

Zusammenfassung

ME/CFS ist eine schwächende, nicht übertragbare Krankheit, die weltweit eine enorme Krankheitslast mit einigen Hinweisen auf ein vererbtes genetisches Risiko darstellt. Das Fehlen messbarer Veränderungen in den Standard-Blutbildern der Patienten hat Ad-hoc-Therapien erforderlich gemacht, die sich an den Symptomen orientieren, und stellen einen Mangel an mechanistischen Hypothesen der Ursachenforschung und möglichen Heilung dar. Eine neue Hypothese, die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO)-Stoffwechselfalle, wurde entwickelt und als mathematisches Modell formuliert. Das historische Auftreten von ME/CFS-Ausbrüchen ist ein einzigartiges Merkmal der Krankheit und impliziert, dass eine genetische Mutation weit verbreitet sein muss. Eine Datenbanksuche nach häufigen schädlichen Mutationen in menschlichen Enzymen ergab 208 Treffer, darunter IDO2 mit vier solchen Mutationen. Ein nicht funktionsfähiges IDO2 in Verbindung mit der bekannten Substrathemmung von IDO1 und der kinetischen Asymmetrie des großen neutralen Aminosäuretransporters LAT1 führte zu einem mathematischen Modell des Tryptophan-Stoffwechsels, das sowohl physiologische als auch pathologische Fließgleichgewichte zeigt. Um dem krankmachenden Zustand zu entkommen, ist eine exogene Störung erforderlich. Dieses Modell zeigt auch einen kritischen Punkt in der im Zellplasma freien Tryptophanmenge auf, bei dessen Überschreitung der Abstieg in den pathologischen Steady-State unvermeidlich. Wenn jedoch Mittel gefunden werden können, um das im Zytoplasma frei vorhandene Tryptophan unter einen kritischen Punkt zu bringen, ist die Rückkehr zum normalen physiologischen Fließgleichgewicht möglich. Um diese Hypothese für jeden Zelltyp zu testen, braucht man nur markiertes Tryptophan, ein Mittel zur Messung von Tryptophan und Kynurenin (beim Abbau von Tryptophan entstehendes Zwischenprodukt) im Zellplasma und die Standardinstrumente der Tracer-Kinetik.

1. Einleitung

Diagnosemessungen für eine bestimmte Krankheit sind am definitivsten, spezifischsten und nützlichsten, wenn die Messungen eng mit der molekularen Grundlage der Krankheit verbunden sind. Vergleichen Sie zum Beispiel die alte Diabetes-Diagnose, die auf einer übermäßigen Urinausscheidung beruhte, mit einer Diagnose, die auf der Messung von Plasmaglukose und Plasmainsulin basiert. Bei einer Krankheit wie der myalgischen Enzephalomyelitis/dem chronischen Erschöpfungssyndrom (ME/CFS), deren mechanistische Grundlage unbekannt ist, ist es schwierig, eine spezifische Diagnose zu stellen. Die Medizin greift daher auf komplexe Mustererkennung in Symptomlisten [1,2], statistische Hauptkomponentenanalyse [3,4,5,6], fortschrittliche physikalische Messungen von noch nicht bewiesener Spezifität [7] und sogar, wenn nur ein paar tausend kritische Zellen gestört sind und Standard-Blutmessungen daher unauffällig sind, auf die wenig hilfreiche Behauptung zurück, der Patient sei "nicht krank". Hier wollen wir die Suche nach den zugrundeliegenden Mechanismen vorantreiben, indem wir eine neue Klasse von theoretischen Modellen für ME/CFS vorschlagen und zeigen, dass ein spezifisches Mitglied dieser Klasse, die IDO-Stoffwechselfalle, wichtige Merkmale der Krankheit reproduzieren kann und verspricht, experimentell überprüfbar zu sein.

Die Idee einer Stoffwechselfalle geht auf das bekannte Konzept der Bistabilität in nichtlinearen Systemen zurück. Ein System, z. B. ein Stoffwechselweg, wird als nichtlinear bezeichnet, wenn eine Verdopplung des Inputs nicht zu einer Verdopplung des Outputs führt. Eine Quelle biologischer Nichtlinearität ist die Sättigung der enzymatischen Katalyse, die durch die klassische Michaelis-Menten-Gleichung gekennzeichnet ist. Eine noch wichtigere Quelle biologischer Nichtlinearität ist

die Rückkopplungssteuerung, sei es die Transkriptionssteuerung, die allosterische Steuerung durch die Bindung eines bestimmten Metaboliten, die posttranslationale Modifikation, die beispielsweise durch eine Kinase vermittelt wird, oder die physiologische Steuerung durch Hormone, Zytokine und ihre Rezeptoren. Wichtig ist, dass einige nichtlineare Systeme, im Gegensatz zu allen linearen Systemen, je nach äußeren Bedingungen oder Störungen mehrere verschiedene stationäre Zustände annehmen können. Dies wird als Bistabilität bezeichnet. Wenn einer dieser stationären Zustände pathologisch ist, sprechen wir von einer Stoffwechselfalle, weil Organismen anfällig für externe Störungen sind, die einen Wechsel von der normalen Physiologie zur Pathophysiologie auslösen, ein Wechsel, der nicht leicht rückgängig gemacht werden kann. Wenn wir uns nun dem speziellen Fall - der hier entwickelten IDO-Stoffwechselfalle - zuwenden, stellen wir fest, dass dieses neue theoretische Modell auf drei Ideen beruht: (1) die potenzielle Bedeutung häufiger schädlicher Mutationen, (2) ein möglicherweise schädlicher Aspekt des Phänomens in der Enzymkinetik, das als Substrathemmung bekannt ist, und (3) das bistabile Stoffwechselsystem, das daraus entstehen kann.

Die Genetik muss Hinweise auf ME/CFS enthalten, denn wie bei anderen chronischen Krankheiten gibt es Hinweise darauf, dass diese Krankheit familiär gehäuft auftreten kann, aber sie ist eindeutig keine Krankheit, die man bei der Geburt hat. Vielmehr scheint es eine genetische Veranlagung zu geben, die solange verborgen bleibt, bis eine bestimmte Ansammlung von auslösenden Umständen im mikrobiellen, diätetischen, mikronährstoffbezogenen, physiologischen, emotionalen oder physischen Umfeld des Patienten auftritt. Ein Anhaltspunkt, der ME/CFS von den meisten anderen chronischen Krankheiten unterscheidet, ist die lange Geschichte von Epidemien, Ausbrüchen oder Clustern [8]. In der Vergangenheit wurde angenommen, dass der Einfluss allgemeiner genetischer Variationen auf den Phänotyp gering ist [9]. Ausbrüche oder Epidemien einer nicht ansteckenden Krankheit werfen die Möglichkeit auf, dass eine genetische Prädisposition für ME/CFS in der Bevölkerung sehr verbreitet ist und dass die Krankheit nur deshalb eine niedrige Penetranz hat, weil die auslösenden Faktoren multifaktoriell sind und die pathogenen Kombinationen von Auslösern selbst selten sind. Ausbrüche werden dann durch eine geografisch lokalisierte Kombination von Faktoren erklärt, die eine in der Bevölkerung verbreitete genetische Prädisposition überlagern. Somit ist es die Existenz von ME/CFS-Ausbrüchen, die auf die potenzielle Bedeutung von häufigen schädlichen Mutationen hinweist. Diese Schlussfolgerung aus der Existenz von Ausbrüchen beschränkt das Modell nicht auf Patienten, die im Rahmen eines Ausbruchs erkrankt sind. Eine zweite grundlegende Idee für das IDO-Stoffwechselfallenmodell ist das Phänomen der Substrathemmung. Im Gegensatz zur weithin verstandenen Michaelis-Menten-Kinetik gibt es Enzyme, bei denen die Geschwindigkeit bei Substratkonzentrationen, die 3- bis 10-fach über dem KM des Substrats liegen, eher abnimmt als gesättigt ist. Dieses ungewöhnliche Verhalten ist seit Jahrzehnten Bestandteil der Literatur zur Enzymkinetik [10,11,12]. Einer der Giganten der Enzymkinetik, W.W. Cleland, vertrat den Standpunkt, dass Substrathemmung fast immer ein unphysiologisches Phänomen ist [13]. Was er mit "unphysiologisch" meinte, war, dass das Phänomen am häufigsten beobachtet wurde, wenn Reaktionen entgegen der physiologischen Richtung mit den normalen intrazellulären Produkten als Substraten abliefen und somit Beispiele für Produkthemmung waren. Spätere Erfahrungen haben gezeigt, dass mindestens 80 Enzyme dieses Verhalten zeigen [10,14]. In einer kürzlich erschienenen Übersichtsarbeit [14] werden mehrere wünschenswerte Folgen der Substrathemmung beschrieben, wie z. B. die Stabilisierung der Produktbildung im Zusammenhang mit großen Schwankungen im Substrat (Tyrosinhydroxylase) und die allosterische Regulierung (Phosphofruktokinase). Die Hemmung des Enzyms Indolamin-2,3-Dioxygenase 1 (IDO1), das im Mittelpunkt des hier vorgestellten Modells steht, durch Tryptophan wurde jedoch in mehreren Labors über mehrere Jahrzehnte hinweg nachgewiesen [15,16,17,18] und verläuft in physiologischer Richtung mit Tryptophan und Sauerstoff als Substraten und n-Formyl-L-Kynurenin als Produkt. Während das Phänomen der IDO1-Substrathemmung gut bekannt ist, bleibt sein Mechanismus Gegenstand wissenschaftlicher Debatten [17,18,19]. Das hier vorgestellte Modell untersucht die Möglichkeit, dass die

