

Guro Tuftedal  
Nina Groven  
Solveig Reitan

## Inflammasjonens rolle i psykiske lidelser

En studie på CFS/ME ogIDO-aktivering

Hovedoppgave i Proffesjonstudiet medisin  
Veileder: Solveig Reitan  
Januar 2020



Guro Tuftedal  
Nina Groven  
Solveig Reitan

# Inflammasjonens rolle i psykiske lidelser

En studie på CFS/ME ogIDO-aktivering

Hovedoppgave i Proffesjonstudiet medisin  
Veileder: Solveig Reitan  
Januar 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Fakultet for medisin og helsevitenskap  
Institutt for klinisk og molekylær medisin



Kunnskap for en bedre verden



# Inflammasjonens rolle i psykiske lidelser

EN STUDIE PÅ CFS/ME OG IDO-AKTIVERING  
GURO TUFTEDAL, NINA GROVEN, SOLVEIG REITAN

## Innhold

Abstract .....	2
Sammendrag .....	3
Introduksjon.....	4
Bakgrunn, hensikt og formål .....	4
Materiale og metode .....	7
Resultat.....	8
Kynurenin.....	9
Tryptofan .....	12
Kvinolonsyre .....	13
3-OH-kynurenin .....	16
Omdanningshastighet .....	18
Diskusjon.....	19
Styrker og svakheter ved vår studie .....	22
Konklusjon .....	23
Kilder.....	23

## Abstract

**Introduction:** For a long time, the psychiatric field has been separated from somatic medicine in the western world. Because of this, research in the field of psychiatry has been falling behind the other fields in terms of scientific discovery. New research has provided insights into how somatic diseases can give rise to psychiatric symptoms, and the paradigm is shifting towards a more unison approach to the mind and body as one whole and not two separate parts. Because of this new approach, a new branch of research has developed: immunopsychiatry; the link between inflammation and psychiatric disorders.

Immunopsychiatry describes several immunological abnormalities found in patients with schizophrenia, depression and psychosis. During inflammation, tryptophan is converted into kynurenine by activation of the enzyme indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) and further metabolites of the kynurenine-pathway. Immunological deviations are also found in chronic fatigue syndrome (CFS/ME) patients. There are very few studies in this field on this patient population, although the involvement of the kynurenine-pathway in inflammation is obvious. In this study we have looked at the immunological activation and inflammation in patients with CFS/ME and compared them to a group of healthy controls. We have measured the blood concentration of tryptophan and kynurenine and several metabolites in the kynurenine-pathway in both the CFS/ME patients and in the healthy controls. This study is important for understanding the underlying mechanisms and possible treatment for CFS/ME. The primary aim of this study was to see if there is any shift in the metabolism of tryptophan indicating a state of inflammation.

**Method:** 49 CFS/ME patients and 53 healthy controls were recruited to our study via the pain clinic at St. Olav's hospital and the intranet pages for employees at St. Olavs hospital and NTNU. Peripheral blood was analysed for several immunological biomarkers, including cytokines, chemokines, tryptophan, kynurenine and metabolites from the kynurenine-pathway. Our CFS/ME group was diagnosed according to the Fukuda criteria from 1994 and those criteria were also used as our exclusion criteria in addition to a screening for deviating white blood cells, CRP and serology against several viruses. The independent T-test was used to compare means of blood concentration between the two groups, and a univariate general linear model for regression was used to investigate if factors such as age or nicotine could affect the results. We compared the blood concentrations of kynurenine, tryptophan, 3-OH-kynurenine and quinolinic acid, as well as the ratio between kynurenine and tryptophan as a measure of IDO-activity and inflammation.

**Results:** We found a statistically significant difference between the two groups for kynurenine ( $P=.037$ ) and tryptophan ( $P=.014$ ), where the control group had higher levels than the CFS/ME group for both substances. We found, on the other hand, no statistically significant difference between the two groups when it came to 3-OH-kynurenine ( $P=0,73$ ), quinolinic acid ( $P= 0,232$ ) or the ratio [Kyn]/[Tryp] ( $P= 0,980$ ). According to our tests, age seemed to influence the levels of kynurenine ( $P= .046$ ) as well as the ratio [Kyn]/[Tryp] ( $P=0.003$ ).

**Conclusion:** In this study we have investigated the connection between inflammatory activation of IDO and the CFS/ME diagnosis. We found lower concentrations of kynurenine and tryptophan in our CFS/ME group than in our healthy control group, and no significant difference between the two when it came to 3-OH-kynurenine, quinolinic acid or the ratio between kynurenine and tryptophan. To investigate the cause of our results and to find a

pathophysiological explanation for the illness CFS/ME we need more studies with larger populations, and maybe in time we can find a cure.

## Sammendrag

**Introduksjon:** I lang tid har psykiatrien og somatikken vært sett på som to adskilte grener innenfor vestlig medisin. Dette paradigmet er i endring, og nyere forskning har gitt oss flere eksempler på hvordan somatisk sykdom kan gi opphav til psykiatriske symptomer og motsatt. Dette har bidratt til en mer helhetlig tilnærming til både somatikk og psykiatri som har gitt opphavet til en relativt nye gren innenfor feltet: Immunopsykiatri; sammenhengen mellom inflammasjon og psykiatriske lidelser. Immunopsykiatrien har beskrevet flere immunologiske abnormaliteter funnet hos pasienter med schizofreni, depresjon og psykose. Ved inflammasjon blir tryptofan omdannet til kynurenin via aktiveringen av enzym indolamin-2,3-dioksygenase (IDO) og kynurenin omdannes videre til flere forskjellige metabolitter. Immunologiske abnormaliteter er også funnet hos pasienter med CFS/ME, men her er det gjort veldig få studier. I denne studien har vi sett på den immunologiske aktiveringen og inflammasjonen hos pasienter med CFS/ME og sammenlignet dem med en gruppe friske kontroller. Vi har målt blodkonsentrasjonen av tryptofan, kynurenin og flere metabolitter hos både CFS/ME-pasientene og kontrollene. Denne studien er viktig for å forstå den underliggende mekanismen og en potensiell behandling for CFS/ME. Målet med studien var primært å se om det er en forskyvning i tryptofanmetabolismen når kroppen er i en inflammasjonstilstand.

**Metode:** 49 CFS/ME pasienter og 53 friske kontroller ble rekruttert til studien via smertesenteret på St. Olavs hospital og via intranettsidene for ansatte på St. Olavs hospital og NTNU. Perifert blod ble analysert og flere immunologiske biomarkører, inkludert cytokiner, kjemokiner, tryptofan, kynurenin og metabolitter fra kynureninkjeden ble målt. Vår CFS/ME-gruppe ble diagnostisert med Fukuda-kriteriene fra 1994 og de samme kriteriene ble også brukt som eksklusjonskriterier i tillegg til en screening for avvikende hvite blodceller, CRP og serologi mot flere virus. En uavhengig T-test ble brukt for å sammenligne gjennomsnittene i blodkonsentrasjon mellom de to gruppene og en univariat lineær regresjonsmodell ble brukt for å undersøke om faktorer som nikotin kunne påvirke resultatene. Vi sammenlignet konsentrasjonene av kynurenin, tryptofan, 3-OH-kynurenin og kvinolonsyre, i tillegg til ratioen mellom kynurenin og tryptofan som et mål på IDO-aktivitet og inflammasjon.

**Resultat:** Vi fant en statistisk signifikant forskjell mellom de to gruppene for kynurenin ( $P=.037$ ) og tryptofan ( $P=.014$ ), der kontrollgruppen hadde høyere nivåer enn CFS/ME-gruppen for begge substansene. Vi fant derimot ingen statistisk signifikant forskjell mellom de to gruppene når det kom til 3-OH-kynurenin ( $P=0,73$ ), kvinolonsyre ( $P= 0,232$ ) eller ratioen  $[Kyn]/[Tryp]$  ( $P= 0,980$ ). Ifølge våre tester var alder en potensiell påvirkende factor på konsentrasjonen av kynurenin ( $P= .046$ ) og på ratioen  $[Kyn]/[Tryp]$  ( $P=0.003$ ).

**Konklusjon:** I denne studien har vi undersøkt sammenhengen mellom inflammatorisk aktivering av IDO og CFS/ME-diagnosen. Vi fant lavere konsentrasjoner av kynurenin og tryptofan i vår CFS/ME-gruppen enn i kontrollgruppen, og ingen signifikant forskjell mellom de to hva det gjaldt 3-OH-kynurenin, kvinolonsyre eller ratioen mellom kynurenin og tryptofan. For å undersøke årsaken til våre resultater og for å finne en patofysiologisk forklaring for sykdommen CFS/ME trenger vi flere studier med større populasjoner, kanskje vi da kan finne en kur.



