

XMRV/MLV und ME/CFS

Alles nur eine Laborkontamination?

In einigen britischen und auch deutschen Medien wurden in den vergangenen Monaten der Zusammenhang zwischen XMRV/MLV und ME/CFS sowie anderen Erkrankungen als reiner Laborirrtum beschrieben. Insbesondere Anhänger der sogenannten "Wessely-School", z.B. die niederländischen Psychiater Kuppeveld und van der Meer erklärten in The Lancet "das traurige Ende einer Geschichte", nämlich des Zusammenhangs zwischen XMRV und ME/CFS (1).

Zahlreiche Studien finden kein XMRV

Diese Berichte basierten auf einer Reihe von Studien, in denen das XMRV bzw. seine Variationen nicht gefunden werden konnten. Zuletzt erschienen in Science zwei weitere Studien dieser Art (2, 3). Sie waren der Anlass für die Herausgeber von Science, die Entdecker des Zusammenhangs zwischen ME/CFS und XMRV, Lombardi/Mikovits, aufzufordern, ihren Originalartikel von 2009 (4) zurückzuziehen (5, 6).

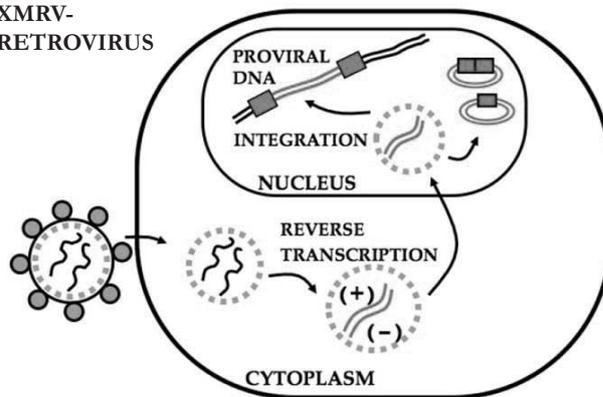
In dem ersten Artikel von Knox et al. (2) fanden die Forscher das Virus nicht, obwohl darunter auch 43 zuvor als XMRV-positiv getestete Personen aus der Original-Science-Studie gewesen sein sollen.

In der zweiten Studie von Paprotka et al. (3) wird behauptet, XMRV sei im Labor entstanden, und zwar bei der Herstellung der Zelllinie 22Rv1. Man stellt solche Zelllinien her, indem man menschliches Krebsgewebe in Mäuse einpflanzt, um es so am Leben zu erhalten und daran Versuche durchzuführen, z.B. um Viren zu vermehren, "anzubrühen", damit sie sicherer bestimmt werden können. Bei dieser sogenannten Xenotransplantation sei es nun durch ein „äußerst unwahrscheinliches Ereignis“ zu einer Rekombination von zwei Mäuseleukämieviren gekommen, und das Ergebnis sei das XMRV. Damit, so die Autoren, käme XMRV als Retrovirus, das den Menschen befällt und ansteckend sei, nicht mehr infrage.

Belege gegen die Kontaminationsthese

Während Science nun erklärte, alle diese Studien würden die Forschungsergebnisse von Lombardi/Mikovits (4) "jetzt ernsthaft infrage" stellen und belegen, dass diese nur die Folge einer Laborkontamination seien, bestreiten dies nicht nur Lombardi/Mikovits und das Whittemore Peterson Institute WPI (7, 8) selbst, sondern auch andere namhafte Autoren.