Substrathemmung von IDO1 eine Schattenseite hat und an der Pathogenese von ME/CFS beteiligt sein könnte.

Ein drittes Konzept, die Bistabilität als Merkmal einiger enzymatischer Systeme, wurde ausgiebig untersucht. Schon vor 40 Jahren umfasste eine Auflistung biologischer Oszillatoren Hunderte von veröffentlichten Arbeiten [20]. Später wurde gezeigt, dass eine Oxidase in vitro alle drei der wichtigsten dynamischen Merkmale nichtlinearer Systeme aufweist: Bistabilität, Grenzyklusschwingungen und Chaos [21]. In den letzten Jahren ist das Forschungsinteresse an der Bistabilität des Stoffwechsels wieder gestiegen [22,23,24]. Während sich das IDO-Stoffwechselfallenmodell auf die metabolische Bistabilität konzentriert, haben andere Forschungen bei ME/CFS die Bistabilität auf zellbiologischen und physiologischen Organisationsebenen untersucht [25,26]. Einige ME/CFS-Patienten erleben den Ausbruch der Krankheit als einen Schalter, der umgelegt wird, und Forscher mit einem Hintergrund in nichtlinearer Systemtheorie fühlen sich daher zu Theorien hingezogen, die Bistabilität beinhalten [27].

Die vorliegende Arbeit ist weitgehend theoretisch. Er zielt darauf ab, ein in sich konsistentes hypothetisches mechanistisches Modell der Ätiologie von ME/CFS zu formulieren und ein Experiment vorzuschlagen, das in der Lage ist, dieses Modell zu widerlegen oder zu bestätigen. Das IDO-Stoffwechselfallenmodell stellt eine neue Art dar, über ME/CFS nachzudenken. Es basiert (1) auf dem Vorhandensein häufiger schädlicher Mutationen in der menschlichen IDO2, (2) auf den gut untersuchten kinetischen Eigenschaften von IDO2 und IDO1, einschließlich der Substrathemmung von IDO1, und (3) auf der nachweisbaren Bistabilität, die sich ergibt, wenn diese Enzyme in Zellen exprimiert werden, die auf den großen neutralen Aminosäuretransporter LAT1 angewiesen sind, um Tryptophan zu importieren, das ihr kohlenstoffhaltiges Substrat ist. Das Modell hat aufgrund der Zelltypen, die diese Enzyme exprimieren, eine beträchtliche Erklärungskraft, und es wird ein relativ unkomplizierter experimenteller Test auf der Grundlage der Tracer-Kinetik vorgeschlagen. Wenn sich herausstellt, dass die IDO-Stoffwechselfalle ein Merkmal von ME/CFS-Immunzellen ist, wäre eine solide Grundlage für die Entwicklung einer spezifischen ME/CFS-Diagnose geschaffen worden.

2. Materialien und Methoden

Öffentliche Datenbanken: Ausgehend von der Annahme, dass prädisponierende schädigende Mutationen häufig vorkommen müssen, um die Existenz von ME/CFS-Ausbrüchen zu erklären, wurde eine Suche in öffentlichen (NCBI dbSNP) [28] und speziell für ME/CFS erstellten Datenbanken (siehe Danksagungen) nach häufigen schädigenden Mutationen in Genen durchgeführt, die für Proteine, insbesondere Enzyme und Transporter, kodieren, die am Energiestoffwechsel beteiligt sind. Die Ergebnisse wurden in Standard-Genom-Browsern, IGV [29] und UCSC [30] angezeigt. Die Allelhäufigkeiten für alternative Allele wurden von dbSNP [28] und den dort zitierten großen Genomsequenzierungsprojekten bezogen. Schädigende Mutationen wurden auf der Grundlage von Standardvorhersagealgorithmen, PROVEAN [31], SIFT [32] und PolyPhen-2 [33], sowie veröffentlichten Berichten [34] identifiziert.

Bioinformatik: Um eine Tabelle der Gene zu erstellen, die bei mindestens 85 % der schwer erkrankten ME/CFS-Patienten geschädigt sind, haben wir zunächst alle im OMF END ME/CFS-Datensatz (siehe Danksagungen) gefundenen Varianten gefiltert und nur Mutationen berücksichtigt, die nicht durch sechs Standardkriterien ausgeschlossen wurden. (1) Indel-Genotypen von zwei oder mehr Loci kollidieren in mindestens einer Probe. (2) Der Standort enthält einen überlappenden Indel-Call-Filter. (3) Der Locus GQX ist kleiner als 15 oder nicht vorhanden. (4) Der Anteil der an einer Stelle herausgefilterten Base Calls ist größer als 0,4. (5) Der Wert für die SNV-Strangverzerrung der Probe übersteigt 10. (6) Die Locus-Tiefe ist größer als das Dreifache der mittleren Chromosomentiefe. Mutationen wurden als schädlich eingestuft, wenn die Mutation nach PROVEAN einen Wert von -1,82 oder weniger, nach SIFT einen Wert von 0,05 oder weniger und

nach PolyPhen-2 einen Wert von 0,95 oder mehr erhielt. Die Mutationen wurden dann nach Genen gruppiert, und es wurde eine Tabelle mit (82) Genen erstellt, bei denen mindestens 85 % der SIPS-Patienten eine oder mehrere schädliche Mutationen in diesem Gen aufweisen.

Eine zweite Tabelle mit allen Enzymen und Transferasen/Transportern (insgesamt 208), die durch häufige Mutationen ($AF > 0,03$) geschädigt wurden, wurde erstellt, indem alle gefilterten nicht-synonymen Mutationen, die nach der obigen Definition als schädlich gelten, mit den von BRENDA [35], KEGG [36] und TCDB [37] extrahierten Daten verbunden wurden.

Mechanistische kinetische Modellierung: Nichtlineare kinetische Modelle wurden in der Software ProcessDB (Integrative Bioinformatics, Inc, Mountain View, CA, USA) formuliert [38]. ProcessDB implementiert den CVODE-Algorithmus [39] für eine numerische Lösung der Differentialgleichungen. Die stationären Lösungen wurden mit der Software Origin 2019 (OriginLab Corp., Northampton, MA, USA) grafisch dargestellt. Die vollständigen Gleichungen und Parameterwerte sind im Text angegeben und können in jedem Allzweck-Differentialgleichungslöser implementiert werden. Die Parameter und einige Ratengesetze wurden aus Expertenberichten über die rekombinanten menschlichen Enzyme IDO1 und IDO2 entnommen [17,18,40,41].

