




Projekt Forskerspirer 2019

Laktat som prædisponerende faktor til udvikling af ME/CFS

Yasmin El Youssef

T eknisk gymnasium LF , SUND



Forskerkontakt: Rikke Olsen, AU

Vejleder: Ivar Dencker

Lektor Dorte Rytter, AU

Læge Jesper Mehlsen

Indholdsfortegnelse

Indledning.....	3
Afgrænsning og problemformulering.....	4
Metodevalg.....	4
Projektets udførsel.....	6
Forløb 1, (6-12 måneder).....	6
Forløb 2, (1-2 uger).....	6
Budget.....	7
Konklusion og perspektivering.....	7
TAK.....	8
Litteraturliste.....	9
Bilag.....	11

Indledning

Du er ung og har travlt med at opleve verden, indtil du en dag bliver ramt af en infektion, bliver sengebundet og aldrig rigtig rask igen. Det var realiteten for den 28-årige ME/CFS-ramte Jennifer Brea, som for to år siden introducerede mig for denne usynlige sygdom, og siden da har jeg årligt løbet Copenhagen Half Marathon for dem, der ikke selv kan løbe.

Myalgisk Encefalomyelitis (ME) er en invaliderende sygdom med ukendt ætiologi, som også går under betegnelsen kronisk træthedssyndrom (CFS). Kendetegnet for ME/CFS-patienter er, at de lider af post-exertional malaise (PEM), der udmatter dem efter fysisk og mental anstrengelse. Diagnosticeringen sker udelukkende på baggrund af symptomer, da der ikke er en entydig biomarkør for sygdommen. Den mangelfulde forskning inden for ME/CFS gør, at der ikke kan tilbydes optimale behandlingsmetoder for de estimerede 14.000 danske ME/CFS-patienter og 15-30 millioner på globalt plan [1]. Der er stor uenighed om, hvordan sygdommen skal kategoriseres. Er det en autoimmun sygdom, en neurologisk sygdom, en psykologisk sygdom, eller er det et samspil mellem alle tre? Verdenssundhedsorganisationen (WHO) har siden år 1969 kategoriseret sygdommen som værende neurologisk med diagnosekoden G93.3 til modsætning for i Danmark, hvor en udbredt holdning er, at det er en psykologisk diagnose [1]. I Danmark benyttes kognitiv terapi (CBT) og gradueret genoptræning (GET) som behandlingsterapier, selvom studier viser, at de direkte har en forværrende effekt på en subgruppe af patienterne [2, 3]. Sidstnævnte kan sandsynligvis forklares ved, at en subgruppe af ME/CFS-patienter i virkeligheden har en overproduktion af laktat som et resultat af en mitokondriedysfunktion [4, 5], der gør al fysisk træning overbelastende for mitokondrierne, der ikke kan levere den nødvendige energi til aktiviteten.

Når mitokondrier producerer energi, så starter det med glykolysen, hvor glukose bliver omdannet til pyruvate. I krebs cyklus foregår der aerobe reaktioner, hvor pyruvatdehydrogenase (PDH) først omdanner pyruvate til Acetyl CoA, og efter en række trin i mitokondrierne bliver der dannet ATP. Samtidig foregår der anaerobe reaktioner, hvor pyruvate ender som restproduktet laktat. Hvis der er høje koncentrationer af laktat, så vil det blandt andet hæmme ATP syntase, der i mitokondriernes intermembranøse rum omdanner hydroner til ATP. Netop dette har man observeret hos ME/CFS-patienter, hvor man fundet ud af, at der er lav produktion af ATP og høj udnyttelse af laktatdehydrogenase [6, 7]. Akkumulering af laktat i blodet sænker pH-værdien, da omtrent 80-90% af laktat

eksisterer som den negativt ladede laktation (mælkesyre) og en proton [8]. Afhængigt af laktatkoncentrationen kan det blandt andet medføre følelsen af træthed og smerter, der er kendetegnende symptomer for ME/CFS.

Afgrænsning og problemformulering

Jeg har valgt at afgrænse mit projekt, så det undersøger nye aspekter, som man endnu ikke har eksperimenteret med tidligere. Forskningen omkring ME/CFS tager oftest udgangspunkt i patienternes nuværende tilstand, hvor det endnu ikke har været muligt at påvise en entydig biomarkør. Da sygdommen har en ukendt ætiologi, så vil jeg i mit registerstudie gå lige så langt tilbage i patienters livsforløb som overhoved muligt for at foreslå en prædisponerende faktor for udviklingen af ME/CFS hos en subgruppe af patienter. Hvis der er tale om en medfødt mitokondriedysfunktion, så vil man muligvis kunne bekræfte det ved at sammenligne med de allerede opbevarede data om pH og BE/SBE i patientjournalerne, der kan sige noget om laktatproduktionen allerede dengang under fødslen. Jeg vil hermed undersøge nedenstående problemformulering:

"Kan et forhøjet laktatniveau hos fostre prædisponere til udvikling af ME/CFS senere hen i livet?"

