

# Protea Biopharma Persconferentie

Ritz Hotel London, donderdag 28 mei 2009

## Ontrafeling van de ware aard van Myalgische Encefalomyelitis: gastro-intestinale dysfunctie, productie van neurotoxines en milieublootstelling

Prof. Kenny De Meirleir, M.D, Ph.D  
Chris Roelant, Ph.D  
Marc Frémont, Ph.D



Protea Biopharma

### Myalgische encefalomyelitis : een invaliderende ziekte met een hoge prevalentie

---

- **Persisterende, invaliderende vermoeidheid in combinatie met talrijke fysieke en neurocognitieve symptomen**  
Ernst van de ziekte kan variëren van matig tot extreem ernstig: patiënten die jaren bedlegerig zijn en compleet afhankelijk zijn van verzorgers.
- **Schattingen van prevalentie: 0,3 tot 0,6%, 1 miljoen patiënten in de Verenigde Staten, 2 miljoen patiënten in Europa**  
Dit is mogelijk het topje van de ijsberg.
- **Hoge socio-economische kosten**  
Kosten voor de maatschappij worden geraamd op ongeveer 16 biljoen \$ in de VS, 20 biljoen € in Europa

### Intestinale problemen bij ME-patiënten

---

- **Patiënten vertonen gewoonlijke verschillende intestinale symptomen:**
  - Misselijkheid
  - Slechte eetlust
  - Maagreflux
  - Buikpijn
  - Abnormale darmmotiliteit
  - Opgeblazenheid
- **Inflammatie van het maag-darmsysteem**
- **Opmerkelijke verandering in de intestinale microbiële flora**

## Veranderingen in de intestinale microflora (aeroob)

- *Enterococcus* en *Streptococcus* species zijn sterk oververtegenwoordigd bij ME-patiënten:

Organisms	Control	ME patients	p-value
<i>E.coli</i>	$1.0 \times 10^8$	$4.26 \times 10^7$	$p=0.98$
<i>Enterococcus</i> spp.	$5.0 \times 10^6$	$3.5 \times 10^7$	<b><math>p&lt;0.001</math></b>
<i>Streptococcus</i> spp.	$8.9 \times 10^4$	$9.8 \times 10^7$	<b><math>p&lt;0.001</math></b>

Henry Butt, University of Melbourne

## Veranderingen in de intestinale microflora (anaeroob)

- Van de anaerobe bacteriën wordt *Prevotella* als meest consistente bacterie in overgroei aangetroffen:

Organisms	Control	ME patients	p-value
<i>Bacteroides</i> spp.	$3.2 \times 10^{11}$	$1.6 \times 10^{11}$	$p=0.39$
<i>Prevotella</i> spp.	$1.0 \times 10^8$	$9.0 \times 10^9$	<b><math>p&lt;0.001</math></b>
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$6.0 \times 10^8$	$5.5 \times 10^9$	<b><math>p=0.001</math></b>
<i>Lactobacillus</i> spp.	$2.7 \times 10^7$	$1.8 \times 10^8$	<b><math>p=0.002</math></b>

Henry Butt, University of Melbourne

## Bacteriële overgroei correleert met de ernst van de symptomen

- *Enterococcus* spp. aantallen correleren met symptoom expressie:

Symptoms	r and p-values
Headache	$r=.17$ , <b><math>p&lt;0.01</math></b>
Arm pain	$r=.20$ , <b><math>p&lt;0.003</math></b>
Shoulder pain	$r=.15$ , <b><math>p&lt;0.04</math></b>
Myalgia	$r=.20$ , <b><math>p&lt;0.003</math></b>
Palpitations	$r=.16$ , <b><math>p&lt;0.02</math></b>
Sleep disturbance	$r=.20$ , <b><math>p&lt;0.004</math></b>

Henry Butt, University of Melbourne

- *Streptococcus* spp. aantallen correleren met het voorkomen van een aantal symptomen

