

Bacheloropgave

Doxycyclin behandling af neuroinflammation ved ME/CFS

Stud. Med. Benedicte Grøngaard Madsen

Resumé

ME/CFS (myalgisk encephalomyelitis/chronic fatigue syndrom), er en alvorlig, kronisk inflammatorisk tilstand. Sygdommen rammer flere forskellige organsystemer og symptombilledet er komplekst. Kardinalsymptomet er PEM (post exertional malaise) - en sygdomsforværring efter fysisk, mental eller social aktivitet. ME/CFS er forbundet med tegn på neuroinflammation, og der mangler forskning i behandling af denne tilstand.

Anden-generations tetracyclinerne - doxycyclin og minocyclin krydser blod-hjernebarrieren og har vist sig at besidde biologiske virkninger, der er adskilt fra deres antimikrobielle virkning. Af særlig interesse i ME/CFS-populationen er deres mulige evne til at påvirke neuroinflammation gennem reduceret frigørelse af inflammatoriske mediatorer fra immuncellerne. Den mulige antiinflammatoriske effekt har været dokumenteret hos patienter med kronisk leddegigt og dyreforsøg har vist, at anden-generations tetracycliner virker på neuroinflammation i modeller af apopleksi og Alzheimers sygdom.

Jeg har i denne opgave set på eksisterende litteratur omkring neuroinflammation hos ME-patienter og lavet statistik på 350 ME-patienter, der har fået behandling med doxycyclin præparatet Oracea. Jeg vil undersøge behandlingseffekten af præparatet og om denne undersøgelse kan inspirere til videre forskning.

Abstract

ME/CFS (myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome) is a debilitating, chronic, multisystem disease. The disease affects different organ-systems, and the disease presentation is highly complex – except for the characteristic worsening of symptoms seen after physical or mental exertion called post exertional malaise (PEM). ME/CFS is associated with signs of neuroinflammation and there is a lack of research into treatment of this condition.

The second-generation tetracyclines - doxycycline and minocycline cross the blood-brain barrier and have been shown to possess biological effects separate from their antimicrobial effect. Of particular interest to the ME/CFS population is their possible ability to influence

neuroinflammation through reduced release of inflammatory mediators from the immune cells. The possible anti-inflammatory effect has been documented in patients with chronic rheumatoid arthritis and animal studies have shown that second-generation tetracyclines act on neuroinflammation in models of stroke and Alzheimer's disease.

I have in this paper looked at the existing literature on neuroinflammation in ME-patients. In addition, I have made statistics on records from 350 ME/CFS-patients who have been given a treatment with the slow-release doxycycline – Oracea. I have aimed at a retrospective analysis to test whether this treatment could be of value in ME-patients and if it could lead to further research.

Introduktion

Det anslås – på basis af britiske data - at mellem 0,2 og 0,4 procent af den danske befolkning lider af ME/CFS¹. Diagnosen stilles ved udelukkelse af anden fysisk eller psykisk sygdom og på basis af en række symptomer. I mangel af en biologisk sygdomsmarkør er der gennem årene kommet en række forslag til diagnostiske kriterier og aktuelt bruges dels den nævnte udelukkelse af anden årsag og dels de internationale konsensuskriterier² for ME/CFS baseret på symptomer og omfattende følgende 14 punkter:

- Obligatorisk:
 - a. 1. PEM (Post Exertional Malaise)
- Mindst tre af disse:
 - a. 2. Kognitiv dysfunktion; 3. Smerter; 4. Søvnforstyrrelser; 5. Sensoriske/motoriske forstyrrelser
- Mindst tre af disse:
 - a. 6. Influenzalignende symptomer; 7. Modtagelighed for infektioner; 8. Mave-tarmproblemer; 9. Vandladningsforstyrrelser; 10. Sensitivitet
- Mindst et af disse:
 - a. 11. Kardiovaskulær forstyrrelser; 12. Åndenød; 13. Temperaturfølsomhed; 14. Vanskeligt ved at holde varmen.