## Introduksjon

I lang tid har det ledende paradigmet innenfor vestlig medisin vært at psyke og soma er to forskjellige og adskilte felt. Denne ideen har ført til at forskningen og forståelsen av de psykiatriske lidelsene og deres årsaksmekanismer sakte har krøpet fremover, mens man innenfor andre medisinske fagfelt har kommet veldig langt, veldig fort (1). I dag vet vi at bakterien *Treponema pallidum*, som gir sykdommen syfilis, i noen tilfeller kan gi psykose. Vi vet også at mangel på B-vitamin, hypotyreose og bruk av høye doser kortikosteroider er eksempler på somatiske tilstander som kan gi psykiatriske symptomer. I tillegg ser vi at psykiatriske pasienter har endret immunologisk aktivitet sammenlignet med friske kontroller (2). Vi ser altså at det er en sammenheng mellom somatikk og psykiatri, og ettersom psykiatriske lidelser er en stor belastning både for individet og for samfunnet trengs det flere gode studier på denne sammenhengen. I denne studien har vi sett på pasienter med kronisk utmattelsessyndrom/myalgisk encefalopati (CFS/ME), en sykdom som mange fortsatt mener er hovedsakelig psykiatrisk og sammenlignet deres nivåer av en inflammasjonsmarkør og dens metabolitter med friske kontroller.

## Bakgrunn, hensikt og formål

CFS/ME er en sykdom som gir en uforklarlig utmattelse som i betydelig grad påvirker funksjonsnivået, men som også kan gi en rekke forskjellige fysiske og kognitive symptomer. Et kardinalsymptom på CFS/ME er en langvarig forverring av utmattelsen etter alle former for fysisk eller psykisk anstrengelse (3). Begrepene CFS og ME brukes ofte om hverandre som synonymer eller i kombinasjonen CFS/ME eller ME/CFS. CFS står for «chronic fatigue syndrome», et begrep som mange pasienter mener trivialiserer tilstanden. ME står for «myalgisk encefalopati», et begrep som på den andre siden har fått kritikk ettersom det ikke er påvist sykdom i hjernen eller ryggmargen i pasientgruppen (3). I denne artikkelen brukes derfor betegnelsen CFS/ME, for å anerkjenne begge synspunktene.

Det er blitt brukt en rekke forskjellige kriterier opp gjennom tiden for å diagnostisere tilstanden, men i denne studien har vi brukt Fukuda-kriteriene fra 1994, som er de mest brukte innen forskning.

Den globale prevalensen av CFS/ME varierer i forskjellige studier mellom 0,4% og 2,5 % (4), og gjennomsnittlig debutalder er mellom 30 og 40 år (5). Ifølge en studie av pasienter med forskjellige kroniske sykdommer, som schizofreni, nyresvikt, kreft, slag og CFS/ME, hadde pasientene med CFS/ME i gjennomsnitt den laveste livskvaliteten, og bare 13 % av dem

hadde kapasitet til å beholde en fulltidsjobb (6). Det er altså en sykdom som oftest rammer unge mennesker i yrkesaktiv alder og som gjør at svært mange av dem faller utenfor arbeidslivet, noe som er en stor belastning både for pasientene og for samfunnet.

Når det gjelder årsaken til CFS/ME antar man at den er multifaktoriell, og at flere elementer spiller en viktig rolle. Kvinnelig kjønn ser ut til å disponere for sykdommen, da 2-3 ganger så mange kvinner som menn affiseres (5). I tillegg antyder noen studier at det er en sammenheng mellom tidligere barndomstraumer eller PTSD (posttraumatisk stresslidelse) og utviklingen av CFS/ME, men studiene er ikke entydige (7-9). Tidligere nevrologiske undersøkelser har vist tegn på inflammasjon i hjernen hos pasienter med CFS/ME (10), og noen immunologiske studier tyder på immunologiske avvik, spesielt i T-celler og cytokiner (3). I tillegg fant én studie at før starten av symptomene opplevde 64 % en infeksjon, 38 % en stressende livssituasjon (5). Dette kan gi inntrykk av at en av de patofysiologiske faktorene for CFS/ME er immunsystemet, som gir inflammasjon eller dysregulering, og som både aktiveres ved stress og ved infeksjoner. Men hvordan kan immunsystemet påvirke sentralnervesystemet (CNS)?

Her er det blitt gjort en del forskning. En studie fant at administrasjonen av IFN- $\alpha$  gitt som behandlingen av Hepatitt C gir en signifikant økning av depressive symptomer hos pasientene. 16-45 % av pasienter som ble behandlet med IFN- $\alpha$  for enten kreft eller hepatitt C utviklet depressive symptomer (11). En annen studie fant at administrasjonen av IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\alpha$  og TNF- $\alpha$  hos mus induserte et atferdsmønster som kalles «sickness-syndrom», som inkluderer økt søvnbehov, lavere psykomotorisk aktivitet, lavere glukose-inntak (som et mål på anhedoni), vekttap og redusert sosiabilitet (12). Man kan altså tenke seg at inflammasjon og cytokiner har en effekt på stemningsleiet og energinivået. Men hvordan?

Signalstoffer produsert av immunsystemet kan penetrere blod-hjerne-barrieren og virke i CNS. I tillegg kan de binde til reseptorer på perifere afferente nevroner og på den måten sette i gang reaksjoner som spilles videre tilbake til hjernen (13). På denne måten kan generell inflammasjon i kroppen påvirke hjernen. I tillegg vil det ved økt inflammasjon aktiveres et enzym kalt indolamin-2,3-dioksygenase (IDO) via IFN- $\gamma$ . IDO omdanner tryptofan, prekursoren for serotonin, til kynurenin via kynurenin-kjeden. Når IDO stimuleres, via inflammatoriske substanser, vil plasmanivåene av tryptofan synke. Man kan derfor tenkes å få mindre syntese av serotonin, noe som kan tenkes å påvirke utviklingen av depressive symptomer og angst(12). I tillegg kan metabolittene til kynurenin; kvinolonsyre og 3-OH-kunurenin, ha nevrotoksiske effekter. Kvinolonsyre påvirker NMDA-reseptorer og kan i

tillegg være nevrotoksisk og føre til apoptose og atrofi av hippocampale områder, og 3-OH-kunurenin vil kunne danne reaktive oksygenspecies (ROS) (12).

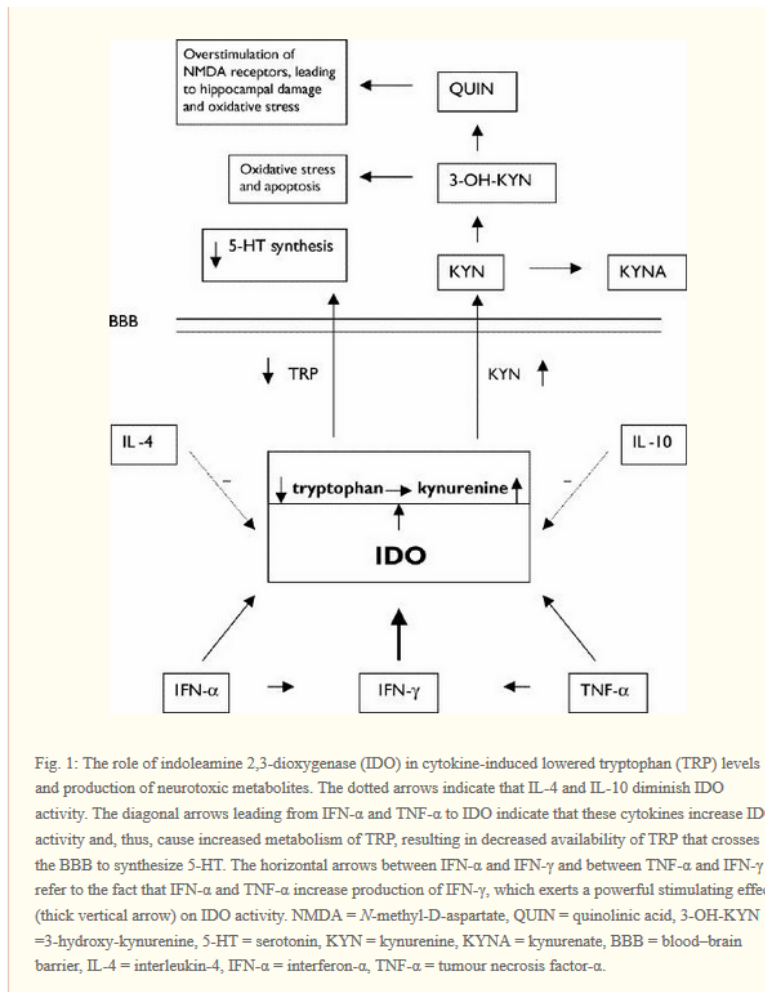


Fig. 1: The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in cytokine-induced lowered tryptophan (TRP) levels and production of neurotoxic metabolites. The dotted arrows indicate that IL-4 and IL-10 diminish IDO activity. The diagonal arrows leading from IFN- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  to IDO indicate that these cytokines increase IDO activity and, thus, cause increased metabolism of TRP, resulting in decreased availability of TRP that crosses the BBB to synthesize 5-HT. The horizontal arrows between IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  and between TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  refer to the fact that IFN- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  increase production of IFN- $\gamma$ , which exerts a powerful stimulating effect (thick vertical arrow) on IDO activity. NMDA = *N*-methyl-D-aspartate, QUIN = quinolinic acid, 3-OH-KYN = 3-hydroxy-kynurenine, 5-HT = serotonin, KYN = kynurenine, KYNA = kynurenate, BBB = blood-brain barrier, IL-4 = interleukin-4, IFN- $\alpha$  = interferon- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  = tumour necrosis factor- $\alpha$ .

