

## **2 Einleitung**

### **2.1 Einführung**

Seit dem vermehrten Auftreten der Rinderseuche BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie) ist eine Gruppe von Krankheiten verstärkt ins Blickfeld geraten, die unter dem Begriff übertragbare spongiforme Enzephalopathien (TSE; Transmissible Spongiforme Enzephalopathie) zusammengefasst werden. Dabei handelt es sich um neurodegenerative Erkrankungen von Menschen und Tieren, die sich nach langer Inkubationszeit (oft viele Jahre) durch eine massive Schädigung von Nervenzellen, Gliosen, Amyloidablagerungen und eine im Mikroskop schwammartig erscheinende Vakuolisierung des Gehirnes auszeichnen (Budka et al., 1995).

Neben BSE bei Rindern gibt es auch bei anderen Tieren vergleichbare Erkrankungen. Die Krankheit Scrapie wurde im 18. Jahrhundert erstmals bei Schafen und Ziegen beschrieben. Vereinzelte Ausbrüche der übertragbaren Nerz-Enzephalopathie (TME, Transmissible Mink Encephalopathy) wurden vorwiegend in den Vereinigten Staaten beobachtet. Die 'Chronic Wasting Disease' (CWD) kommt bei Maultierhirschen und Elchen in den USA und in Kanada vor. Beim Menschen kennt man die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK oder im Englischen CJD, Creutzfeldt-Jakob-Disease), das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) und die Kuru sowie die tödliche familiäre Schlaflosigkeit (FFI, Fatal familial insomnia). Inzwischen ist für nahezu alle TSE-Formen die Übertragbarkeit von einem Individuum auf ein anderes belegt. Alle genannten TSE-Erkrankungen führen zu schweren Gehirnfunktionsstörungen und schließlich auch zum Tod.

Bisher gibt es keine Therapeutika, die die Heilung einer TSE ermöglichen. Allerdings gibt es verschiedene Ansätze aus der Forschung, mit deren Hilfe man an der Entwicklung von Medikamenten arbeitet.

### **2.2 Die Natur des Erregers der TSE**

Besonders auffällig an TSEs ist die ungewöhnliche Natur ihrer Erreger.

Lange Zeit ging man davon aus, dass ein langsames Virus („slow virus“) (Gajdusek, 1977) der Auslöser von Scrapie und den anderen TSE-Erkrankungen ist. Ein Indiz dafür war die Tatsache, dass es bei einigen Krankheiten verschiedene Erregerstämme gibt, die sich in ihrem Wirtsspektrum, Symptomen und Krankheitsverlauf, Inkubationszeiten

und neuropathologischen Veränderungen sowie in ihrer Resistenz gegenüber physikalischen und chemischen Desinfektionsverfahren unterscheiden (Kimberlin et al., 1983; Bruce und Dickinson, 1987; Bruce und Fraser, 1991).

Gegen die Virus-Hypothese spricht aber, dass der infizierte Organismus keine Immunantwort zeigt und bis jetzt keine Nukleinsäure eines Virus, das die Krankheit auslöst, gefunden werden konnte (Akowitz et al., 1994; Narrang, 1994; Özel und Diringer, 1994).

Ein weiteres Argument gegen die Virus-Hypothese ist die Tatsache, dass der Erreger sich in vielen Versuchen als ungewöhnlich resistent gegen herkömmliche formaldehyd- oder alkoholhaltige Desinfektionsmittel, gegen ultraviolette und ionisierende Strahlung, sowie gegen große Hitze erwiesen hat (Gibbs et al., 1978; Tateishi et al., 1980; Kimberlin et al., 1983; Brown et al., 1990; Safar et al., 1993; Taylor et al., 1996; Somerville et al., 2002). Mit nukleinsäurezerstörenden Behandlungen konnte man den Erreger nicht inaktivieren, (Alper et al., 1967, Prusiner et al., 1980, McKinley et al., 1983), mit Protein denaturierenden Methoden dagegen gelang dies (Prusiner et al., 1981; Prusiner, 1982, Schulz-Schaeffer, 2002). So gilt die Existenz eines TSE-verursachenden Virus heute als eher ausgeschlossen (Aiken und Marsh, 1990; Alper, 1993), wenn auch nicht gänzlich widerlegt (Diringer, 1994; Schulz-Schaeffer, 2002). Nachdem ihre Bestrahlungsversuche keine Wirkung zeigten, äußerte die Wissenschaftlerin T. Alper aus Großbritannien bereits 1967 die Vermutung, dass sich der Erreger ohne Nukleinsäure vermehren könnte.

In den achtziger Jahren griff der US-Amerikaner Stanley Prusiner eine These von Griffith auf, der 1967 ein sich vermehrendes Zellmembraneiweiß als Erreger vorschlug (Griffith, 1967) und formulierte die so genannte Prion-Hypothese.

## 2.3 Die Prion Hypothese

1980 konnte Prusiner zeigen, dass die Hauptkomponente des Erregers aus Protein besteht (Prusiner et al., 1980). Er konnte seine Erkenntnisse anhand eines Tiermodells gewinnen, das zu dieser Zeit etabliert wurde. Mit Hilfe dieses Hamstermodells war es möglich, den Erreger zu vermehren und durch gezielte Aufreinigungen genauere Erkenntnisse über seinen Aufbau und seine Eigenschaften zu gewinnen.

1982 postulierte Prusiner dann die Prion-Hypothese (Prusiner, 1982) und damit die Existenz einer neuen Erregerklasse. Er definierte das Prion als **proteinartiges infektiöses Agens**, welches sich von anderen Erregern wie Viren darin unterscheidet, dass es keine Nukleinsäuren enthält. (Aufgrund der besseren Aussprechbarkeit wurde der Begriff Prion und nicht der Begriff Proin verwendet.)