Symptoms	r and p-values
Post Exertional fatigue	r=.15, <b>p&lt;0.03</b>
Photophobia	r=.14, <b>p&lt;0.04</b>
Mind going blank	r=.17, <b>p&lt;0.01</b>
Cervical gland lymphodynia	r=.14 <b>p&lt;0.04</b>
Palpitations	r=.15, <b>p&lt;0.03</b>
Dizziness/Faintness	r=.14, <b>p&lt;0.05</b>

Henry Butt, University of Melbourne

### Waterstofsulfide geproduceerd door bacteriën werkt als potentiële toxine voor het lichaam

- Waterstofsulfide (H<sub>2</sub>S) heeft belangrijke fysiologische functie

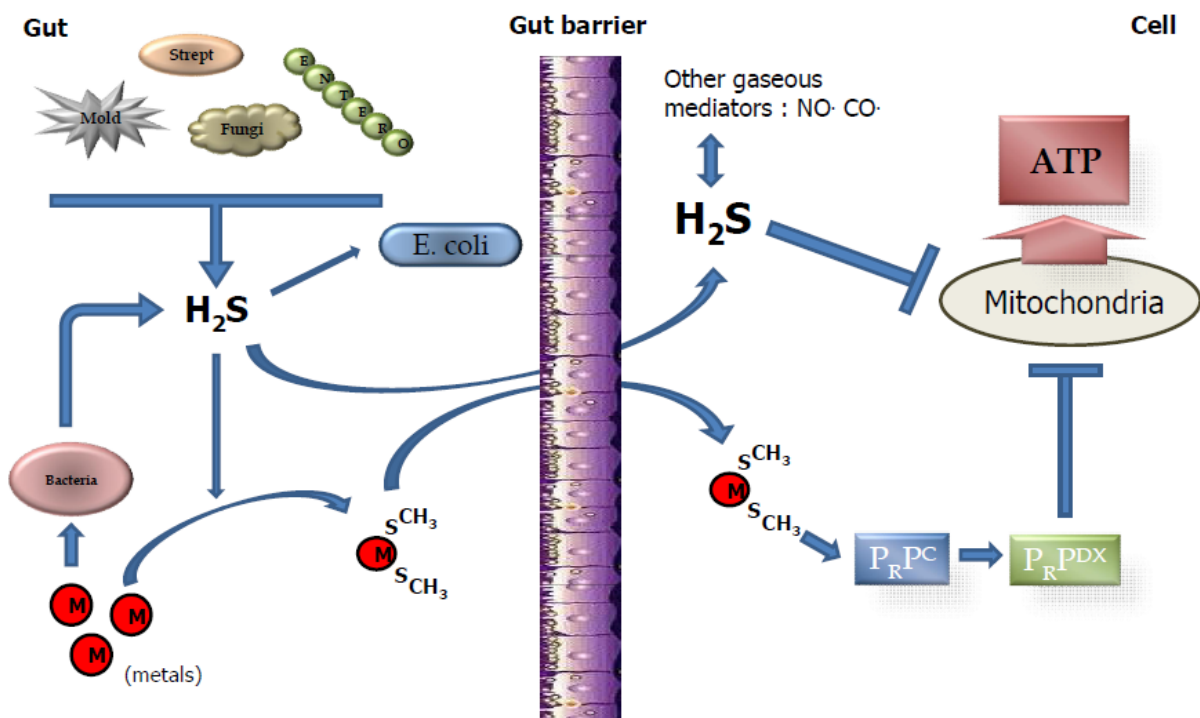
H<sub>2</sub>S wordt door cellen geproduceerd en is een belangrijk gasvormig signaal molecule, betrokken bij de regulatie van de bloeddruk, neurotransmissie, spierontspanning en regeling van inflammatie