Det antages at træthed, udmattelse, søvnforstyrrelser, øget sensitivitet for sensoriske indtryk, hyppig hovedpine/migræne, nervesmerter og svimmelhed alle skyldes neuroinflammation og at andre symptomer fra mavetarmkanalen (nedsat spytkirtelfunktion, kvalme, forstoppelse/diare), kardiovaskulære system (forstyrrelser i hjertefrekvens- og blodtryksregulering), og vandladningskontrol (hyperaktiv blære, inkontinens, blære tømningproblemer) skyldes antistoffer mod receptorer i det autonome nervesystem, som hyppigt findes ved ME/CFS³.

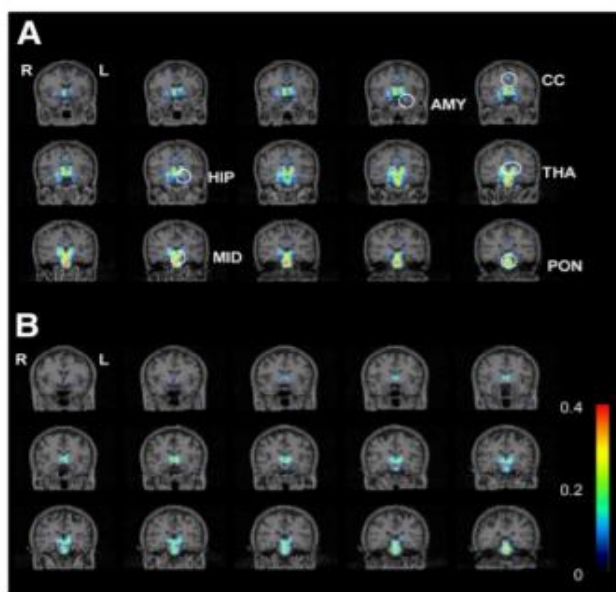
Patofysiologi ved ME/CFS

Patofysiologien ved sygdommen er endnu ikke helt klarlagt. Det komplekse symptombillede har gjort forskningen svær og tilgangen til forskningsmidler har været begrænset. Der er dog en del studier, der tyder på, at inflammationen skyldes reaktivering af specielt human herpes virus (HHV) især HHV4 og 6⁴. En række studier har vist ændringer i NK-cellernes aktivitet, i cytokinsammensætningen og i graden af aktivering af B-celler, hvilket understreger antagelsen af at ME/CFS er en kronisk inflammatorisk tilstand⁵. Der findes samtidig høj forekomst af autoantistoffer rettet mod det autonome nervesystem³.

Myalgisk encephalomyelitis betyder oversat muskelsmerter grundet inflammation i centralnervesystemet. Udover klassiske symptomer på neuroinflammation – hovedpine, svimmelhed, kognitiv dysfunktion, søvnproblemer og vekslende febrilia er der fundet objektive holdepunkter for neuroinflammation ved billeddiagnostik og ved målinger af cytokiner i spinalvæske.

Forhøjet niveau af translokatorprotein i CNS-celler er et mål for inflammation og ved positron-emissions-tomografi (PET) med anvendelse af en translocator protein ligand (TSPO-bindende) er der påvist inflammation i flere områder af CNS⁶ (Figur 1).