Die Hauptkomponente des Prions ist inzwischen bekannt und weitgehend charakterisiert, das so genannte Prion-Protein (PrP). Untersuchungen von Prusiner (1984), Oesch (1985) und Cheseboro (1985) zeigten, dass das PrP-Gen (*PRNP* beim Menschen, *Prnp* bei Tieren) nicht in den Prionen, sondern in den Chromosomen der untersuchten Wirtstiere residiert (Prusiner, 2001). Das zellulär vorkommende Prion-Protein (PrP<sup>C</sup>, wobei das C für Zellulär (cellular) steht) ist nicht infektiös und lässt sich durch Proteasen vollständig abbauen. Im Gegensatz dazu ist das Prion-Protein, das aus dem Gehirn infizierter Tiere isoliert werden kann und mit Infektiosität assoziiert ist, relativ resistent gegen den Abbau durch Proteasen. Deshalb gibt es neben der Bezeichnung PrP<sup>Sc</sup> (Sc steht dabei für Scrapie, wird jedoch auch für das infektiöse Prion-Protein bei anderen TSE-Erkrankungen verwendet) auch den biochemisch orientierten Begriff PrP<sup>res</sup> (resistent). Da beim Verdau durch Proteinase K ein um ca. 68 Aminosäuren (AS) N-terminal verkürztes, immer noch erregerassoziiertes Protein mit einem Molekulargewicht von 27-30 kDa entsteht (Prusiner et al.; 1982a, McKinley et al., 1983), spricht man dabei vom PrP 27-30. PrP<sup>C</sup> und PrP<sup>Sc</sup> unterscheiden sich in ihrer Aminosäuresequenz nicht, und auch die kovalenten Modifikationen weisen keine Unterschiede auf (Stahl et al., 1993). Daraus lässt sich ableiten, dass das infektiöse Prion-Protein PrP<sup>Sc</sup> ein Strukturisomer des PrP<sup>C</sup> ist. In zahlreichen Versuchen wurde eine enge Korrelation zwischen der Infektiosität und dem Prion-Protein festgestellt (McKinley et al., 1983; Race et al., 2001).

Das pathologische Prion-Protein ist nach Prusiner (1982) essentieller Bestandteil des übertragbaren Agens oder gar mit ihm identisch. Nach der Prion-Hypothese, für die Stanley Prusiner 1997 den Nobelpreis erhalten hat, kann ein Organismus nur dann

infiziert werden, wenn er selbst das nicht infektiöse, physiologische PrP<sup>C</sup> exprimiert. Versuche mit Prion-Protein-knockout-Mäusen (Prnp<sup>0/0</sup>), die kein endogenes PrP<sup>C</sup> bilden, zeigten, dass diese Tiere im Gegensatz zu normalen Wildtyp Mäusen nicht mit einer TSE infiziert werden konnten (Büeler et al., 1993; Sailer et al., 1994). Dabei entwickelten sich unbehandelte Prnp<sup>0/0</sup> Mäuse äußerlich normal (Büeler et al., 1992), obwohl elektrophysiologische (Colling et al., 1996) und biochemische (Keshet et al., 1999) Veränderungen, im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen beobachtet werden konnten. Um sicherzustellen, dass die Resistenz gegen Scrapie tatsächlich die Konsequenz der gezielten genetischen Intervention war, wurden in diese Mäuse wieder PrP-codierende Gene eingeschleust. Das führte zu einem höheren Expressionsniveau von PrP<sup>C</sup>, und die Mäuse wurden wieder für die Krankheit empfänglich (Weissmann et al., 2001). Je höher der PrP<sup>C</sup> Gehalt im Gehirn der Tiere war, desto kürzer war die Inkubationszeit (Fischer et al., 1996).

## 2.4 Das Prion-Protein

Das Prion-Protein ist ein lösliches Protein mit einem Molekulargewicht von 33-35 kDa (je nach Glykosilierung) (Oesch et al., 1985) und wird in seiner normalen zellulären Isoform (PrP<sup>C</sup>) in vielen Säugetierspezies u.a. auf neuronalen und lymphoiden Zellen exprimiert (Oesch et al., 1985, Kretschmar et al., 1986, Bendheim et al., 1992; Cohen und Prusiner 1998; Beekes und Kurth, 2002). PrP<sup>C</sup> ist u.a. in den Caveolae-ähnlichen Domänen von Nervenzellen zu finden (Taraboulos et al., 1995; Vey et al., 1996).

Da das Protein in einer Vielzahl von Zellen und in unterschiedlichen Geweben wie Gehirn (DeArmond et al., 1987, Bruce et al., 1989, 1994, Ford et al., 2001, Nakamura et al., 2002), Verdauungstrakt (Shmakov et al., 2000; Lemaine-Vieille et al., 2000, Pammer et al., 2000), Niere (Manson et al., 1992; Fournier et al., 1998), Lymphoretikulärsystem (McBride et al., 1992; Fournier et al., 1998; Ritchie et al., 1999, Brown et al., 2000), Lunge (Bendheim et al., 1992), Muskeln (Brenner et al., 1992, Brown et al., 1998, Gohel et al., 1999) Nebennieren, Leber, Hoden, Bauchspeicheldrüse, Schilddrüse und Speicheldrüsen (McBride et al., 1992; Farquhar et al., 1994, Brown et al., 2000) vorkommt, scheint es verschiedene Funktionen zu erfüllen, die aber noch nicht geklärt sind. Es wird vermutet, dass es eine Rolle bei der Embryonalentwicklung (Mobley et al., 1988), Differenzierung der Neuronen (Steele et al., 2006; Wion et al., 1988), Lymphozytenaktivierung (Cashman et al., 1990), Synapsenfunktion (Collinge et al., 1994), Schlaf-Wach-Rhythmus (Tobler et al., 1996), Gentransskription (Yehiely et al., 1997) und Kupferhaushalt (Brown et al., 1997, 1998, 1999; Pauly und Harris, 1998; Miura et al., 1999) spielt.

Durch chronische Krankheiten wie renale Insuffizienz kann der PrP<sup>C</sup>-Spiegel im Blut signifikant erhöht sein (Starke et al., 2006). Untersuchungen von Steele haben gezeigt, dass es keinen morphologischen Unterschied im Gehirn zwischen PrP Knockout-, Wildtyp- und PrP überexprimierenden Mäusen gibt (Steele et al., 2006), während die Abwesenheit von PrP<sup>C</sup> bei PrP Knockout-Mäusen einen Einfluss auf die T-Zell Proliferation hat (Ballerini et al., 2006).

Das primäre Translationsprodukt besteht je nach Tierart aus rund 250 Aminosäuren. Die Übereinstimmung der AS-Sequenz der Prion-Proteine verschiedener Säugetiere untereinander beträgt etwa 90 Prozent (Schätzl et al., 1995). Auch innerhalb der Gruppe der Vögel ist die Sequenz hochkonserviert, aber zwischen Vögeln und Säugetieren unterscheidet sie sich erheblich (Wopfner, et al., 1999).

