine Sensitivität von 86% (Sanchez-Juan et al. 2006). Der Median der Tau-Werte unseres Kollektivs der VV2-Fälle lag bei 6620 pg/ml und damit über dem publizierten Median der CJD mit 5024 pg/ml (Otto et al. 2002). Bei 98 % der VV2-Fälle konnte ein cut-off von mehr als 1300 pg/ml gemessen werden.

In der Literatur wird die Sensitivität des Tau-Proteins bei VV2-Patienten nur mit 88% beschrieben. Der Grund für diese Differenz mag an der kleineren Fallzahl liegen. Zudem wird in der Literatur über eine Assoziation zwischen erhöhten Tau-Werten und einer kürzeren Krankheitsdauer berichtet, was auch im Vergleich mit unserem VV2-Kollektiv vereinbar ist (Sanchez-Juan et al. 2006; siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 10).

In den bisher publizierten Studien ist ein Anstieg des Tau-Proteins während des Krankheitsverlaufes der CJD und über einen Abfall im letzten Krankheitsstadium berichtet worden (Jimi et al. 1992). Dies steht im Einklang mit unseren Studienergebnissen. Von unseren 54 Patienten mit einem Tau-Protein, das über dem cut-off der CJD lag, wurden in 7 Fällen Verlaufsuntersuchungen durchgeführt. Zwei Patienten zeigten einen weiteren Anstieg des Tau-Proteins im mittleren Krankheitsstadium, während im späten Krankheitsstadium 4 von 5 Patienten zwar weiterhin einen Tau-Proteinwert über dem cut-off der CJD zeigten, aber die mediane Tau-Konzentration deutlich absank (siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 10).

Eine Abhängigkeit der Sensitivität des Tau-Proteins ist auch von dem vorliegenden *PRNP* Codon 129 sowie dem PrP^{Sc}Typ 1 oder 2 beschrieben (Abbildung 17).

Die niedrigste Sensitivität ergab sich für Heterozygote Träger sowie PrP^{Sc}Typ 2 (Sanchez-Juan et al. 2006; Pennington et al. 2009). Zudem findet sich die

höchste Sensitivität des Tau-Proteins in Patienten des *klassischen* Subtyps im Vergleich zu den atypischen Subtypen (Sanchez-Juan et al. 2006).

Abbildung 17: Die Sensitivität des Tau-Proteins innerhalb der sCJD-Subtypen anhand publizierter Studien

Im direkten Vergleich der verschiedenen in der Literatur angegeben Werte für die Tau-Sensitivität weist unser VV2-Kollektiv die gleiche Sensitivität auf wie die für MM1 mit 98% beschrieben (Sanchez-Juan et al. 2006). Beide zeigen damit die höchsten Werte innerhalb der Subtypen-Population (Abbildung 17).

Das Tau-Protein erreicht bei den atypischen Subtypen weitaus niedrigere Werte, die sich damit zwar gut von den anderen beiden Subtypen unterscheiden lassen, aber eine Abgrenzung zwischen dem *klassischen* Subtyp und VV2 lässt sich durch das Tau-Protein allein nicht ermöglichen (Sanchez-Juan et al. 2006; siehe Abbildung 17).

4.2.2.6 Amyloid- β 1-42

Das Amyloid- β 1-42 (A β 1-42) als Hauptbestandteil von senilen Plaques stellt einen weiteren Liquorparameter zur Unterstützung der Diagnose einer CJD dar. Bei der CJD ergibt sich im Vergleich zu Kontrollen und anderen neurologischen Erkrankungen ein deutlich erniedrigtes Amyloid- β 1-42 (Normwert >450 pg/ml), allerdings weist dieses keinen signifikanten Unterschied zu anderen Demenzen, wie beispielsweise dem Morbus

Alzheimer, auf (van Everbroeck et al. 1999; Otto et al. 2000; van Everbroeck et al. 2003).

In unserem VV2-Kollektiv zeigte sich, dass Amyloid- β 1-42 bei 50% der Fälle unter dem cut-off von 450 pg/ml lag. In einer zweiten Liquorpunktion lag die Sensitivität des Amyloid- β 1-42 nur noch bei 16,6% (siehe Kapitel 3.3.2.2; Tabelle 9). Es lässt sich somit festhalten, dass das Amyloid- β 1-42 ein sehr unspezifischer Marker mit der niedrigsten Sensitivität unter allen Liquorwerten des VV2-Subtyps darstellt, und zur Abgrenzung von VV2 mit den anderen Subtypen wenig hilfreich ist.

Bezogen auf die Subtypen der sCJD kann aufgrund der mangelnden Literaturangaben keine genaue Aussage getroffen werden. Im Vergleich zum MV2-Subtyp, der dem VV2-Subtyp als am ähnlichsten beschrieben wird, weist dieser mit 70% eine höhere Sensitivität des Amyloid- β 1-42 auf (Krasnianski et al. 2006b). Die Tau-Protein-Sensitivität des kortikalen MM2-Subtyps ist hingegen mit 38% vernachlässigbar klein (Krasnianski et al. 2006a).

4.2.3 Apolipoprotein-E (Apo E)-Genotyp

Das ApoE- ϵ 4-Allel ist als Risikofaktor für das Auftreten des Morbus Alzheimers bekannt (Saunders et al. 1993) und geht mit einem erniedrigten A β 1-42-Spiegel im Liquor einher (Galasko et al. 1998; Hulstaert et al. 1999; Tapiola et al. 2000; Smach et al. 2008).

In Bezug auf die CJD wurde zwar eine Assoziation mit ApoE ϵ 4 vermutet (Amouyel et al. 1994; Van Everbroeck et al. 1999), allerdings konnten keine Unterschiede in der ApoE-Genotypverteilung und Allel-Frequenz zwischen CJD-Patienten und Kontrollfällen gefunden werden (Nakagawa et al. 1995; Salvatore et al. 1995; Zerr et al. 1996; Baldeiras et al. 2009; Varges et al. im Druck 2010). Das ApoE- ϵ 4-Allel gilt zwar nicht als Risikofaktor der CJD, allerdings wird ähnlich des Morbus Alzheimer, eine Assoziation mit einem reduziertem Amyloid- β 1-42 im Liquor beschrieben (Varges et al. im Druck 2010). In Übereinstimmung mit der Literatur für gesunde Kontrollen fand sich auch in unserem VV2-Kollektiv der ApoE-Genotyp ϵ 3/ ϵ 3 mit 64,7%, der als die häufigste Form beschrieben wird (Utermann et al. 1982). In 29,4% fand

sich ein $\epsilon 3/\epsilon 4$ Genotyp, der in 75% mit erniedrigtem Amyloid- β 1-42 Werten einherging.