3. Ergebnisse

Die Prüfung der beiden in den Bioinformatik-Methoden beschriebenen Tabellen mit den Kandidatengenomen ergab gemeinsame Mutationen bei 208 Enzymen und Transportern. Von diesen wiesen acht mehr als eine gemeinsame schädigende Mutation auf. Da wir davon ausgingen, dass mehrere gemeinsame schädigende Mutationen die Wahrscheinlichkeit eines geschädigten Proteinprodukts erhöhen würden, richteten wir unsere Aufmerksamkeit zunächst auf diese Untergruppe.

1. Häufige Mutationen in IDO2

Angesichts des hypometabolischen Phänotyps von ME/CFS begann unsere Suche nach gemeinsamen schädigenden Mutationen mit Genen, die für Enzyme kodieren, die am Energiestoffwechsel beteiligt sind. Von den acht Enzymen mit mehreren gemeinsamen schädigenden Mutationen (Allelhäufigkeit > 0,03) stach IDO2 heraus, weil es vier solcher Mutationen aufweist und weil es eines der Enzyme ist, die den ersten Schritt im Kynureninweg katalysieren. Klassischerweise wird der Kynureninweg als der "de novo"-Weg für die Synthese von Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD⁺) angesehen, einem Molekül, das für die Übertragung von reduzierenden Äquivalenten aus dem zentralen Kohlenstoffstoffwechsel auf die mitochondriale Elektronentransportkette und damit für die oxidative Phosphorylierung unerlässlich ist. In Tabelle 1 sind sowohl die häufigen als auch die seltenen Mutationen in IDO2 aufgeführt, die von den PROVEAN-, SIFT- und PolyPhen-2-Vorhersagealgorithmen als schädlich eingestuft werden.

Table 1Common and rare mutations in IDO2 identified as damaging ³.

| Row Label | R248W | Y359STOP | I140V | S252T | N257K |
|-------------------------|-------------------|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| dbSNP ID | rs10109853 | rs4503083 | rs4736794 | rs35212142 | rs774492001 |
| Allele ref > alt | C > T | T > A | A > G | T > A | C > G |
| exon | 9 | 11 | 5 | 9 | 10 |
| Min pop AF ¹ | 0.418 | 0.220 | 0.0746 | 0.0100 | 0.000017 |
| Max pop AF ² | 0.487 | 0.230 | 0.160 | 0.0390 | 0.000020 |
| SIFT | damaging | nonsense | damaging | damaging | damaging |
| PROVEAN | deleterious | nonsense | neutral | deleterious | deleterious |
| POLYPHEN | probably damaging | nonsense | possibly damaging | probably damaging | probably damaging |

¹ minimum alternate allele frequency (expressed as a fraction) reported [28] for any sampled population, ² maximum alternate allele frequency reported for any sampled population, ³ ‘damaging’ means the enzyme encoded by the mutant protein is either known or predicted to be catalytically impaired.

Von den beiden häufigsten schädigenden Mutationen, R248W und Y359STOP, ist bekannt, dass sie die Enzymaktivität in einem In-vitro-Test zur Kynurenin-Produktion in Zellen aufheben [34]. Während die entsprechenden Experimente für I140V, S252T und N257K nicht berichtet wurden, sind die SIFT-, PROVEAN- und POLYPHEN-Vorhersagen suggestiv und könnten zu einer zusammengesetzten Heterozygotie bei Personen beitragen, die lediglich heterozygot für R248W oder Y359STOP sind. Es gibt keine derartigen gemeinsamen Mutationen in IDO1 oder im übrigen Kynurenin-Stoffwechselweg.

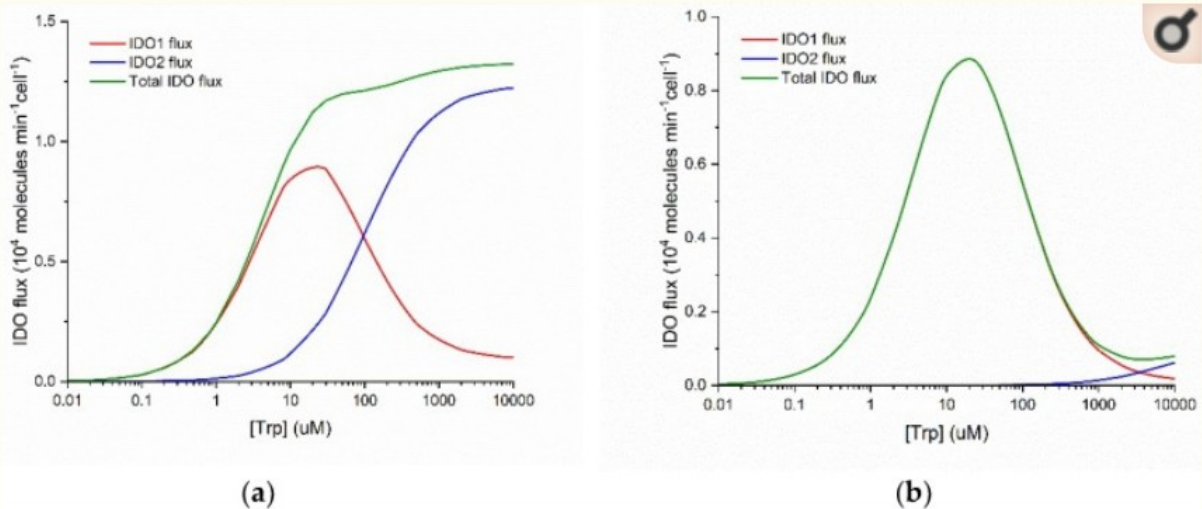
Wichtig ist, dass die IDO-Stoffwechselfallen-Hypothese nicht vorschlägt, dass diese häufigen schädlichen Mutationen in IDO2 kausal für ME/CFS sind. Die einzige Voraussetzung für eine prädisponierende Mutation ist, dass sie bei ME/CFS-Patienten vorhanden ist. Unter dieser Hypothese sollten sich die in Tabelle 1 aufgeführten Allelhäufigkeiten der Bevölkerung statistisch signifikant von den entsprechenden Allelhäufigkeiten in ME/CFS-Patientenpopulationen unterscheiden. In Anbetracht der extrem hohen Allelhäufigkeiten in der Allgemeinbevölkerung (Tabelle 1) könnte das Erreichen statistischer Signifikanz eine gezielte Sequenzierung des IDO2-Gens in einer sehr großen ME/CFS-Patientenpopulation erfordern.

3.2. Folgen einer nicht funktionierenden IDO2

Da IDO2 und IDO1 dieselbe Reaktion am Anfang des Kynureninwegs katalysieren, müssen wir uns fragen, welche Auswirkungen ein nicht funktionierendes IDO2 auf den Stoffwechsel hat. Schließlich wird IDO1 durch die IDO2 schädigenden Mutationen nicht beeinträchtigt und ist

durchaus in der Lage, Tryptophan in N-Formyl-Kynurenin (NFK) umzuwandeln. Eine Möglichkeit ist, dass IDO2 etwas kann, was IDO1 nicht kann, was zu einer genaueren Betrachtung der Enzymkinetik von IDO1 und IDO2 führt.

In Abbildung 1 ist der Fluss der NFK-Produktion als Funktion der Substratkonzentration für IDO1 und IDO2 dargestellt. Diese Diagramme wurden unter Verwendung von kinetischen Parametern berechnet, die in der Literatur (siehe Methoden) für das normale Michaelis-Menten-Verhalten der menschlichen IDO2 und das substrathemmende Verhalten der menschlichen IDO1 angegeben sind.