En overrepræsentation af laktat under fødslen er dog ikke direkte ensbetydende med en medfødt mitokondriedefekt, da hypoksi under fødslen også bidrager til en øget laktatproduktion. Hvis det viser sig for, at der er en association mellem laktat og udviklingen af ME/CFS, så vil jeg udføre et eksperimentelt studie for at undersøge, i hvor høj grad laktat kan gøre skade på mitokondrier. Hvis små laktatkoncentrationer ikke har en massiv skadende påvirkning på mitokondrierne, så vil man herved kunne afvise, at laktat i sig selv kan sætte en epigenetisk prægning på fostret og gøre det ekstra sårbart over for omgivelserne og eventuelle triggere gennem livet som fx infektioner, vaccinationer, kemikalier osv., der normalt er skyld i udviklingen af ME/CFS [1]. Omvendt vil man kunne bekræfte, at der med stor sandsynlighed eksisterer en medfødt mitokondriedefekt hos en subgruppe af ME/CFS-patienter, som kan bakkes op af en målbar biomarkør, der allerede viste sig ved fødslen.

Metodevalg

Jeg vil udføre et registerstudie, hvor jeg vil gå tilbage i patientjournalerne og se på, om der eksisterer en fællesfaktor for ME/CFS-patienter. For studiets validitet vil jeg helst tage udgangspunkt i en homogen gruppe af forsøgspersoner, hvilket er svært at skaffe i Danmark, da der ikke foreligger et egentligt ME/CFS-register. Læge Jesper Mehlsen har dog data på i

alt 600 kvinder, der har rapporteret samme symptomer som ME/CFS-patienter efter HPV-vaccinen. Der er stor uenighed om HPV-vaccinen kan være en trigger for ME/CFS, men dette er dog underordnet for projektet [13, 14]. For uanset om vaccinen har været en trigger for sygdommen eller ej, så står vi med en relativ stor gruppe af kvinder i aldersgruppen 18-30 år, der alle har symptomer på ME/CFS og kan benyttes til mit registerstudie.

For alle nyfødte er der værdier for pH og BE/SBE [bilag 1], som jeg vil kunne bruge til at afgøre om en metabolisk acidose eventuelt har fundet sted. En lav pH kan ikke alene skelne mellem en respiratorisk og metabolisk acidose, men sammen med værdier for base excess (BE/SBE), der beskriver syre/base balancen i blodet, så vil det være muligt at tyde forstyrrelser som overproduktion af laktat. Nedenfor ses standardværdier på nyfødte og værdier for moderat og svær metabolisk acidose fra Aalborg Universitetshospital: Klinik Anæstesi, Børn, Kredsløb og Kvinder:Gynækologi-Obstetrik Aalborg [15].

Standardværdierne på nyfødte:

	Arterie
pH i arteria umbilicalis	[7,10; 7,38]
BE [mmol/L]	[-2,5; - 10,0]

Moderat metabolisk acidose:

pH i arteria umbilicalis	< 7,10
SBE [mmol/L]	< -10,0

Svær metabolisk acidose

pH i arteria umbilicalis	< 7,00
SBE [mmol/L]	< -16,0

Jeg vil udtrække data for en kontrolgruppe i forholdet 5:1 pr case, hvilket betyder, at der

skal 3000 raske personer til studiet på 600 ME/CFS-personer. Dette kan gøres ved at oprette et nyt projekt på Danmarks Statistik, hvorefter jeg vil kunne udtrække en tilfældig køn- og

aldersmatchet kontrolgruppe til sammenligning med patientgruppen. Efter databehandlingen vil jeg herved beregne en odds ratio (OR) for case-kontrol-studiet som kvotienten mellem odds for eksponering mellem cases og kontrolgruppe for at afgøre, om ME/CFS-patienter har haft en større hyppighed for lav pH og BE/SBE end kontrolgruppen.

Projektets udførelse

Forløb 1, (6-12 måneder)

For at jeg kan udføre projektet, der inkluderer behandlingen af andres personoplysninger, så skal der ifølge databeskyttelsesreglerne foreligge et lovligt grundlag. Først skal jeg have tilladelse til at anvende oplysningerne fra patientjournaler til mit registerstudie, hvilket Styrelsen for Patientsikkerhed skal godkende (der er ikke længere krav om en godkendelse fra Datatilsynet). Der ansøges via den elektroniske ansøgningsskabelon, hvorefter der normalt vil være en sagsbehandlingstid på op til otte uger. Det er desuden særlig sandsynligt, at jeg vil få tilladelse til at udføre projektet, da der er tale om et forskningsprojekt, der følger sundhedslovens § 46, stk. 2 [9].