Insgesamt zeigen diese Daten, dass keine Assoziation bezüglich ApoE-Allel - $\epsilon 4$ und VV2 der sCJD aufgezeigt werden kann, dass aber, wie bereits in der Literatur beschrieben, ein Auftreten des ApoE $\epsilon 4$ das Amyloid- β 1-42 im Liquor modifiziert.

4.2.4 Bildgebung

4.2.4.1 Computertomographie (CCT)

Die kraniale Computertomographie (CCT) zeigt erst in fortgeschrittenen Stadien der CJD Veränderungen in Form von allgemeiner Hirnatrophie. Obwohl diese sehr unspezifisch sind (Galvez und Cartier 1984; Schlenska und Walter 1989), stellt das CT eine hilfreiche Methode zum Ausschluss von strukturellen Erkrankungen dar, die eine CJD imitieren können (Finkenstaedt et al. 1996).

In unserem VV2-Kollektiv zeigten sich zu 56,8% unspezifische kortikale Atrophien, die jedoch keine spezielle Lokalisation aufwiesen. Bei zwei Patienten konnten allerdings schon im CCT Basalganglienveränderungen in Form von Verkalkungen beobachtet werden. In 47,7% der Fälle bestand ein unauffälliger CCT-Befund.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass das CCT zwar eine nützliche Methode zur Differenzierung einer CJD von anderen Differenzialdiagnosen darstellt, aber keine Aussage über besondere Merkmale des VV2-Subtyps zulässt und somit die Diagnosefindung nicht unterstützt.

4.2.4.2 Kernspintomographie (cMRT)

Neben der Bestimmung der Liquorproteine 14-3-3 stellte das MRT mit 72% die sensitivste Untersuchungsmethode innerhalb unseres VV2-Kollektivs dar. Ähnlich der Literaturangaben fanden sich die prominentesten Hyperintensitäten in den Basalganglien sowie im cerebralen Kortex inklusive

Thalamus lokalisiert (Zerr et al. 2000b; Fukushima et al. 2004; Pauri et al. 2004; Meissner et al. 2009; Zerr et al. 2009). Mit 73% in der DWI-Wichtung ist die MRT-Sensitivität dieser Studie mit den bisher veröffentlichten Zahlen zwischen 70-77% vergleichbar (Zerr et al. 2000b; Meissner et al. 2009).

Die Studie von Collins et al. zeigt hingegen mit 55% bei VV2 Patienten eine weitaus niedrigere Sensitivität betreffend der Signalerhöhung innerhalb der Basalganglien. Gleichzeitig beschreibt die Studie den VV2-Subtyp neben dem VV1-Subtyp mit einer Sensitivität von 67% im Vergleich zu den restlichen Subtypen als die mit der größten Wahrscheinlichkeit für ein positives MRT (Collins et al. 2006).

Eine andere Studie ergab Basalganglienhyperintensitäten in nur 30% der Fälle, was an der dort untersuchten kleineren Fallzahl und Verwendung der weniger sensiblen T2-Wichtung liegen mag (Meissner et al. 2004).

Im Einklang mit früheren Beobachtungen zeigen sich die prominentesten Basalganglienhyperintensitäten im Putamen sowie im Nucleus caudatus, während das Pallidum weitgehend ausgespart bleibt (Pauri et al. 2004; Meissner et al. 2009; Zerr et al. 2009).

Bisher wurden cerebrale Signalerhöhungen im Kortex für den VV2-Subtyp als limitiert mit Beschränkung auf weniger als 3 kortikale Regionen beschrieben (ca. 40%; Meissner et al. 2009). Im Gegensatz dazu fanden sich in unserer VV2-Studie bei über der Hälfte der untersuchten Patienten kortikale Hyperintensitäten (T2 56%, PD 62%, DWI 73%, FLAIR 100%), die mit 100% in der FLAIR-Wichtung am sensitivsten dargestellt werden konnten. In Übereinstimmung mit der Studie von Meissner et al. (2009) betrafen diese am stärksten den Gyrus cinguli, gefolgt von Frontal- und Parietallappen. Der Okzipitallappen blieb weitgehend ausgespart. Allgemein wird für die CJD eine niedrige Spezifität für den Frontal- sowie dem Parietallappen beschrieben (Zerr et al. 2009).

In der Studie von Zerr et al. wird das Auftreten von Signalerhöhung innerhalb des Nucleus caudatus und Putamen oder in mindestens 2 kortikalen Regionen mit einer Sensitivität von 60% beschrieben (Zerr et al. 2009).

Diese niedrigere Sensitivität des MRTs für VV2 kann mit der deutlich kleineren Kollektivanzahl (15 VV2-Patienten) erklärt werden.

In unserem VV2-Kollektiv zeigte sich eine für die sCJD untypische starke Beteiligung des Hippocampus, die in 57% mit Hilfe der FLAIR-Wichtung identifiziert werden konnte und auch in einer früheren Studie bereits erwähnt wird (Meissner et al. 2009).

In der vorliegenden Studie zeigten sich in 1/3 der VV2-Patienten Hyperintensitäten in weiten Bereichen des Thalamus, die in der Literatur mit bis zu 45% häufiger beobachtet wurden (Fukushima et al. 2004; Pauri et al. 2004; Meissner et al. 2009). Diese fanden sich in unserer Studie am prominentesten im Pulvinar, gefolgt von Nucleus anterolateralis und dorsomedialis, während in der Literatur der Nucleus anterolateralis gefolgt vom Pulvinar mit der stärksten Signalerhöhung beschrieben werden (Meissner et al. 2009).

Im Einklang mit der Literatur konnte in unserem VV2-Kollektiv kein klassisches Pulvinar-sign identifiziert werden.

Das Cerebellum zeigte in unserer Studie in mehr als 50% eine Signalerhöhung im MRT.