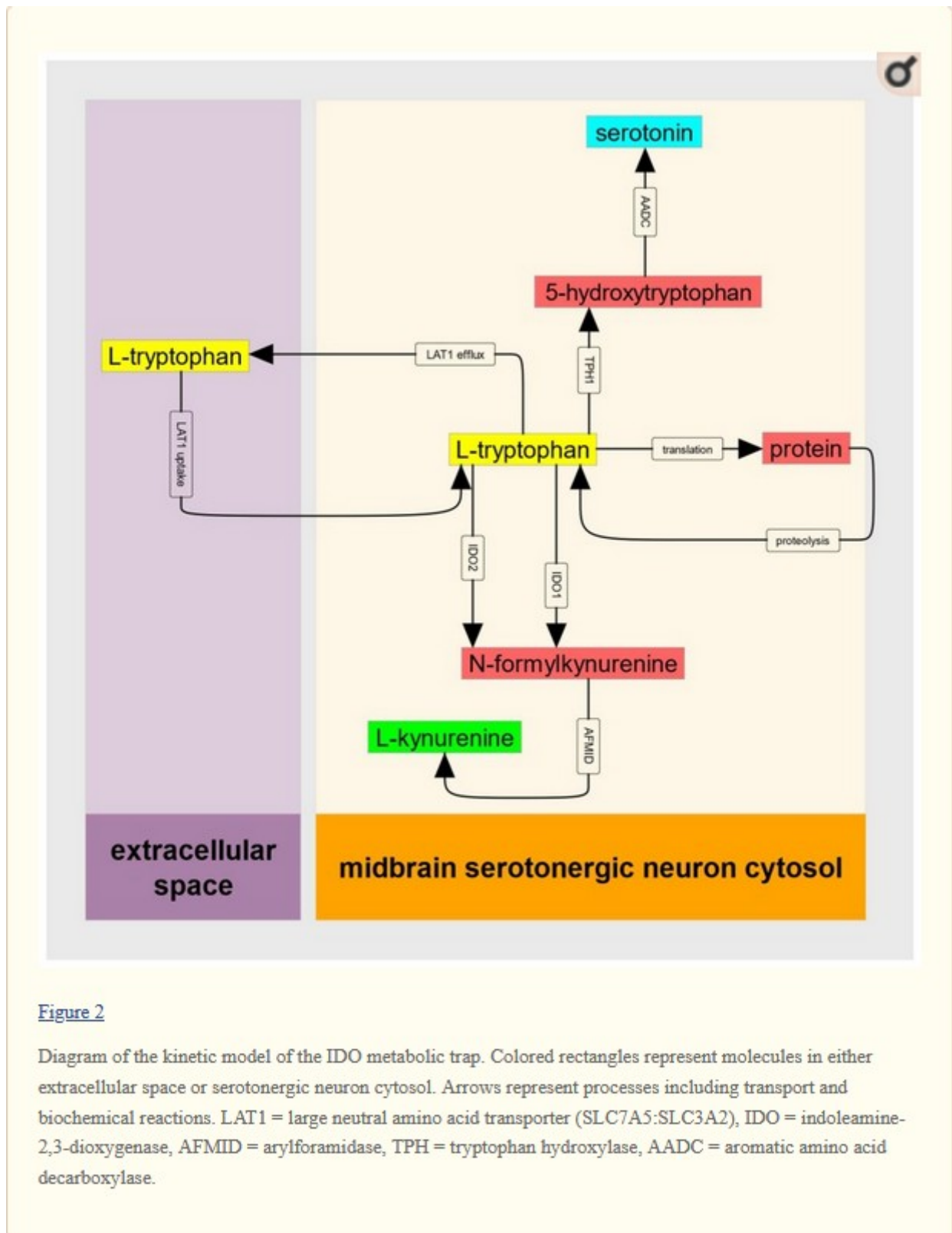
[Open in a separate window](#)

Figure 1

Differences in IDO1 (red) and IDO2 (blue) enzyme kinetics as functions of Trp concentration. Total IDO flux (green) is the sum of the IDO1 and IDO2 fluxes. (a) Wild type situation with IDO1 and IDO2 having comparable V_{\max} values; (b) Fluxes when IDO2 flux is 90% reduced, for example, by the homozygous common damaging mutation, R248W.

Aus der Untersuchung von Abbildung 1 ergeben sich drei wichtige Punkte. Erstens ist IDO1 ein substrathemmendes Enzym mit $K_i(\text{Trp}) = \sim 50 \mu\text{M}$ und IDO2 ist durch eine normale Michaelis-Menten-Kinetik gekennzeichnet. Zweitens ist IDO1 ein Enzym mit hoher Affinität mit $K_M(\text{Trp}) = \sim 5 \mu\text{M}$ und IDO2 ein Enzym mit niedriger Affinität mit $K_M(\text{Trp}) = \sim 100 \mu\text{M}$. Drittens: Wenn beide Enzyme funktionsfähig sind, nimmt die gesamte IDO-vermittelte Umwandlung von Trp in NFK monoton zu und verläuft über einen weiten Bereich der Substrat-(Trp-)Konzentration annähernd nach dem Michaelis-Menten-Prinzip (Tafel a), aber wenn IDO2 durch eine gemeinsame schädigende Mutation in seiner Funktion beeinträchtigt ist (Tafel b), nimmt der gesamte IDO-Fluss ab, wenn das Substrat [Trp] über $\sim 30 \mu\text{M}$ steigt. Was IDO2 also kann, was IDO1 nicht kann, ist die Katalyse von $\text{Trp} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NFK}$, selbst wenn $[\text{Trp}] > 200 \mu\text{M}$.

Diese Merkmale der IDO-Kinetik können, wenn die Zufuhr des Substrats Trp nicht abnimmt, wenn IDO1 durch ein Substrat gehemmt wird, zu einer unerwünschten Stoffwechselsituation führen, die man als Stoffwechselfalle bezeichnen kann. Um diese IDO-Stoffwechselfalle quantitativ zu beschreiben, können wir das in Abbildung 2 dargestellte verkürzte Stoffwechselmodell betrachten.



3.3. Ein mechanistisches Modell der IDO-Stoffwechselfalle zeigt die Bistabilität auf

Tryptophan ist eine essentielle Aminosäure, deren einzige Quelle für den Menschen die Nahrung ist. Der Transport durch das Darmepithel wird durch den LAT2-Transporter dominiert, während der Transport durch das Kapillarendothel, die Blut-Hirn-Schranke und die serotonerge neuronale Plasmamembran durch den heterodimeren Transporter LAT1 vermittelt wird. LAT1 ist ein obligater Antiport; er transportiert jedes Mal eine große neutrale Aminosäure (häufig Leucin) aus der Zelle

heraus, wenn er Tryptophan hinein transportiert. Ein wichtiges Merkmal des LAT1-vermittelten Transports ist, dass die K_s -Werte für die Aufnahme von Aminosäuren im Bereich von 15 μM liegen, während die K_s -Werte für den Export von Aminosäuren im mM-Bereich liegen [42,43].

Um diese kinetische Asymmetrie zu erfassen, kann ein reversibles Michaelis-Menten-Ratengesetz [44] für den Fluss (Moleküle/min/Zelle) wie folgt geschrieben werden:

$$J_{LAT1} = \frac{V_{mf} \left(1 - \frac{T_{cyto}}{T_{ECF} K_{eq}} \right) \left(\frac{T_{ECF}}{K_s^{T_{ECF}}} \right)}{1 + \frac{T_{ECF}}{K_s^{T_{ECF}}} + \frac{T_{cyto}}{K_s^{T_{cyto}}} + \frac{A}{K_i^A}}$$

wobei J_{LAT1} der Nettofluss von Tryptophan ist (positiv bedeutet, dass der Nettofluss aus dem Extrazellulärraum in das Neuronenzytosol erfolgt), V_{mf} die maximale Vorwärtsgeschwindigkeit (in das Neuron) des LAT1-Transports ist, T_{cyto} die Tryptophanmenge (Moleküle/Zelle) im Neuronenzytosol ist, T_{ECF} die Tryptophanmenge in der Extrazellulärflüssigkeit ist, K_{eq} ist die Gleichgewichtskonstante für den LAT1-Transport, K_{TECFs} ist die Substratkonstante für die Aufnahme von Tryptophan, K_{Tcytos} ist die Substratkonstante für den Export von Tryptophan, A ist die Häufigkeit anderer großer neutraler Aminosäuren (entweder in der ECF oder im Zytosol), die mit Tryptophan um den Transport über LAT1 konkurrieren, und K_{Ai} ist die Hemmkonstante für diese konkurrierenden Aminosäuren.