Figur 1 (12)

Det er altså ganske tydelig at immunsystemet kan påvirke hjernen, men man ser også at hjernen kan påvirke immunsystemet. Det er blitt vist at lymfocytter har reseptorer for neurotransmittere som dopamin, acetylcholin og serotonin, og disse neurotransmitterne kan påvirke T-cellers aktivitet både i form av differensiering og cytokinproduksjon (14). Denne kommunikasjonen mellom CNS og immunsystemet, både den ene og den andre veien, kan altså knytte bånd mellom de to organsystemene og man kan tenke seg at immunsystemet og hjernen er tettere knyttet enn før trodd (15).

I min oppgave skal jeg se på sammenhengen mellom kynurenin-kjeden og CFS/ME. Det er allerede gjort en del studier på sammenhengen mellom kynurenin og schizofreni (16) og sammenhengen mellom inflammasjon og depressive symptomer (12). Disse studiene har sammenlignet spesifikke symptomer eller diagnoser med friske kontroller. Fra vår gruppe har

vi nylig publisert høyere hsCRP hos pasienter med CFS/ME enn hos friske kontroller (17). I min studie vil jeg se på plasmanivåene av kynurenin og noen av dets metabolitter hos pasienter med CFS/ME og måle dette opp mot friske kontroller. Dette blir et tillegg til basisforskningen innen immunopsykiatrien som forhåpentligvis kan øke kunnskapsgrunnlaget og bringe oss nærmere å finne en årsaksmodell for psykiske lidelser, da spesielt CFS/ME.

## Materiale og metode

### **Studiedeltakerne**

Studiens populasjon er kvinner i alderen 18-60 år som alle ble tatt inn på Tverrfaglig smerteklinikk på St. Olavs hospital i Trondheim for en vurdering av CFS/ME-symptomer. Deltakerne ble informert om studien gjennom et brev som ble sendt ut fra sykehuset før, eller kort tid etter, ordinær klinisk evaluering på smerteklinikken. Deretter ble de kontaktet per telefon og spurt om de ville delta i studien, og en ny time ble satt opp.

Deltakerne gjennomgikk en omfattende klinisk undersøkelse, gjort av et team av leger, fysioterapeuter og psykologer ved St. Olavs hospital, og pasienter som her ble diagnostisert med CFS/ME (eller fibromyalgi for annen del av studien) ble invitert til å delta i studien. Deltakerne som er inkludert i studien er de som fikk diagnosen CFS/ME, og som ikke var gravide, ikke hadde andre immunologiske/revmatologiske tilstander og ikke gikk på immunmodulerende medikamenter.

Diagnosen CFS/ME ble satt etter Fukuda-kriteriene fra 1994. I hovedkriteriene inngår blant annet en vedvarende og tilbakevendende utmattelse som ikke bedres av hvile og som reduserer aktivitetsdeltakelse. I tillegg til hovedkriteriene må pasienten ha minst fire av følgende symptomer: Sår hals, svekket korttidshukommelse og/eller konsentrasjon, ømme lymfeknuter, muskelsmerter, smerter i flere ledd, nyoppstått hodepine, manglende følelse av å være uthvilt etter søvn eller forverret sykdomsfølelse i minst 24 timer etter en anstrengelse. Eksklusjonskriteriene i vår studie samstemmer med eksklusjonskriteriene i Fukuda-kriteriene, i tillegg til at alle pasienter og kontroller ble screenet for avvikende hvite blodceller, CRP, og serologi mot mycoplasma pneumoniae, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, hepatitt B virus (HBsAg og anti-HBcore), hepatitt C virus og Borrelia burgdorferi.

Kontrollgruppen besto av friske kvinner i alderen 18-60 år som ble rekruttert via intranettsidene for ansatte ved St. Olavs hospital og NTNU. Man vurderte kontrollgruppens helse gjennom et anamnestisk intervju og ved bruk av spørreskjemaer som vurderte symptomer på CFS/ME og FM.

## **Etikk og utførelse**

Selve datainnsamlingen foregikk i perioden fra mars 2015 til desember 2016. Deltakerne ble intervjuet, fylte ut spørreskjemaer og tok blodprøver ila. et møte på 30-40 minutter.

Rekkefølgen på vurderingene ble gjort tilfeldig. Alle studiedeltagere har gitt skriftlig informert samtykke til å delta i studien. Studien er godkjent av REK 2014/711 CFS/ME og Fibromyalgi, sammenligning av immunsystemet og psykiatriske forhold sammenlignet med friske kontroller.

## **Spørreskjemaene**

Spørreskjemaene som ble fylt ut av alle deltakerne var HADS (Hospital Anxiety and Depression scale), FM 2011 og 2016 kriterier, Chalder Fatigue scale og Brief Pain inventory. I intervjuene ble deltakernes vekt, høyde og alder kartlagt samt at det ble tatt opp en strukturert anamnese med hensyn til infeksjoner, immunologiske sykdommer, sykdom generelt (både somatisk og psykisk), komorbiditet, medikamenter, menstruasjonssyklus, bruk av prevensjonsmidler, menopausestatus, symptomers varighet og nivå av fysisk aktivitet de siste to ukene.

## **Blodprøver**

Blodprøvene ble sentrifugert og plasma frosset ned til -80 °C ila. 30-40 minutter fra prøven ble tatt. Plasmaprøvene ble sendt videre til Bevital for analyse av tryptofan, kynurenin og metabolitter i kynurenin-kjeden.

## **Statistiske analyser**

De statistiske analysene ble utført i IBM SPSS utgave 25. Vi gjorde deskriptive analyser med tester for normalfordeling på alle variablene våre og gjorde så uavhengig T-test for å sammenligne gjennomsnitt. Videre gjorde vi regresjonstester (univariate general linear models) med alder og nikotin som kofaktorer.

## **Resultat**

I denne studien ble variablene kynurenin, kvinolonsyre, tryptofan, ratioen mellom kynurenin og tryptofan og 3-OH-kynurenin brukt som de avhengige, kontinuerlige variablene mens populasjons-gruppene CFS/ME og kontroller ble brukt som nominale, uavhengige variabler. Normalfordelingen av de avhengige variablene ble vurdert ut fra histogrammer og/eller Shapiro-Wilk test.

Kontrollgruppen vår består av 53 deltakere og CFS/ME-gruppen består av 48 deltakere. Alle deltakerne er kvinner i alderen 18-60 år, og det var en viss aldersforskjell mellom de to gruppene. Gjennomsnittsalderen i CFS/ME-gruppen var på 33,8 år, mens den hos kontrollgruppen var på 39,4 år. I tillegg til forskjell i alder mellom de to gruppen var det en forskjell i nikotinvaner i de to gruppene, 32% av CFS/ME-gruppen brukte nikotin mens 15% av kontrollgruppen gjorde det. Alder og nikotin ble derfor begge brukt som kofaktorer i regresjonsanalysene gjort for hver avhengige variabel for å kontrollere for effekten de kan ha på blodkonsentrasjonen av de forskjellige stoffene vi har målt.