In Zusammenschau der klinischen und radiologischen Ergebnisse unserer VV2- Patienten unterstreicht diese Studie die Vermutung, dass Patienten mit einer starken Präsenz von Hyperintensitäten der Basalganglien im MRT eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer rapiden progressiven Demenz zu einem frühen Krankheitsstadium sowie einer kurzen Krankheitsdauer zeigen, als im Vergleich zu sCJD-Patienten ohne typische MRT-Veränderungen. Diese seien eher für das Auftreten depressiver und sensorischen Störungen zu einem frühen Krankheitsstadium prädisponiert (Meissner et al. 2004).

Die Studie von Collins und Kollegen beschreibt den VV2-Subtyp mit der höchsten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines sCJD-typischen MRT, während sie Methionin-Homozygote, vor allem MM1, mit einer deutlich niedrigeren Wahrscheinlichkeit für hyperintense Basalganglien assoziiert sehen. Diese sind, im Kontrast zu VV2, eher mit dem Auftreten von typischen PSWCs im EEG verbunden (Zerr et al. 2000b; Collins et al. 2006).

Insgesamt wird für das Auftreten von Hyperintensitäten im Bereich der Basalganglien oder des Kortex eine Sensitivität für MM1 mit 76,7% bzw. für MV1 mit 100% angegeben, die damit deutlich höher als für VV2 beschrieben liegen (Zerr et al. 2009).

Eine Übersicht über die verschiedenen MRT-Läsionsmuster innerhalb der Subtypen-Population ist in der Abbildung 18 anhand der Studie von Meissner et al. (2009) dargestellt.

Abbildung 18: MRT Läsionsmuster innerhalb der sCJD-Subtypen anhand der Studie von Meissner et al. (2009) im Vergleich zu unserem VV2-Subtyp

Bisher konnte bei dem MM1/MV1 Subtyp weder das Pulvinar-sign noch das Hockey stick-sign im MRT nachgewiesen werden.

Allgemein gestaltet sich eine Differenzierung des *klassischen* von dem VV2-Subtyp mit Hilfe des MRTs als schwierig, da beide eine prominente Beteiligung der Basalganglien und des Kortex aufweisen. Einzig die Beteiligung des Thalamus kann einen Hinweis auf den VV2-Subtyp geben.

Der als VV2 am ähnlichsten bezeichnete MV2-Subtyp unterscheidet sich im MRT in der Verteilung der Hyperintensitäten der kortikalen Regionen. Während in unserem Kollektiv der Gyrus cinguli die stärksten Signalveränderungen zeigt, weisen MV2-Patienten die prominentesten

Signalerhöhungen im Frontallappen auf, wobei der Gyrus cinguli etwas weniger betroffen ist (Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2009). In der Hälfte der MV2-Patienten sind Hyperintensitäten im Okzipitallappen lokalisiert, die in unserer Studie nur bei 3 VV2-Patienten nachweisbar waren. Ein weiterer Unterschied ist die geringe Beteiligung des Hippocampus bei MV2-Patienten, der mit 13% kaum von radiologischen Veränderungen betroffen ist (Krasnianski et al. 2006b). Insgesamt wird das Auftreten von Hyperintensitäten der Basalganglien und Kortex im MRT bei MV2-Patienten mit 100% beschrieben (Zerr et al. 2009).

Im Gegensatz zu VV2 sind die thalamischen Hyperintensitäten überwiegend im Pulvinar, gefolgt von Nucleus mediodorsalis und anterolateralis nachweisbar (Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2009).

Damit zeigen MV2-, gefolgt von VV2- und auch MM2-Patienten unter allen Subtypen der sCJD die stärkste und prominenteste Beteiligung des Thalamus im MRT. Im Gegensatz zu VV2 wurde das für die vCJD-typische Pulvinar-sign in 4 MV2-Patienten beobachtet, unter denen ein einzelner auch das „Hockey-stick sign“ aufwies (Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2009).

Der größte Unterschied zwischen VV2 und MV2 zeigt die radiologische Beteiligung des Cerebellums. Dieses ist im Gegensatz zu VV2 bei MV2-Patienten weitgehend von radiologischen Veränderungen verschont, obwohl der Krankheitsverlauf bei MV2-Patienten - ebenso wie bei VV2 - durch eine ausgeprägte Ataxie geprägt ist (Krasnianski et al. 2006b; Meissner et al. 2009).

Generell zeigen sCJD-Subtypen, die eine Ataxie und subkortikale neuropathologische Veränderungen als Profil (VV2, MV2) demonstrieren, eine höhere Wahrscheinlichkeit für charakteristische Basalganglienveränderungen im MRT (Collins et al. 2006). Die Studie von Meissner et al. beschreibt das MRT als die beste Untersuchungsmethode, um sCJD-Patienten mit einem Valin-homozygoten oder Methionin/Valin-heterozygoten Genotyp zu identifizieren (Meissner et al. 2004).

Anhand des MRTs lässt sich VV2 durch die kortikale Beteiligung des Gyrus cinguli sowie die Aussparung des Okzipitallappens und die starke

radiologische Beteiligung von Hippocampus und Cerebellum gut vom MV2 unterscheiden.

Bei Betrachtung der beiden Untergruppen des MM2-Subtyps unterscheidet sich der früher als „thalamische Variante“ der CJD klassifizierte MM2-thalamic Subtyp am deutlichsten von unserem VV2-Kollektiv. In der Literatur sind bisher nur 5 Patienten der „thalamischen Variante“ beschrieben, die im MRT keine für die sCJD charakteristischen Signalerhöhungen zeigen, sondern nur eine allgemeine Atrophie sowie unspezifische Signalerhöhungen innerhalb der weißen Substanz erkennen lassen. Stattdessen werden charakteristische Hypometabolismen (PET) oder Hypoperfusionen (SPECT) im Thalamus beobachtet (Hamaguchi et al. 2005).

