

## ENCEFALOPATIA MIALGICA / SINDROME DE FATIGA CRONICA

Kenny De Meirleir, M.D., Ph.D.

Professor of Physiology, pathophysiology and Medicine

Vrije Universiteit Brussel, Brussel, Belgium

Sevilla, 22-10-2011

### Parte 1:

#### Test de laboratorio que apoyan el diagnóstico clínico de la en EM/SFC

Test de laboratorio empleados en más de 1000 pacientes que muestran anomalías comunes a la enfermedad en:

1. Sangre
2. Biopsia estomacal
3. Test de heces
4. Saliva
5. Orina

#### 1-SANGRE:

- Velocidad de sedimentación baja
- Anemia
- HCT normal
- Hematocrito elevado
- Leve Eosinofilia
- Trombocitosis
- PCR normal, PCR hs aumentada.
- Ácido úrico bajo → Th2 (señala la gravedad de la enfermedad)
- Cobre / ceruloplasmina: aumentado
- AST / ALT: aumentado (aumento de la actividad de células de Kupffer)
- Gamma GT: esteatosis hepática
- Vit D3 (OH) / Vit D 1,25 diOH
- Fosfatasa alcalinas: puede llegar a ser muy baja
- Ferritina (alta o baja)
- IgG1 / IgG3 deficiencia (adquirida)
- Electroforesis de proteínas anormales

#### INMUNOFENOTIPO:

- Número total de linfocitos: bajo 10 - 20%
- Alteración del ratio CD4/CD8
- 3-5% menos de 510/mm<sup>3</sup> CD4 + linfocitos T
- 20% menos de 230/mm<sup>3</sup> linfocitos T CD8 +
- Ratio de las células NK (CD3-CD-16CD56+ linfocitos / NK células T (CD3 +CD16CD56+linfocitos)
- Células B (CD19 +/CD5 + CD19 +)
- CD14 Soluble: incrementado en el 90% de los pacientes -correlacionado con la severidad de la enfermedad.
- Bajo número de linfocitos CD57 en la mayoría de los pacientes con ME/SFC.
- Actividad leucocitaria de la elastasa: Incrementada en un subgrupo de pacientes
- C4a: incrementado en el 80 % de los pacientes.
- Expresión de la Perforina mRNA
- IgM, IgG / PCR zoonosis: Bartonella henselae> Borrelia> Coxiella> Rickettsia
- IgG / Micosis /moho: Aspergillus Niger> Cladosporium> Penicillium> Candida albicans> Aspergillus fumigatus> Alternaria alternata

#### CITOCINAS (NIVELES SÉRICOS DE CITOQUINAS):

- IL-8, MCP1, MIP-1 beta
- IL-6, IL-10
- IL-12
- TGF-beta1
- TNF alfa

#### INTOLERANCIA A LOS ALIMENTOS PANEL DE IGG

- caseína
- gluten
- lactosa y otros
- Transglutaminasa tisular y los anticuerpos antigliadina (IgA / IgG)
- Gen de la lactasa defectuoso (homocigotos)

#### DETECCIÓN DE GAMARETROVIRUS

- XMRVc (Lombardi et al.)
- Env
- Gag
- XMRV serologías (Lombardi et al.)
- MLV (Lo et al.)

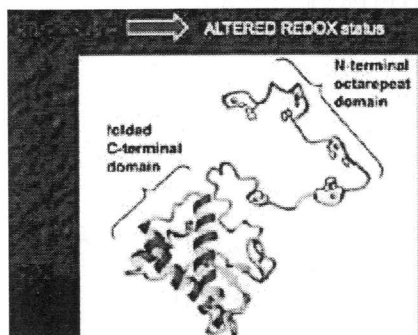
#### XMRV SEROLOGÍAS:

- 50 controles sanos: 14 % positivos
- 84 pacientes de ME/SFC: 57 % positive
- 26 pacientes de EM que tuvieron una transfusión de sangre previa a su enfermedad: 61% son +
- 14 pacientes de EM que donaron sangre posterior a su enfermedad: 43% son positivos.
- En 61 pacientes de EM / SFC (Bélgica, Noruega, Australia, Suecia, Islandia, Países Bajos, Luxemburgo)
- XMRV serología / XMRVc / MLV al menos uno de las pruebas son positivas en el 73,6%