XMRV-RETROVIRUS



Aus einem Brief von Annette Whittemore an Science geht u.a. hervor, dass "Konstance Knox, im Hinblick auf das WPI nicht unvoreingenommen, unparteiisch oder unabhängig ist", da sie "das WPI unter schwierigen Umständen" verließ - d.h., sie wurde aufgrund der "Verletzung ethischer Grundsätze", den "Missbrauch von unternehmensinternen Informationen", aufgrund von "unangemessenem Gebrauch, Zurückhaltung und Zerstörung von Patientenproben und Daten sowie Streitigkeiten über den Besitz geistigen Eigentums" entlassen. (8)

Die Zelllinie 22Rv1, von der Paprotka et al. behaupten, sie sei mit Mäuse-DNA verunreinigt gewesen und von daher die Ursache der positiven Befunde bei ME/CFS-Patienten, ist im WPI und in den beiden anderen Labors, aus denen die Original-Science-Studie von 2009 hervorging, jedoch niemals eingesetzt worden. Auch testeten die Forscher damals wie jetzt ständig ihre Reagentien und Instrumentarien auf Mäuse-DNA, sind aber

niemals fündig geworden, so dass nach ihrer Ansicht eine solche Laborkontamination als Erklärung für ihre Forschungsergebnisse ausgeschlossen werden kann.

Außerdem sei, so Mikovits (7), mit einer solchen Laborkontamination nicht zu erklären, wieso sich bei infizierten Patienten immer wieder Antikörper finden lassen, also Stoffe, die nur im Körper infizierter Menschen infolge der Aktivität des Immunsystems entstehen können, nicht aber in einem Labor. Und dass man bei XMRV-negativen Menschen keine Antikörper dagegen finde. Mit der Kontaminationstheorie könne außerdem nicht erklärt werden, warum man selbst bei verschlüsselten Proben (also bei denen den Forschern nicht bekannt ist, ob es sich um ME/CFS-Patienten, andere Erkrankte oder gesunde Kontrollpersonen handelt) immer wieder einen erheblichen Prozentsatz (bis zu 98%) XMRV-infizierter ME/CFS-Patienten findet, aber "nur" 3% - 6%

"Das Kontaminationsargument ist nicht begründet. Warum aber wurde XMRV von mehreren europäischen und amerikanischen Gruppen überhaupt nicht gefunden? Die Erklärung ist, dass der Nachweis von XMRV im Blut enorm aufwendig ist, aufwendiger als alle bisherig bekannten Virusnachweise. In der Regel reicht es nicht aus, XMRV (RNA) im Plasma oder XMRV-DNA in Lymphozyten mittels PCR, RT-PCR oder auch nested-PCR zu suchen. Immunzellen verfügen über höchst effiziente antiretrovirale Hemmsysteme wie vor allem das APOBEC3-System, die die Replikation von Retroviren effektiv blockieren. Die Patientenzellen werden daher meist mehrere Wochen unter stimulierenden Bedingungen kultiviert und darüber hinaus noch mit hochsuszeptiblen, Inhibitor-freien LnCap-Zellen kokultiviert. Erst dann erfolgt der molekulargenetische Nachweis z.B. mittels nested-PCR. Die Nachweisquote hängt stark von der geeigneten PCR-Methode und den gewählten Primern ab. Vieles spricht dafür, dass Blutzellen kein primäres Reservoir für XMRV sind und der Virus sich primär in verschiedenen Geweben (ZNS, Prostata, Darmmukosa) anreichert."

Newsletter von Wilfried Bieger, Juni 2011 (11)

Infizierte bei den gesunden Kontrollen. Wenn es sich um eine Laborkontamination handeln würde, müsste die Prozentzahl bei Kranken wie Gesunden in etwa gleich sein.

Andere Kritiker der Paprotka-Studie sagen, dass deren Untersuchungsverfahren so ungenau und wechselnd gewesen seien, dass ihnen mit großer Wahrscheinlichkeit eine bereits von Anfang an vorhandene XMRV-Infektion dieser Zelllinie entgangen ist - denn diese wird aus Prostatakrebsgewebe gewonnen, und Prostatakrebspatienten sind nach Erkenntnissen mehrerer Forscher bis zu 27% XMRV-positiv. Eine detaillierte Analyse des Paprotka-Artikels von Louise Gunn kommt ebenfalls zu diesem Schluss. Sie zeigt außerdem weitere schwerwiegende Fehler in der Methodologie der Studie auf (9).