Das PrP<sup>C</sup> wird nach der ribosomalen Synthese mit Hilfe seines Signalpeptids in das Endoplasmatische Retikulum (ER) transportiert. Dort wird beim Eintritt die 22 AS-lange N-terminale Signalsequenz abgetrennt. Nachdem am C-terminalen Ende ein 23 AS-langer Bereich abgetrennt wurde, wird ein Glykophosphatidylinositol- (GPI-) Anker am Serin 231 angehängt (Bolton et al., 1985; Safar et al., 1990). Weitere posttranslationale Modifikationen erfolgen im Golgi-Apparat. Dabei handelt es sich um die Ausbildung einer Disulfidbrücke zwischen Cystein 181 und 197 (Turk et al., 1988), die das Molekül stabilisiert, sowie zwei Glykosilierungen (Endo et al., 1989). Man kann daher die diglykosilierte, monoglykosilierte und nicht-glykosilierte Form unterscheiden (Meyer et al., 1986). Die beiden Glykosilierungsstellen bilden die Grundlage für die Glykoform-Verteilung und werden zur Charakterisierung unterschiedlicher TSE-Formen genutzt (Prusiner, 1998). Das PrP wird an die Zelloberfläche transportiert und mit dem GPI-Anker in der Zellmembran verankert (Weissmann et al. 2002).

## 2.5 Struktur des Prion-Proteins

Für die Bestimmung der räumlichen Struktur eines Makromoleküls wie PrP ist es nötig, dass das Protein in homogener gelöster oder kristallisierter Form vorliegt. Da PrP<sup>Sc</sup> als eine abnormale oligomere und aggregierte Form des PrP<sup>C</sup> sich nicht in Wasser oder anderen Flüssigkeiten lösen lässt, ohne dabei seine Infektiosität zu verlieren, und sich auch nicht kristallisieren lässt, ist seine Strukturaufklärung mit den derzeit vorhandenen Methoden nicht möglich.

Durch verschiedene Verfahren wie CD (Circular Dichroism) (Pan et al., 1993) und FTIR (Fourier Transform Infrarot) Spektroskopie (Baldwin et al. 1994) ist dennoch Information über die Struktur des PrP<sup>C</sup>-Moleküls zu erhalten. Drei  $\alpha$ -Helices machen den Hauptteil des Moleküls aus (40%). Der Rest besteht aus unstrukturierten Regionen (einschließlich eines langen Octapeptid-Repeats zwischen den Positionen 51 und 91) und einem kleinen Teil  $\beta$ -Faltblatt Strukturen (ungefähr 3%) (Caughey et al., 1991; Safar et al., 1993; Pan et al, 1993; Prusiner 1998).

In NMR-Strukturanalysen (nuclear magnetic resonance) konnte bisher nur rekombinantes PrP<sup>C</sup> (rPrP) bzw. seine C-terminale Domäne PrP(121-231) untersucht werden, da diese im Gegensatz zu PrP<sup>Sc</sup> löslich sind. NMR-Strukturanalysen wurden u.a. für das rekombinante PrP der Maus (mPrP) (Riek et al., 1996; 1997, Billeter et al., 1997; Hornbach et al., 1997, Riek et al., 1998), des Hamsters (SHaPrP) (James et al., 1997; Donne et al., 1997, Liu et al., 1999), Rind (Lopéz et al., 2000) und Mensch (hPrP) (Zahn et al., 2000) durchgeführt. In allen Spezies zeigten sich drei Helices. Zusätzlich konnte eine kurze antiparallele Faltblattstruktur gefunden werden. Die dreidimensionalen Strukturen der verschiedenen Spezies ähneln sich im strukturierten C-terminalen Bereich sehr. Gewisse Unterschiede treten in der Helix 3 auf. Bei der Maus endet die Helix 3 in einem helixähnlichen Turn, Mensch und Hamster weisen dagegen eine reguläre Helix auf (Zahn et al., 2000). Der N-terminale Bereich zeigt keine Sekundärstrukturmerkmale und gilt als hochflexibel (Donne et al., 1997).

Während das PrP<sup>C</sup> fast ausschließlich in der  $\alpha$ -helikalen Struktur vorliegt (42%  $\alpha$ -Helices, 3%  $\beta$ -Faltblätter), zeigt das PrP<sup>Sc</sup> überwiegend  $\beta$ -Faltblattstrukturen (30%  $\alpha$ -Helices, 43%  $\beta$ -Faltblätter). Nach Protease Behandlung sinkt der Anteil der  $\alpha$ -Helices sogar auf 21%, während der Anteil an  $\beta$ -Faltblattstrukturen auf 54% steigt. Anscheinend geht die Umwandlung von PrP<sup>C</sup> zu PrP<sup>Sc</sup> mit einer Umwandlung von  $\alpha$ -Helices in  $\beta$ -Faltblätter einher (Caughey et al., 1991, Pan et al., 1993, Safar et al., 1993). In dieser  $\beta$ -Faltblattstruktur aggregiert das PrP<sup>Sc</sup> und erreicht dadurch eine gewisse Resistenz

gegenüber dem Abbau durch körpereigene Proteasen. Diese fehlgefalteten, pathologischen Prion-Proteine „vermehren“ sich nach der Prion-Hypothese indem sie eine Konformationsänderung der normalgefalteten zellulären Prion-Proteine ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) induzieren (Weissmann, 1991).

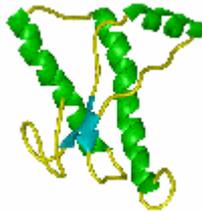


Abb. 1 aufgelöste Struktur von  $\text{PrP}^{\text{C}}$

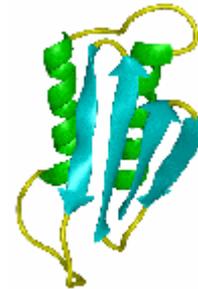


Abb. 2 Ein Modell für fehlgefaltetes  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$

Quellen:

[http://www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session1/group42/prp\\_structure.htm](http://www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session1/group42/prp_structure.htm) (Abb.1)

[http://www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session1/group42/prpsc\\_structure.htm](http://www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session1/group42/prpsc_structure.htm) (Abb.2)

## 2.6 Die Replikation des Prion-Proteins

Für die Prion-Replikation werden im Wesentlichen zwei Modelle diskutiert.

Nach dem Heterodimer Modell von Prusiner (1991) lagern sich ein  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -Molekül und ein  $\text{PrP}^{\text{C}}$ -Molekül zu einem so genannten Heterodimer zusammen. Dieses Heterodimer wird dann zu einem Homodimer umgelagert, welches aus zwei  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  Molekülen besteht. Wenn diese Moleküle dissoziieren, können beide Moleküle weitere  $\text{PrP}^{\text{C}}$ -Moleküle zur Umfaltung bringen. Es handelt sich also um einen katalytischen Prozess. Das krankheitsauslösende  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  kann dabei von außen eingebracht werden (iatrogene Infektion bzw. orale Aufnahme), oder spontan gebildet (spontane oder familiäre Formen der TSEs)  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  sein. Durch eine vererbte Veränderung der PrP-Sequenz oder eine somatische Mutation im PrP-Gen steigt die Wahrscheinlichkeit für eine spontane Umlagerung aufgrund der geringeren thermodynamischen Stabilität des mutanten  $\text{PrP}^{\text{C}}$ -Moleküls (Eigen 1996; Riesner, 2001).