Im Gegensatz dazu präsentiert sich der kortikale MM2-Subtyp mit weitverbreiteten kortikalen Signalerhöhungen im MRT, die hauptsächlich im Temporallappen und frontoparietalen Kortex lokalisiert sind (Hamaguchi et al. 2005; Krasnianski et al. 2006a; Meissner et al. 2009). Im Unterschied zum VV2-Subtyp ist der Gyrus cinguli am wenigsten von Signalerhöhungen betroffen, während der Hippocampus, ähnlich zu VV2, nicht von Hyperintensitäten ausgespart bleibt (Meissner et al. 2009). Zudem lassen sich Hyperintensitäten der Basalganglien bei Patienten des kortikalen MM2-Subtyps nur sehr selten nachweisen und werden in maximal 13% innerhalb der T2-Wichtung beobachtet (Hamaguchi et al. 2005; Krasnianski et al. 2006a; Meissner et al. 2009).

Eine Gemeinsamkeit des kortikale MM2-Subtyp mit dem VV2-Subtyp findet sich in der Signalerhöhung des Cerebellums und des Thalamus, wobei im Kontrast zu VV2 das Pulvinar am prominentesten von Signalveränderungen betroffen ist (Meissner et al. 2009).

Zusammenfassend kann allein durch die prominente Beteiligung der Basalganglien im MRT bei unserem VV2-Subtyp eine sichere Unterscheidung zu MM2 getroffen werden.

Der VV1-Subtyp zeigt mit 86-100% unter allen Subtypen der sCJD die stärkste cerebrale kortikale Beteiligung im MRT (Meissner et al. 2005; Meissner et al. 2009; Abbildung 18).

Hyperintensitäten der Basalganglien, des Thalamus oder des Cerebellums sind in Kontrast zu Valinhomozygoten des PrP^{Sc}-Typ 2 bei Typ 1 typischerweise nicht vorhanden und werden nur in wenigen Ausnahmen beobachtet (Zerr et al. 2000b; Meissner et al. 2004; Meissner et al. 2005; Tanev und Yilma 2008; Meissner et al. 2009).

Zusammenfassend unterscheidet sich der VV1-Subtyp von dem VV2-Subtyp durch die prominenten und weit verbreiteten kortikalen Hyperintensitäten sowie die typischerweise nicht vorhandene radiologische Beteiligung der Basalganglien und des Thalamus. Mit Hilfe des MRTs kann dieser gut von VV2 und den anderen Subtypen der sCJD abgegrenzt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit kann in sechs molekulare Subtypen, basierend auf dem Prionproteintyp (1 oder 2) sowie dem Methionin (M)-/Valin (V)-Polymorphismus am Codon 129 klassifiziert werden. Diese Subtypen determinieren zum einen das klinische Erscheinungsbild sowie die Sensitivität der diagnostischen Untersuchungsmethoden.

Während der *klassische* Subtyp MM1/MV1 eindeutig charakterisiert ist, wurden bisher über den Subtyp VV2 nur wenige Informationen veröffentlicht. Die in Deutschland gemeldeten Verdachtsfälle einer CJD werden seit dem Jahr 1993 an dem Göttinger Referenzzentrum zur Epidemiologie und Früherkennung humaner spongiformer Enzephalopathien systematisch untersucht. In dem Zeitraum von 1993 bis 2009 wurden 60 sCJD-Fälle des VV2-Subtyps diagnostiziert.

Das Ziel dieser retrospektiven Arbeit bestand in der Charakterisierung dieses seltenen VV2-Subtyps der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit unter besonderer Berücksichtigung des klinischen Erscheinungsbildes, des Krankheitsverlaufes und der diagnostischen Methoden wie Kernspintomographie, Elektroenzephalographie sowie Biomarkern aus Liquorproben.

Eine Zusammenfassung der klinischen und diagnostischen Charakteristiken unseres VV2-Subtyps ist in der Abbildung 19 dargestellt.

In dieser Arbeit wurden 34 Frauen und 26 Männer des VV2-Subtyps der sCJD beschrieben. Der Beginn der Krankheit mit 69 Jahren und die Krankheitsdauer mit 5,6 Monaten stimmen mit der *klassischen* sCJD weitgehend überein. Das prominenteste und häufigste Symptom bei Krankheitsbeginn stellt die cerebelläre Gang- und Standataxie dar. Begleitend zeigten sich in allen VV2-Patienten Frontalhirnzeichen, die sich in Form von Aufmerksamkeits- und Antriebsstörungen präsentierten. Im Verlauf traten neben einer progredient verlaufenden Demenz extrapyramidale Symptome und Aphasie hinzu.

Das 14-3-3-Protein und das Tau-Protein wiesen in der Liquordiagnostik die höchste Sensitivität des VV2-Subtyps auf. Im EEG zeigten nur 5 der 60 VV2-Patienten die typischen periodischen Sharp-Wave-Komplexe (PSWCs).

Neben der Bestimmung der Proteine 14-3-3 stellt das MRT eine weitere sensitive Diagnostikmethode des VV2-Subtyps dar. Dort zeigten sich hyperintense Basalganglien und kortikale Hyperintensitäten mit einer Sensitivität von je 73% in der DWI-Wichtung. Thalamische Signalerhöhungen ließen sich in 1/3 unserer VV2-Patienten nachweisen, wobei das für die vCJD typische Pulvinarsign in keinem unserer VV2-Patienten beobachtet werden konnte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das klinische Auftreten einer ausgeprägten Ataxie kombiniert mit Frontalhirnzeichen zu Krankheitsbeginn sowie einer meist innerhalb eines Monats progredient verlaufenden Demenz den Verdacht auf den VV2-Subtyp der sCJD lenken sollte und die Diagnose am besten durch das 14-3-3-Protein im Liquor und die Kernspintomographie unterstützt werden kann.