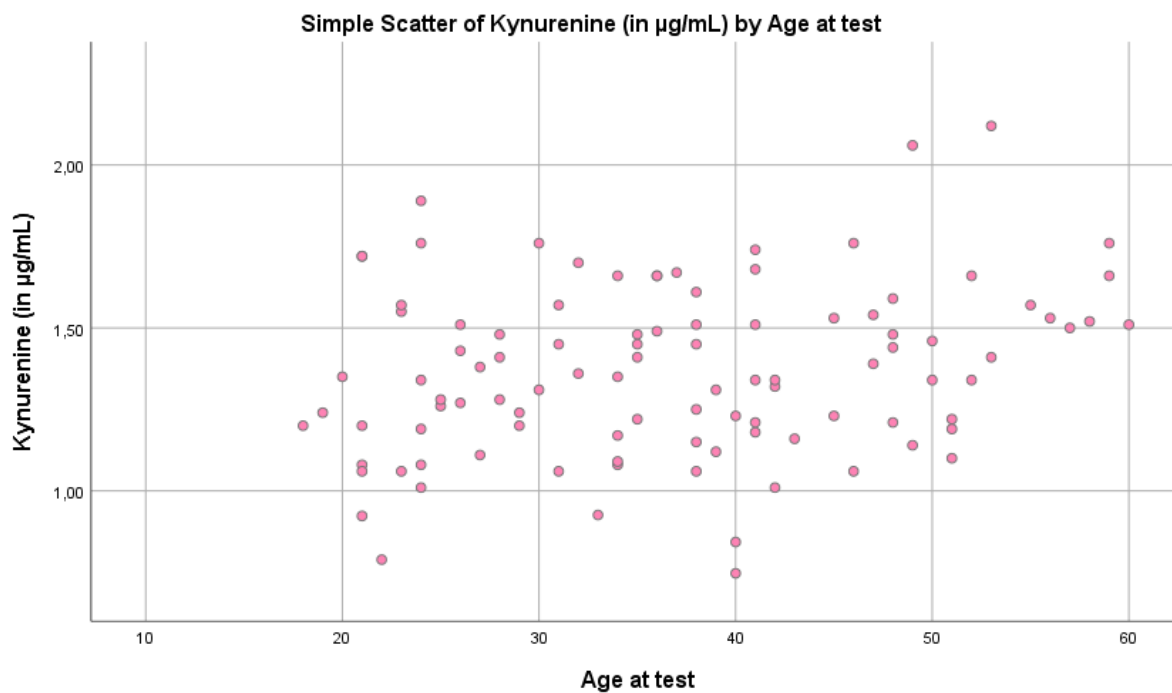
### Kynurenin

Kynurenin-konsentrasjonen hos kontrollene og hos CFS/ME-gruppen ble vurdert som normalfordelt med henholdsvis  $P=0,744$  og  $P=0,673$  på Shapiro-Wilk test. En uteligger i CFS/ME-gruppen ble oppdaget på histogrammene. Vi valgte å inkludere uteliggeren i analysene for å så å ekskludere uteliggeren, gjøre samme test og så sammenligne.

Null-hypotesen var at forskjellen på gjennomsnittskonsentrasjonen av kynurenin i blod mellom CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen er lik null. Den alternative hypotesen var at det er en forskjell i gjennomsnittskonsentrasjonene av kynurenin i blod mellom de to gruppene. Det ble gjort en uavhengig T-test, med uteliggeren inkludert, for å avgjøre om det var en forskjell eller ikke. Resultatet ble da at det var en statistisk signifikant forskjell i gjennomsnittlig blodkonsentrasjon av kynurenin mellom CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen, der kontrollgruppen hadde høyere konsentrasjon enn CFS/ME-gruppen,  $0,108 \mu\text{mol/L}$  (95% CI,  $-0,209$  til  $-0,006$ ),  $t(99) = -2,11$ ,  $P = .037$ .

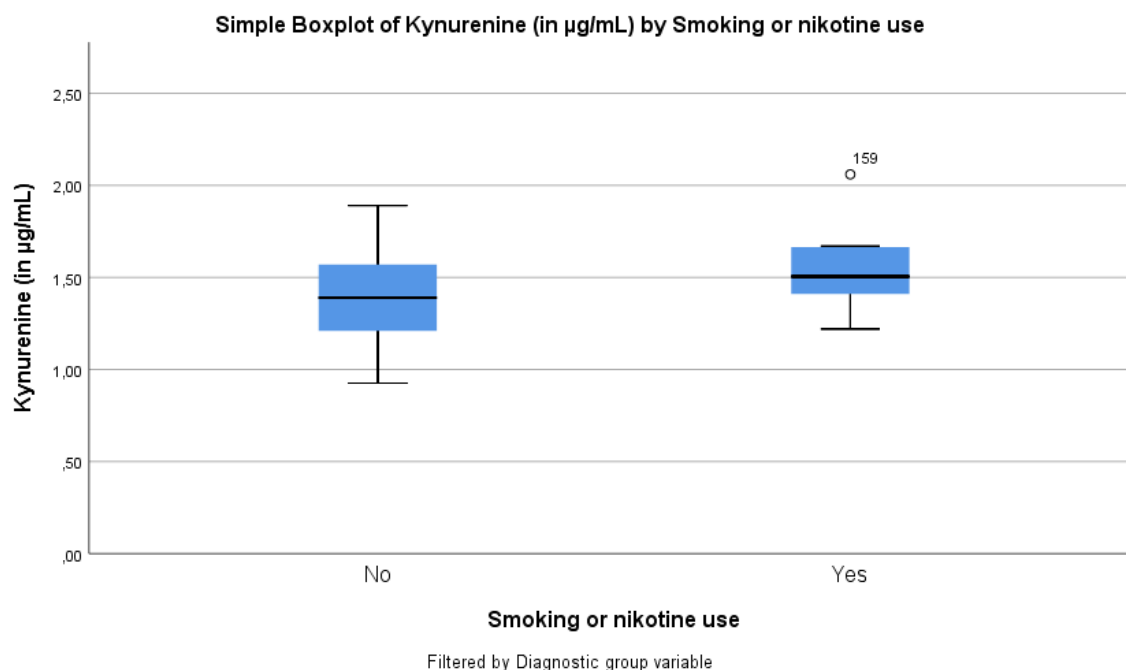
Det ble også gjort en T-test der uteliggeren ble ekskludert, resultatet ble da en statistisk signifikant forskjell i gjennomsnittlig blodkonsentrasjon av kynurenin mellom CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen, der kontrollgruppen fortsatt hadde høyere konsentrasjon enn CFS/ME-gruppen, denne gang  $0,244$  (95% CI,  $-0,222$  til  $-0,028$ ),  $t(98) = -2,5$ ,  $P = .012$ .

Med tanke på aldersforskjellen og forskjellen i nikotinbruk mellom våre to deltakergrupper undersøkte vi om disse faktorene påvirket nivåene av kynurenin.

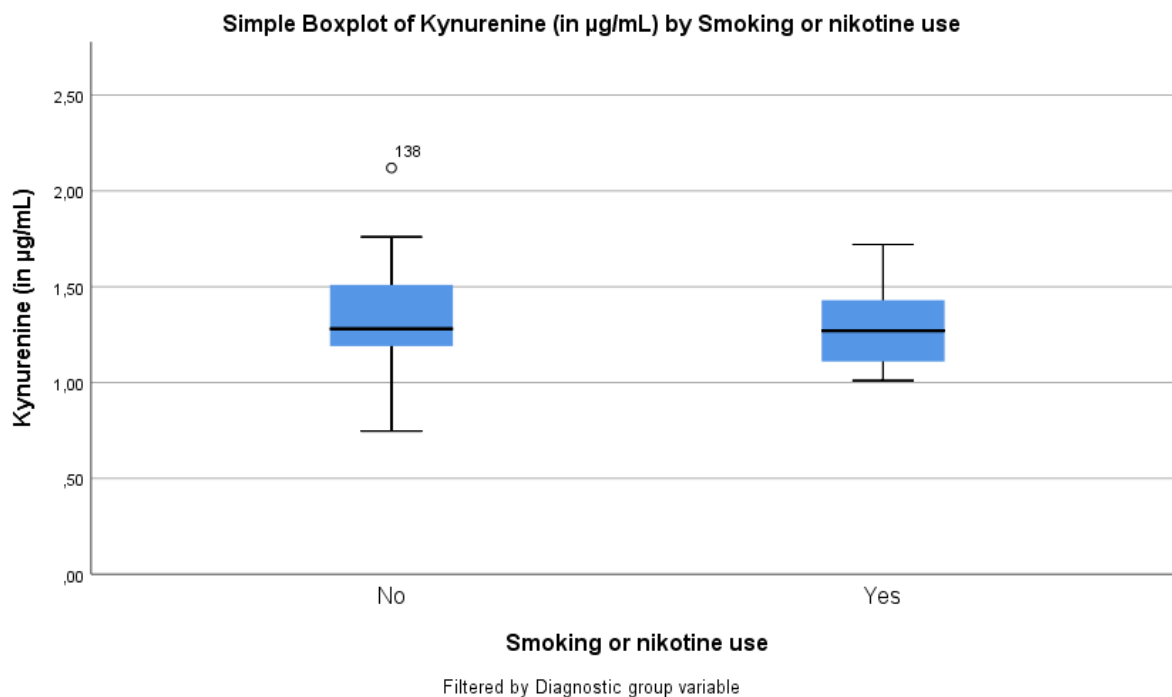


Figur 1. Kynureninkonsentrasjoner vist i forhold til alder hos kontrollgruppen og CFS/ME-gruppen som helhet

Det kan se ut som det er en liten økning i kynureninkonsentrasjon med økende alder, og vi har derfor tatt hensyn til dette ved å gjøre en regresjonstest.