#### 2. BIOPSIA ESTOMACAL

- El retrovirus XMRV se replica preferentemente en la mucosa in vivo: ¿Relevancia en la posible transmisión de XMRV?
- Francois Villinger et al. Retrovirología 2011, 8(Suppl 1): A219
- Fremont et al. (en preparación)
- 84 pacientes de EM / SFC (PCR negativa / cultivo/ serología)
- 10 + XMRV PCR biopsia gástrica (utilizando 3 primers diferentes)

## DETECCION DE REDOX POR PRPC



### PRPC: FUNCIONALIDAD

- Transporte de cobre
- Calcio: Tipo-L canal cerrado de tensión
- Eje-HPA
- Protección neuronal
- Transducción de señales (ERK, MAPK)
- Flujo de salida de las bombas de PgP / MRP asociación
- Otros

### PRPC-DISTRIBUCIÓN DEL TEJIDO

- cerebro
- hipocampo
- intestino
- Las células linfoides (alta expresión en las células NK)
- estómago
- bazo
- musculos

### METODOLOGIA

Se incubaron PBMC'S en un tampón apropiado, en presencia de una sonda quimiluminométrica (CLP).

- A continuación, se añade un disparador PrPc redox que provoca la estimulación mediada reactiva del oxígeno (ROS) que es proporcional al estado activo de la PrPc y en la cual ROS reacciona con CLP para producir luz (Lb) que puede ser detectadas frente a un fotomultiplicador.
- En una muestra idéntica y un CLP un disparador adicional se

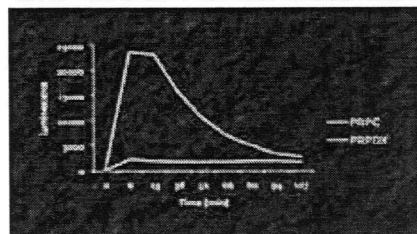
agrega que estimulan las células para producir ROS a la capacidad máxima (Lmax).

- Lmax / Lb define un índice de PrPc funcional (SI) que se puede comparar a los diferentes tejidos y las células de los controles y las poblaciones de pacientes

### OBJETIVOS:

- Las proteínas priónicas celulares (PrPc) son pequeñas glicoproteínas unidas a la hoja exterior de la membrana plasmática de las células mamarias por un ancla de glycosylphosphatidyl. La isoforma de la proteína priónica se expresa en células hematopoyéticas, células neuronales, células B y T, células NK, los músculos del tracto intestinal, el bazo, las glándulas suprarrenales, las células endoteliales y plaquetas.
- El PrPc que se une cobre, juega un papel en la absorción de calcio, protegen las células contra el estrés oxidativo, evita que las células de la apoptosis, interactúa con el virus (unión gp-120), está implicado en la neuroprotección y juega un papel importante en la respuesta inmune y la angiogénesis.
- Por lo tanto, estima que las características principales de la EM/SFC, tales como el estrés oxidativo, las canalopatías de calcio, la disfunción de las células T, los cambios en la absorción de cobre, alteración de la morfología de los glóbulos rojos y el transporte de oxígeno, la coagulación y la respuesta hormonal (eje HPA), así como la entrada del virus podría ser atribuido a una función PrPc aberrante.

### ENSAYO DE LA FORMACIÓN



## ANORMAL DE PROTEÍNA

Luminiscencia aberrante.

### RESULTADOS:

- Los PBMC, obtenidos a partir de pacientes de EM / SFC muestran SI's aberrantes (extremadamente bajo SI <3 o extremadamente altas S > 20 en comparación con los controles (SI = 10 + / - 3)

### CONCLUSIONES:

- La funcionalidad PrPc de PBMC está alterada en los pacientes con ME / SFC. El análisis quimiluminométrico proporciona una herramienta útil para desarrollar y explorar pruebas funcionales de PrPc y plataformas de interacción de medicamentos de PrPc (descubrimiento de fármacos) en la ME / SFC y otras enfermedades crónicas (fibromialgia, artritis reumatoide, el autismo, el cáncer).