Abbildung 19: Klinische und diagnostische Charakteristiken des VV2-Kollektivs

6. ANHANG:

Abb. 20: Standardisiertes MRT- Untersuchung- Auswertungsprotokoll

Abbildung 20: Standardisiertes MRT-Untersuchung-Auswertungsprotokoll der
Prionforschungsgruppe Göttingen

C J D / MRI		Nr. _____				
Examination dates: MRI 1 _____ MRI 2 _____						
Quality of scan (1= excellent; 6 = poor) _____ (5 and 6 means exclusion from the study)						
Signal increase (<i>please mark available sequence</i>): Grade of hyperintensity: 0 = white matter, 1 = normal grey, 2 to 4 = pathological hyperintensity						
1. Cortex	T2	Flair	PD	DWI	R >/<= L	
frontal:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
cing. gyr:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
parietal:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
temporal:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
insula:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
occipital:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Hippoc.	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
2. Basal ganglia						
Pallidum:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Putamen:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Caudate	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
3. Thalamus						
AL nuclei:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
DM nuclei:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Pulvinar:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Pulvinar sign:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
4. Cerebellum:	☐	☐	☐	☐	☐ __ ☐	<input type="text"/>
Remarks:						

7. LITERATURVERZEICHNIS

Aitken A (1995): 14-3-3 proteins on the MAP. Trends Biochem Sci 20: 95-97

Alper T, Cramp WA, Haig DA, Clarke MC (1967): Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? Nature 214: 764-766

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

Amouyel P, Vidal O, Launay JM, Laplanche JL (1994): The apolipoprotein E alleles as major susceptibility factors for Creutzfeldt-Jakob disease. The French Research Group on Epidemiology of Human Spongiform Encephalopathies. Lancet 344: 1315-1318

Baldeiras IE, Ribeiro MH, Pacheco P, Machado Á, Santana I, Cunha L, Oliveira CR (2009): Diagnostic value of CSF protein profile in a Portuguese population as sCJD. J Neurol 256: 1540-1550

Beaudry P, Cohen P, Brandel JP, Delasnerie-Laupretre N, Richard S, Launay JM, Laplanche JL (1999): 14-3-3 protein, neuron-specific enolase, and S-100 protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. Dement Geriatr Cogn Disord 10: 40-46

Boesenberg C, Schulz-Schaeffer WJ, Meissner B, Kallenberg K, Bartl M, Heinemann U, Krasnianski A, Stoeck K, Varges D, Windl O, Kretzschmar HA, FRCPPath, Zerr I (2005): Clinical Course in Young Patients with Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. Ann Neurol 58: 533-543

Boesenberg-Grosse C, Schulz-Schaeffer WJ, Bodemer M, Ciesielczyk B, Meissner B, Krasnianski A, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Eigenbrod S, Kretzschmar HA, Green A, Zerr I (2006): Brain-derived proteins in the CSF, do they correlate with brain pathology in CJD? BMC Neurology 6: 35

Bounhar Y, Zhang Y, Goodyer C, LeBlanc A (2001): Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. J Biol Chem 276: 39145-39149

Brandel JP, Heath CA, Head MW, Levavasseur E, Knight R, Laplanche JL, Langeveld JPM, Ironside JW, Hauw JJ, Mackenzie J, Alperovitch A, Will RG, Haik S (2009): Variant Creutzfeldt-Jakob Disease in France and the United Kingdom: Evidence for the Same Agent Strain. Ann Neurol 65: 249-256

Broadie K, Rushton E, Skoulakis E, Davis R (1997): Leonardo, a *Drosophila* 14-3-3 protein involved in learning, regulates presynaptic function. Neuron 2: 391-402

Brown D, Qin K, Herms J, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser PE, Kruck T, von Bohlen A, Schulz-Schaeffer W et al. (1997): The cellular prion protein binds copper in vivo. Nature 390: 684-687

Brown P, Wolff A, Gajdusek DC (1990): A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology 40: 887-890

Brown P, Brandel JP, Preese M, Sato T (2006): Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: the warning of an era. Neurology 67: 389-393

Brownell B, Oppenheimer DR (1965): An ataxic form of subacute presenile poliomyelopathy (Creutzfeldt-Jakob disease). J Neurol Neurosurg Psychiatry 28: 350-361

Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCardle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens S, Fraser H, Bostock CJ (1997): Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 389: 498-501

Cashman N, Loertscher R, Nalbantoglu J, Shaw I, Kascsak R, Bolton D, Bendheim PE (1990): Cellular isoform of the scrapie agent protein participates in lymphocyte activation. *Cell* 61: 185-192

Castellani RJ, Colucci M, Xie Z, Zou W, Li C, Parchi P, Capellari S, Pastore M, Rahbar MH, Chen SG, Gambetti P (2004): Sensitivity of 14-3-3 protein test varies in subtypes of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 63: 436-442

Cepek L, Steinacker P, Mollenhauer B, Wiese B, Ciesielczyk B, Bibl M, Wiltfang J, Zerr I, Schulz-Schaeffer W, Kretzschmar HA, Poser S, Otto M (2005): Follow-Up Investigations of Tau-Protein and S100B Levels in cerebrospinal Fluid of Patients with Creutzfeldt-Jakob Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 19: 376-382

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: 1109-1112

Chazot G, Broussolle E, Lapras C, Blättler T, Aguzzi A, Kopp N (1996): New variant of Creutzfeldt-Jakob disease in a 26-year-old French man. *Lancet* 347: 1181

Chou SM, Martin JD (1971): Kuru-plaques in a case of Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 17: 150-155

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: 592-593

Cohen F, Prusiner S (1998): Pathologic conformations of prion proteins. *Annu Rev Biochem* 67: 793-819

Collinge J, Palmer M (1994): Molecular genetics of human prion diseases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 343: 371-378

Collins SJ, Sanchez-Juan P, Masters CL, Klug GM, van Duijn C, Pileggi A, Pocchiari M, Amonti S, Cuadrado-Corales N, de Pedro-Cuesta J et al. (2006): Determinants of diagnostic investigation sensitivities across the clinical spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 129: 2278-2287

Creutzfeldt HG (1920): Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z Ges 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: 692-693

Finkenstaedt M, Szudra A, Zerr I, Poser S, Hise JH, Stoebner JM, Weber T (1996): MR imaging of Creutzfeldt-Jakob disease. *Radiology* 199: 793-798

Fukushima R, Shiga Y, Nakamura M, Fujimori J, Kitamoto T, Yoshida Y (2004): MRI characteristics of sporadic CJD with valine homozygosity at codon 129 of the prion protein gene and PrPsc type 2 in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 485-487

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

Gajdusek DC, Gibbs CJ, Alpers M (1966): Experimental transmission of a Kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 209: 794-796

Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, Thomas R, Kholodenko D, Schenk D, Liederburg I et al. (1998): High cerebrospinal fluid tau and low amyloid-beta 42

levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. *Arch Neurol* 55:937-945

Galvez S, Cartier L (1984): Computed tomography findings in 15 cases of Creutzfeldt-Jakob disease with histological verification. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 47: 1244-1246