- ...maar exogene blootstelling kan uiterst toxisch zijn

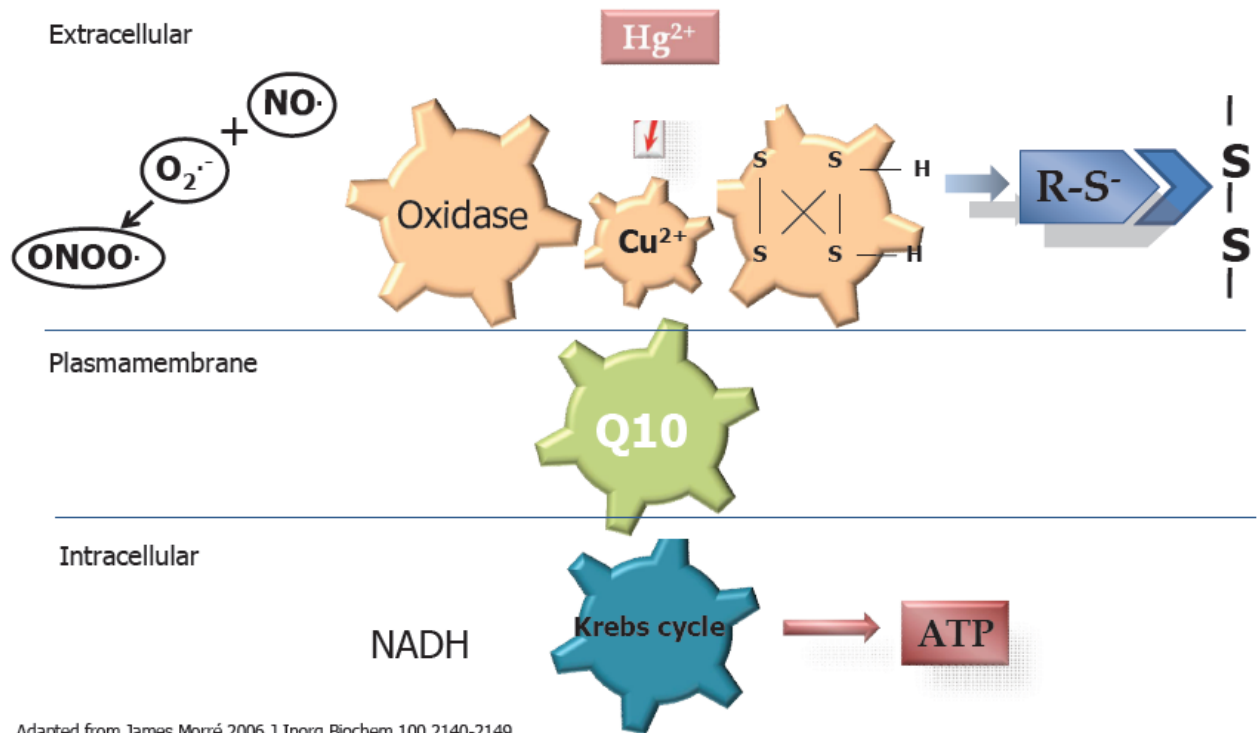
In overvloed handelt H<sub>2</sub>S als een mitochondriaal gif. Het kan onmiddellijk enzymen remmen betrokken in de cellulaire energieproductie. H<sub>2</sub>S interfereert ook met zuurstoftransport door hemoglobine te blokkeren in de rode bloedcellen.