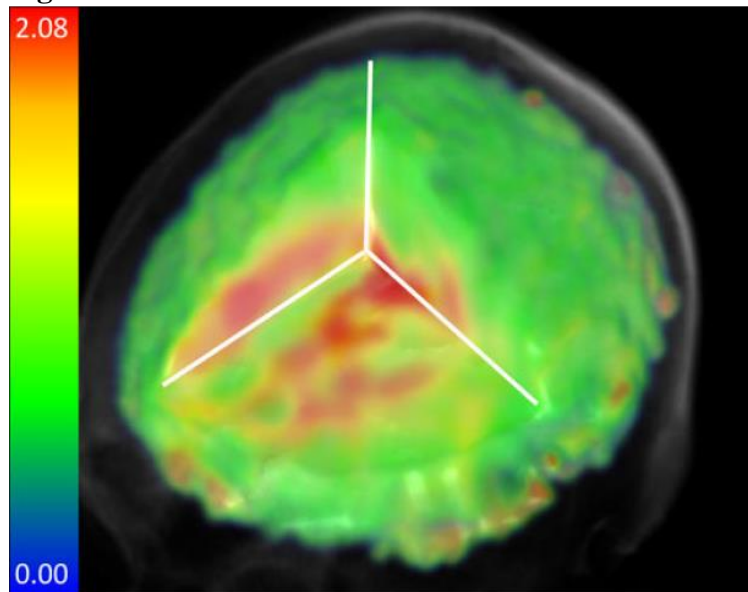
Figur 1



Forskellen mellem TSPO-aktivitet målt ved PET-skanning hos (A) en ME/CFS-patient og (B) en rask kontrolperson.

Med magnetisk resonansspektroskopi kan man – ud fra vandspekteret – bedømme den regional hjernetemperatur og måle cholin-rester, som er nedbrydningsprodukt ved inflammation⁷ (Figur 2).

Figur 2



Forekomst af nedbrydningsprodukter associeret med neuroinflammation hos en patient med ME/CFS. (gulrød farve indikerer forhøjede værdier)

Cytokininmålinger i spinalvæske viser ændringer som tolkes som proinflammatoriske i ME/CFS-patienter sammenlignet med raske⁸.

Baggrund for Oracea

Oracea er lavdosis doxycyclin, der er udviklet til at reducere papulopustulære læsioner i ansigtet hos voksne patienter med rosacea eller akne⁹. Den lave dosis gør at midlet ikke virker antibiotisk, men kun antiinflammatorisk dels, fordi det frigives langsomt over døgnet og dels fordi dosis er 40mg, mens 100-200mg, som er den antibiotiske dosis. Der er påvist god effekt af doxycyclin ved den kronisk inflammatorisk tilstand – leddegigt¹⁰ i såvel et lav- som højdosis regime og i dyreforsøg er der fundet gavnlig, antiinflammatorisk effekt hos diabetiske rotter¹¹. Andre dyreeksperimentelle studier har vist at doxycyclin har positiv effekt på dødelighed og skader ved experimentel neuroinflammation gennem direkte effekt på inflammatoriske mediatorer¹². På den baggrund er det nærliggende at antage at Oracea kunne være potentielt egnet til behandling af neuroinflammation.

Metode

Opgaven er skrevet på baggrund af eksisterende litteratur. Jeg har her søgt på PubMed ved hjælp af søgeordene "Oracea", "Neuroinflammation" og "Doxycycline".

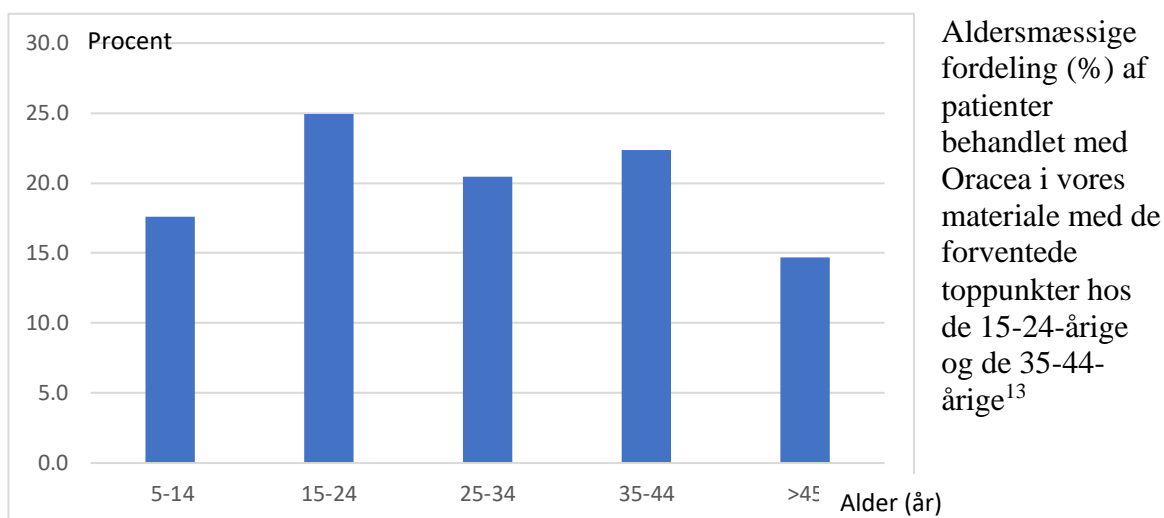
Som starten på en videre undersøgelse har jeg sammen med en medstuderende (2.semester) fået tilgang til 350 patientjournaler, hvor der har været brugt Oracea i behandlingen. Ud fra disse journaler er der blevet lavet data på, hvor mange patienter, der angiver at have haft effekt af behandlingen. Udover effekt er der også blevet registreret andre faktorer, der kunne