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

Geschwind M, Martindale J, Miller D, De Armond SJ, Uyehara-Lock J, Gaskin D, Kramer JH, Barbaro NM, Miller BL (2003): Challenging the clinical utility of the 14-3-3 protein for the daignosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 60: 813-816

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

Gmitterová K, Heinemann U, Bodemer M, Krasnianski A, Meissner B, Kretzschmar HA, Zerr I (2009): 14-3-3 CSF levels in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease differ across molecular subtypes. *Neurobiol Aging* 30:1842-1850

Goldfarb LG, Brown P, Mitrova E, Cervenakova L, Goldin L, Korczyn AD, Chapman J, Galvez 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: 477-486

Green AJ (2002): Cerebrospinal fluid brain-derived proteins in the diagnosis of Alzheimer`s disease and Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 28: 427-440

Green AJ, Thompson EJ, Stewart GE, Zeidler M, McKenzie JM, MacLeod MA, Ironside JW, Will RG, Knight RS (2001): Use of 14-3-3 and other brain-specific proteins in CSF in the diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70: 744-748

Hadlow WJ (1959): Scrapie and kuru. *Lancet* 1959,2: 289-290

Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kujii I, Mitani K et al. (2005): Clinical diagnosis of MM2-Type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 64: 643-648

Heath CA, Cooper SA, Murray K, Lowman A, Henry C, MacLeod MA, Stewart GE, Zeidler M, MacKenzie JM, Ironside JW et al. (2010): Validation of Diagnostic Criteria for Variant Creutzfeldt-Jakob Disease. *Ann Neurol* 67: 761-770

Heckmann JG, Lang CJ, Petruch F, Druschky A, erb C, Brown P, Neundörfer B (1997): Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease via a corneal transplant. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 63: 388-390

Heinemann U, Krasnainski A, Meissner B, Gloeckner SF, Kretzschmar HA, Zerr I (2007a): Molecular subtype-specific clinical diagnosis of prion diseases. *Vet Microbiol* 123: 328-335

Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Varges D, Kallenberg K, Schulz-Schaeffer WJ, Steinhoff BJ, Grasbon-Frodl EM, Kretzschmar HA, Zerr I (2007b): Creutzfeldt-Jakob disease in Germany: a prospektive 12-years surveillance. *Brain* 130: 1350-1359

Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ, Lee KH, Harrington MG (1996): The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 335: 924-930

Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD et al. (1999): Improved discrimination of Alzheimer`s disease patients using beta-amyloid (1–42) and tau levels in CSF. *Neurology* 52:1555–1562

Ironside JW (2002): Neuropathology of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *CR Biologies* 325: 27-31

Ironside JW, Head MW, Bell JE, McCardle L, Will RG (2000): Laboratory diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Histopathology* 37: 1-9

Jacobi C, Zerr I, Arlt S, Schröter A, Otto M, Poser S (2000): Cerebrospinal fluid pattern in patients with definite Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol* 247: III/ 14

Jacobi C, Arlt S, Reiber H, Westner I, Kretzschmar HA, Poser S, Zerr I (2005): Immunoglobulins and virus-specific antibodies in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neurol Scand* 111: 185-190

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

Jimi T, Wakayama Y, Shibuya S, Nakata H, Tomaru T, Takahshi Y, Kosaka K, Asano T, Kato K (1992): High levels of nervous system-specific proteins in cerebrospinal fluid in patients with early stage of Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Chim Acta* 211: 37-46

Kitamoto T, Shin RW, Doh-ura K, Tomokane N, Miyazono M, Muramoto T, Tateishi J (1992): Abnormal isoform of prion proteins accumulates in the synaptic structures of the central nervous system in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Pathol* 140: 1285-1294

Kohira I, Tsuji T, Ishizu H, Takao Y, Wake A, Abe K, Kuroda S (2000): Elevation of neuron-specific enolase in serum and cerebrospinal fluid of early stage of Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neurol Scand* 102: 385-387

Kostulas VK (1985): Oligoclonal IgG bands in cerebrospinal fluid. Methodological and clinical aspects. *Acta Neurol Scand* 103: 1-112

Kovacs GG, Head MW, Bunn T, Laszlo L, Will RG, Ironside JW (2000): Clinicopathological phenotype of codon 129 valine homozygote sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26: 463-472

Kovacs GG, Trabattoni G, Hainfellher JA, Ironside JW, Knight RS, Budka H (2002): Mutations of the prion protein gene phenotypic – spectrum. *J Neurol* 249: 1567-1582

Kovacs GG, Puopolo M, Ladogena A, Pocciari M, Budka H, van Duijn C, Collins SJ, Boyd A, Giulini A, Coulthart M et al. (2005): Genetic prion disease: the EUROCD experience. *Hum Genet* 118: 166-174

Krasnianski A, Meissner B, Schulz-Schaeffer WJ, Kallenberg K, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Kretzschmar HA, Zerr I (2006a): Clinical Features and Diagnosis of the MM2 Cortical Subtype of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Arch Neurol* 63: 876-880

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

Kretzschmar HA (1993): Neuropathology of human prion disease (spongiform encephalopathies). *Dev Biol Stand* 80: 71-90

Kretzschmar HA, Neumann M (2000): Die neuropathologische Diagnostik neurodegenerativer und demenzieller Krankheiten. *Pathologe* 21: 364-374

Kretzschmar HA, Feiden W (2002): Prionkrankheiten des Menschen. *Pathologe* 23: 241-251

Kretzschmar HA, Prusiner SB, Stowring LE, DeArmond SJ (1986): Scrapie prion proteins are synthesized in neurons. *Am J Pathol* 122: 1-5

Kretzschmar HA, Ironside JW, DeArmond SJ, Tateishi J (1996): Diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 53: 913-920

Ladogana A, Puopolo M, Croes EA, Budka H, Jarius C, Collins S, Klug GM, Sutcliffe T, Giulivi A, Alperovitch A et al. (2005): Mortality from Creutzfeldt-Jakob disease and related disorders in Europe, Australien, and Canada. *Neurology* 64: 1586-1591

Lasmezas CI, Deslys JP, Demaimay R, Adjou KT, Lamoury F, Dormont D, Robain O, Ironside J, Hauw JJ (1996): BSE transmission to macaques. *Nature* 381: 743-744