### 3. ANALISIS DE HECES:

- hongos
- Parásitos: por ejemplo, Blastocystis hominis
- Agentes patógenos
- Antígeno de Giardia
- Antígeno de Cryptosporidium
- IgA en heces: 98% de los pacientes de EM / SFC tienen niveles extremadamente bajos
- Anti-quimotripsina en heces (colitis)
- Quimotripsina en heces (función pancreática exocrina)
- Sangre oculta en heces

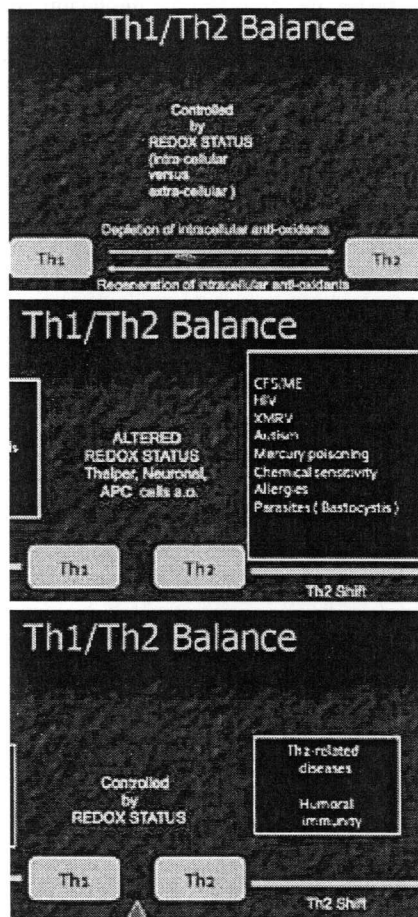
### ANÁLISIS MICROBIANA DE HECES:

- Crecimiento excesivo de Enterococcus / Streptococcus
- Crecimiento excesivo de Prevotella
- H2S / d bacterias productoras de lactato

#### 4. ANÁLISIS DE SALIVA:

- cortisol
- Ameba histolytica IgA
- Helicobacter pylori IgG
- gliadina IgA

#### 5. ANALISIS DE ORINA



#### OBJETIVO:

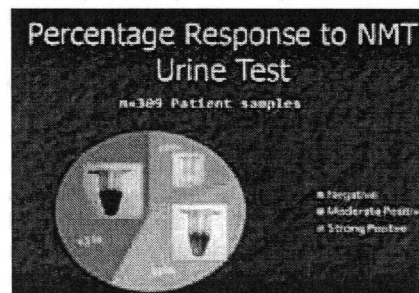
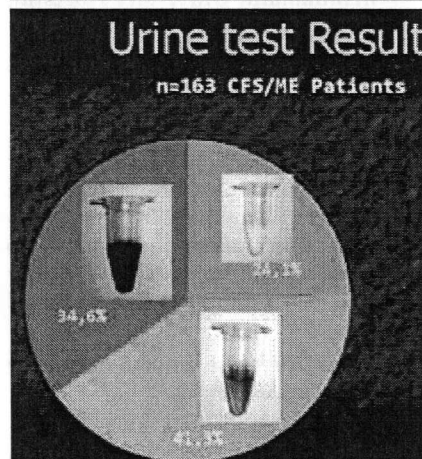
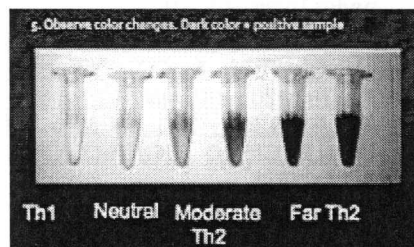
- Desarrollar un autotest sencillo que permita a los pacientes para determinar su perfil Th1/Th2 y realizar el seguimiento sobre el efecto de cualquier tratamiento para equilibrar su estado de Th1/Th2.

#### METODOLOGÍA:

- Mediante el análisis de un número masivo de primeras orinas de la mañana las muestras obteni-

das de pacientes que tienen situaciones con un brazo hiperactivo de la Th2 (colitis ulcerosa, el autismo, el envenenamiento por mercurio, las infecciones virales) nos encontramos con un principio de reacción que utiliza un color del sustrato colorimétrico para cambiar al reaccionar con los metabolitos contenidos en las muestras de orina: de color amarillo (neutral) color verde claro (moderado Th2) y de color morado oscuro y negro (Elevado Th2).

- El desarrollo del color depende del tiempo y la cantidad.



#### RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE PACIENTES CON EM / SFC

- El 80% de las muestras de orina obtenidas de pacientes con EM / SFC produce un cambio cuantitativo en función del tiempo en el color, en comparación con el 4% de los controles (controles perfecto estado de salud)

#### CONCLUSIÓN

- El principio de prueba de orina que hemos desarrollado ofrece una forma fácil de determinar y dar seguimiento en el balance Th1/Th2 en la salud y la enfermedad y a la vez que proporciona una prueba más de que el SFC / EM es una condición asociada a una sobreactividad del brazo Th2.