Das von Lansbury vorgeschlagene Nukleations-Polymerisationsmodell unterscheidet sich von Prusiners Heterodimer-Modell dadurch, dass bei ihm nicht ein einzelnes  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -Molekül infektiös ist, sondern dass erst ein Aggregat aus vielen  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -Molekülen eine praktisch unumkehrbare Umwandlung von  $\text{PrP}^{\text{C}}$  zu  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  bewirkt und somit die Krankheit

auslösen kann. PrP<sup>Sc</sup>-Monomere, die im Gleichgewicht mit PrP<sup>C</sup> stehen, können an ein Aggregat aus mehreren PrP<sup>Sc</sup>-Molekülen angelagert und dadurch stabilisiert werden. Einzelne PrP<sup>Sc</sup>-Aggregate können dann wieder dissoziieren. Das thermodynamische Gleichgewicht der Bildung von PrP<sup>Sc</sup> liegt auf der Seite des PrP<sup>C</sup>, so dass sich mit abnehmender Wahrscheinlichkeit Dimere, Trimere und Oligomere bilden können, deren Gleichgewichte ebenfalls immer auf der Seite der kleineren Aggregate liegen. Erst wenn sich ein so genannter Nukleus (genauer ein „Kristallisationskeim“) aus vielen PrP<sup>Sc</sup>-Molekülen gebildet hat, ist ein stabiler Zwischenzustand erreicht, von dem aus das Keimwachstum den Zerfall überwiegt (Riesner, 2001).

## **2.7 Strukturisomere des pathologischen Prion-Proteins in Wirtsorganismen der gleichen Spezies**

In bestimmten Wirtsspezies können mehrere, unterschiedliche pathologische Prion-Stämme vorkommen (Bruce und Fraser, 1991), bei denen sich die Krankheit mit unterschiedlichen Inkubationszeiten und unterschiedlichem Ablagerungsmuster der Prion-Proteine im Gehirn darstellt. Da bisher keine Erregerspezifische Nukleinsäure gefunden werden konnte, wurde dies einer unterschiedlichen Konformation und/ oder Aggregation des PrP<sup>Sc</sup> zugeschrieben (Caughey et al. 1998; Safar et al. 1998). Die unterschiedliche Struktur der infektiösen Prion-Proteine bei den verschiedenen Stämmen bewirkt auch eine unterschiedlich stark ausgeprägte Sensitivität gegenüber verschiedenen Proteinasen. Durch diese unterschiedlich starke Sensitivität lassen sich nach Safar (1998) möglicherweise die Unterschiede bei der Inkubationszeit erklären. Eine funktionelle Rolle bei der Aufrechterhaltung der verschiedenen Stämme und für die Effizienz, mit der der Erreger die Spezies-Barriere überwinden kann, scheinen dabei die Glykosilierungen des PrP zu spielen (Lawson et al., 2005).

## 2.8 Tierische TSEs

### 2.8.1 Scrapie

Scrapie ist die am längsten bekannte TSE im Tierreich. Sie kommt bei Schafen und Ziegen vor und ist bereits seit dem 18. Jahrhundert bekannt. Die älteste bekannte Beschreibung dieser Krankheit stammt aus dem Jahre 1732 (M'Gowan, 1914), eine detaillierte Beschreibung der Krankheit in Deutschland lieferte 1759 Leopoldt (Leopoldt, 1759). 1898 beschrieben die Forscher Besnoit und Morel erstmals charakteristische Läsionen in den Gehirnen verendeter Tiere (Besnoit und Morel, 1898).

1938 zeigten Cuillé und Chelle, dass Scrapie eine übertragbare Infektionskrankheit ist, indem sie gesunde Tiere mit dem Hirnmaterial von Schafen, die an Scrapie verendet waren, intrazerebral infizierten (Cuillé und Chelle, 1938). Nach einer ungewöhnlich langen Inkubationszeit von 15 bis 22 Monaten erkrankten die Tiere.

Scrapie leitet sich aus dem Englischen „to scrape = kratzen“ ab, da die Tiere im fortgeschrittenen Stadium ein vermehrtes Kratzen und Scheuern zeigen. Im Deutschen wird die Krankheit auch Traberkrankheit genannt, da die Tiere einen stakenden Gang zeigen, der an das Traben erinnert. Die französische Bezeichnung "la tremblante" beruht ebenfalls auf der Beobachtung, dass Störungen der Körperkoordination und beim Laufen auftreten, die auf eine Erkrankung des Kleinhirns hindeuten.

Da Scrapie schon relativ lange erforscht wird und die komplexeste „Epidemiologie“ der Prionenkrankheiten hat, gilt die Krankheit als Archetyp aller TSE bei Menschen und Tieren. Aber erst durch die Übertragung des Scrapieerregers auf kleine Nager als Versuchstiere in den sechziger (auf die Maus [Chandler, 1961]) und siebziger Jahren (auf den Hamster [Marsh und Kimberlin, 1975]) konnte die Krankheit umfassender erforscht werden, da diese Tiere leichter und in größerer Stückzahl zu halten sind als Schafe. Zudem sind ihre Inkubationszeiten deutlich kürzer. Außerdem ist die genetische Manipulation bei Mäusen relativ einfach, so dass verschiedene Mausstämme zur Untersuchung unterschiedlicher Fragestellungen gezüchtet werden können. Neben Prnp<sup>0/0</sup> Mäusen gibt es u.a. auch Mäuse, die das Prion-Protein überexprimieren (Chaffin et al., 1990; Yamada et al., 1991).

Der Scrapieerreger konnte zwar in einigen Experimenten auf Zellkulturen übertragen werden (Rubenstein et al., 1994; Daude et al., 1997), eine effektive, hochtitrige Kultivierung war bisher jedoch in keinem System erfolgreich (Collee und Bradley, 1997). Inzwischen ist bekannt, dass es einen starken genetischen Einfluss auf die

Empfänglichkeit für Scrapie gibt. Der Einfluß des PrP-Genotyps kann dabei innerhalb von Herden und Rassen variieren (Cloucard et al., 1995; Bossers et al., 1996; Hunter et al., 1996; Dawson et al., 1998). Die Empfänglichkeit der Schafe für Scrapie kann auch vom Scrapie Isolat (Foster & Dickinson, 1988; Foster et al., 1993; Goldmann et al., 1994) bzw. vom Scrapie-Stamm abhängen (Dawson et al., 1998). Diverse Erregerstämme konnten aus dem in den 40er bis 70er Jahren in Großbritannien verwendeten Erregerpool aus Hirnmaterial von drei an Scrapie erkrankten Schafen, dem „Scrapie Sheep Brain Pool“ (SSBP/1) isoliert werden. Sie unterscheiden sich in einem differenzierten Erscheinungsbild (Bruce und Fraser, 1991; Bruce et al., 1997). Durch Übertragung auf Mäuse durch Chandler (1961) konnten insgesamt neun verschiedene Scrapie-Stämme identifiziert werden. Und inzwischen sind mehr als 20 Scrapie-Stämme in der Maus bekannt (Bruce, 2003).