Als Nächstes benötigen wir einen quantitativen Ausdruck für den Fluss durch das durch das Substrat gehemmte Enzym IDO1. Dieser lässt sich mit Hilfe eines Standard-Substrathemmungs-Ratengesetzes berechnen:

$$J_{IDO1} = \frac{k_{cat}^{IDO1} IDO1_{cyto} T_{cyto}}{K_M^{Trp} + T_{cyto} \left(1 + \frac{T_{cyto}}{K_i^{Trp}} \right)}$$

wobei J_{IDO1} der Fluss (Moleküle/min/Zelle) der durch IDO1 katalysierten Umwandlung von Trp in NFK ist, $k_{IDO1cat}$ die katalytische Konstante für IDO1 ist, $IDO1_{cyto}$ die Häufigkeit (Moleküle/Zelle) von zytosolischem IDO1 ist, T_{cyto} ist die Häufigkeit des zytosolischen Tryptophans, K_{TrpM} ist die Michaelis-Konstante von IDO1 für Tryptophan und K_{Trpi} ist die Substrat-Hemmkonstante für die Hemmung von IDO1 durch Trp.

Ein vollständiges kinetisches Modell würde auch Ratengesetze für IDO2, für die Tryptophanhydroxylase (TPH1 oder TPH2, je nach modelliertem Zelltyp) sowie für die Proteintranslation und Proteolyse umfassen. Hier können wir den Fall betrachten, in dem IDO2 durch häufige schädliche Mutationen deaktiviert ist, in dem die Serotoninproduktion im Vergleich zum Fluss des Kynureninwegs vernachlässigbar ist und in dem (im stationären Zustand) der Fluss der Proteinsynthese gleich dem proteolytischen Fluss ist und es daher keinen Nettofluss zwischen zytosolischem Tryptophan und zellulärem Protein gibt. Diese müssen bei der Datenanalyse entspannt werden, aber um die Bistabilität festzustellen, müssen nur der Haupteingang von Trp, J_{LAT1} , und der Hauptaussgang, J_{IDO1} , berücksichtigt werden.

Wir können also die Differentialgleichung für zytosolisches Tryptophan wie folgt schreiben:

$$\frac{dT_{cyto}}{dt} = J_{LAT1} - J_{IDO1}$$

wobei J_{LAT1} und J_{IDO1} wie oben definiert sind. Dies ist das einfachste mögliche mathematische Modell der IDO-Stoffwechselfalle. Um die stationären Zustände dieses Modells zu erhalten, müssen wir nur $dT_{cyto}/dt=0$ setzen und für T_{cyto} lösen. Dies würde die Lösung einer kubischen algebraischen Gleichung erfordern, was durchaus machbar ist, aber eine einfachere Herangehensweise besteht darin, T_{cyto} grafisch zu lösen, wie in Abbildung 3 dargestellt.

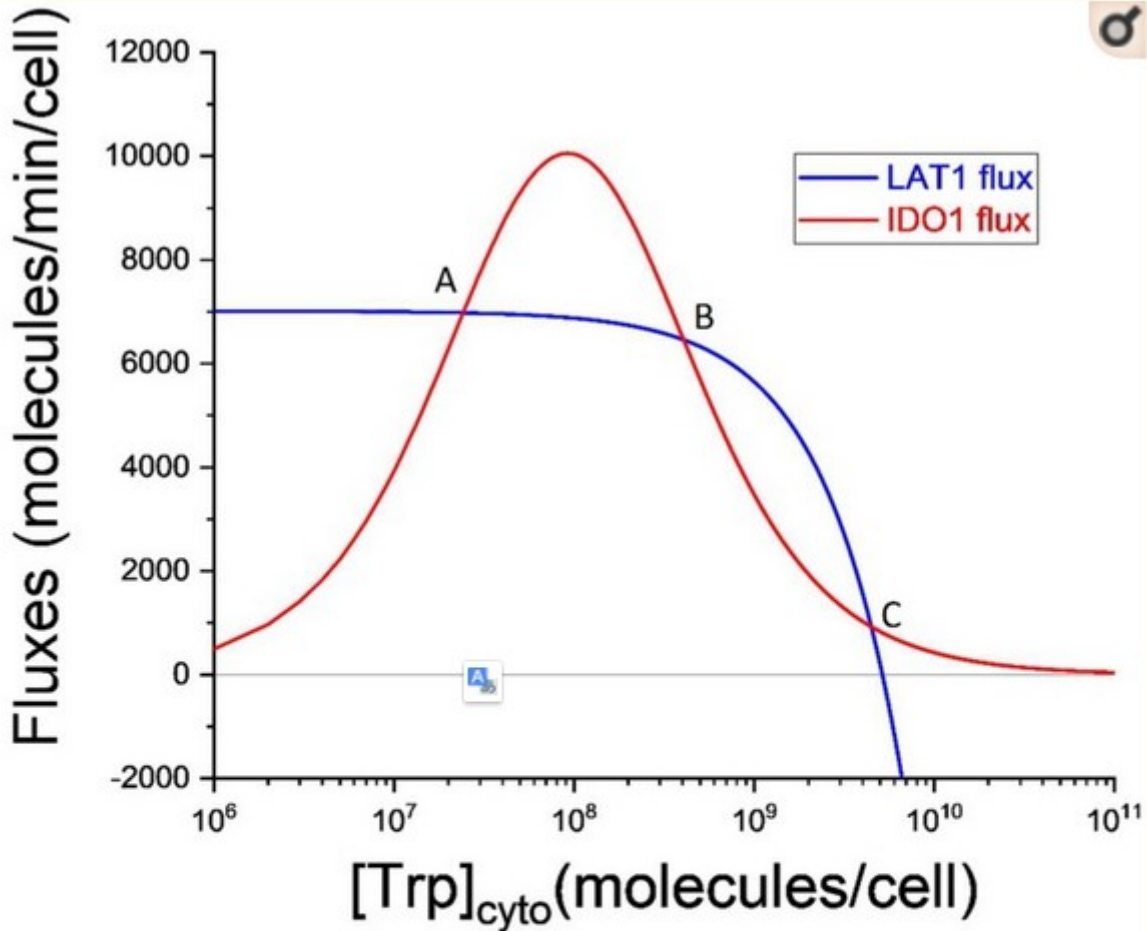


Figure 3

Multiple steady-states in the simplest model of LAT1 tryptophan (Trp) transport and IDO1-mediated Trp oxidation. Horizontal axis: cytosolic Trp abundance. Vertical axis: Fluxes (molecules \cdot min $^{-1}$ \cdot cell $^{-1}$) cellular Trp influx (blue) carried by the LAT1 membrane transporter, and Trp removal (red) catalyzed by IDO1. Three possible steady-states are defined by the three points (A, B, and C) where the two fluxes are equal. Numerical parameter values are: $k_{cat}^{IDO1} = 84$ molecules \cdot min $^{-1}$ IDO1 \cdot molecule $^{-1}$, $IDO1_{cyto} = 208$ IDO1 molecules/cell, $K_M^{Trp} = 3.4 \times 10^7$ molecules/cell, $K_i^{Trp} = 2.5 \times 10^8$ molecules/cell, $V_{mf} = 1.2 \times 10^8$ molecules \cdot min $^{-1}$ \cdot cell $^{-1}$, $T_{BCP} = 1.5 \times 10^9$ molecules/cell, $K_{eq} = 3.43$, $K_s^{TBCP} = 2.2 \times 10^{10}$ molecules/cell, $K_s^{Trp} = 2 \times 10^9$ molecules/cell, $A = 5 \times 10^6$ molecules/cell, and $K_i^A = 4.3 \times 10^3$ molecules/cell.