have en påvirkning på resultatet - herunder køn, alder, andre sygdomme, medicinering, behandlingsvarighed og starttidspunkt for behandling i forhold til diagnostidspunkt. Vi lavede et scoringssystem omfattende: 1-ingen effekt, 2-nogen effekt, 3-væsentlig effekt, baseret på hvor god effekt vi bedømte, at patienterne havde haft af behandlingen i følge vores bedømmelse ud fra journalnotaterne. Vi valgte efterfølgende at så de to effekt grupper sammen således at patienternes resultater blev inddelt i om de efter vores vurdering havde eller ikke havde effekt. Data blev indtastede i Excel og ved hjælp fra medvejlederen blev data analyseret i statistikprogrammet SPSS.

Resultater

Der manglede tilstrækkelige oplysninger på 4 patienter og indgik således i alt 346 patienter, 276 (78,9%) kvinder og 70 (20,1%) mænd med en median alder på 39 år med yderpunkterne 8 til 77år. Median alder ved symptomstart var 28 år med yderpunkterne 3 til 73 år og medianalderen ved diagnostidspunkt var 35 år med yderpunkterne 9 til 77 år. Den mediane tid fra symptomstart til diagnose var 6 år med yderpunkterne 0 til 41 år. Aldersfordelingen fremgår af Figur 3.

Figur 3



Der var ingen forskel mellem kønnene med hensyn til alder ved symptomstart, ved diagnostidspunkt eller i tiden fra symptomstart til diagnose (Tabel 1).

Tabel 1		Median	Range	p-værdi
Alder ved debut	Mænd	28,5	3-55	0,574
	Kvinder	28,0	6-73	
Alder ved diagnose	Mænd	36,0	9-67	0,712
	Kvinder	35,0	12-77	
Fra debut til diagnose	Mænd	6,0	0-38	0,939
	Kvinder	6,0	0-41	

Sammenligning mellem alder ved debut, ved diagnose og tidsinterval mellem disse af hos mænd henholdsvis kvinder med ME/CFS. Der er ingen signifikant forskel

Langt hovedparten af patienterne fik de af klinikken anbefalede kosttilskud mod mitokondriel dysfunktion – C-vitamin, Selen, Q10 og Omega3 (Tabel 2)

Tabel 2		Mænd (70)	Kvinder (276)
	N	%	%
C-vitamin	285	81,4	82,6
Selen	278	80,0	80,4
Q10	284	82,9	81,9
Omega3	280	80,0	81,2
B-12-vitamin	34	8,6	10,1
D₃-vitamin	47	2,9	16,3

Tabel 2 viser forbrug af kosttilskud hos undersøgelsens mænd og kvinder med ME/CFS