Leopoldt JG: Der Trab ist auch eine Krankheit der Schafe und ist ansteckend. Fünf Teile. In: Nützliche und auf die Erfahrung gegründete Einleitung zu der Landwirtschaft; Günthern CF; Berlin und Glogau 1759, 344-366

McKinley MP, Meyer RK, Kenaga L, Rahbar F, Cotter R, Serban A, Prusiner SB (1991): Scrapie prion rod formation in vitro requires both detergent extraction and limited proteolysis. *J Virol* 65: 1340-1351

Meissner B, Kortner K, Bartl M, Jastrow U, Mollenhauer B, Schroter A, Finkenstaedt M, Windl O, Poser S, Kretzschmar HA, Zerr I (2004): Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: magnetic resonance imaging and clinical findings. *Neurology* 63: 450-456

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

Meissner B, Kallenberg K, Sanchez-Juan P, Krasnianski A, Heinemann U, Varges D, Knauth M, Zerr I (2008): Isolated Cortical Signal Increase on MR Imaging as a Frequent Lesion Pattern in Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Neuroradiol* 29: 1519-1524

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

Meyer RK, McKinley MP, Bowman KA, Braunfeld MB, Barry RA, Prusiner SB (1986): Separation and properties of cellular and scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 2310-2314

Mollenhauer B, Trenkwalder C, von Ahsen N et al. (2006): Betamyloid 1-42 and tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22: 200-208

Mouillet-Richard S, Ermonval M, Chebassier C, Laplanche JL, Lehmann S, Launay JM, et al. (2000): Signal transduction through prion protein. *Science* 289: 1925-1928

Nakagawa Y, Kitamoto T, Furukawa H, Ogomori K, Tateishi J (1995): Allelic variation of apolipoprotein E in Japanese sporadic Creutzfeldt-Jakob disease patients. *Neurosci Lett* 187: 209-211

Neve RL, Harris P, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon TA (1986): Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Brain Res* 387: 271-280

Nevin S, McMenemey WH, Behrman S, Jones DP (1960): Subacute spongiform encephalopathy – a subacute form of encephalopathy attributable to vascular dysfunction (spongiform cerebral atrophy). *Brain* 83: 519-564

Oesch B, Westaway D, Wälchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE et al. (1985): A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 40: 735-746

Otto M, Stein H, Szudra A, Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, Poser S, Kretzschmar HA, Mader M, Weber T (1997a): S-100 protein concentration in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol* 244: 566-570

Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J, Weber T, Kretzschmar HA, Poser S (1997b): Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 225: 210-212

Otto M, Zerr I, Lantsch M, Weidehaas K, Riedemann C, Poser S (1998): Akinetic mutism as a classification criteria for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 64: 524-528

Otto M, Esselmann H, Schulz-Schaeffer W, Neumann M, Schröter A, Ratzka P, Cepek L, Zerr I, Steinacker P, Windl O, et al. (2000): Decreased levels of Abeta 1-42 in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 54: 1099-1102

Otto M, Wiltfang J, Cepek L, Neumann M, Mollenhauer B, Steinacker P, Ciesielczyk B, Schulz-Schaeffer W, Kretzschmar HA, Poser S (2002): Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 58: 192-197

Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen FE, et al. (1993): Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 10962-10966

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: 767-778

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: 224-233

Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JPM, Ladogana A, Zerr I, Roncaroli F, Cras P, Ghetti B, et al. (2009): Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrP^{Sc} types: an updated classification. *Acta Neuropathol* 118: 659-671

Pauri F, Amabile G, Fattapposta F, Pierallini A, Bianco F (2004): Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease without dementia at onset: clinical features, laboratory tests and sequential diffusion MRI (in an autopsy-proven case). *Neurol Sci* 25: 234-237

Pennington C, Chohan G, Mackenzie J, Andrews M, Will R, Knight R, Green A (2009): The cerebrospinal fluid proteins as early diagnostic markers for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 455: 56-59

Persson L, Hårdemark HG, Gustafsson J, Rundström G, Mendel-Hartvig I, Esscher T, Pålman S (1987): S100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* 18: 911-918

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

Poser S, Zerr I (2002): Klinik, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten der menschlichen Prionerkrankungen. *Internist* 43: 731-737

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;2: 244-246

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

Richardson EP Jr, Masters CL (1995): The nosology of Creutzfeldt-Jakob disease and conditions related to the accumulation of PrP CJD in the nervous system. *Brain Pathol* 5: 33-41

Salvatore M, Seeber AC, Nacmias B, Petraroli R, D'Alessandro M, Sorbi S, Pocciari M (1995): Apolipoprotein E in sporadic and familial Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 199: 95-98.

Sanchez-Juan P, Green A, Ladogana A, Cuadrado-Corrales N, Saánchez-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: 637-643

Sanchez-Juan P, Sánchez-Valle R, Green A, Ladogana A, Cuadrado-Corrales N, Mitrová E, Stoeck K, Sklaviadis T, Kulczycki J, Hess K, et al. (2007): Influence of timing on CSF tests value for Creutzfeldt-Jakob disease diagnosis. *J Neurol*; 254: 901-906

Satoh K, Shirabe S, Eguchi H, Tsujino A, Motomura M, Satoh A, Tsujihata M, Eguchi K (2007): Chronological Changes in MRI and CSF Biochemical Markers in Creutzfeldt-Jakob disease Patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 23: 372-381

Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, Georg-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper –MacLachlan DR, Alberts MJ et al. (1993): Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 43:1467-1472.

Schlenska GW, Walter GF (1989): Serial computed tomography findings in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuroradiology* 31: 303-306

Schroeter 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: 1751-1757

Schulz-Schaeffer WJ, Tschöke S, Kranefuss N, Hause-Reitner D, Giese A, Groschup MH, Kretzschmar HA (2000): The paraffin-embedded tissue blot detects PrP(Sc) early in the incubation time in prion diseases. *Am J Pathol* 156: 51-56

Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, Kido H, Itoyama Y (2006): 14-3-3 protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stages. *J Clin Neurosci* 6: 661-665

Smach MA, Charfeddine B, Lammouchi T, Harrabi I, Ben Othman L, Dridi H, Bennamou S, Limem K (2008): CSF beta-amyloid 1-42 and tau in Tunisian patients with Alzheimer's disease: the effect of APOE epsilon4 allele. *Neurosci Lett* 440:145-149.