*Enterococcus, Streptococcus, Prevotella* zijn sterke H<sub>2</sub>S producenten

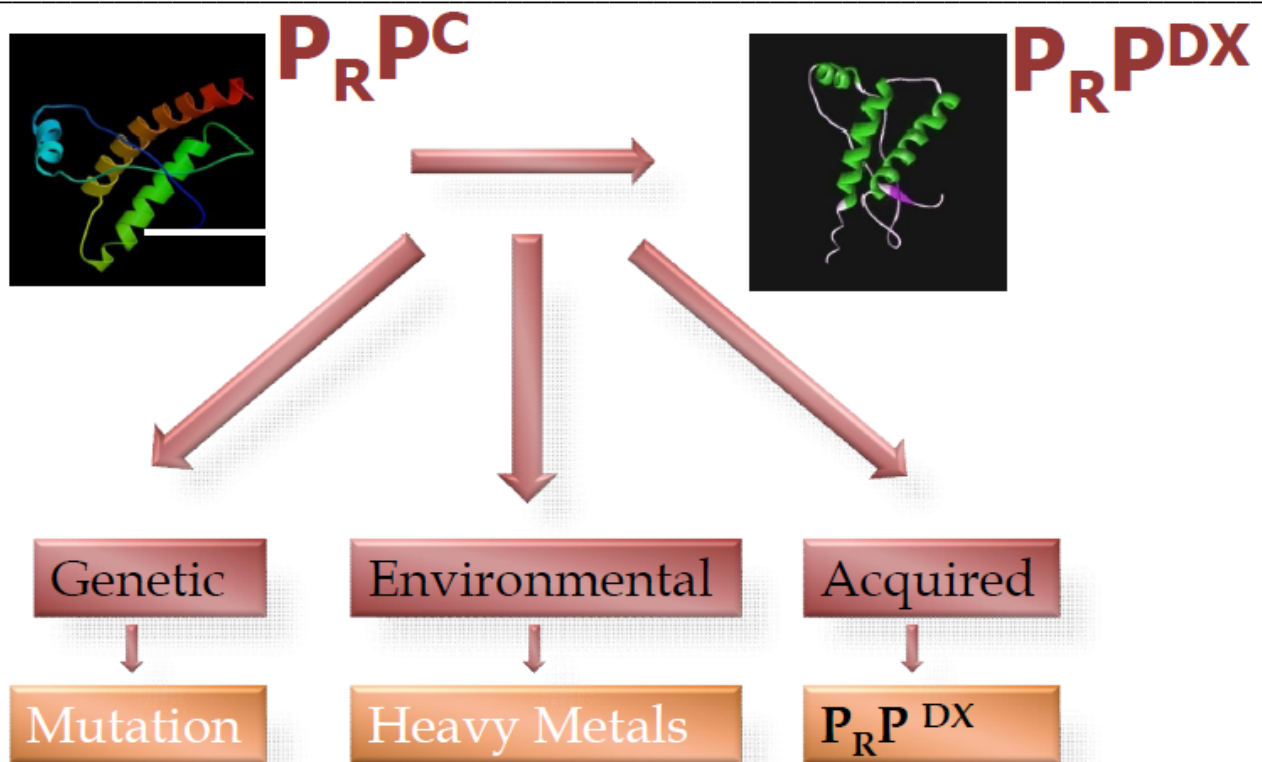
### Cumulatieve effecten van H<sub>2</sub>S en zware metalen



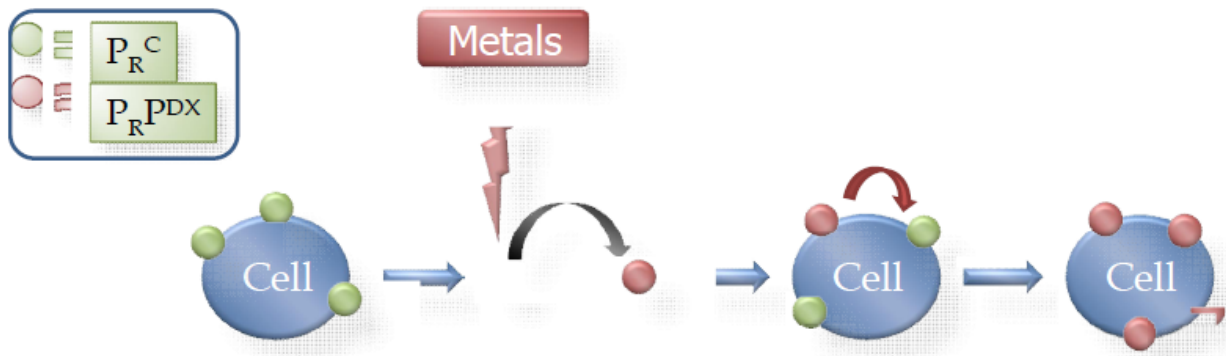
Zware metalen interfereren onmiddellijk met energieproductie