Den mediane tid fra symptomstart til behandlingsstart var 399 uger og fra diagnosetidspunkt var den 12 uger. Af de 346 patienter var der anvendelige oplysninger på effekt af Oracea hos 228 hvoraf 79 (34,6%) havde god effekt, 69 (30,3%) havde nogen effekt og 80 (35,1%) ikke havde effekt. Blandt mænd var der effekt hos 63% og hos kvinder 65% (ikke signifikant forskel). Samlet set havde 148 (64,9%) effekt efter vores vurdering. Af de 80 - som ikke havde effekt - var der 38, der var ophørt på grund af bivirkninger før en eventuel effekt kunne registreres og 42 der var ophørt på grund af udebleven effekt. Hos 303 kunne vi finde oplysninger om, hvor hyppigt de tog Oracea (normalt 1 kapsel dagligt) og medianværdien var 1.0 med yderpunkterne fra hver dag til hver syvende dag.

Vi undersøgte om behandlingseffekt var afhængig af hvor lang tid der gik fra diagnosen ME/CFS blev stillet til behandlingen med Oracea blev påbegyndt (Tabel 3) og vi fandt, at der

ikke var nogen signifikant forskel, om der gik op til 100 uger eller mere end efter diagnosen blev stillet.

Tabel 3

	Tid fra diagnose til behandlingsstart	
	< 100 uger	≥ 100 uger
Ingen effekt	64 (34%)	16 (40%)
Nogen effekt	124 (66%)	24 (60%)

Tabel 3 viser effekten af behandling med Oracea hos ME/CFS-patienter i forhold til tiden fra diagnosen stilles til behandlingen påbegyndes. T-test viser $p = 0,48$

Vi undersøgte om der var forskel mellem mænd og kvinder med hensyn til effekten af Oracea-behandling (Tabel 4) og kunne ikke påvise en sådan forskel i vores materiale.

Tabel 4

	Mand	Kvinde
Ingen effekt	16 (37%)	64 (35%)
Effekt	27 (63%)	121 (65%)

Tabel 4 viser effekten af behandling med Oracea hos mænd og kvinder med ME/CFS i undersøgelsen. T-test viser $p = 0,75$

Endelig undersøgte vi om alderen havde betydning for effekt af Oracea (Tabel 5). Vi delte patientmaterialet op i 10 års intervaller, dog således at vi slog aldersgrupperne over 45 år sammen for at opnå tilstrækkeligt mange observation in denne gruppe. Analysen viste at fordelingen mellem effekt og ingen effekt var meget stabil bortset fra at gruppen i alderen 15-24 år syntes at skille sig ud med lavere hyppighed af behandlingseffekt. Forskellen var dog ikke signifikant, hverken ved parvis sammenligning med aldersgruppen 5-14 år eller ved en tværgående variansanalyse.

Tabel 5

	5-14 år	15-24 år	25-34 år	35-44 år	≥ 45 år
Ingen effekt (%)	32,5	40,7	34,8	33,3	32,4
Effekt (%)	67,5	59,3	65,2	66,7	67,6
Antal	55	78	64	70	46

Tabel 5 viser effekten af behandling med Oracea hos patienter med ME/CFS fordelt på aldersgrupper. Variansanalyse viser $p = 0,69$.

Af anden medicin fik 152 (44%) lavdosis naltrexon mod smerter og inflammation, 84 (24%) fik lavdosis hydrokortison mod inflammation, 81 (23%) fik propranolol mod hjertebanken og uro (non-selektiv betablokker), 113 (32%) fik valaciclovir som forebyggelse mod reaktivering af herpesvirus og 102 (29%) fik prometazin for søvnbesvær (antihistamin).

Diskussion

Vores retrospektive studie over effekten af Oracea ved den kroniske inflammatoriske sygdom ME/CFS er det første af sin art. Det er efter vores mening vigtigt med sådanne hypotesegenererende studier ved ME/CFS, da det er meget begrænset, hvad der findes af evidensbaseret medicinsk behandling ved denne tilstand. Sammensætningen af den gruppe patienter, der indgår i studiet, var repræsentative for populationen af ME/CFS-patienter med hensyn til alders- og kønsfordeling¹³.