Figur 2. Kontrollgruppen

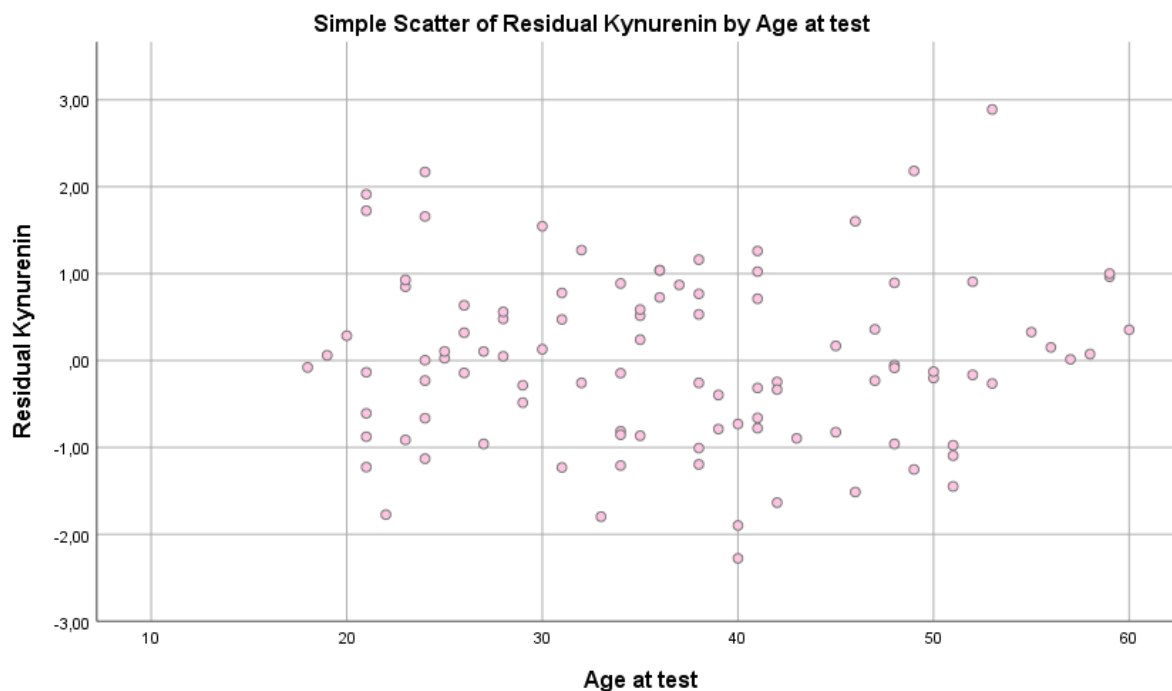


Figur 3. CFS/ME-gruppen

På disse box-plottene kan det se ut som om det er litt økte nivåer av kynurenin hos de som bruker nikotin i kontrollgruppen, figur 2, mens vi ser det motsatte hos CFS/ME-gruppen, figur 3. Vi har inkludert nikotin som en kofaktor, sammen med alder i regresjonsanalysene for å kontrollere for effekten disse faktorene kan ha på konsentrasjonen av kynurenin.

I regresjonsanalysen fant vi da at det var en statistisk signifikant effekt av alder på kynureninkonsentrasjonen ( $F_{3,97}=4,08$ ,  $P= .046$ ) mens det for nikotin ikke var det, ( $F_{3,97}= .613$ ,  $P= .435$ ) samt at gruppene, CFS/ME og kontrollgruppa ikke lenger hadde like stor effekt ( $F_{3,97}=2,918$ ,  $P=.091$ ).





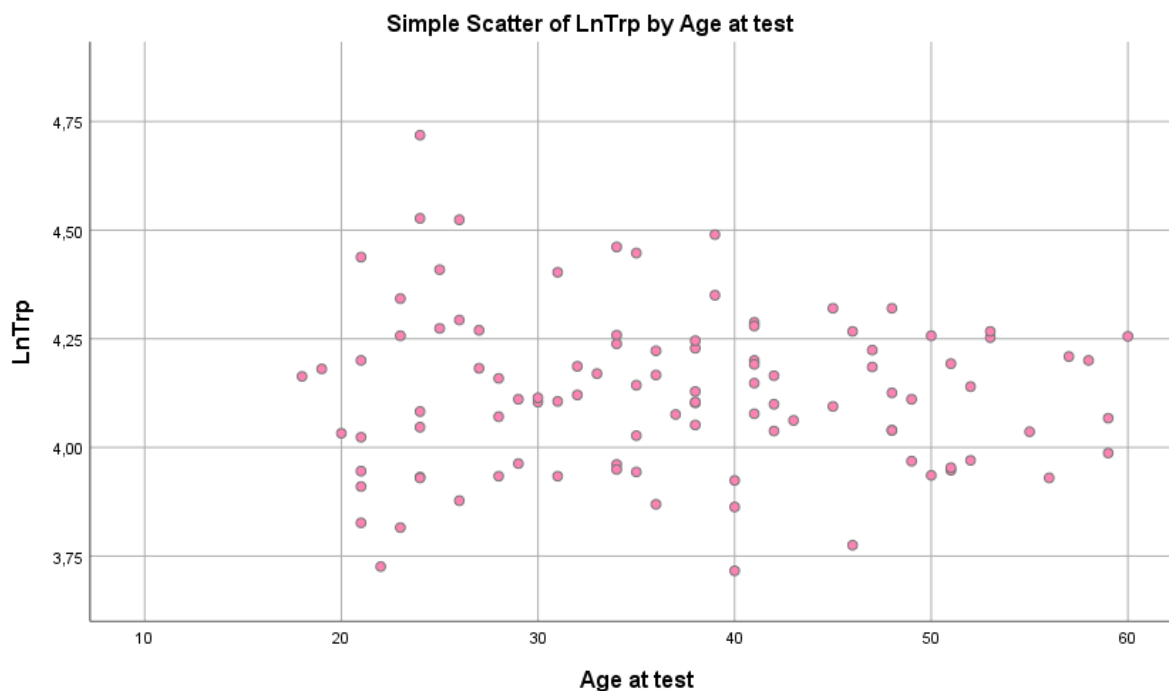
Figur 4. En U-form på Scatter plottet av residualene funnet ved regresjonstesten antyder en sammenheng mellom alder og kynurenin.

### Tryptofan

Verdiene for tryptofankonsentrasjonen i blodet hos kontrollgruppen var ifølge Shapiro-Wilk-test ikke normalfordelt,  $P= 0.001$ . Verdiene hos CFS/ME-gruppen var normalfordelt ifølge samme test,  $P= 0.245$ .

På Box-plottet ble det observert 4 uteliggere i kontrollgruppen, da vi ekskluderte disse og kjørte en ny Shapiro-Wilk test på denne gruppen var verdiene normalfordelt,  $P= 0.811$ .

En ln-transformasjon av dataene, uteliggere inkludert, ga normalfordelte data, og det ble gjort en T-test som viste statistisk signifikant forskjell på 0,88 (95% CI, -0.15 til -0.01),  $t(99)= -2,493$ ,  $P= 0.014$ , hvor kontrollgruppa hadde høyeste gjennomsnittlig verdi av ln-tryptofan sammenlignet med CFS/ME-gruppen.



Figur 5. Sammenhengen mellom alder ved testing og de transformerte tryptofanverdiene.

Som man ser på figur 5 ser det ikke ut til at alder påvirker nivåene av tryptofan.

Vi gjorde likevel en regresjonstest på de transformerte tryptofanverdiene og fant da ingen statistisk signifikant effekt av alder ( $F_{3,97}=1,326$ ,  $P=0.252$ ) eller av nikotin ( $F_{3,97}=0.105$ ,  $P=0.746$ ) på konsentrasjonen av tryptofan.