Genetische en milieufactoren dragen bij aan afwijkende proteïne vorming



Abnormale prion vorming kan overgedragen worden van de ene cel naar de andere

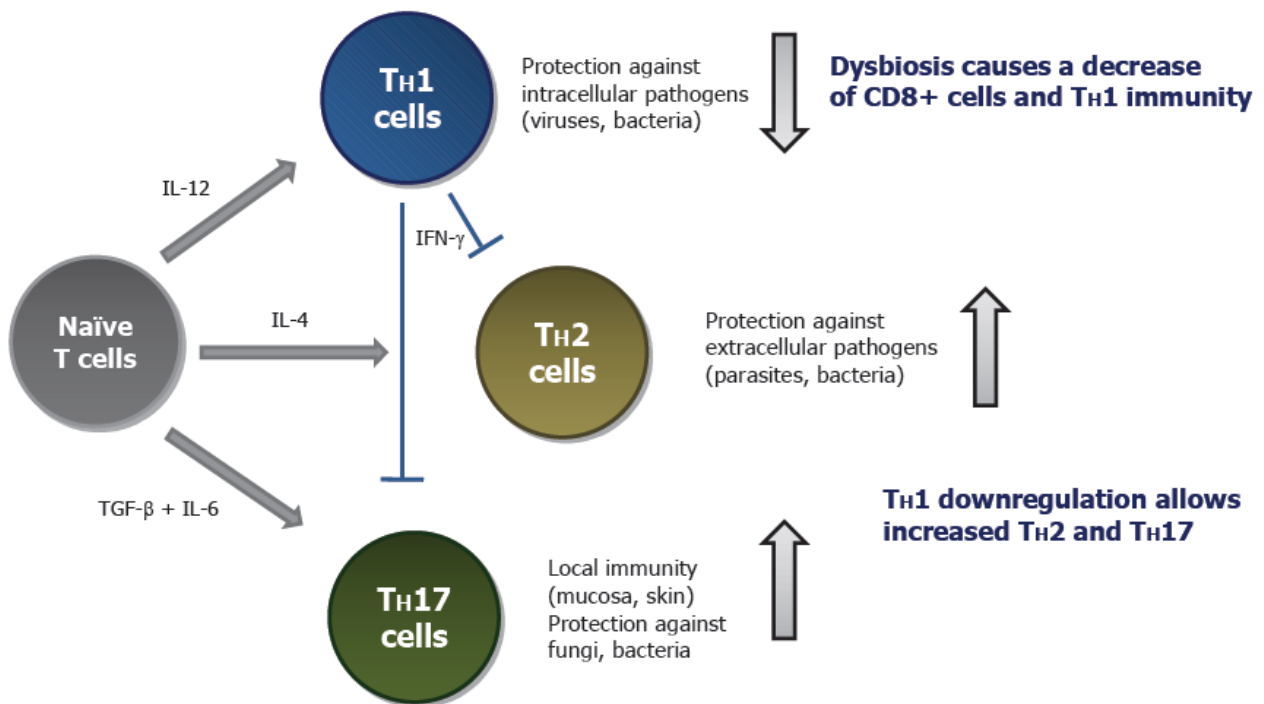


Ernst van de ziekte wordt geassocieerd met verschillende fysiologische dysfuncties

	I "Pre-ME"	II Matige ziekte	III Ernstige ziekte
<b>Dysfuncties</b>	Abnormale faecale test, hoge H <sub>2</sub> S	Abnormale faecale test, hoge H <sub>2</sub> S, blootstelling aan zware metalen	Abnormale faecale test, hoge H <sub>2</sub> S, blootstelling aan zware metalen die "afwijkende prion ziekte" (APD) veroorzaakt
<b>Symptomen</b>	Geen vermoeidheid, mogelijke gastro-intestinale symptomen. Lage VO <sub>2</sub> , traag herstel. Kan asymptomatisch zijn	Vermoeidheid, gastro-intestinale symptomen	Ernstige vermoeidheid, een scala aan symptomen
<b>Behandeling</b>	Herstel de darm: probiotica	Herstel de darm: probiotica, antibiotica tegen enterococcus, metaalchelatie, zink supplementatie	Moeilijk. Herstel van de darm, metaalchelatie. Behandeling van geassocieerde dysfuncties (opportunistische infecties). Behandeling van APD is nog experimenteel.