Langtidsbehandling med de antivirale lægemidler valganciclovir¹⁴ og valaciclovir¹⁵ har - i randomiserede dobbelt blindede studier - vist effekt hos ME/CFS-patienter med positiv titer for human herpesvirus og tilsvarende er fundet i et mindre, randomiseret studie over effekten af lavdosis hydrokortison¹⁶. Lavdosis naltrexon (LDN) har vist mulig god effekt i et retrospektivt studie fra Finland¹⁷ og endelig har et retrospektivt studie fra USA over effekten af lavdosis aripiprazol¹⁸ (antipsykotikum) fundet en god effekt. I vores opgørelse var godt en tredjedel af patienterne i behandling med de anførte helt eller delvist dokumenterede lægemidler ved ME/CFS.

Gennem tiderne har der været beskrevet epidemiske tilfælde af ME/CFS, hvilket understreger at infektion formentlig er den hyppigste årsag til lidelsen. Antagelig er der tale om en beskyttende funktion af organismen, som beskrevet af Angelo Mosso¹⁹: ”Træthed, som ved første øjekast kan virke som en ufuldkommenhed i vores krop, er tværtimod en af dens mest fantastiske perfektioner. Når trætheden øges hurtigere end mængden af arbejde, så redder den os fra den skade, som mindre følsomhed ville medføre for organismen”. Mekanismen er beskrevet i nyere tid af Robert Naviaux som ”The cell Danger Response”²⁰

De mest velbeskrevne epidemier stammer fra Island (Akureyri Disease²¹) og fra Royal Free Hospital i London²². Sidstnævnte udbrud førte til betegnelsen myalgic encephalomyelitis (ME). Epidemiske tilfælde af ME blev kaldt massehysteri af psykiatere McEvedy og Beard i 1970²³, hvilket fremkaldte kraftig modstand fra epidemiologer, behandlende læger og læger, der selv blev syge: ”In congratulating Drs. CP McEvedy and AW Beard on their beautiful and timely diagnostic deciphering of the clinical records of the Royal Free epidemic of 1954, no

diminution is intended in recalling that the possibility was not overlooked at the time. In fact it was held to most likely, particularly early on in the epidemic. Later, as medical staff of various seniority succumbed such a suggestion was silenced by unspoken agreement”²⁴

Psykiaterne blev beskyldt for ikke tilstrækkeligt at undersøge de patienter, de beskrev, og deres konklusioner er blevet tilbagevist. I 1978 konkluderede et symposium afholdt ved Royal Society of Medicine, at epidemisk myalgisk encephalomyelitis var en særskilt sygdoms enhed med et klart organisk grundlag blandt andet, fordi der ved de originale undersøgelser af patienterne blev konstateret feber hos 89 procent, hævede lymfekirtler hos 79 procent og ansigts- og øjemuskelparese hos henholdsvis 19 og 43 procent²⁵.

Udover de nævnte epidemiske udbrud har postviralt træthedssyndrom og ME været anført som følgetilstande til sporadiske infektionssygdomme - oftest med human herpesvirus (HHV4 – Epstein Barr virus²⁶ og HHV6²⁷) og som led i pandemier, illustreret ved den fordobling i prævalens af ME, der blev fundet i Norge efter svineinfluenzaen H1N1²⁸. Et større prospektiv studie fra Australien, som fulgte patienter efter DNA-virus-, RNA-virus- eller intracellulær bakterieinfektion har vist, at 10 procent havde vedvarende symptomer på ME seks måneder efter overstået infektionsforløb uanset den infektiøse agens²⁹. ME-lignende tilstande har ligeledes være beskrevet efter infektioner med coronavirus ved SARS-epidemien i 2002³⁰ og ved MERS-udbruddet i 2012³¹. Ved COVID-19 anslår det britiske Office for National Statistics, at én ud af ti smittede har symptomer, som vedvarer i 12 uger eller mere og at det rammer selv patienter med mildere former af den akutte sygdom³², hvilket med de aktuelle smittetal i Danmark svarer til godt 20.000 personer. Et endnu ikke fuldt offentliggjort studie fra Charité Universitätsmedizin Berlin fulgte – i et halvt år - 42 patienter i alderen 22 til 62 år med moderat til svær træthed/udmattelse efter COVID-19 og fandt, at knapt halvdelen opfyldte kriterierne for ME³³.