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: 7358-7362

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: 1479-1482

Stahl N, Prusiner SB (1991): Prions and prion proteins. *FASEB J* 5: 2799-2807

Stahl N, Baldwin MA, Teplow DB, Hood L, Gibson BW, Burlingame AL, Prusiner SB (1993): Structural studies of the scrapie prion protein using mass spectrometry and amino acid sequencing. *Biochemistry* 32: 1991-2002

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: 162-166

Steinhoff BJ, Kropp S, Riedemann C, Eckardt KM, Herrendorf G, Poser S (1998): Electroencephalographic characteristics of Creutzfeldt-Jakob disease and its differential diagnosis. *Fortschr Neurol Psychiatr* 66: 357-365

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

Stern K (1939): Severe dementia associated with bilateral symmetrical degeneration of the thalamus. *Brain* 62: 157-171

Stoeck K, Hess K, Amsler L, Eckert T, Zimmermann D, Aguzzi A, Glatzel M (2008): Heightened incidence of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease is associated with a shift in clinicopathological profiles. *J Neurol* 255: 1464-1472

Tanev SK, Yilma M (2008): An unusually presenting case of sCJD - The VV1 subtype. *Clin Neurol Neurosurg* 111: 282-291

Tapiola T, Pirttilä T, Mehta PD, Alafuzoff I, Soininen H (2000) : Relationship between apoE genotype and CSF beta-amyloid (1-42) and tau in patients with probable and definite Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 21: 735-740.

Tourtellotte WW: The cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1985, 79-130

Utermann G, Steinmetz A, Weber W (1982): Genetic control of human apolipoprotein E polymorphism: comparison of one- and two-dimensional analysis. *Hum Genet* 60: 344-351.

Van Everbroeck B, Green AJ, Pals P, Martin JJ, Cras P (1999): Decreased levels of amyloid-beta 1-42 in cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients. *J Alzheimers Dis* 1: 419-424

Van Everbroeck B, Quoilin S, Boons J, Martin JJ, Cras P (2003): A prospective study of CSF markers in 250 patients with possible Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74: 1210-1214

Van Hemert M, Steensma H, van Heusden G (2001): 14-3-3 proteins: key regulators of cell division, signalling and apoptosis. *Bioessays* 10: 936-946

Varges D, Jung K, Gawinecka J, Heinemann U, Schmitz M, von Ahsen N, Krasnianski A, Armstrong VW, Zerr I (2010): Apolipoprotein E genotype modifies biomarker levels in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Alzheimer's Disease*, im Druck

Vassallo N, Herms J (2003): Cellular prion protein function in copper homeostasis and redox signalling at the synapse. *J Neurochem* 86: 538-544

Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, Campbell TA, Desbruslais M, Luthert PJ, Collinge J (2001): Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 358: 171-180

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

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

Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith PG (1996): A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347(9006): 921-925

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

Xiao B, Smerdon SJ, Jones DH, Dodson GG, Soneji Y, Aitken A, Gamblin SJ (1995): Structure of a 14-3-3 protein and implications for coordination of multiple signalling pathways. *Nature* 6536: 188-191

Zeidler M, Johnstone EC, Bamber RW, Dickens CM, Fisher CJ, Francis AF, Goldbeck R, Higgo R, Johnson-Sabine EC, Lodge GJ, et al. (1997): New variant Creutzfeldt-Jakob disease: psychiatric features. *Lancet* 350: 908-910

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

Zerr I, Bodemer M, Racker S, Grosche S, Poser S, Kretzschmar HA, Weber T (1995): Cerebrospinal fluid concentration of neuron-specific enolase in diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 345: 1609-1610

Zerr I, Bodemer M, Otto M, Poser S, Windl O, Kretzschmar HA, Gefeller O, Weber T (1996): Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease by two-dimensional gel electrophoresis of cerebrospinal fluid. *Lancet* 348: 846-849

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

Zerr I, Schulz-Schaeffer WJ, Giese A, Bodemer M, Schröter A, Henkel K, Tschampa HJ, Windl O, Pfahlberg A, Steinhoff BJ, et al. (2000b): Current Clinical Diagnosis in Creutzfeldt-Jakob disease: Identification of Uncommon Variants. *Ann Neurol* 48: 323-329

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

DANKSAGUNG

Ich danke meiner Doktormutter und Leiterin des Göttinger Referenzzentrums für Prionerkrankungen Frau Professor Dr. I. Zerr und der Betreuerin meiner Doktorarbeit Frau Dr. D. Varges, die mein Forschungsprojekt stets durch ihre Ideen, ihre Anregungen und ihre konstruktive Kritik bereicherten.

Ich danke den wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen Frau J. Ehrlich und Frau M. Schneider-Dominco, an die ich mich jederzeit bezüglich organisatorischer oder administrativer Fragestellungen wenden konnte.

Ich danke den Medizinisch-Technischen Assistenten des Göttinger Prionreferenzzentrums Frau B. Ciesielczyk und Frau K. Hermann, die die Liquoruntersuchungen meines Forschungsprojektes durchführten.

Herzlicher Dank gilt dem Neuropathologen Herrn Dr. W. Schulz-Schaeffer und dem Neuroradiologen Herrn Dr. K. Kallenberg, die mir in der neuropathologischen und neuroradiologischen Befundung der sCJD-Patienten- Daten nach den geltenden CJD-Kriterien halfen.

Ich danke dem nationalen CJD-Referenzzentrum der Ludwig-Maximilians-Universität in München, vor allem Herrn Professor Dr. H.A. Kretzschmar und Frau Dr. L. de Boni für die enge Zusammenarbeit und Unterstützung bei der neuropathologischen Datenzusammentragung.

Weiterhin danke ich den Mitarbeitern der Statistik der Georg-August-Universität Göttingen, die mir bei den Berechnungen und dem Erstellen der Diagramme behilflich waren.

Und nicht zuletzt danke ich den wissenschaftlichen Mitarbeitern des Referenzzentrums der Universität-Göttingen, insbesondere Frau K. Tracht und Frau A. Schütz, für ihre Mitarbeit an den Untersuchungen und der Datenerhebung, ohne die meine Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre.