

# Maureen Hanson, PhD | Metabolism and ME/CFS

<https://youtu.be/hPAzInLeSx4>

Onze volgende spreker is Maureen Hanson van de Cornell Universiteit, zij gaat verder met de discussies over het metabolisme bij ME/CVS. Ik denk dat ik Maureen voor het eerst ontmoette op een ME/CVS-meeting. Het kan die van Londen zijn geweest. Ik zag dat ze opkwam en de onderzoekers vertelde wat ze verkeerd deden. En ik zei, wow, dit is een fantastische onderzoeker, want ze had absoluut gelijk. Ze is volledig toegewijd om dit te ontrafelen. Ze is een plantkundige biologe. Maar ze weet veel over mitochondria, want planten hebben mitochondria. Zij is nog zo iemand bij wie ik het gevoel heb, wanneer Maureen zegt: ik ga dit doen, dan zeg ik fantastisch! Ik hoef dat niet doen, dit is iets dat zij zelf kan uitzoeken. Dat is gewoon tof. Dat gebeurt niet met alle onderzoekers. Van sommige onderzoekers weet ik, als ze zeggen: we gaan dit doen, dan zeg ik, verdorie, dat zullen wij moeten herhalen. Het is dus echt prachtig om mensen als Maureen Hanson in dit terrein te hebben. Jezus, ze is super. Dank je, Maureen. Dank je. Ik kom hier geen plantenbiologie vertegenwoordigen, maar het centrum dat ik leid aan Cornell, het Center for Enervating Neuro-Immune disease genoemd. Dat is eigenlijk mijn favoriete naam voor de ziekte die we als ME/CVS kennen. Totdat we komen tot de uiteindelijke naam die deze ziekte zou moeten hebben, gebruik is deze. We hebben een centrum in Ithaca, New York, aan de school van Cornell in Ithaca. We hebben ook onze medisch college in Manhattan, New York, en er zijn op beide plaatsen labs, die deel uit maken van ons Center. Vandaag zal ik het alleen hebben over het onderzoek dat in mijn eigen lab bezig is. En ik wil beginnen met de leden van mijn lab te bedanken, die op deze ziekte werken. Ik heb twee post-doc partners en drie doctoraatsstudenten die actief deze ziekte bestuderen. Ik zal het maar over een van de verschillende projecten hebben waaraan ze aan werken. Mijn lab doet in feite veel moleculaire genetica en deze lezing is een soort onderneming in de biochemie. Het is er geen die we in het verleden gedaan hebben. Onze lopende research betreffende metabolisme. Er zijn twee aspecten aan. Een is metaboliëtenprofiëring, wat veel biochemie is. Een ander is meer celbiologie, die het cellulair metabolisme bekijkt, een combinatie van