In Abbildung 3 stellt die horizontale Achse die zytosolische Trp-Häufigkeit in einer logarithmischen Skala dar. Aus diesem Grund nimmt der LAT1-Fluss mit steigendem Trp-Wert ab. Bei den größten Werten von T_{cyto} wird der LAT1-Fluss sogar negativ, was darauf hindeutet, dass der Netto-LAT1-Fluss aus der Zelle heraus gerichtet ist. Die ansteigende und dann abfallende Form der IDO1-Flusskurve ist aus Abbildung 1 bekannt und wird durch die Substrathemmung von IDO1 durch Tryptophan verursacht. Da die Einstellung $dT_{cyto}dt=0$ erfordert, dass $J_{LAT1}=J_{IDO1}$ ist, entsprechen die drei stationären Zustände den Schnittpunkten (mit A, B und C gekennzeichnet) der blauen und roten Kurven in Abbildung 3.

Die mit A und C bezeichneten stationären Zustände sind stabil, während der mit B bezeichnete stationäre Zustand instabil ist. Diese Schlussfolgerungen können direkt aus Abbildung 3 gezogen werden. Wenn die stochastische Variation die zytosolische Trp-Häufigkeit erhöht, ist der IDO1-Abfluss größer als der LAT1-Zufluss, und Tcyto nimmt ab, bis es zum Punkt A zurückkehrt. Wenn die anfängliche Variation stattdessen Tcyto verringert, ist der LAT1-Zufluss größer als der IDO1-Abfluss, und Tcyto nimmt zu, bis es wieder zum Punkt A zurückkehrt.

Steady-State B ist jedoch anders. Er ist instabil, weil stochastische Schwankungen von Tcyto zu Veränderungen des Zu- und Abflusses führen, die das System entweder in den Fließgleichgewichtspunkt A oder in den Fließgleichgewichtspunkt B treiben. Aus diesem Grund definiert der Punkt B einen so genannten kritischen Punkt. Wenn das zytosolische Tryptophan den durch diesen kritischen Punkt definierten Wert überschreitet, fällt das System unweigerlich in den Fließgleichgewichtszustand C. Dieses äußerst einfache Modell ist also bistabil. Es ist sowohl zu einem normalen physiologischen Fließgleichgewicht (A) fähig, in dem die Kynureninproduktion durch den LAT1-vermittelten Import von Tryptophan unterstützt wird und das zytosolische Tryptophan $\sim 2 \times 10^7$ Moleküle/Zelle beträgt, als auch zu einem pathologischen Fließgleichgewicht (C), in dem die Kynureninproduktion nahezu aufgehoben ist und das zytosolische Tryptophan $\sim 5 \times 10^9$ Moleküle/Zelle beträgt, was mehr als zwei Größenordnungen über dem Normalwert für eine Zelle liegt, die den Kynureninweg exprimiert.

3.4. Ein Versuchsplan zur Prüfung der Fallenhypothese

Jede Hypothese braucht einen experimentellen Test, mit dem sie verworfen oder bestätigt werden kann. Für die IDO-Stoffwechsel-Fallen-Hypothese basiert der natürliche Test auf der metabolischen Tracer-Kinetik [45] und der gut entwickelten Reihe von Rechenwerkzeugen [46,47,48,49] zur Analyse der resultierenden Tracer-Daten. Bei dem natürlichen Tracer handelt es sich um Tryptophan, das mit ^{14}C oder ^{13}C in seinem Indolring und optional auch in seinen Alpha- und Carboxylkohlenstoffen markiert ist. Mit beiden Isotopen markiertes Tryptophan kann in Tierstudien und in frisch isolierten oder kultivierten Zellen verwendet werden, während das stabile Isotop ^{13}C heute für Stoffwechselstudien am Menschen weithin bevorzugt wird. Bei isolierten Zellen hängt die Wahl in der Regel vom Fachwissen und der Ausbildung vor Ort ab.

Ein nützlicher Test erfordert Methoden zur Isolierung intrazellulärer Verbindungen, nachdem die Zellen über einen bestimmten Zeitraum mit ^{13}C -Tryptophan belastet wurden. Zu bestimmten Zeitpunkten danach werden durch mehrfaches kaltes Waschen sowohl die zellulären Reaktionen gestoppt als auch das extrazelluläre Medium entfernt, so dass die intrazellulären Messungen nicht durch extrazelluläres unmarkiertes oder markiertes Tryptophan oder sezerniertes Serotonin oder Kynurenin kontaminiert werden. Es wäre dann möglich, sowohl das zytosolische ^{13}C -Tryptophan als auch den Einbau von markiertem Tryptophan in zelluläres Kynurenin und Serotonin zu messen. Wenn Transienten in ^{13}C -Kynurenin und ^{13}C -Serotonin nach Entfernung des Tryptophan-Tracers aus dem Medium gemessen werden. Ein großer Vorteil der Kinetik stabiler Isotope besteht darin, dass die entsprechenden endogenen ^{12}C -Verbindungen gleichzeitig gemessen und durch den Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie-Arbeitsablauf separat quantifiziert werden und somit die rechnerische Analyse der Daten weiter einschränken. Die Hypothese wird bestätigt, wenn der

Fluss durch IDO zu Kynurenin in Zellen von ME/CFS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen erheblich reduziert ist. Die Hypothese wird für den getesteten Zelltyp abgelehnt, wenn es keinen Unterschied in den gemessenen IDO-Flüssen in den beiden Versuchsgruppen gibt.

4. Diskussion

Die IDO-Stoffwechselfallen-Hypothese für ME/CFS legt also nahe, dass vier Zelltypen Gefahr laufen, in den pathologischen Steady-State C getrieben zu werden (Abbildung 3): (1) Antigen-präsentierende Zellen (wie dendritische Zellen und Makrophagen), (2) serotonerge Neuronen in den Raphe-Kernen des Mittelhirns, (3) Serotonin-produzierende enterochromaffine Zellen in der Darmschleimhaut und (4) Melatonin-produzierende Pinealozyten. Dieses Risiko, so die Hypothese, wird durch das Fehlen oder die Funktionsstörung des Backup-Enzyms IDO2 verstärkt. Eine Zelle im pathologischen Steady-State C kann als in der IDO-Stoffwechselfalle befindlich bezeichnet werden.

4.1. Die Folgen der IDO-Stoffwechselfalle

Die Folgen dieses anormalen Gleichgewichtszustands hängen von vielen Faktoren ab. Wenn beispielsweise der normale Fluss durch den Kynurenin-Weg der Hauptweg der Tryptophan-Oxidation/des Tryptophan-Abbaus ist, dann wird das zytosolische Tryptophan dramatisch ansteigen, wenn IDO1 als Substrat gehemmt wird. Das erhöhte zytosolische Tryptophan wiederum führt zu einer übermäßigen Serotoninproduktion in Zellen wie den serotonergen Raphe-Neuronen, die TPH2 (menschliches Chromosom 12) [50] mit seiner normalen Michaelis-Menten-Kinetik [51] exprimieren, oder kann zu einer verminderten Serotonin- und Melatoninproduktion in Zellen wie Antigen-präsentierenden Zellen, Enterochromaffin-Zellen und Pinealozyten führen, die die klassische "periphere" Tryptophanhydroxylase TPH1 (menschliches Chromosom 11) exprimieren [50]. Dies liegt daran, dass TPH1 selbst bei hohen Konzentrationen ihres Substrats Tryptophan gehemmt wird [51,52].