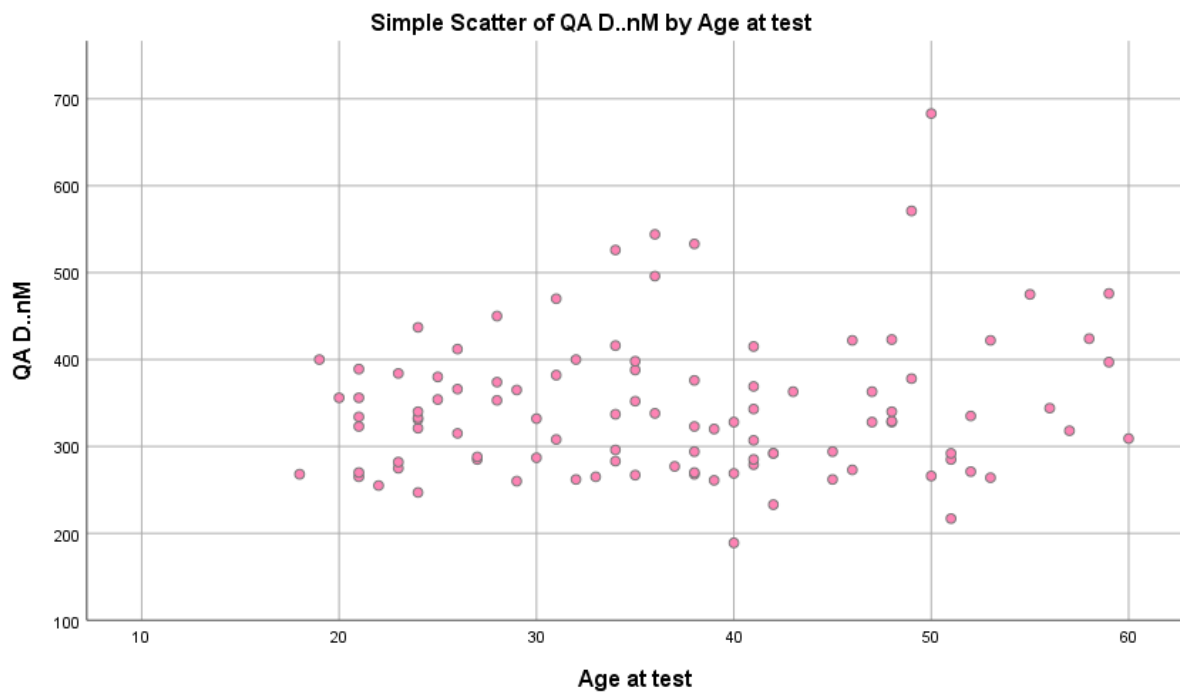
### Kvinolonsyre

Verdiene for kvinolonsyre hos CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen var ikke normalfordelt ifølge Shapiro-Wilk-test med henholdsvis  $P= 0.002$  for CFS/ME-gruppen og  $P= 0.000$  ( $P<0.05$ ) for kontrollgruppen. Ettersom det ble oppdaget noen uteliggere i begge gruppene ble disse ekskludert og det ble gjort en nye Shapiro-Wilk-test. Uten uteliggerne ble verdiene i CFS/ME-gruppen normalfordelt med  $P= 0.651$ , mens verdiene i kontrollgruppen fortsatt forble ikke normalfordelt med  $P= 0.006$ .

Ettersom vi har rundt 50 observasjoner i hver gruppe og T-testen er relativt robust for uteliggere valgte vi å kjøre en T-test på dataen med uteliggerne inkludert på tross av mangel på normalfordeling. T-testen viste en forskjell på 19,4 (CI 95%, -12,6 til 51,6),  $t(99)=1,203$ ,  $P= 0,232$ , der høyeste gjennomsnitt var hos CFS/ME-gruppen. Nullhypotesen for T-testen er at forskjellen mellom gjennomsnittene i de to gruppene er lik null, og med P-verdier  $> 0.05$

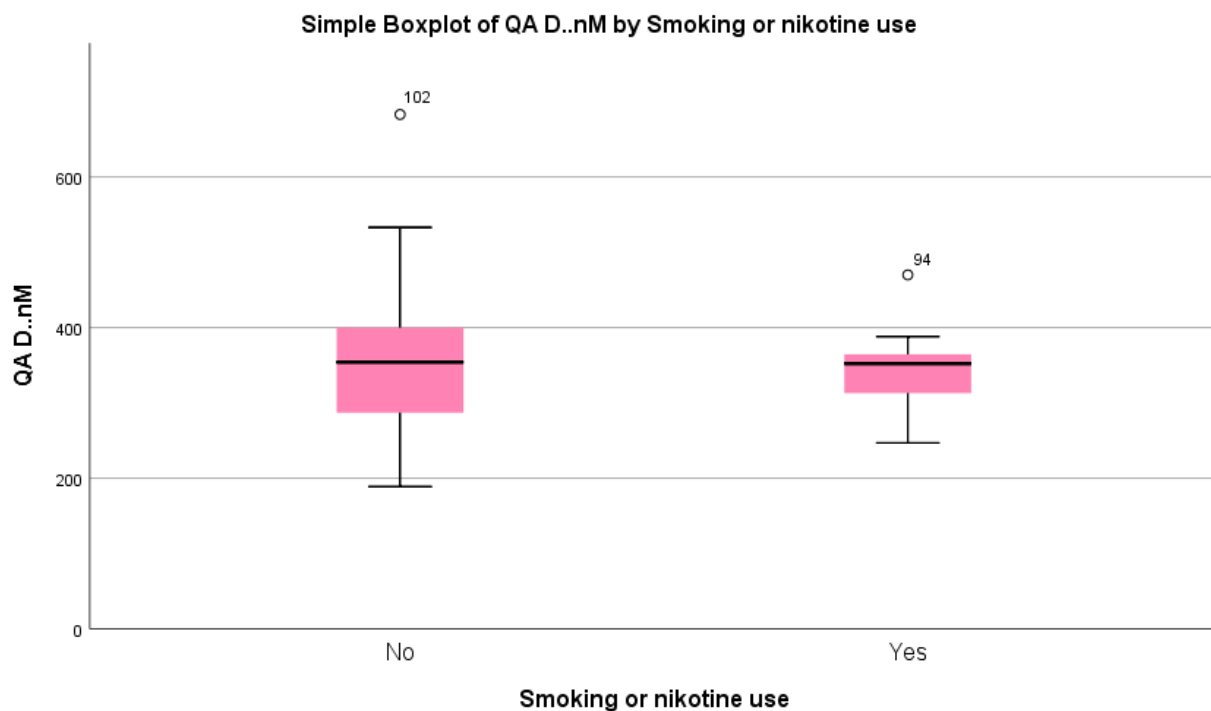
må vi forkaste den alternative hypotesen om at det er en forskjell mellom gjennomsnittene i de to gruppene.

Som for kynurenin og tryptofan undersøkte vi for kvinolonsyre om det er andre faktorer enn CFS/ME som påvirker konsentrasjonen i blodet.



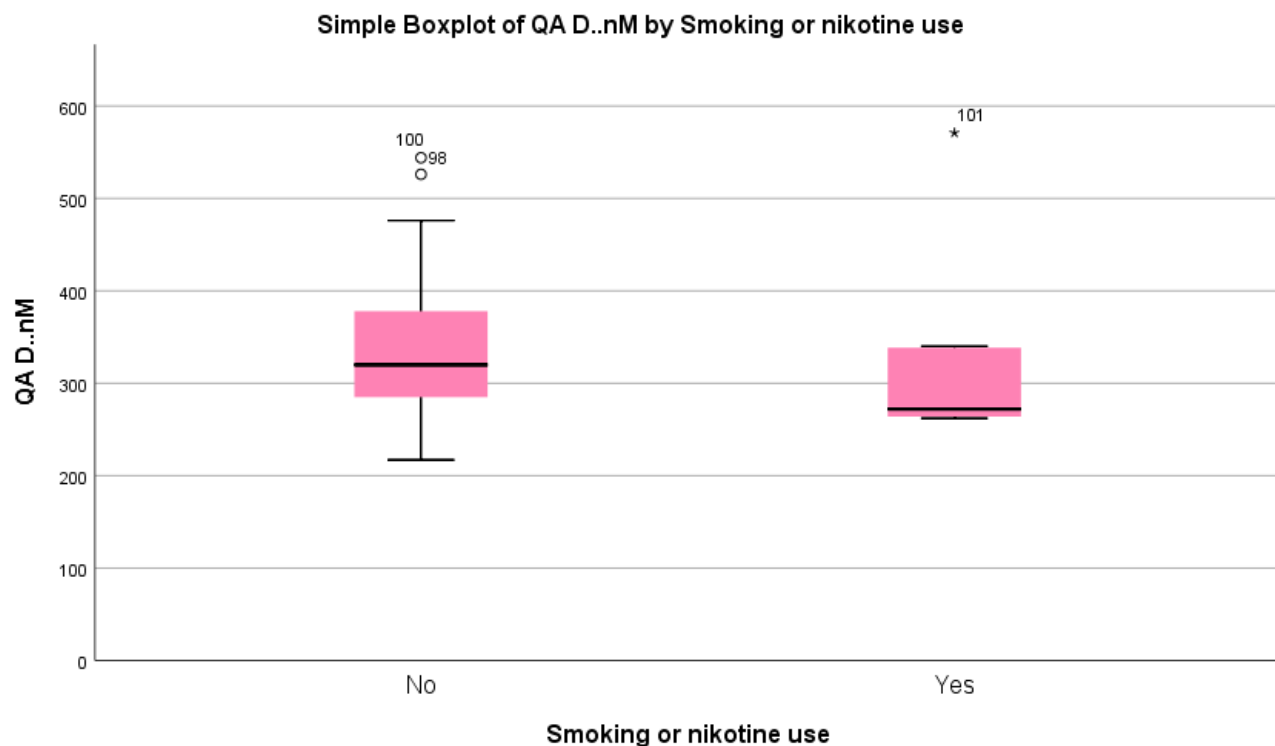
Figur 6.