Die Scrapieerreger konnten bisher in vielen Organen der Schafe, z.B. in Plazenta, Milz, Gehirn und Lymphknoten gefunden werden (Race et al., 1998).

Scrapie wird im Feld horizontal und vertikal übertragen, dabei kommt für die Übertragung u.a. Plazentamaterial in Betracht, da dieses viel infektiöses PrP<sup>Sc</sup> enthält (Race et al. 1998; Tuo et al., 2002). In zahlreichen Versuchen hat sich der Hamster als gutes Modell für die Ausbreitung von Scrapie im Schaf dargestellt. 1999 haben Maignien und Kollegen aus ihren Untersuchungen von Scrapie am Schaf und dem Nachweis von PrP<sup>Sc</sup> im Darmgewebe gefolgert, dass auch eine Übertragung über infektiöse Fäzes in Betracht kommt, ohne dies allerdings weitergehend zu belegen. Auch Andréoletti (2000) hat diese Vermutung geäußert.

### **2.8.2 Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)**

Die BSE begann 1985/86 in Großbritannien aufzutreten. Dort starben mehr als 180.000 Tiere (Weissmann et al., 2002) an dieser Krankheit.

Es wird davon ausgegangen, dass die Erkrankungen auf die Verfütterung von kontaminierten Tiermehlen zurückzuführen ist, für das auch an Scrapie erkrankte Tiere verarbeitet wurden (Kimberlin und Wilesmith, 1994). Allerdings zeigt sich bei Rindern, die mit einem Scrapie-Stamm infiziert wurden, eine Erkrankung, die sich von der BSE Erkrankung deutlich unterscheidet (Cutlip et al., 1997). Der genaue Ursprung der BSE liegt weiterhin im Dunkeln und muss nicht von der Scrapie herrühren.

BSE ist auf orale Wege experimentell auf Mäuse (Maignien et al., 1999), Schafe (Foster et al., 1993; Jeffrey et al., 2001), Kälber (Bradley, 1996), Nerze (Robinson et al.,

1994), Rinder (Gibbs et al., 1990; Cutlip et al., 1994; Collee und Bradley, 1997) und Primaten (Bons et al., 1999) übertragbar. Intrazerebral konnte BSE nach Passage in der Maus auf den Hamster (Thomzig et al., 2004b), und mit einer Kombination von intrazerebraler, intraperitonealer und intravenöser Infektion auch auf das Schwein (Wells et al., 2003) übertragen werden.

Durch Bluttransfusion konnte BSE zwischen Schafen übertragen werden (Houston et al., 2000; Hunter et al., 2002).

### **2.8.3 Feline Spongiforme Enzephalopathie (FSE)**

Vor allem in Großbritannien traten von den neunziger Jahren bis 2004 87 Fälle (Quelle: <http://www.defra.gov.uk/animalh/bse/othertses/index.html#fse>) einer transmissiblen spongiformen Enzephalopathie bei Katzen auf, die Feline Spongiform Encephalopathy (FSE) genannt wird (Leggett et al., 1990). Die experimentelle Inkubationszeit war dabei vermutlich ähnlich lang wie die von BSE (Bruce et al., 1994). Da der Ausbruch der FSE genau in die Zeit der größten BSE Verbreitung in Großbritannien fiel, ist anzunehmen, dass es sich dabei um eine Form von BSE handelt, die die Speziesbarriere vom Rind zur Katze übersprungen hat. Neben Hauskatzen waren auch Wildkatzen in Zoos betroffen, die zumindest als Jungtier in Großbritannien gehalten und mit rohen Schlachtabfällen gefüttert wurden. Eine Ansteckung über das Futter gilt daher als wahrscheinlich.

### **2.8.4 Transmissible Mink Enzephalopathie (TME)**

Richard Marsh beschrieb 1965 eine erstmals im Jahre 1947 in Minnesota und Wisconsin (USA) beobachtete TSE bei Nerzen, die zur Pelzgewinnung gehalten werden (Transmissible Mink Encephalopathy; TME) (Bessen und Marsh 1994) Hartsough und Burger, 1965; Burger und Hartsough, 1965). Nerze wurden mit rohen Schlachtabfällen gefüttert, die vermutlich von an Scrapie erkrankten Schafen und von festliegenden Kühen (Downer-Cow-Syndrom) stammten. Es ist vorstellbar, dass ein Speziesübergang vom Schaf auf den Nerz stattgefunden haben könnte. Ebenso wie bei Scrapie gibt es verschiedene Stämme von TME (Bessen und Marsh , 1992a und b,).

Neben Fällen in den USA wurden auch einzelne Fälle in Nerzfarmen Deutschlands, Finnlands und Russlands sowie in Kanada festgestellt. Seit 1985 ist die TME - nach insgesamt 23 Ausbrüchen - nicht mehr aufgetreten.

## **2.8.5 Chronic Wasting Disease (CWD)**

Die Chronic Wasting Disease (CWD) ist eine scrapieähnliche Krankheit, die bei frei lebenden und in Gefangenschaft gehaltenen Wapitis, Großohr-, Rocky-Mountain-Rot-, Maultier- und Weißwedelhirschen vorkommt. Sie tritt seit den achtziger Jahren verstärkt bei Tieren aus Colorado und Wyoming (USA) auf (Williams und Young, 1993). CWD ist die einzige TSE, die auch bei wild lebenden Tieren auftritt und kann von einem Tier auf das andere übertragen werden (Miller und Williams, 2003; Miller und Williams, 2004a). Die Symptome sind bei erwachsenen Tieren Verhaltensstörungen und eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes. Die Tiere magern trotz ausreichender Futteraufnahme ab (Williams, 2001), der Krankheitsverlauf dauert fünf bis zwölf Monate (Miller et al., 1998). Bis jetzt sind weniger als 1000 Fälle weltweit bekannt (Miller und Williams, 2004b), jedoch sind in manchen Wapiti (deer) Populationen im Südwesten Wyomings und Norden Colorados bereits mehr als zehn Prozent der Tiere infiziert (Chesebro, 2003). Es ist möglich, dass sich der Scrapie Erreger an die Cerviden adaptiert hat und sich als CWD manifestiert hat (Williams und Miller, 2003).