Selbst wenn die Serotonin- und Melatoninproduktion nicht gestört wird, kann das Fehlen von Kynurenin und seinen Metaboliten unerwünschte Auswirkungen haben. So wird Kynurenin beispielsweise spontan in Spurenkondensationsprodukte, so genannte TEACOPs, umgewandelt, die starke Aktivatoren des Arylkohlenwasserstoffrezeptors (AHR) sind, eines Transkriptionsfaktors, der die Entwicklung von Treg-Zellen steuert [53]. Außerdem wird Kynurenin durch die Kynurenin-Aminotransferase desaminiert, und das dabei entstehende Kynurenat ist ein potenter neuroprotektiver Alpha-7-Nikotin-Acetylcholinrezeptor-Antagonist [54].

Verfolgt man stattdessen den Hauptzweig des Kynureninweges, so zeigen sich weitere Folgen einer unzureichenden Kynureninproduktion. Erstens wird die spontane Synthese von Chinolinat aus 2-Amino-3-carboxymuconat-Semialdehyd abnehmen. Chinolinat ist nicht nur selbst neuroexzitatorisch, sondern auch die Vorstufe von Nikotinatmononukleotid, das eine wichtige NAD⁺-Quelle darstellt, insbesondere wenn die Nikotinatzufuhr über die Nahrung begrenzt ist [55]. Zweitens führt der enzymatisch katalysierte Weg aus 2-Amino-3-carboxymuconat-Semialdehyd zu

Picolinat, das weithin als Neuroprotektivum beschrieben wird. Vielleicht ist es wichtig, dass die Picolinatproduktion durch glykolytische Triosephosphate stark gehemmt wird [56]. Wenn also das zytosolische NAD⁺ nicht ausreicht, um einen hohen glykolytischen Fluss durch die Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase aufrechtzuerhalten, lenkt der daraus resultierende Anstieg der Triosephosphate den Kynurenin-Weg weg vom neuroprotektiven Picolinat und hin zu Chinolinat/NAD⁺. Dieses regulatorische Cross-Talk-Verfahren zwischen Glykolyse und Kynurenin-Weg wird in gefangenen Zellen mit Sicherheit nicht funktionieren.

4.2. IDO1-LAT1-Kritischer Punkt als Schwelle der chronischen Krankheit

In Abbildung 3 ist der instabile stationäre Zustand, B, der kritische Punkt der zytosolischen Tryptophankonzentration. Mathematisch gesehen ist dies der Schwellenwert, oberhalb dessen die Lösung der Differentialgleichung in den alternativen Attraktor übergeht. In der Praxis markiert der kritische Punkt die zytosolische Tryptophankonzentration, bei deren Überschreitung die Zelle in den pathologischen Steady-State mit niedrigem Kynureninspiegel übergeht.

Es ist wichtig zu erkennen, dass bei einer erhöhten LAT1-Expression nur ein Steady-State möglich ist. Und dieser Fließgleichgewicht ist der pathologische Zustand. Umgekehrt gibt es verringerte Werte der LAT1-Expression, die nur mit einem normalen physiologischen Fließgleichgewicht vereinbar sind.

Eine weitere Konsequenz des kritischen Punktes ist, dass therapeutische Eingriffe das zytosolische Tryptophan nur unter den kritischen Punkt senken müssen. Unterhalb dieses Punktes ist eine Rückkehr zum normalen physiologischen Steady-State unvermeidlich. Es muss jedoch bedacht werden, dass die Falle bestehen bleibt und nachfolgende Auslöser einen Rückfall verursachen können.

Es bleibt zu klären, ob dieses bistabile System auch zu Grenzyklus-Oszillationen oder deterministischem Chaos fähig ist, was die schubförmig-remittierenden Formen von ME/CFS und die scheinbare Unmöglichkeit mehrerer Metabolomik-Studien, die auf dieselbe Plasmasignatur hinauslaufen, erklären könnte.

Wir betonen nochmals, dass alle diese Punkte auf einer Hypothese beruhen. Ohne eine experimentelle Untermauerung dieser Hypothese und im Idealfall eine klinische Studie sind diese Aussagen zur Therapie nicht umsetzbar. Sie sind als Anregung für die Forschung gedacht.

4.3. Grundlegende Annahmen

Defizite in der Kynureninproduktion und eine Abnahme der Menge seiner nachgeschalteten Metaboliten (Kynurenat, Anthranilat, Picolinat, Chinolinat, NAD⁺ und andere) treten in jeder Zelle auf, deren IDO1 Substrat inhibiert wird. Dieses Szenario impliziert, dass die IDO2-Aktivität bei

einem hohen Tryptophan-Gehalt im Zytosol nicht ausreicht. Dies ist natürlich der Grund für die Aufmerksamkeit, die den häufigen schädlichen Mutationen in IDO2 gewidmet wird. In ähnlicher Weise kann die IDO-Stoffwechselfalle in keinem Zelltyp auftreten, der auch Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) exprimiert.

Die Hypo- oder Hypersynthese von Tryptophan-abgeleitetem Serotonin oder Melatonin hängt davon ab, inwieweit die zytosolische Tryptophanmenge im Verhältnis zu den K_M - und K_i -Werten der Tryptophanhydroxylase erhöht ist. Dies wiederum hängt von der Annahme ab, dass der normale Fluss im Kynureninweg viel größer ist als der normale Fluss in der Tryptophanhydroxylase. Diese Annahme kann in jedem beliebigen Zelltyp mit dem in Abschnitt 3.4 vorgeschlagenen kinetischen Tracerexperiment getestet werden.

Eine letzte Annahme des IDO-Stoffwechselfallenmodells ist, dass die Tryptophanaufnahme durch LAT1 die in der Literatur beschriebenen Merkmale aufweist [42], nämlich eine kinetische Asymmetrie. Der K_M für Tryptophan auf der Außenseite des Transporters liegt Berichten zufolge im μM -Bereich, während der K_M auf der zytosolischen Seite 1000-mal größer ist. Jede andere allosterische Kontrolle des Transporters, die den Tryptophantransport trotz verminderter Verwertung durch den Kynurenin-Weg aufrechterhält, würde diese Annahme ebenfalls erfüllen. Diese Eigenschaft des Modells verdient weitere Aufmerksamkeit, da alle zytosolischen großen neutralen Aminosäuren (einschließlich Kynurenin) sowohl eine aktivierende als auch eine hemmende Rolle für den LAT1-vermittelten Tryptophan-Import spielen können.

4.4. Mögliche Rolle von Bistabilität und Substrathemmung bei chronischen Krankheiten

Es ist zwar möglich, dass die IDO-Stoffwechselfalle die Ätiologie von ME/CFS aufdeckt, aber die Wahrscheinlichkeit, dass dies der Fall ist, ist gering. Wenn wir nach gemeinsamen schädlichen Mutationen im menschlichen Genom suchen, finden wir per Definition viele. Folglich wird es schwierig sein, die angenommene Zunahme schädlicher Allele bei ME/CFS nachzuweisen, wenn nicht eine viel größere Population von sorgfältig diagnostizierten ME/CFS-Patienten, deren Genomsequenzen verfügbar sind, untersucht wird. Für eine bestimmte Fallenhypothese, wie z. B. die IDO-Stoffwechsel-Falle, ist es wahrscheinlich, dass die gezielte Sequenzierung des betreffenden Gens ein effizienterer und kostengünstigerer Ansatz ist. Außerdem könnte man sich fragen, ob eine klassische genetische Familienstudie in diesem Zusammenhang fruchtbar wäre, da das Vorhandensein einer prädisponierenden Mutation nicht mit dem Vorhandensein einer Krankheit korrelieren muss. Wenn eine häufige schädigende Mutation prädisponierend (nicht kausal) ist, kann ihre Allelfrequenz in einer bestimmten Population weitaus größer sein als die Prävalenz der Krankheit, für die sie prädisponiert. Die Mutation(en) hat/haben eine geringe Penetranz, weil es eine oder mehrere seltene Kombinationen von Umweltbedingungen sind, die die Krankheit auslösen und ihre Prävalenz bestimmen. Wenn dies zutrifft, könnte der Anteil der Weltbevölkerung, der ein Risiko für ME/CFS hat, weitaus größer sein als die geschätzte Prävalenz der Krankheit von 2 %.