ME/CFS er en meget omdiskuteret diagnose – især i Danmark, hvor der ikke findes egentlige retningslinjer for diagnose og behandling og hvor sygdommen ofte henføres til begrebet ”funktionelle lidelse”. Der findes på nuværende tidspunkt ikke centraliseret, offentlig behandling af ME/CFS og dette forhold er blevet ganske aktuelt i den pågående coronapandemi, da man kan opfatte følgetilstand til COVID-19 som en sygdom der i mange henseender ligner ME/CFS og som på samme måde tilhører gruppen af postviralt træthedssyndrom. Med de seneste retningslinjer fra National Institute for Health and Care Excellence (NICE, november 2021) må det forventes, at der også i Danmark åbnes for at acceptere ME/CFS som en somatisk sygdom.

Begrænsninger

Det aktuelle studie er retrospektivt og inkluderer en selektiv gruppe patienter med ME/CFS i betragtning af at de har søgt behandling på en privat klinik som selvbetalere. Der er en væsentlig risiko for bias i form af patienternes og behandlerens ønske om en positiv behandlingseffekt. Der er ligeledes en risiko for bias i vores semikvantificering af behandlingsresultatet. Patienterne var desuden i behandling med række andre lægemidler og diagnosen var alene symptombaseret. Det sidste fænomen kendes dog fra andre tilstande som kroniske smerter og migræne og er således ikke unikt for ME/CFS.

Konklusion

De seneste års litteratur peger i stigende grad på ME/CFS som en kronisk inflammatorisk sygdom med en væsentlig grad af neuroinflammation og med høj forekomst af antistoffer mod det autonome nervesystem. Jeg finder, at mit patientmateriale er repræsentativt for ME/CFS-populationen, at der i Danmark dels går lang tid fra symptomdebut til diagnosen stilles og at Oracea – et lavdosis doxycyclinpræparat - kunne have positiv effekt hos nogle patienter med ME/CFS. Jeg er klar over, at en undersøgelse som vores ikke giver tilstrækkelig evidens for behandling med doxycyclin, men vi mener at undersøgelsen giver grundlag for at gennemføre et randomiseret, placebokontrolleret studie – helst på flere centre - for at en sådan evidens kan opnås.

Referencer

1. Nacul LC, et al. Prevalence of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) in three regions of England: a repeated cross-sectional study in primary care. *BMC Medicine* 2011 9:91
2. Carruthers BM, et al. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. *J Intern Med* 2011 270: 327–338
3. Sotzny F, et al. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome – Evidence for an autoimmune disease *Autoimmunity Reviews*. 2018 17:601–609.
4. Blomberg J, et al. Antibodies to Human Herpesviruses in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome Patients. *Front. Immunol.* 2019 10:1946.
5. Komaroff, AL. Inflammation correlates with symptoms in chronic fatigue syndrome. *PNAS* 2017 114: 8914-6.
6. Nakatomi Y, et al. Neuroinflammation in Patients with Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis: An 11C-(R)-PK11195 PET Study. *J Nucl.Med*, 2014 55: 945-50
7. Mueller C, et al. Evidence of widespread metabolite abnormalities in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: Assessment with whole-brain Magnetic Resonance Spectroscopy.