## **2.9 Menschliche TSEs**

### **2.9.1 Creutzfeldt- Jakob-Krankheit (CJK)**

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) des Menschen ist eine relativ seltene Krankheit, die mit einer Inzidenz von ca. 0,5 bis 1 Fall pro einer Million Menschen und Jahr auftritt. In den 1920er Jahren beschrieben die Forscher Creutzfeldt und Jakob kurz nacheinander Fälle dieser seltenen Erkrankung, die nach einer Krankheitsdauer von wenigen Monaten bis zwei Jahren zum Tod der erkrankten Personen führt (Creutzfeldt 1920; Jakob, 1921). Rund 70 % der Erkrankten sterben innerhalb von 6 Monaten (Wadsworth et al., 2003).

Die klassische Form der CJK tritt vor allem bei Menschen in einem Alter von 55 bis 75 Jahren auf. In 80 bis 85% der Fälle tritt die Krankheit ohne erkennbare Ursache (sporadisch) auf (Harries-Jones et al., 1988). Bei rund 15% der Fälle handelt es sich um eine erbliche Form der CJK, die autosomal dominant vererbt wird (familiäre CJK), d.h. die Vererbung erfolgt nicht auf dem Geschlechtschromosom und bereits die Weitergabe von einem mutierten Chromosom von einem Elternteil kann die Erkrankung auslösen (Goldgarber et al. 1989; Goldfarb et al. 1992).

In 1 bis 5 % der Fälle lässt sich eine CJK-Erkrankung auf eine Übertragung durch

kontaminierte medizinische Instrumente oder stereotaktische Elektroden bzw. durch medizinische Präparate wie Hornhaut, Hirnhaut (Dura Mater) oder durch Wachstumshormone, die aus Hypophysen von Verstorbenen hergestellt wurden, erklären (Brown et al., 2000). Diese Form der CJK nennt man dann iatrogene (erworbene) CJK.

Die Krankheit beginnt häufig zunächst unauffällig und mit unspezifischen Symptomen, wie z.B. Schlaf- und Gedächtnisstörungen und psychischen Symptomen, aus denen sich schließlich eine Demenz entwickelt. Die betroffenen Personen verlieren ihre erworbenen intellektuellen Fähigkeiten und leiden an Gedächtnisstörungen. Da demenzielle Symptome auch für andere Erkrankungen des Gehirns charakteristisch sind, ist eine frühe spezifische Diagnose anhand der Symptome nicht möglich.

Im weiteren Verlauf kommt es u.a. zu schweren Bewegungsstörungen und Persönlichkeitsveränderungen, zum Verlust der Fähigkeit zu lesen (Alexie) und zu sprechen (Aphasie).

Außerdem treten Lähmungen, Tremor (Zittern von Armen, Beinen oder dem Kopf), Chorea (ausladende Bewegungen des Körpers, die sich bei Erregung verstärken und im Schlaf aufhören), Ataxie (unkoordinierter Bewegungsablauf), Myoklonien (blitzartig ablaufende Zuckungen in der Muskulatur, die z.B. durch akustische Reize ausgelöst werden), und epileptische Anfälle auf.

CJK lässt sich experimentell, auch auf oralem Wege, auf andere Spezies (z.B. Affen) übertragen (Gajdusek und Gibbs jr., 1971; Gibbs et al., 1980).

Eine sichere Diagnose der Krankheit lässt sich bisher nur durch eine Hirnbiopsie oder post mortem durch neurohistopathologische Untersuchungen des Gehirns der Verstorbenen stellen (Coulthart und Cashman, 2001).

### **2.9.2 Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK)**

Im Jahr 1995 starb in Großbritannien der erste Mensch an einer bis dahin unbekannt Form der CJK. In den folgenden Jahren erkrankten weitere Opfer an dieser Krankheit (Will et al., 1996). Diese Form wird als neue Variante der CJK bezeichnet (vCJK).

Bis Mitte 2006 waren in Großbritannien insgesamt 161 Fälle von vCJK gemeldet (von denen 156 Patienten an der Erkrankung verstorben waren), Quelle: <http://www.cjd.ed.ac.uk/vcjdworld.htm>. Dazu kamen 18 weitere Fälle in Frankreich, vier aus Irland, je zwei aus den Niederlanden und den USA und je einer aus Italien, Kanada, Saudi Arabien, Japan, Portugal und Spanien, wobei einige von ihnen längere Zeit in

Großbritannien gelebt hatten. Im Gegensatz zu der bekannten CJK handelt es sich bei der vCJK überwiegend um jüngere Patienten, deren Altersdurchschnitt bei 26 Jahren liegt (Spencer et al. 2002). Die Patienten erkrankten im Alter von 12 bis 74 Jahren und starben nach etwa 6 bis 39 Monaten (im Durchschnitt nach 13 Monaten (Spencer et al. 2002)). Aufgrund des identischen Krankheitsbildes und der zerebralen Läsionsprofile bei Mäusen, die entweder mit dem Hirn eines BSE-kranken Rindes bzw. dem eines an vCJK Verstorbenen infiziert wurden (Scott et al., 1999), wird davon ausgegangen, dass sich diese Menschen durch den Verzehr von Fleisch von BSE-kranken Rindern angesteckt hatten (Bruce et al. 1997). Auch die Infektion von Makaken mit dem BSE Erreger löst bei diesen eine Krankheit aus, die der vCJK bei Menschen sehr ähnlich ist (Lasmézas et al. 1996). Verimpft man BSE Material, das zuvor an Makaken verimpft wurde, sowie Material von vCJK-Patienten an Makaken, so zeigt sich eine weitgehend ähnliche Pathologie (Lasmézas et al., 2001). Die Ursache für vCJK wird in dem Verzehr von mit BSE kontaminierten Nahrungsmitteln aus Rindern gesehen (Collinge, 1996; Bruce et al., 1997; Hill et al. 1997). Die Tatsache, dass die weitaus meisten vCJK-Patienten in Großbritannien beobachtet wurden oder zumindest längere Zeit dort gelebt hatten, spricht für diese Annahme, da in Großbritannien auch BSE am stärksten verbreitet war und dementsprechend das Risiko sich über kontaminierte Nahrungsmittel aus dem Rind anzustecken am größten war. Das klinische Bild weist auf eine nicht-klassische CJK-Erkrankung hin. Anfangssymptome sind Verhaltensstörungen, Ängstlichkeit, Depressionen, Apathie und Schlafstörungen. Dazu kommen Bewegungs- und Sensibilitätsstörungen. Erst später setzen Muskelzuckungen und ein fortschreitender Verlust der intellektuellen Fähigkeiten ein. Dagegen sind typische EEG-Veränderungen, wie sie bei der klassischen Form der CJK auftreten, selten (Wadsworth et al. 2003). Während der Nachweis von Erregern bei der sporadischen CJK nur in Nervengewebe gelingt, wurde bei der vCJK dieses Protein (in Einzelfällen bereits vor Auftreten von Krankheitssymptomen), auch in lymphatischen Geweben (z.B. Lymphknoten, Tonsillen und Appendix) nachgewiesen (Hill et al., 1999; Ghani et al. 2000; Wadsworth et al., 2003).