Entscheidend sind die Testverfahren

Bei keiner der Studien, bei denen XMRV oder seine engen Verwandten (sogenannte Sequenzvariationen - zusammengefasst als MLV bezeichnet) nicht gefunden werden konnten, wurden die empfindlichen Methoden eingesetzt, die Lombardi/Mikovits (4) und Lo/Alter (10) oder Silverman oder die zahlreichen anderen Forscher eingesetzt haben, um das Retrovirus zu bestimmen. Selbst wenn die Autoren der Negativstudien behaupten, ihre Testverfahren seien empfindlich genug, das XMRV in vitro, also im Reagenzglas, zu finden, heißt das nicht, dass sie empfindlich genug sind, um es auch in der klinischen Probe eines Menschen zu finden. Denn dort ist das XMRV in die DNA integriert und wird durch verschiedene intrazelluläre Abwehrmechanismen geschädigt (oxidativen Stress und Hypermutation durch Apobec3G), und man muss die PCR-Verfahren so einstellen, dass auch diese bereits geschädigten Virussequenzen gefunden werden. Wenn also in einer Studie das XMRV nicht gefunden wird, sei das eher ein Beweis dafür, dass die Methoden der Forscher ungenügend sind, nicht aber, dass die Patienten und gesunden Kontrollen tatsächlich nicht infiziert sind. „Absence of evidence ist not evidence of absence“ - das Fehlen eines Nachweises ist nicht der Nachweis des Fehlens, so die Kritiker der Negativstudien.

Entscheidend ist also, die Testverfahren an klinischen Proben zu validieren, d.h. ihre Fähigkeit, das XMRV in einem lebendigen Organismus zu finden, zu überprüfen. Solche validierten Testverfahren könnten z.B. die Folge der sogenannten Lipkin-Studie sein.

*„It smells like a viral disease.“
(„Es riecht nach einer viralen Erkrankung.“)*

Ian Lipkin bei einem Vortrag im WPI im Juni 2011

Lipkin-Studie der NIH sucht das beste Labor

Diese Studie wird von den National Institutes of Health unter der Leitung von Ian Lipkin durchgeführt und wird wahrscheinlich die gegenwärtigen Unstimmigkeiten beseitigen, ob XMRV/MLV bei ME/CFS-Patienten vorkommt und ob es einen Zusammenhang zwischen XMRV/MLV und ME/CFS gibt (12).

Bei dieser Studie wird 150 gut diagnostizierten ME/CFS-Patienten aus 6 verschiedenen Orten und 150 gesunden Kontrollpersonen auf die gleiche Art und Weise Blut zur Untersuchung auf XMRV abgenommen. Alle Reagentien werden auf eine mögliche Kontamination mit Mäuse-DNA untersucht. Die Proben werden verschlüsselt, so dass niemand erkennen kann, welche Probe von einem gesunden, welche von einem Patienten kommt. Dann werden die Proben von drei verschiedenen Labors untersucht - dem WPI (Lombardi/Mikovits), den National Institutes of Health (Alter/Lo) und den CDC (Switzer). Es bleibt den Labors überlassen, welche Testverfahren sie verwenden.



Mitarbeiter des Whittemore Peterson Institutes

Das WPI wird vier verschiedene Testverfahren einsetzen, Kultur, PCR, Western Blot mit Sequenzierung und Serologie (Antikörpertest).

Wenn die Ergebnisse der drei Labors vorliegen, dann werden die Kodierungen entschlüsselt und jedes Labor wird erfahren, welchen Prozentsatz es an ME/CFS-Patienten und an Kontrollen als XMRV-positiv getestet hat und ob die anderen Labors ähnliche Ergebnisse erzielt haben.