8. Peterson D. et al. Cytokines in the Cerebrospinal Fluids of Patients with Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis. *Mediators of Inflammation* 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/929720>
9. <https://pro.medicin.dk/Medicin/Praeparater/6504>
10. O'Dell JR, et al. Treatment of Early Seropositive Rheumatoid Arthritis Doxycycline Plus Methotrexate Versus Methotrexate Alone. *Arthritis Rheumatism* 2006. 54: 621–7
11. Wang N et al. Low dose doxycycline decreases systemic inflammation and improves glycemic control, lipid profiles, and islet morphology and function in *db/db* mice. *Nature Scientific Reports* 2017 7: 14707.
12. Meli DN, et al. Doxycycline Reduces Mortality and Injury to the Brain and Cochlea in Experimental Pneumococcal Meningitis. *Infect Immun* 2006 74: 3890-6
13. Bakken IJ, et al. Two age peaks in the incidence of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: a population-based registry study from Norway 2008-2012. *BMC Medicine* 2014 12: 167.
14. Watt T., et al. Response to Valganciclovir in Chronic Fatigue Syndrome Patients With Human Herpesvirus 6 and Epstein–Barr Virus IgG Antibody Titers. *J. Med. Virol.* 2012 84:1967–74,
15. Lerner AM et al. Valacyclovir Treatment in Epstein-Barr Virus Subset Chronic Fatigue Syndrome: Thirty-six Months Follow-up. *In Vivo* 2007 21:707-14.
16. Cleare AJ, et al. Low-dose hydrocortisone in chronic fatigue syndrome: a randomised crossover trial. *Lancet.* 1999; 353: 455-58
17. Polo O, et al. Low-dose naltrexone in the treatment of myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *Fatigue: Biomedicine, health & Behavior* 2019 7:207-17
18. Crosby LD, et al. Off label use of Aripiprazole shows promise as a treatment for Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS): a retrospective study of 101 patients treated with a low dose of Aripiprazole. *J Transl Med* 2021 19: 50.
19. Mosso A. (1904) *Fatigue*. Engelsk oversættelse M.Drummond. GP. Putnam's Sons. New York.
20. Naviaux R. (2018) Metabolic features and regulation of the healing cycle—A new model for chronic disease pathogenesis and treatment. *Science Direct. Mitochondrion* <https://doi.org/10.1016/j.mito.2018.08.001>
21. Blattner R (1956). "Benign myalgic encephalomyelitis (Akureyri disease, Iceland disease)". *J. Pediatr.* 49 4: 504–6.
22. Ramsay AM (1957) Encephalomyelitis in North West London. *Lancet* 270: 1196-1200.
23. McEvedy CP, Beard AW. Royal Free Epidemic of 1955: A Reconsideration *Br Med J.* 1970 Jan 3; 1(5687): 7–11.
24. Hare M. Correspondance. *Br Med J.* 1970 1: 299.
25. Dawsom J. Royal Free disease: perplexity continues. *Br Med J* 1987 294: 327-8.
26. White PD et al (1998). Incidence, risk and prognosis of acute and chronic fatigue syndromes and psychiatric disorders after glandular fever. *Br J Psychiatry* 173:475–81.
27. Komaroff AL. Is human herpesvirus-6 a trigger for chronic fatigue syndrome? *J Clin Virol.* (2006) 37: S39–46.
28. Magnus P et al (2015). Chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis (CFS/ME) is associated with pandemic influenza infection, but not with an adjuvanted pandemic influenza vaccine. *Vaccine* 33: 6173-7.

29. Hickie I, et al. (2006) Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: prospective cohort study. *BMJ*, doi:10.1136/bmj.38933.585764.AE
30. Lam M H-B et al (2009). Mental morbidities and chronic fatigue in severe acute respiratory syndrome survivors: long-term follow-up. *Arch Intern Med*. 169:2142-7.
31. Lee SH et al (2019). Depression as a Mediator of Chronic Fatigue and Post-Traumatic Stress Symptoms in Middle East Respiratory Syndrome Survivors. *Psychiatry Investig*. 2019 Jan; 16(1): 59–64.
32. <https://www.ons.gov.uk/news/statementsandletters/theprevalenceoflongcovidssymptomsandcovid19complications>
33. Kedor C, et al. (2021) Chronic COVID-19 Syndrome and Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) following the first pandemic wave in Germany – a first analysis of a prospective observational study. <https://doi.org/10.1101/2021.02.06.21249256>.