Ifølge sundhedslovens § 46: " [...] andre fortrolige oplysninger fra patientjournaler m.v. kan videregives til en forsker til brug for et konkret sundhedsvidenskabeligt forskningsprojekt..." [10]. Jeg vil hermed ikke selv have adgang til oplysningerne, men jeg vil skulle overlade indsamlingen af data til en forsker eller en statistiker, der er ansat på en forskningsinstitution. Den autoriserede person vil hermed kunne søge efter forsøgspersonernes opbevarede patientjournaler i Rigsarkivet og regionale bevaringspligtige papirarkivalier, hvor der er krav på, at journalerne som minimum opbevares i ti år [11, 12]. Dette kan dog forenkles ved, at man søger om at oprette et helt nyt projekt inde på Danmarks Statistik, hvor man vil kunne udtrække både fødselsregistrene for ME/CFS-patienterne, men også data for en tilfældig køn- og aldersmatchet kontrolgruppe. Desuden vil der ud over pH og BE/SBE værdier også foreligge oplysninger om gestationsaldre og fødselsvægt, som jeg også vil kunne inddrage i databehandlingen.

Forløb 2, (1-2 uger)

Efter jeg har indsamlet alt nødvendigt data, så vil jeg begynde på databehandlingen som tidligere beskrevet. Dette kan jeg udføre selv, da værdierne herved vil være anonyme og ikke kunne spores tilbage til patienterne.

Forløb 3

Hvis det viser sig for, at der er en association mellem laktat og udviklingen af ME/CFS, så vil jeg udføre et eksperimentelt forsøg for at vurdere, om der er tale om en medfødt mitokondriedysfunktion eller et forhøjet laktatniveau grundet hypoksi, der har været med til at sætte en epigenetisk prægning på fostret og gjort, at det sammen med andre triggere har kunnet udvikle sygdommen ME/CFS. Inden dette kan gøres, så skal forskningsprojektet anmeldes til det videnskabetiske Komitéssystem, der har deadlines og møder året rundt.

Budget

Nedenfor ses det forventede budget for udførelsen af registerforsøget, hvor de fleste omkostninger estimeres at forbruges til opretningen af et nyt projekt hos Danmarks Statistik, hvor det vil være muligt at udtrække alt nødvendigt data for de 600 ME/CFS-patienter og 3000 kontrolpersoner.

Udgifter	Beskrivelse	Reference	Beløb [DKK]
Danmarks Statistik	Udtræk af data	Dorte Rytter	15.000
Løn til statistiker	Indsamling af data	Dorte Rytter	3.000
Transport	~ 5 møder i KBH	DSB (165 pr. togbillet)	~ 1.650
Totalsum			~ 19.650

Konklusion og perspektivering

Hvis det viser sig for, at der er en association mellem ME/CFS-patienter og et forhøjet laktatniveau hos dem under fødslen, så vil det bane vejen videre for nye eksperimentelle forsøg, hvor man vil kunne undersøge kausale sammenhænge. Det vil dernæst være muligt at sandsynliggøre, om en subgruppe af ME/CFS-patienter i virkeligheden lider af en medfødt mitokondriedysfunktion, som man indtil nu ikke har kunnet bekræftet med sikkerhed. Hvis det senere viser sig for, at sammenhængen er der, men at laktat også alene kan gøre skade på mitokondrierne, så vil man skulle undersøge, om det sammen med andre triggere også kan udvikle ME/CFS. Der er dog altid en sandsynlighed for, at hypotesen gennem registerstudiet bliver falsificeret, men dette er et lige så stort bidrag til forskningen, da man ikke kan afkræfte hypoteser og slet ikke udtænke nye, uden at man har undersøgt dem først.

TAK

Stor tak til min forskerkontakt Rikke Olsen, lektor ved Molekylær Medicinsk Forskningsenhed, Institut for Klinisk Medicin, Aarhus Universitet og Aarhus Universitetshospital, for at vejlede mig gennem projektforsøbet.

Tak til min bioteknologilærer Ivar Dencker for at være min primære vejleder på skolen, og tak til proceslærer Nicholas Barnes for også at støtte mig igennem processen. Derudover vil jeg takke lektor Dorte Rytter (AU) for at give mig gode råd til, hvordan data indsamles i et registerstudie, og endnu en stor tak til læge Jesper Mehlsen for at besvare mine spørgsmål omkring forsøgsgruppen.