Som vi ser på figur 6 er det tilsynelatende ingen markant økning eller nedgang i konsentrasjonen av kvinolonsyre med økende alder.



Figur 7. Sammenheng mellom nikotin og kvinolonsyre hos kontrollgruppen

Ifølge box plottet i figur 7 ser det ikke ut som om kontrollgruppen er påvirket av nikotin når det gjelder konsentrasjonen av kvinolonsyre.



Figur 8. Sammenhengen mellom nikotin og kvinolonsyre hos CFS/ME-gruppen

På figur 8 er det overlapp mellom konsentrasjonen av kvinolonsyre hos de som røyker og de som ikke røyker i CFS/ME-gruppen, mens gjennomsnittet for de som røyker ser ut til å være lavere enn de som ikke røyker.

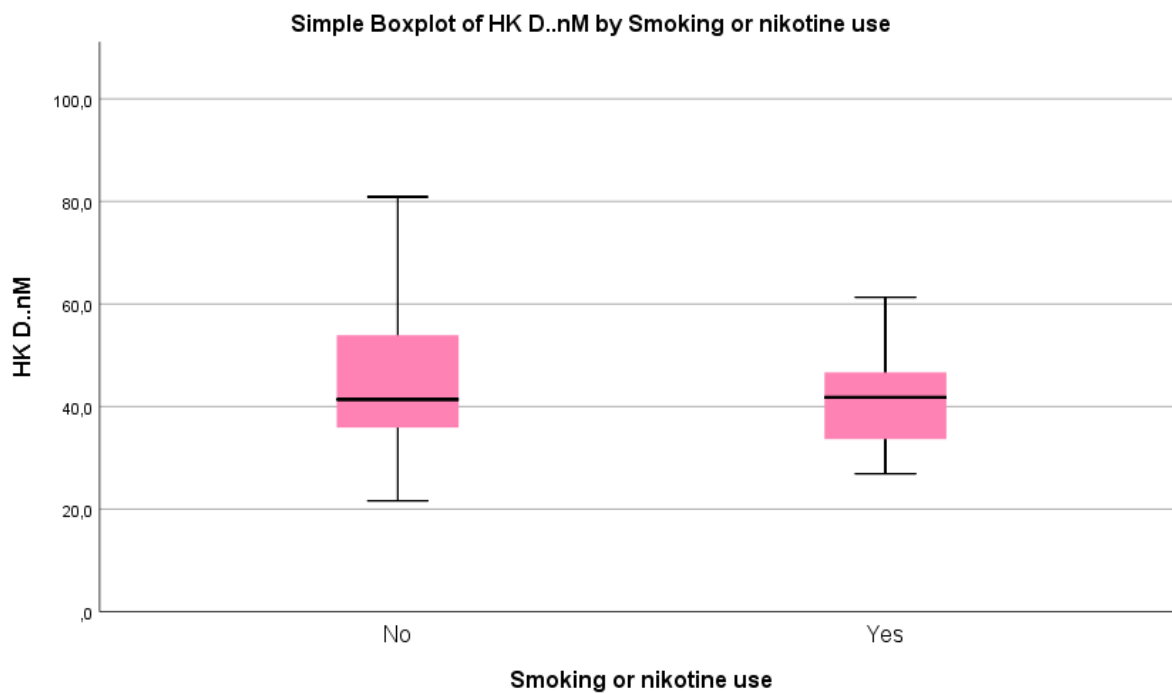
For å være sikre kjørte vi en regresjonsanalyse med alder og nikotin som kovariater. Vi fant da ingen statistisk signifikant sammenheng mellom kvinolonsyrekonsentrasjon og alder ( $F_{3,97} = 2,11$ ,  $P = .149$ ) eller nikotin ( $F_{3,97} = .690$ ,  $P = .408$ ).

### 3-OH-kynurenin

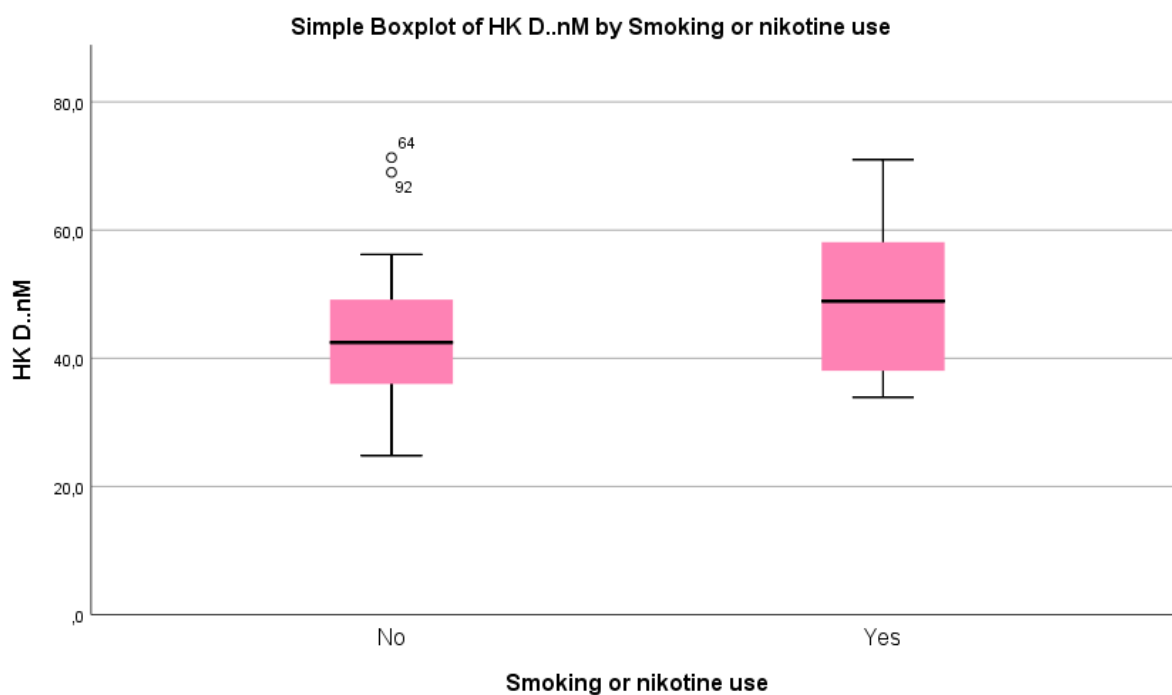
Nivåene av 3-OH-kynurenin i blodet hos CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen ble vurdert som normalfordelt med henholdsvis  $P = 0.140$  og  $P = 0.073$  i Shapiro-Wilk-test. Det ble funnet én uteligger i CFS/ME-gruppen som vi valgte å inkludere i T-testen.

Nullhypotesen vår for den uavhengige T-testen var at forskjellen i gjennomsnittskonsentrasjonen hos de to gruppen var lik 0. T-testen ga oss en forskjell i gjennomsnittene på 0.819 (CI 95%, -3,88 til 5,52),  $t(98) = 0,346$ ,  $P = 0,73$ , der CFS/ME-gruppen hadde høyest gjennomsnitt. Med en P-verdi  $> 0,05$  ser vi oss nødt til å forkaste den alternative hypotesen og godta at forskjellen på de to gruppene er lik null.

Med tanke på en eventuell påvirkning fra nikotin eller alder lagde vi ett box plot for CFS/ME-gruppen med konsentrasjonen av 3-OH-kynurenin på y-aksen og røyking/ikke-røyking på x-aksen, og ett box plot av samme type for kontrollgruppen for å se om det kunne være noen sammenheng.