Stijgende immuunontregeling (onderdrukte T en NK cellen, Th17 activatie, opportunistische infecties...)

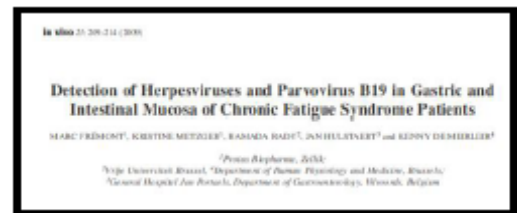
## Immunologische veranderingen treden op als resultaat van de intestinale dysfunctie



### Gevolgen van veranderde immuniteit

- **Th1-daling zorgt voor de ontwikkeling van opportunistische virale infecties**

HHV-6, Epstein-Barr, parvovirus B19, enterovirussen worden teruggevonden bij ME-patiënten. Gastro-intestinale mucosa zijn een grote bron van infectie. (n.v.d.r. meer info door F. Twisk: [klik hier](#))



(n.v.d.r. [klik hier](#) voor de publicatie)

- **Th2-stijging zorgt voor de ontwikkeling van allergieën**

(n.v.d.r. meer info over Th1-Th2-shift door F. Twisk: [klik hier](#) 4.1.3)

- **Th17-stijging zorgt voor inflammatie, auto-immuniteit, bloed-hersenbarrière onderbreking**

(n.v.d.r. meer info door F. Twisk: [klik hier](#))

### Genetische achtergrond speelt een rol in de activatie van het Th17-afweermecanisme

Polymorfismen van IL-17F, IL-6, TLR4, TGF-β genen zijn geassocieerd met ME en andere intestinale ziektes (ziekte van Crohn, colitis ulcerosa, prikkelbaar darmsyndroom)



(n.v.d.r. [klik hier](#) voor het abstract)

## Evaluatie patiënt

---

- Urinetest als marker geassocieerd met H<sub>2</sub>S-productie
- Evaluatie van de intestinale microflora
- Analyse van zware metalen
- Aanwezigheid van 'afwijkende prionen vorming'
- Analyses die de subsequeante immunofuncties in kaart brengen (immuundefuncties, opportunistische infecties)

Een marker geassocieerd met H<sub>2</sub>S productie kan gemeten worden met een eenvoudige urinetest