Ian Lipkin wird jede Probe als positiv bewerten, die auch nur von einem der verschiedenen Testverfahren als positiv getestet wurde. Man wird sowohl nach MLVs als auch nach XMRV suchen, so dass es wahrscheinlich zwei verschiedene Gruppen gibt, die XMRV-Positiven und die MLV-Positiven. Wer die meisten XMRV/MLV-positiven Proben findet, wird damit bewiesen haben, die besten Testverfahren zu besitzen. Und die Frage, ob XMRV nur eine Laborkontamination oder ein tatsächlich existierendes, ansteckendes Retrovirus ist, wird damit beantwortet sein.

Was allerdings noch nicht beantwortet ist und weiterer Erforschung bedarf, fasst Dr. Bieger in seinem Newsletter (11) so zusammen:

"Mit der Bestätigung von XMRV beim CFS ist natürlich die Frage noch nicht beantwortet, ob dieser Retrovirus auch für die klinische Manifestation des CFS verantwortlich ist. XMRV könnte eine Triggerfunktion für andere Krankheitsfaktoren haben, die das eigentliche Krankheitsbild hervorrufen. Umgekehrt könnte XMRV latent vorhanden sein und erst durch andere Ereignisse hinreichend aktiviert werden. Die Reaktivierung von Herpesviren wie EBV auf dem Boden einer bereits bestehenden XMRV-Infektion könnte also durchaus wesentlich sein für die eigentliche Erkrankung. Auch andere Infektionen, schwere Erkrankungen, gravierende Umweltbelastungen oder übermäßiger Stress könnten über Cortisol bzw. Entzündungsfaktoren zur Proliferation von XMRV führen und den Erkrankungsbeginn markieren."

Newsletter von Wilfried Bieger, Juni 2011 (11)

Trotz aller berechtigten kritischen Fragen ist es also wichtig, die Forschung fortzusetzen, um das mögliche krankmachende Potential herauszufinden. Zahlreiche Forscher tun das bereits (siehe: <http://treatingxmriv.blogspot.com/2011/06/here-are-more-abstracts-about-xmriv-from.html> Vi).

Weitere Studien untersuchen XMRV/MLV

Sharma et al. haben eine Studie an Rhesusaffen durchgeführt (13), um der Frage der möglichen Übertragungswege des XMRV nachzugehen. Dazu haben sie Rhesusaffen intravenös mit XMRV infiziert. Bald darauf ließ sich das Retrovirus bzw. seine Proteine danach in der Prostata der männlichen und der Gebärmutter und der Vagina des weiblichen Affen nachweisen. Das stützt die These von der Möglichkeit der sexuellen Übertragung des Virus. Auch dieser Befund kann durch eine Kontamination im Labor nicht erklärt werden: Man hat Nukleinsäuren und virale Proteine im Inneren von Zellen gefunden, Indikatoren für eine Vermehrung des Virus in den Zellen des Wirts und ein Beweise für die tatsächliche Infektion der Tiere bzw. der Infektiosität des Virus.

Nach einer Studie von **Barton et al.** (14) wurde Virus-RNA des XMRV im Urin von 25% von 143 Prostatakrebspatienten und in 3% der 63 gesunden Kontrollpersonen gefunden. Man hat die gefundene Virus-RNA sequenziert und mit den bekannten XMRV-Sequenzen verglichen. Auch in dieser Studie wird betont, dass die niedrige Anzahl von XMRV in den Proben zeigt, wie schwierig es ist, eine verlässliche Bestimmung des XMRV allein mit PCR-Verfahren zu erreichen. Man hofft, dass ver-

besserte Testmethoden eine breite Überprüfung von Prostatakrebspatienten ermöglichen werden.

Ruscetti et al. haben das erhöhte Vorkommen von Lymphdrüsenkrebs bei einer Kohorte von 300 ME/CFS-Patienten untersucht (16). Beinahe 5% erkrankten daran, während diese non-Hodgkin-Lymphome ansonsten nur bei 0,02% der Bevölkerung auftreten. 11 dieser Krebspatienten wurden auf XMRV getestet, und alle waren positiv. Sie schließen daraus, dass eine XMRV-Infektion die Entwicklung von B-Zell-Malignomen beschleunigen kann und dass Gewebe wie die Milz und Lymphknoten das Reservoir für das XMRV sein könnten.