celbiologie en biochemie. Ik zal het niet over dat laatste project hebben. Ik heb de tijd niet maar ik sprak er kort over toen ik hier de vorige keer sprak. De metaboliëtenprofilering die we doen, is door een samenwerking met Susan Levine, een vermaarde ME/CVS-arts in Manhattan, New York. En we moeten haar patiënten bedanken, die bereid waren om bloed te geven voor deze studie. De data-analyse werd uitgevoerd door Arnaud Germain in mijn lab, en ook door David Ruppert, een statisticus, die met ons samenwerkt. Dit werk werd gefinancierd door Solve ME/CFS Initiative en deels door NIH. Ik zou een korte inleiding willen geven op de kwestie van metaboliëten in je lichaam. Er is een uitstekende Canadese database van het menselijk metabooloom, dat alle metaboliëten heeft verzameld, die ofwel geïdentificeerd zijn ofwel voorspeld bij de mens. Er zijn er een groot aantal, en in je bloed, je serum, in deze ruimte circuleren er wellicht 25.000 metaboliëten. Het is natuurlijk heel moeilijk om 25.000 metaboliëten te bestuderen. De typische metaboliëtenstudies analyseren en identificeren in feite maar een fractie van dit menselijk metabooloom. Natuurlijk zijn vele van de metaboliëten die geanalyseerd worden, de alledaagse, die vaak voorkomen in je bloed en daarom belangrijker zijn dan de andere. Maar het aantal metaboliëten dat is geïdentificeerd, hangt af van de gebruikte methoden, hoe ze worden afgescheiden en geanalyseerd. Verschillende studies zullen je dus verschillende resultaten geven, afhankelijk van hoe ze de gegevens analyseren. De bron en het type en de behandeling van de stalen verschilt dus van studie tot studie. Meestal kunnen we onze patiënten en controles wel matchen volgens geslacht en leeftijd. Maar het is vaak heel moeilijk, vooral met deze patiëntengroep, om het tijdstip na de maaltijd te regelen, of hun dieet, of al de verschillende medicijnen die mensen nemen en natuurlijk ook waar je woont en andere aspecten van demografie. Verschillende groepen verzamelen verschillende soorten stalen in verschillende verzamelbuisjes. Je kan serum afnemen versus plasma. Dan moet je de monsters vervoeren en opslaan gewoonlijk vooraleer te analyseren. En ook de extractiemethoden verschillen tussen de labs. Je kan je dus voorstellen dat er veel verschillen zouden bestaan tussen de studies die zijn uitgevoerd over metaboliëten. Maar eigenlijk zijn de metabolomicastudies bij ME/CVS grotendeels consistent. Er zijn veranderingen in het energie-metabolisme, de Krebscyclus, de citroenzuurcyclus. Het is bekend dat er verstoringen zijn in het metabolisme van vetzuur en lipiden en in het purine metabolisme. En de metaboliëten kunnen patiënten van controles onderscheiden met een echt hoge specificiteit, ondanks al die verschillen. Onze eerste metaboliëtenstudie was een

heel kleine, waarin we maar 361 metaboliëten analyseerden, volgens de techniek van een collega die genereus genoeg was ons monsters te laten draaien op zijn machine. En we identificeerden 33 metaboliëten die significant verschillend waren. De reactiepaden die beïnvloed waren, waren voor het metabolisme van vet, energie en suiker, aminozuren en purine metabolisme, waarover je al meer gehoord hebt eerder vandaag. In die bepaalde studie waren 29 van de 33 metaboliëten lager bij zieken dan controles en was er een grotere variatie bij patiënten. Nu hebben we een nieuwe studie, opnieuw aardig klein, met 19 gezonde controles en 32 patiënten. Opnieuw gebruikten we enkel vrouwelijke patiënten om een beetje meer samenhang te hebben tussen het soort personen dat werd geanalyseerd. Hun leeftijd was dezelfde en hun BMI is ook ongeveer dezelfde in deze groep. Deze keer gebruikten we het bedrijf Metabolon om de analyse uit te voeren. Ze konden 832 metaboliëten analyseren en identificeren in plasma. Ze groepeeren deze metaboliëten in acht superreactiepaden. Je kan de lipiden zien, aminozuren, xenobiotica, nucleotiden, energie, en al die verschillende superreactiepaden, die geanalyseerd werden. We identificeerden 8 metaboliëten uit 4 van de superreactiepaden met verschillende niveaus tussen patiënten en controles. Drie ervan zijn co-factoren. Een ervan is betrokken bij het energie- metabolisme. Drie ervan zijn nucleotiden en een is een peptide. Wat evenwel belangrijk is, is dat, hoewel we eigenlijk verschillende chemicaliën identificeerden dan sommige anderen deden in hun studies, wat belangrijk is, is tot welke reactiepaden de verschillende metaboliëten behoren. Ook al identificeert één groep één set metaboliëten en een andere een andere set, zitten ze soms in hetzelfde reactiepad en dus het is hetzelfde reactiepad dat is aangetast. Dit schema zagen jullie eerder in onze thematoespraak. De citroenzuurcyclus is aangetast. Als je de verhouding van C4- en C5-moleculen vergelijkt, is die verstoord in de citroenzuurcyclus. Zoals ik net aangaf, alfa-ketoglutarataat, een van de elementen van de citroenzuurcyclus, heeft een significant niveauverschil tussen patiënten en controles. Nog iets interessants m.b.t. deze studie, is dat we inderdaad kunnen voorspellen of je patiënt of een controle bent, met een niveau van 95% enkel door naar de niveaus van 41 metaboliëten te kijken. Dat is een heel goede sensitiviteit en specificiteit. De verhouding van enkel twee aparte metaboliëten kan met een zekerheid van 86% patiënten van controles onderscheiden. De metaboliëten van deze ratio's zijn opnieuw betrokken bij het vetzuurmetabolisme, er lijkt dus opnieuw iets verstoord in het vetzuurmetabolisme. Hoe kan je onze nieuwe studie vergelijken met de andere metabolomicastudies bij ME/CVS? Dit is een overzicht van al die studies, die aangeeft

hoeveel metabolieten gevonden werden. Dat staat in de cirkels. Of er enkel vrouwen werden geanalyseerd of enkel mannen dan wel zowel mannen als vrouwen. Het is duidelijk dat we niet zorgvuldig onze vrouwelijke gegevens kunnen vergelijken met mannelijke. Er zijn bekende verschillen en als ze samengenomen waren zoals bij sommige van die studies, kunnen we ze niet echt vergelijken. Maar we konden onze gegevens vergelijken met studies die ook vrouwen van mannen hebben gescheiden. Een probleem dat zich stelt bij de vergelijking van de gevonden metabolieten bij de verschillende studies, is dat de naamgeving voor die metabolieten verschilt. Het kan heel moeilijk zijn te weten dat die complexe metaboliet, geïdentificeerd in een studie, dezelfde is als in jouw studie. Maar ze gebruiken die HDMB-database en ID-nummers. We konden een aantal metabolieten identificeren die identiek waren in onze Metabolon-studie, en onze oude studie uit 2017, in de studie uitgevoerd door de groep van Naviaux en door de groep van Armstrong, we konden dus een aantal metabolieten vergelijken om te zien of er een verschil was. En je kan zien dat in die experimenten, de vergelijking van onze studie met die van Armstrong, er verschillen zijn. Maar dat is gemakkelijk te verklaren door het feit dat de groep van Armstrong serum analyseerde terwijl wij plasma analyseerden. Er zijn dus enkele verschillen daar. Maar als je kijkt naar onze studie, vergeleken met die van Naviaux en met onze eerdere studie, dan is er heel weinig verschil. Dat toont dat het dus bepaald reproduceerbaar is, en dat stelt gerust gezien onze patiëntenpopulatie erg verschilt van degene die hier in Californië werd geanalyseerd. We stelden ons ook de vraag of we subgroepen van patiënten konden vinden met betrekking tot de metabolietniveaus. We hebben vaak gehoord dat er subgroepen zijn. We weten dat er subgroepen zijn wat betreft reactie op medicatie, subgroepen met verschillende types symptomen enz. We gebruikten een statistische test om de hypothese te evalueren dat patiënten in verschillende subgroepen kunnen worden ondergebracht volgens hun metabolietenprofiel. En toen we dit deden met onze studie, met de oude studie, met de studie van Naviaux, konden we geen subgroepen vinden. En wat de studie van Armstrong betreft, waren het opnieuw slechts twee patiënten die verschilden van de overige patiënten. Dat moet ik Chris nog eens vragen of hij ontdekt heeft wat er bij die twee patiënten anders was, dat zou kunnen verklaren waarom ze hun eigen subgroepje vormden. Het gebrek aan subgroepen geeft voor mij aan dat de metabolomicagegevens in bloed iets zouden kunnen opsporen dat fundamenteel verschilt tussen ME/CVS-patiënten en controles. Daarbij het feit dat dit heel consistent is tussen de verschillende groepen die metabolomicastudies

uitgevoerd hebben, geeft ook aan dat we iets fundamenteels op het spoor zijn met metabolica. We deden ook een proef. We konden opnieuw alleen gebruik maken van de stoffen met een ID in de HMDB, maar we vergeleken de 4 data-sets die we hadden met 344 menselijke plasma datasets, met ziekte gerelateerd, beschikbaar gesteld door die groep van Genoom Canada. Een aantal aandoeningen met een significante correlatie met de ME/CVS-data geeft aan dat weefsel van patiënten hypoxia ervaart, ontoereikende oxygenatie. We hebben dat thema vandaag al gehoord, en we zullen er later nog over horen. Wat gebeurt er als je hypoxia hebt? Het heeft een invloed op jouw transcriptiefactoren. Het is de oorzaak van de productie van reactieve zuurstofsoorten, die oxidatieve stress veroorzaken, wat vasoconstrictie kan veroorzaken met een invloed op de bloedsomloop, mogelijk een typisch kenmerk van ME/CVS. Er is veel bewijs voor een gebrekkige weefseloxygenatie bij ME/CVS en de metabolieteninformatie is hier nog een aspect van. We weten dat er studies zijn geweest van de bloeddorstrooming in de hersenen, die een slechte circulatie naar het brein aantonen. Er zijn studies die oxidatieve stress aantonen in het brein. We zullen hier meer over horen deze namiddag. Er is onvoldoende aanvoer van zuurstof gedurende inspanning, mogelijk met PEM als resultaat. Er is een verlaagd bloedvolume. David Bell deed een heel interessante, niet gepubliceerde studie die toont dat twee derden van de vrouwelijke en een derde van de mannelijke patiënten die hij analyseerde een verlaagd bloedvolume hadden. Als je naar dit schema kijkt, zie je dat het een normale hematocriet aangeeft en een hematocriet bij laag bloedvolume, volledig gelijk, 42%. Maar de hoeveelheid bloed is veel lager. Dus een patiënt kan binnenkomen met een laag bloedvolume, een hematocriet krijgen bij zijn huisarts en die zal niet aangeven dat hij een laag bloedvolume heeft. Het stelt alleen vast of je anemie hebt. Iets anders wat sommigen van jullie wellicht ervaren, is dat, als je rechtop staat, het bloed zich verzamelt in je benen. En dat beperkt uiteraard ook de oxygenatie, als al je bloed zich in je benen bevindt in plaats van waar het hoort te zijn. Er zijn ook bijkomende metabolietensets die verband houden met de ziekte. Ik dacht er een van te tonen aangezien we het vaak hebben over vetzuurmetabolisme. Dit zijn drie ziekten met een deficiëntie. Het schema dat ik toon, was niet getekend voor ME/CVS, maar ter illustratie van deze ziekten. En je ziet dat het aangeeft dat je langeketen-vetzuren en metabolisme verstoord zijn. En wat gebeurt er dan: weinig of geen energie en gezondheidsproblemen. Dat klinkt heel vertrouwd, denk ik. We willen uitzoeken hoe metabolieten wijzigen als de toestand van een patiënt erger wordt of verbetert. Zoals gezegd bestaat er een uitdaging