---

### 1. Collectie urinestaal



### 2. Open tube die het testreagens bevat



### 3. Voeg een paar druppels urine aan het testreagens toe



### 4. Meng door licht te schudden Wacht twee minuten



### 5. Observeer de kleurveranderingen. Donkere kleur = positief staal



Negative or  
Pre-ME

Moderate  
disease

Severe  
disease

Een specifieke microbiële analyse kan de darmflora populaties bepalen

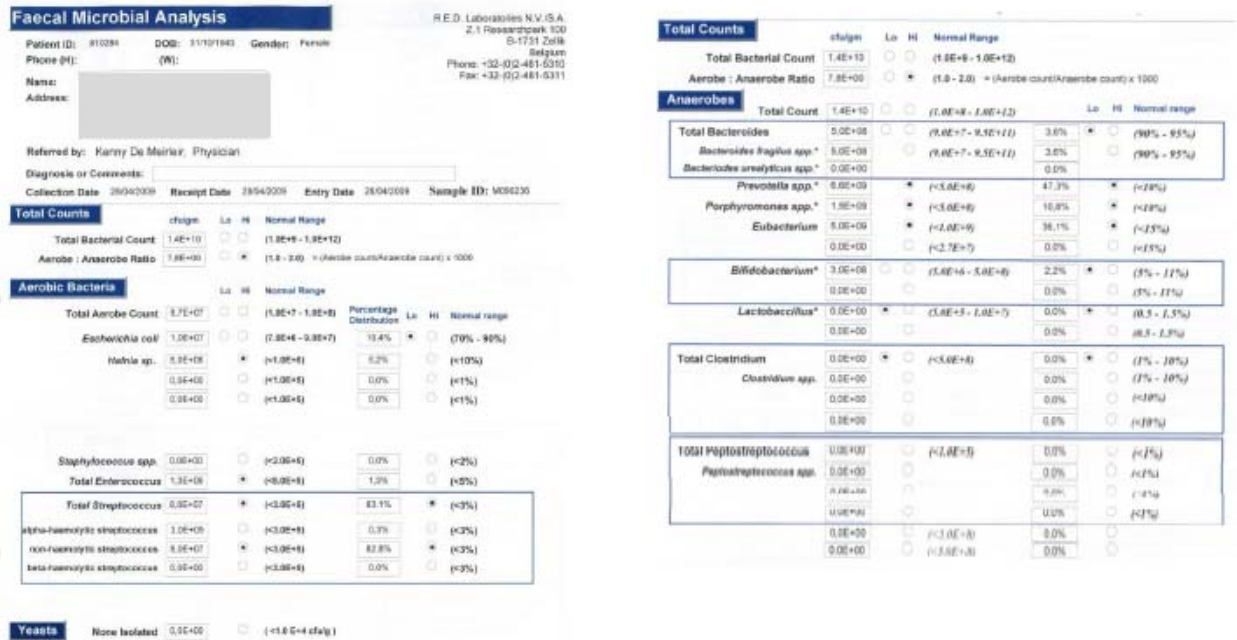
---

- **Onderzoek van de microbiële flora van het maag-darm-systeem**
  - Kwantificeer grote aerobische en anaerobische bacteriële groepen en gist
  - Focus op dysbiose (imbalance van het intestinaal ecosysteem) in plaats van op digestieve analyse die de darmintegriteit nagaat.
- **Uitdaging: houd anaërobe bacteriën houdbaar voor analyse**
  - Gevalideerde zuurstofvrije, temperatuur gecontroleerde collectie en verzendings systeem



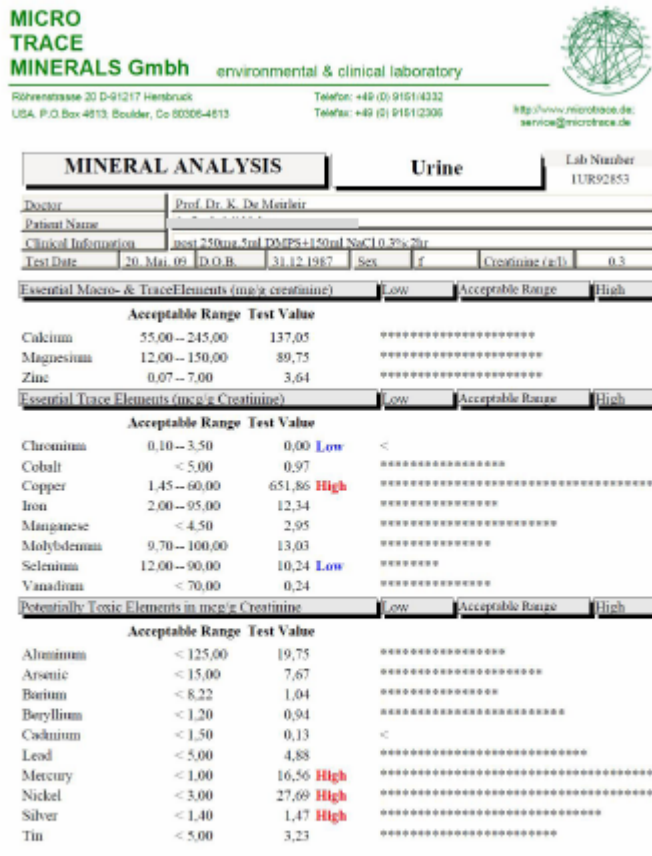
## Microbiële analyse: voorbeeld resultaat