Maureen Hanson, die zusammen mit **David Bell** eine verschlüsselte Studie an ME/CFS-Patienten durchführt (15), die während eines Clustersausbruchs in Lyndonville Mitte der 1980er-Jahre als Kinder oder Jugendliche erkrankt waren, entdeckte bei einer hohen Anzahl dieser Kohorte MLV-ähnliche Retroviren, die eher den von Lo/Alter gefundenen PMRVs glichen. Sie schreibt: "Die Entdeckung von gag-Sequenzen in der DNA aus Gesamtblut, die negativ auf Mäuse-IAP und mitochondriale Mäuse-DNA waren, liefert einen starken Beweis für die Infektion von Menschen mit MLV-ähnlichen Viren."

Literatur:

- (1) Frank JM van Kuppeveld, Jos WM van der Meer XMRV and CFS-the sad end of a story. [www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(11\)60899-4/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(11)60899-4/fulltext) Volltext: www.meassociation.org.uk/?p=6673
- (2) Konstance Knox et al., No Evidence of Murine-Like Gammaretroviruses in CFS Patients Previously Identified as XMRV-Infected www.sciencemag.org/content/early/2011/05/31/science.1204963.abstract
- (3) Tobias Paprotka et al., Recombinant Origin of the Retrovirus XMRV www.sciencemag.org/content/333/6038/97.abstract
- (4) Lombardi et al., Detection of an Infectious Retrovirus, XMRV, in Blood Cells of Patients with Chronic Fatigue Syndrome. www.sciencemag.org/content/326/5952/585.abstract
- (5) Editorial Expression of Concern www.sciencemag.org/content/early/2011/05/31/science.1208542.abstract
- (6) Pressemitteilung der NIH: www.eurekalert.org/pub_releases/2011-05/nci-oox053111.php
- (7) Schreiben von Judy Mikovits an die Herausgeber von Science: www.cfs-aktuell.de/juni11_5.htm
- (8) Schreiben von Annette Whittemore an die Herausgeber von Science: www.cfs-aktuell.de/juni11_3.htm
- (9) Brief von Louise Gunn an Science: http://www.imeassoc.com/Response_Paprotka_et_al.html Weitere Analysen www.imeassoc.com/
- (10) Lo/Alter et al. Detection of MLV-related virus gene sequences in blood of patients with chronic fatigue syndrome and healthy blood donors www.pnas.org/content/early/2010/08/16/1006901107.full.pdf+html
- (11) Newsletter von Wilfried Bieger/la4more vom Juni 11 www.lab4more-online.de/images/stories/lab4more/pdf/newsletter/2011_06.pdf
- (12) Ian Lipkin hat am 24. Juni 2011 im WPI einen langen Vortrag gehalten, der online angesehen werden kann unter http://imedia.unr.edu/unsom/whittemore_peterson_institute/dr_ian_lipkin.html Transcript seiner Rede unter: www.facebook.com/notes/xmr-global-advocacy/lipkin-presentation-at-the-wpi-transcript-part-1/184026554988704
- (13) Prachi Sharma et al., Sexual transmission of XMRV: a potential infection route www.hindawi.com/journals/av/aip/965689/
- (14) Maria Barton EVALUATING XMRV AS AN INDICATOR OF PROSTATE CANCER RISK <http://etd.ohiolink.edu/view.cgi/Barton%20Maria.pdf?kent1309619878>
- (15) Maureen R Hanson et al., Detection of MLV-like gag sequences in blood samples from a New York state CFS cohort www.retrovirology.com/content/8/S1/A234
- (16) Francis Ruscetti et al., Development of XMRV producing B Cell lines from lymphomas from patients with Chronic Fatigue Syndrome www.retrovirology.com/content/8/S1/A230