Ein weiteres Modell der chronischen Krankheit ist das umfassende Modell des Heilungszyklus (HC) von Naviaux [57]. Das HC-Modell betont, dass die Kenntnis der Ursachen von ME/CFS (oder

anderer chronischer Krankheiten) nicht zu einer Heilung führt. Stattdessen wird ME/CFS als ein Versagen beim Durchlaufen des dritten und letzten Kontrollpunkts im Heilungszyklus betrachtet [57]. Nach dieser Theorie sind Krankheiten wie ME/CFS durch eine abnormale Zell-Zell-Kommunikation gekennzeichnet, die wiederum durch dysfunktionale G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (insbesondere purinerge Rezeptoren) und ihre regulatorischen Metabokin-Netzwerke verursacht wird. Das Ergebnis ist das Scheitern des Heilungszyklus und damit eine chronische Krankheit. In diesem Sinne betrachtet das HC-Modell chronische Krankheiten als "ein Systemproblem, das die Krankheit aufrechterhält".

Die IDO-Stoffwechselfalle ist ein Prototyp für eine andere Klasse von Problemen auf Systemebene. Wie das HC-Modell impliziert auch das Fallenmodell, dass chronische Krankheiten nicht das Ergebnis einer chronischen Exposition gegenüber einem Erreger oder Toxin sind. Im Gegensatz zum HC-Modell geht das Fallenmodell nicht von einem Versagen der Heilung oder überhaupt von einem Versagen von irgendetwas aus. Stattdessen identifiziert die Fallen-Hypothese die Substrathemmung, eine inhärente und gut untersuchte Eigenschaft einiger Enzyme, die als Reaktion auf pathogene Auslöser die metabolische Bistabilität demaskieren kann. Bistabilität ist ein einzigartiges Phänomen der nichtlinearen Dynamik, das seit Jahrzehnten untersucht wird [23,24,58,59]. Das Wesentliche an der Bistabilität ist, dass ein bistabiles System in einen alternativen (z. B. pathologischen) Gleichgewichtszustand versetzt werden und in diesem chronischen Krankheitszustand verbleiben kann, lange nachdem der Auslöser entfernt wurde, ohne dass eine chronische Infektion oder eine chronische Exposition gegenüber einem Toxin erforderlich ist. Außerdem muss nichts kaputt oder dysfunktional sein. Die Möglichkeit eines solchen chronischen Krankheitszustands ist in dem detaillierten molekularen Mechanismus der Substrathemmung angelegt.

Da die Substrathemmung relativ häufig vorkommt [10], können die Merkmale der IDO-Stoffwechselfalle auch in anderen Stoffwechselwegen auftreten und die Mechanismen anderer chronischer Krankheiten darstellen. So ist beispielsweise die Tyrosinhydroxylase, der erste und geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Dopaminsynthese, ebenfalls substratgeregelt und könnte eine alternative Erklärung für die geringe Dopaminproduktion bei der Parkinson-Krankheit oder für die unzureichende Produktion von Katecholaminen in anderen Zelltypen liefern.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die IDO-Stoffwechselfallen-Hypothese für ME/CFS darauf hindeutet, dass die Substrathemmung von IDO1 die Möglichkeit einer metabolischen Bistabilität in Zellen schafft, die den Kynurenin-Weg exprimieren. Der Übergang vom normalen physiologischen Fließgleichgewicht zum alternativen Fließgleichgewicht kann durch jeden Auslöser eingeleitet werden, der die zytosolische Tryptophankonzentration über den kritischen Punkt (Punkt B in Abbildung 3) erhöht. Der alternative oder pathologische Fließgleichgewichtszustand ist durch eine unzureichende Kynureninproduktion aus Tryptophan und daraus resultierende Beeinträchtigungen des zentralen Nervensystems, der Magen-Darm- und Immunfunktionen sowie des Energiestoffwechsels gekennzeichnet. Je nach der relativen Expression und Kinetik anderer Tryptophan-abhängiger Enzyme in enterochromaffinen Zellen und Pinealozyten kann auch die Produktion anderer Tryptophan-Metaboliten (z. B. Serotonin und Melatonin) pathogen verändert

sein. Diese Hypothese lässt sich für jeden Zelltyp mit Hilfe von markiertem Tryptophan in Verbindung mit einer kinetischen Standard-Tracer-Analyse überprüfen [48].

Danksagung

Die Genomsequenzierungsdaten, die für die in dieser Veröffentlichung beschriebenen bioinformatischen Analysen verwendet wurden, wurden von den Forschern des OMF END ME/CFS-Projekts beigesteuert und sind unter <http://endmecfs.stanford.edu/> verfügbar. Die Autoren danken ME/CFS-Patienten auf der ganzen Welt, insbesondere Paolo Maccallini, Mateusz (Matt) Kaczmarek, Jenny TipsforME, Cort Johnson und anderen Mitgliedern von Phoenix Rising und S4ME für ihre aufschlussreichen Blog-Beiträge, ihre durchdachte Kritik und die öffentliche Diskussion über die IDO-Stoffwechsel-Falle. Wir danken auch Whitney Dafoe, Nina Khosla und Moritz Ernst für ihren Mut, für die Inspiration, die sie uns allen bieten, und für ihre Eltern, deren außergewöhnliche Großzügigkeit diese Arbeit ermöglicht hat. Teile dieser Arbeit wurden im März 2019 auf dem eMERge International Research Symposium on ME/CFS in Geelong, VIC, Australien, vorgestellt. Diese Präsentation wurde mit dem von MDPI gesponserten Preis für die beste Präsentation an Tag 2 ausgezeichnet.

Zusammenfassung

ME/CFS ist eine schwächende, nicht übertragbare Krankheit, die weltweit eine enorme Krankheitslast mit einigen Hinweisen auf ein vererbtes genetisches Risiko darstellt. Das Fehlen messbarer Veränderungen in den Standard-Blutbildern der Patienten hat Ad-hoc-Therapien erforderlich gemacht, die sich an den Symptomen orientieren, und stellen einen Mangel an mechanistischen Hypothesen der Ursachenforschung und möglichen Heilung dar. Eine neue Hypothese, die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO)-Stoffwechselfalle, wurde entwickelt und als mathematisches Modell formuliert. Das historische Auftreten von ME/CFS-Ausbrüchen ist ein einzigartiges Merkmal der Krankheit und impliziert, dass eine genetische Mutation weit verbreitet sein muss. Eine Datenbanksuche nach häufigen schädlichen Mutationen in menschlichen Enzymen ergab 208 Treffer, darunter IDO2 mit vier solchen Mutationen. Ein nicht funktionsfähiges IDO2 in Verbindung mit der bekannten Substrathemmung von IDO1 und der kinetischen Asymmetrie des großen neutralen Aminosäuretransporters LAT1 führte zu einem mathematischen Modell des Tryptophan-Stoffwechsels, das sowohl physiologische als auch pathologische Fließgleichgewichte zeigt. Um dem krankmachenden Zustand zu entkommen, ist eine exogene Störung erforderlich. Dieses Modell zeigt auch einen kritischen Punkt in der im Zellplasma freien Tryptophanmenge auf, bei dessen Überschreitung der Abstieg in den pathologischen Steady-State unvermeidlich. Wenn jedoch Mittel gefunden werden können, um das im Zytoplasma frei vorhandene Tryptophan unter einen kritischen Punkt zu bringen, ist die Rückkehr zum normalen physiologischen Fließgleichgewicht möglich. Um diese Hypothese für jeden Zelltyp zu testen, braucht man nur markiertes Tryptophan, ein Mittel zur Messung von Tryptophan und Kynurenin (beim Abbau von Tryptophan entstehendes Zwischenprodukt) im Zellplasma und die Standardinstrumente der Tracer-Kinetik.