#### Parte 2:

#### Estrategia de terapias y estudios de tratamientos noveles

#### DIETA:

- malabsorción de fructosa
- intolerancia a la lactosa
- Gluten / gliadina intolerancia
- caseína intolerancia
- hipersensibilidad histamina

#### TRATAMIENTO PARA LA DISBIOSIS INTESTINAL

- Antibioterapia pulsada (con cubierta entérica) adaptado a los resultados del análisis de microbios fecales
- Los probióticos elegidos en base a resultados de análisis microbiológicos fecales
- Los prebióticos / lactoferrina
- Enzimas / HCl, si es necesario
- biofilm eliminación
- Si la actividad elastasa es alta → antibióticos betalactámicos

#### ESTRATEGIA DE TRATAMIENTO ANTI-INFLAMATORIO:

- No por vía oral NSAID/ I.M. si es necesario
- Artesunate (NF kappa B bloqueantes)
- Curcumina

- ONOO-: Hidroxocobalamina / metilcobalamina
- Muchas otras opciones

#### **PRPC**

- DMSO
- Oxígeno - 5 l O<sub>2</sub>/min - 4 horas al día
- Otros

#### **ISOPRINESINE**

- Funciona mejor en aquellos con Th1→Th2 cambiado
- Bajos niveles séricos de ácido úrico
- 1 / 3 pacientes "respondedores"

#### **KUTAPRESSIN**

Tratamiento de pacientes con EM usando Kutapressin con Hepapressin Complex basado en el ciclo de la metilación. Estudio de Doble Ciego (Elander, NY, 2011)

#### **GCMF (USO COMPASIVO)**

- 108 pacientes con EM / SFC (edad 18-65 años):
- 34 MLV+
- 54 XMRVc+
- 20 XMRV serología+
- GcMAF: 100 nanogramos en un ml de suero fisiológico
- I.V. o S.C. una vez por semana
- Dosis: 25 - 100 nanogramos GcMAF por semana (3 / 4 tuvieron una dosis completa)
- Duración del tratamiento: 5 a 40 semanas (un promedio de 15 semanas)

#### **DATOS PRELIMINARES CON EL RESULTADO DE 68 DE LOS 108 PACIENTES REPORTANDO MEJORAS SIGNIFICATIVAS:**

- Disminución o ausencia de Fatiga 44/68
- Sueño de mejor calidad 39/68
- Disminución o ausencia del dolor 35/68
- Mejora de la función neurocognitiva 27/68
- Recuperación más rápida tras esfuerzo 42/68

- Disminución o ausencia de la intolerancia ortostática 22/68\*
- Disminución o ausencia de problemas digestivos 36/68
- No todos los pacientes informaron de este síntoma antes de iniciar el tratamiento

#### **ANTIVIRALES**

- Valcyte - en pacientes seleccionados (HHV6)
- Valtrex - en pacientes seleccionados (EBV)
- Aciclovir - en pacientes seleccionados (herpes 1 / 2)

#### **BENEFICIO DEL AGOTAMIENTO DE LOS LINFOCITOS B CON EL USO DEL ANTI-CD20 RITUXIMAB EN PACIENTES CON EM / SFC. UN ESTUDIO DE DOBLE CIEGO CONTROLADOS CON PLACEBO.**

- nØystein Fluge et al.
- nHaukeland University Hospital, Bergen

#### **MÉTODOS:**

- Doble ciego, controlado con placebo, fase II del estudio
- 30 pacientes con SFC fueron seleccionados aleatoriamente para recibir Rituximab 500 mg/m<sup>2</sup> o bien una solución salina como placebo, dos veces cada 2 semanas, con seguimiento durante 12 meses
- El XMRV no se detectó en ninguno de los pacientes.

#### **RESULTADOS:**

- Las respuestas por lo general afectaron a todos los síntomas del SFC.
- Respuesta global importante o moderada, que se define como mejoras duraderas en la autovaloración del estado de fatiga durante el seguimiento, que se observó en 10 de los 15 pacientes (67%) del grupo de rituximab y en 2 de cada 15 (13%) en el grupo placebo de control.
- La duración media de respuesta dentro del periodo de seguimien-

to de los 10 que respondieron a Rituximab fue de 25 semanas. 4 pacientes con rituximab tuvieron duraciones de respuesta clínica más allá del período de estudio.

#### **CONCLUSIONES**

La respuesta tardía a partir de 2-7 meses del tratamiento con Rituximab, a pesar de una rápida depleción de células B, sugieren que el SFC es una enfermedad autoinmune y puede ser consistente con la eliminación gradual de los anticuerpos que preceden a las respuestas clínicas.