- Patiënt vertoont gestegen *Streptococcus*, *Enterococcus* en *Prevotella*



## Zware metalen analyse: voorbeeld resultaat

- Patiënt vertoont kwik en nikkel intoxicatie

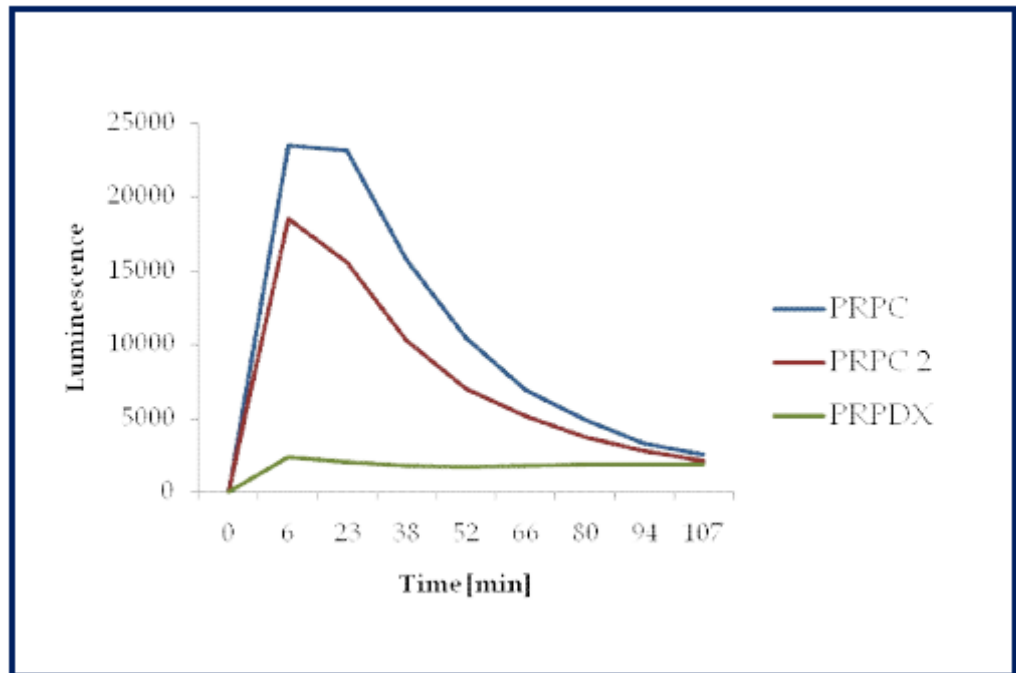


\* The 95percentile Ranges represent baseline urine values and are calculated on the creatinine value. The utilized range is 0.5 to 3.0 g/L creatinine (WHO 2005). For element-specific information see attachments.

Accreditation: DIN EN ISO 17025: Quality control: Dr. Raubold PhD; Validation: Dr. E. Blarrock-Busch PhD



- Afwijkende luminescentie wijst op 'afwijkende prionen vorming'



## CONCLUSIES

---

- Gastro-intestinale dysfuncties spelen een centrale rol in de pathogenese van ME
- Dysbiose schadelijk effect gemedieerd door gestegen H<sub>2</sub>S productie
- Immuundysfuncties en opportunistische infecties verschijnen als gevolg van voorbestaande intestinale problemen

Enmaal aanwezig, zullen infecties bijdragen aan het in stand houden en verergeren van de ziekte

## Erkenningen (dank aan)

---

- Henry Butt aan het Bio21 Institute, University of Melbourne



- Marien Dix Lemle, Onafhankelijk Onderzoeker, Washington DC

*Medical Hypotheses. 2009 Jan; 72(1):108-9. Epub 2008 sep 16. Hypothesis: chronic fatigue syndrome is caused by dysregulation of hydrogen sulphide metabolism. Lemle (n.v.d.r. [Klik hier](#) voor de wetenschappelijke publicatie)*