### **2.9.3 Kuru**

Kuru ist eine Krankheit, die vorwiegend bei Kindern und Frauen eines Eingeborenenstammes (Fore) aus Papua Neuguinea auftrat und in den 50er Jahren (1957) erstmals beobachtet wurde (Gajdusek und Zigas, 1957; Gajdusek, 1977). Die

Fore praktizierten rituellen Kannibalismus, bei dem Gehirne und innere Organe von Verstorbenen des Stammes verzehrt wurden. Die Vorbereitungen zu diesem Mahl führten die Frauen und Kinder aus. Daher erkrankten diese Stammesmitglieder wesentlich häufiger an der Krankheit, wobei der Erreger möglicherweise nicht nur über die Nahrung übertragen wurde, sondern die Ansteckung auch über Läsionen der Haut stattfand. Durch das Verbot dieser kannibalischen Bräuche konnte die Krankheit eingedämmt werden. Patienten, die jetzt noch an Kuru erkranken, haben den Erreger vermutlich vor dem Verbot des Kannibalismus zu sich genommen, sind aber aufgrund der sehr langen Inkubationszeit von bis zu 40 Jahren und länger noch nicht vorher erkrankt. In dem drei bis neun Monate dauernden klinischen Krankheitsverlauf zeigen die Patienten Gangunsicherheit, Muskelschwund, zunehmende Lähmungen und neben einer fortschreitenden Ataxie auch ein starkes Zittern.

#### **2.9.4 Gerstman-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS)**

Bereits 1928 beschrieb Gerstmann das erste Mal eine neue Krankheit, die später als das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) bezeichnet wurde (Gerstmann et al. 1936). Patienten, die unter GSS leiden, zeigen meist im Alter von 35 bis 55 Jahren sich verstärkende Koordinationsschwierigkeiten und im weiteren Verlauf der Krankheit unterschiedliche Ausprägungen der Demenz und Verlust von intellektuellen Fähigkeiten. Sie sterben nach einer Dauer von 2 bis 10 Jahren. Fälle von GSS sind genetisch bedingt, die Krankheit wird autosomal dominant vererbt. GSS kann jedoch auch experimentell auf andere Individuen übertragen werden (Masters et al. 1981). Da GSS durch eine Reihe unterschiedlicher Mutationen (Doh-ura et al. 1989; Goldgarber et al. 1989) auf dem Chromosom 20 hervorgerufen werden kann, ist auch die Ausprägung der Erkrankung von Patient zu Patient zum Teil verschieden. Bis jetzt sind ca. 50 Familien bekannt, in denen GSS vorkommt. Die Mutation tritt in dem Gen auf, das das zelluläre Prion-Protein codiert. GSS ist eine extrem seltene Erkrankung und tritt mit einer Häufigkeit von einer Erkrankung pro 10 Millionen Menschen und Jahr auf. Mit klinisch-diagnostischen Mitteln ist eine Unterscheidung zwischen CJK und GSS nicht immer möglich, nur neuropathologisch stellt sich die GSS als eigene Entität dar, die durch multizentrische Prion-Proteinenthaltende Amyloidplaques definiert wird.

### **2.9.5 Die fatale familiäre Insomnie (FFI)**

Die fatale familiäre Insomnie (FFI, tödliche familiäre Insomnie) ist ebenfalls eine äußerst seltene, familiär vorkommende, autosomal dominant vererbte Erkrankung. (Goldfarb et al. 1992, Medori et al. 1992) Sie wurde erstmals 1986 beschrieben (Lugaresi et al., 1986), und ihre Übertragbarkeit ist seit 1995 bewiesen (Tateishi et al., 1995). Durch das mutierte Prion-Protein-Gen erkranken die Patienten im Alter zwischen 20 und 71 (meist zwischen 40 und 60) Jahren, und sterben zumeist etwa sieben bis achtzehn Monate nach Ausbruch der Krankheit (Quelle: <http://www.answers.com/topic/prion-diseases>) Die Patienten leiden unter schweren, nicht therapierbaren Schlafstörungen, Ataxie und anderen neurodegenerativen Störungen.

Die FFI tritt ausschließlich bei Patienten mit einer D178N-Mutation des Prion-Proteins, bei denen sich ein Methioninkodon an der Position 129 desselben Allels findet, auf. Sind die Patienten homozygot für das Methionin an Position 129, scheint die Krankheit einen deutlich ausgeprägteren Verlauf zu nehmen. In manchen Fällen ist die Krankheit nicht eindeutig durch immunhistochemische Methoden von der klassischen CJK zu unterscheiden und kann erst durch die Untersuchung des Prion-Protein-Gens diagnostiziert werden (Kretzschmar, 2001).

## **2.10 Das Hamster-Modell**

### **2.10.1 Infektionswege**

In dieser Arbeit wurde überwiegend am Tiermodell des mit dem Scrapie-Stamm 263K infizierten Syrischen Hamsters (*Mesocricetus auratus*) gearbeitet. Die Zeit bis zum Auftreten der ersten klinischen Symptome beträgt bei Hamstern, die mit Scrapie infiziert wurden, mindestens 70-80 Tage (Lowenstein et al., 1990). Mäuse dagegen brauchen rund 170 Tage (Klein et al., 1997) und damit etwa doppelt so lange wie Hamster. Deshalb und aufgrund der weitaus höheren Infektiositätstiter in den Hirnen infizierter Hamster im klinischen Stadium mit  $1-3 \times 10^9$  LD<sub>50</sub> pro Gramm Hirngewebe (Kimberlin und Walker, 1977; Diringer et al., 1998) ist der Syrische Hamster ein besonders geeignetes Tiermodell zur Untersuchung bestimmter Fragestellungen auf dem Gebiet der TSE-Forschung. Zur Infektion der Tiere wird dabei ein Homogenat des Hirngewebes eines terminal erkrankten Scrapie-Hamsters verwendet, das auf verschiedene Arten verabreicht werden kann. Als Dosisangabe wird dabei die Einheit Hirnäquivalente (HÄ) verwendet, die angibt, der wievielte Teil eines Hirnes eines terminal kranken Tieres