Til sidst vil jeg sige tak til de to PhD-studerende Ana Gonzales Ebsen (AU) og Anne Sofie Skou (AAU) for også at tilbyde deres hjælp under forløbet.

Litteraturliste

- [1] H. Nielsen, ME-Foreningen og Sundhedsministeriet, "ME - en kronisk og overset sygdom, vejledning til diagnose og behandling". URL: https://me-foreningen.dk/wp-content/uploads/2019/01/Lægehæfte_print.pdf
- [2] F. Twisk, "Studies and surveys implicate potential iatrogenic harm of cognitive behavioral therapy and graded exercise therapy for myalgic encephalomyelitis and chronic fatigue syndrome patients", Research on Chronic Diseases (2017) Volume 1, Issue 2. URL: <https://www.openaccessjournals.com/articles/studies-and-surveys-implicate-potential-iatrogenic-harm-of-cognitive-behavioral-therapy-and-graded-exercise-therapy-for-myalgic-en-12190.html>
- [3] M. Vink og A. Vink-Niese, "Graded exercise therapy for myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome is not effective and unsafe. Re-analysis of a Cochrane review", PMS, 2018.
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6176540/>
- [4] G. Morris og M. Maes, "Mitochondrial dysfunctions in Myalgic Encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome explained by activated immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress pathways", Metabolic Brain Disease, vol. 29, no. 1, pp. 19–36, 2014.
- [5] J. M. VanNess, S. R. Stevens, L. Bateman, T. L. Stiles og C. R. Snell, "Postexertional malaise in women with chronic fatigue syndrome", Journal Womens Health, vol. 19, no. 2, pp. 239–244, 2010.
- [6] D. E. J. Jones, K. G. Hollingsworth, A. M. Blamire, R. Taylor og J. L. Newton, "Abnormalities in pH handling by peripheral muscle and potential regulation by the autonomic nervous system in chronic fatigue syndrome", Journal of Internal Medicine, vol. 267, no. 4, pp. 394–401, 2010.
- [7] D. E. J. Jones, K. G. Hollingsworth, D. G. Jakovljevic et al., "Loss of capacity to recover from acidosis on repeat exercise in chronic fatigue syndrome: a case–control study", European Journal of Clinical Investigation, vol. 42, no. 2, pp. 186–194, 2012.
- [8] Juel C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiol Rev* 1997;77:321-58.

- [9] Styrelsen for Patientsikkerhed, "Patientjournaloplysninger til forskning" (besøgt: 1/10/19). URL: https://stps.dk/da/ansvar-og-retningslinjer/patientjournaloplysninger-til-forskning/?fbclid=IwAR1IonsRQBf4Z7EAW8faUtErpItzoSoY8Jv5RoXgtbuloz7Hh_N_30Nb0#
- [10] Danske Love, "Sundhedsloven § 46" (besøgt: 09/10/19). URL: <https://danskelove.dk/sundhedsloven/46>
- [11] Rigsarkivet, "Vejledning om bevaring og kassation af arkivalier hos regionerne", 2015 (besøgt: 09/10/19). URL: https://www.sa.dk/wp-content/uploads/2015/06/Vejledning-til-regionsbekendtgørelsen_juni-2015.pdf
- [12] Styrelsen for Patientsikkerhed, "Journalopbevaring", (besøgt: 09/10/19). URL: <https://stps.dk/da/ansvar-og-retningslinjer/journalfoering/journalopbevaring/>
- [13] B. Feiring, I. Laake, I. J. Bakken, M. Greve-Isdahl, V. B. Wyller, S. E. Håberg, P. Magnus og L. Trogstad, "HPV vaccination and risk of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: A nationwide register-based study from Norway", ScienceDirect, 24/07/17. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X17308083>
- [14] Vibeke Vind, ME-foreningen. URL: <http://hvp-bivirkningsramte.dk/sites/default/files/ME%20HPV-Redegoerelse-fra-Vibeke-Vind-29112115-til-Sundhedsmyndighederne-og-FT.pdf>
- [15] M. Møller, "Navlesnors-pH", Region Nordjylland: Aalborg Universitetshospital: Klinik Anæstesi, Børn, Kredsløb og Kvinder:Gynækologi-Obstetrik Aalborg, 08/03/2018. URL: <https://pri.m.dk/Sider/19429.aspx>

Bilag 1

Blodgas-værdier

pH	7,330	
pCO ₂	6,02	kPa
pO ₂	2,05	kPa

Syre-Base-status

ABE _c	-2,4	mmol/L
SBE _c	-2,2	mmol/L

Noter

c Beregnet/beregnete værdi(er)

Væskepakke lotnr.: HQ-64

Sensorkassette run nr.: 1588-94

Udskrevet 