over het feit dat gezonde controles en ME/CVS-patiënten heel verschillend zijn. Ze hebben hun eigen genomica, omgeving enz. en er is een groot aantal geneesmiddelen en supplementen en dieetverschillen waar we rekening mee moeten houden. We willen hetzelfde doen als waar Alain over sprak: de patiënten gebruiken als hun eigen controles. Je hebt een gezond persoon, die wordt onderworpen aan een proef en het beïnvloedt hem niet echt. Maar je hebt een ME/CVS-patiënt, die al in slechte vorm is en geef hem een proef en hij wordt nog slechter. En zo dienen ze als hun eigen controle. Wat deed die proef bij hen? Je kan ook kijken naar het verschil in meerdere metingen, niet enkel metaboliëten, ook andere metingen, om te zien wat er met hen gebeurt. Natuurlijk kan je ook de baseline van patiënten en controles vergelijken, alsook de patiënten met de controles na de proef. Zoals de meesten onder jullie weten, gebruiken we de 2-daagse CPET als proef. Het idee is de reactie te vergelijken van gezonde personen en patiënten voor en na een inspanningsproef. Als onderdeel van ons door NIH-gefinancierd ME/CVS-centrum kijken we naar de metaboliëten, cytokines, we doen neuro-beeldvorming, we bestuderen de genexpressie en ook de extracellulaire lading van de blaasjes: wat bevatten die blaasjes, wat is hun aantal en wat geven ze af? Dat is het project, niet enkel in mijn lab maar in de labs over heel ons centrum, in Ithaca en in New York City. Ik wil ook nog een ander project vermelden dat een zeldzame kans is, een unieke opportuniteit om patiënten te vergelijken als ze extreem ziek zijn en na behandeling, als hun toestand verbetert. De oorzaak waarom dit zeldzaam is, is uiteraard omdat er weinig behandelingen zijn die iemands toestand verbeteren. Maar Ampligen, door de meesten onder jullie gekend, is een medicijn, dat niet door de FDA is erkend en enkel via een klinische trial kan bekomen worden, is een manier om de toestand van bepaalde patiënten beter te maken, de subset van patiënten met een respons op Ampligen. Dr. Daniel Peterson bij Simmaron Research heeft een groep patiënten aan wie hij in het verleden Ampligen heeft gegeven en van wie we weten dat ze erop reageren. Door fabricageproblemen zijn deze personen gestopt met Ampligen een jaar geleden. Ze zijn hervallen, ze zijn opnieuw op hun basisconditie. En nu ze weer Ampligen kunnen krijgen, kunnen we deze patiënten volgen vanaf de start en nadat ze beter zijn geworden. We kunnen hen vergelijken met 26 patiënten die geen Ampligen krijgen en die niet beter worden. De patiënten zullen gedurende zes maand gevolgd worden. Dit is al opgestart. Een deel van de patiënten werd bloed afgenomen op tijdstip nul, allen zullen ze een bloedafname hebben na drie maand en na zes maand Ampligen. Dankzij de financiering van

een gulle schenker, kunnen we kijken naar metabolieten, cytokines en genexpressie. Belangrijk is dat we dit bloed ook kunnen bewaren zodat veel verschillende soorten analyses ook in de toekomst kunnen worden uitgevoerd. We hebben honderden tubes geëtiketteerd voor deze studie met inspanningsproef en de studies met heropstart van Ampligen. We hadden dus een aantal etiketteer feestjes in mijn lab. We moesten zelfs studenten inschakelen. Mijn stoel staat er ook bij, wij allemaal zaten daar anderhalf uur honderden tubes te etiketteren om ze daarna naar de labs te sturen die het bloed afnemen en verwerken. We zullen een biobank opstarten, die dan kan worden gebruikt, als gezegd, voor samenwerkingsstudies die we in de toekomst hopen te doen. Ik zal hier stoppen met mijn samenvatting. Gezien mijn tijd op is, laat ik de samenvatting zitten. Ik heb nog één minuut? OK, dan kan ik het misschien nog lezen. We hebben een nieuwe studie, die aangeeft dat 8 metabolieten significant verschillen. Er zijn vier studies waarvan we deze data hebben. Slechts enkele van de metabolieten werden geïdentificeerd door verschil in methoden en het probleem van de naamgeving. Zoals bij andere studies onthulde onze metabolietenanalyse een verstoring van de citroenzuurcyclus. We hebben niveaus van 41 metabolieten om met 95% zekerheid patiënten van controles te onderscheiden. Er zijn heel consistente resultaten tussen alle vier de studies. We hebben geen bewijs voor subgroepen, wat ons echt enthousiast maakt omdat we zouden kunnen te maken hebben met een fundamenteel onderscheid tussen patiënten en controles. Eén van de hypothesen is een verminderde weefseloxygenatie bij patiënten, en ook problemen in het gebruik van vetzuren, wat ook andere groepen gevonden hebben in hun studies. Dank u.