verwendet wird. Da ein Hamsterhirn ca. ein Gramm wiegt, enthält ein HÄ also  $1-3 \times 10^9$  LD<sub>50</sub>. Die verschiedenen Infektionsarten, wie z. B. der intraperitonealen (i.p.), intrazerebralen (i.c.) oder oralen Inokulation (durch Fütterung des Homogenates), unterscheiden sich dabei erheblich in den resultierenden Inkubationszeiten. Die kürzeste Inkubationszeit wird mit der intrazerebralen Beimpfung erreicht, bei der die Tiere nach ca. 70-80 Tagen in die terminal-klinische Phase gelangen (Lowenstein et al., 1990). Die Inkubationszeit ist neben der Inokulationsart vor allem auch von der Infektionsdosis abhängig (Kimberlin und Walker, 1977). Sie verlängert sich bei einer i.p. Infektion um ca. 40 Tage (Czub et al., 1988) gegenüber der intrazerebralen Inokulation und beträgt bei oraler Infektion ca. 160 Tage. Ferner ist die orale Infektion im Hamster um den Faktor  $10^5$  weniger effektiv im Vergleich zur intrazerebralen Infektion (Diringer et al., 1994, 1998), das heißt, es muss mit einer hunderttausendfachen Dosis oral inokuliert werden, um die gleiche Attack-Rate zu erzielen wie diejenige nach i.c.-Infektion.

### **2.10.2 Pathogenese der Scrapie beim Hamster**

Umfangreiche Korrelationsstudien in Hamstermodellen haben gezeigt, dass im Nervensystem Syrischer Hamster, die mit dem Scrapie-Stamm 263K infiziert wurden, eine enge quantitative Assoziation zwischen dem Erregertiter und der Menge an pathologischem Prion-Protein (PrP<sup>Sc</sup>) besteht (Beekes et al., 1996; Baldauf et al., 1997). Daher kann in unserem Tiermodell PrP<sup>Sc</sup> als Marker für die Infektiosität angesehen und seine Akkumulation als Indikator für die Infektionsausbreitung genutzt werden.

Pathophysiologische Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, dass sich eine Infektion bei Hamstern, die oral mit dem Scrapie Stamm 263 K infiziert wurden, zuerst (ca. 90 dpi) in einer Ablagerung von PrP<sup>Sc</sup> im Hirnbereich im Nucleus dorsalis nervi vagi, also dem motorischen Kern des Vagusnerven äußert. Im weiteren Verlauf der Erkrankung werden der Nucleus solitarius und ependymale Zellen im Bereich des Zentralkanals befallen (Beekes et al., 1998). Da sich die Ablagerungen von PrP<sup>Sc</sup> im Gehirn weiter ausbreiten, kann man das pathologische Prion-Protein nach ca. 120 Tagen in den meisten Kerngebieten der Medulla oblongata, im Nucleus fastigii und Nucleus interpositus des Kleinhirns, im Thalamus und Hypothalamus sowie an einigen Stellen im parietalen, cingulaten und frontalen Cortex nachweisen (Beekes et al., 1998).

Gleichzeitig mit den ersten Ablagerungen des PrP<sup>Sc</sup> im Gehirn (bei ca. 90 dpi) treten bereits Ablagerungen im thorakalen Rückenmark (T4-T9) auf. Die Ablagerungen sind dabei intrazellulär in den Neuronen der grauen Substanz zu finden als auch im

Extrazellularraum in der Nähe der Neurone (Beekes et al., 1996; Baldauf et al., 1997; Beekes et al. 1998). Die weitere Ausbreitung im Rückenmark erfolgt dann sowohl in rostraler als auch in caudaler Richtung. In den hirnnahen Wirbeln des cervikalen Rückenmarks im Bereich von C1-C3 jedoch werden die ersten Ablagerungen erst nach dem Befall der frühen Zielgebiete in der Medulla oblongata nachgewiesen. Somit kann das cervikale Rückenmark nicht initial infiziert worden sein, sondern erst durch einen Aufstieg des Agens entlang des Rückenmarks ausgehend vom thorakalen Teil. Nach bisherigen Kenntnissen breitet sich nach oraler Infektion das Agens vom Gastrointestinaltrakt, insbesondere ausgehend vom Dünndarm, über efferente parasymphatische Fasern retrograd zum Nucleus dorsalis nervus vagus bzw. zum Nucleus solitarius direkt in die entsprechenden Zielgebiete im Gehirn aus (McBride und Beekes, 1999). Es wird außerdem vermutet, dass der Nervus splanchnicus für die Ausbreitung in die graue Substanz des thorakalen Rückenmarks verantwortlich ist (McBride et al., 2001). Von hier aus wandert, nach neuesten Erkenntnissen, das Agens über motorische Neurone des Vorderhorns zentrifugal in periphere Gewebe, z. B. der Skelettmuskulatur (Thomzig et al., 2003), wobei sogar schon vor den ersten klinischen Anzeichen der Krankheit (nach ca. 140 dpi), PrP<sup>Sc</sup> in den Myozyten nachgewiesen werden kann (Thomzig et al., 2004b).

Untersucht man nun das Gewebe der Darmwand genauer, so findet man bereits 70 Tage nach der Verfütterung des Erregers PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerungen sowohl im intramuralen Nervensystem des Dünndarms, hier speziell in den Neuronen der submukosalen und myenterischen Plexi, als auch in den Peyer'schen Plaques, Bestandteilen des darmassoziierten lymphatischen System (Beekes und McBride, 2000).

Bisher ist jedoch nicht genauer untersucht, ob der Erreger aus diesen infizierten Darmwand-Geweben wieder in das Darmlumen und somit auch in die Fäzes gelangt. Erste Zeitverlaufstudien haben ergeben, dass der Darm bereits sehr früh nach oraler Inokulation im Hamster infiziert ist, wobei lange vor dem klinischen Stadium ausgeprägte Ablagerungen von PrP<sup>Sc</sup> nachgewiesen werden konnten (Krüger et al., Manuskript in Vorbereitung). Auch Untersuchungen in Schafen haben ähnliche Befunde ergeben (Maignien et al., 1999; Andréoletti et al., 2000). Diese Beobachtungen sprechen für die Möglichkeit einer horizontalen Verbreitung von natürlicher Scrapie mittels Erregerausscheidungen über Fäzes im Feld.

Darüber hinaus sollte im Rahmen dieser Arbeit auch das Rektum auf die Anwesenheit des pathologischen Prion-Proteins untersucht werden. Wäre dieser Darmabschnitt ebenfalls PrP-positiv, könnte durch einen einfachen bioptischen Zugriff auf dieses Gewebe von außen, möglicherweise so eine frühzeitige Diagnose auf das Vorliegen einer TSE-Erkrankung in verschiedenen Säugetierspezies gestellt werden.