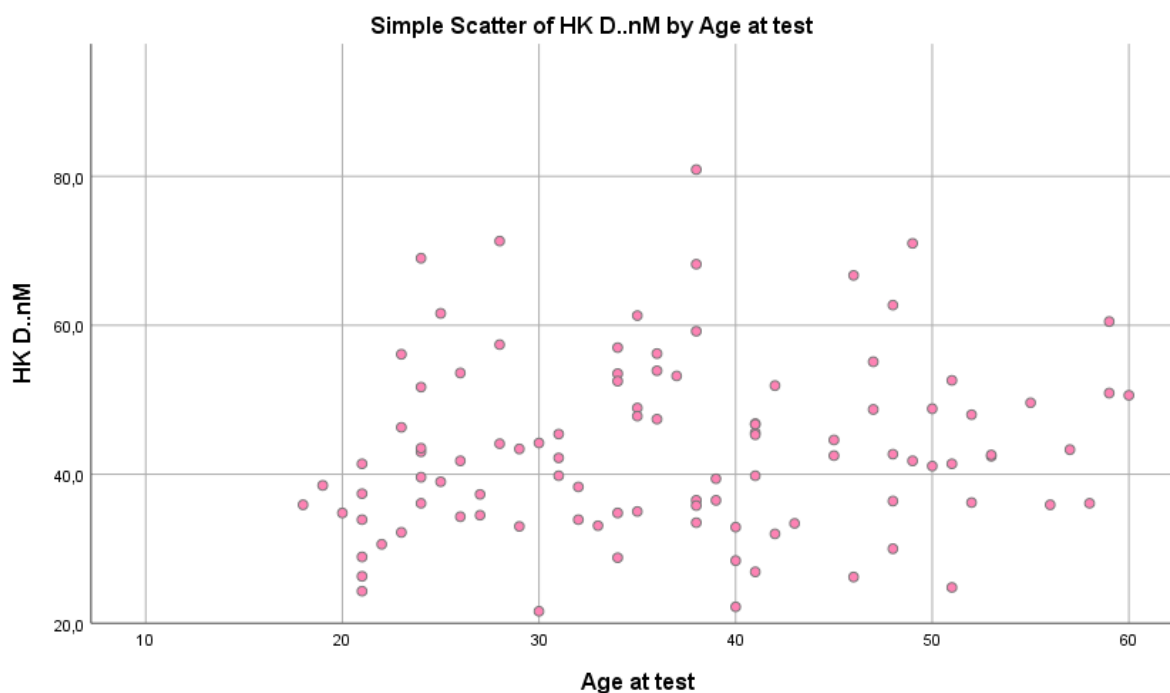


Figur 9. Box plot for kontrollene



Figur 10. Box Plot for CFS/ME-gruppen.

På figur 9 kan det se ut som konsentrasjonen av 3-OH-kynurenin er ganske lik hos røykere og ikke-røykere i kontrollgruppen. På figur 10 ser det derimot ut som om 3-OH-konsentrasjonen er høyere hos røykerne i CFS/ME-gruppen.



Figur 11. 3-OH-kynurenin i sammenheng med alder hos kontrollgruppen og CFS/ME-gruppen som helhet.

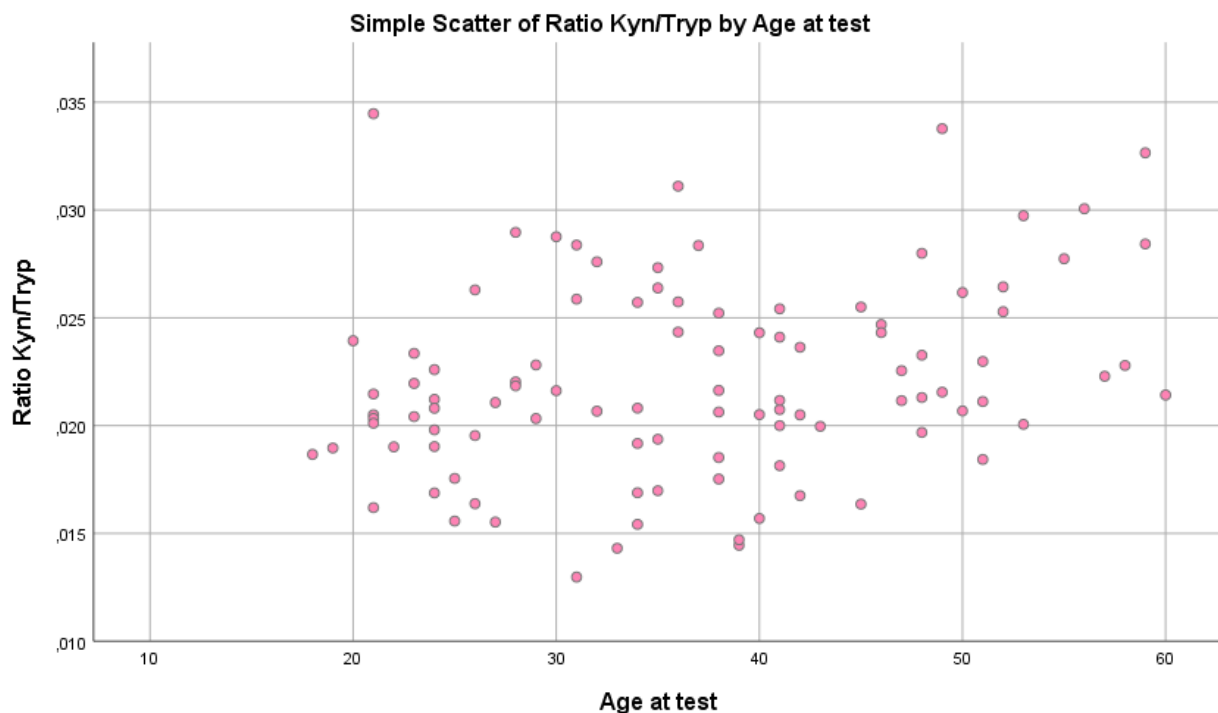
På figur 11 ser vi 3-OH-kynurenin på y-aksen og alder ved testing på x-aksen for CFS/ME-gruppen og kontrollgruppen som helhet. Her ser det ikke ut som om det er noen sammenheng. For å teste dette gjorde vi en regresjonsanalyse med alder og nikotin som kofaktorer.

For alder fant vi da ingen statistisk signifikant innvirkning på 3-OH-kynurenin-konsentrasjon ( $F_{3,96} = 1,788, P = .184$ ), og vi fant heller ingen statistisk signifikant innvirkning av nikotin på 3-OH-kynurenin-konsentrasjon ( $F_{3,96} = 3,376 P = .877$ ).

### Omdanningshastighet

Nivå av tryptofan og også den metabolitter i stor grad er utslag av ernæring. Ettersom flere kynureninsyremetabolitter er neuroaktive og/eller nevrotoksiske er absolutte nivåer av disse interessante. For å studere effekt av inflammasjon må vi imidlertid se på ratio mellom stoffene som et uttrykk for omdanningshastigheten og dermed inflammasjon. Ratioene mellom kynurenin og tryptofan var ifølge Shapiro-Wilk test normalfordelt med  $P = 0.191$  for CFS/ME og  $P = 0.635$  for kontrollgruppen. På Box-plottet fant vi tre uteliggere som vi valgte å inkludere i analysene. Vi kjørte en uavhengig T-test der vi fant at CFS/ME-gruppen hadde en ratio som var 0.00002 høyere enn kontrollgruppen (CI 95%, -0.00179 til 0.00174),  $t(99) = 0,025, P = 0,980$ . Funnet var ikke statistisk signifikant med  $P > 0.05$  og vi må derfor forkaste den alternative hypotesen og godta at det ikke er noen statistisk signifikant forskjell i ratioen kynurenin/tryptofan mellom CFS/ME- og kontroll-gruppen.

Som for de andre variablene kjørte vi en regresjonsanalyse der vi fant at alder har en signifikant effekt på ratioen ( $F_{3,97}=8.987$ ,  $P=0.003$ ), noe som også gjenspeiles i figur 12.



Figur 12. Sammenheng mellom alder og kynurenin/tryptofan-ratio.

Nikotin hadde derimot ingen signifikant effekt på ratioen ( $F_{3,97}=1.056$ ,  $P=0.307$ ).

## Diskusjon

Kynurenin og tryptofan var begge lavere hos CFS/ME enn kontroller. For 3-OH-kynurenin, kvinolonsyre og [Kyn/Tryp]-ratio fant vi ingen statistisk signifikant forskjell mellom CFS/ME og friske kontroller. Vi fant at alder hadde stor effekt på kynurenin og at gruppeeffekten dermed ble minimert.

For alle variablene der det var uteliggere ble det gjort tester både med og uten uteliggerne for å vurdere effekten av dem på resultatet. Hvis effekten var liten eller ikke-eksisterende ble uteliggerne inkludert i resultatet. For kvinolonsyre ble det i tillegg gjort en Mann-Whitney-U-test, ettersom dataene ikke var helt normalfordelt, som bekreftet det vi fant med T-testen.

Da kynurenin dannes fra tryptofan og vi er interessert i omdanningshastigheten (som et mål på inflammasjon) i tillegg til absolutt nivå av det potensielt nevrotoksiske kynurenin må vi også se på ratio mellom kynurenin og tryptofan (dvs. omdanningshastighet). Da vi så på dette fant vi ingen statistisk signifikant forskjell i ratioen kynurenin/tryptofan mellom CFS/ME- og



kontrollgruppen. Det er så langt vi vet ikke gjort noen studier på IDO-aktiviteten hos CFS/ME-pasienter, men det er gjort flere studier på IDO-aktiviteten hos pasienter med somatiske sykdommer som kreft, AIDS, hepatitt C og revmatologiske sykdommer. En studie gjort på SLE-pasienter hvor [Kyn]/[Tryp]-ratio ble brukt som et mål på IDO-aktivitet og sett på i sammenheng med fatigue og depresjon i SLE-pasientgruppen (18). I denne studien fant de en svak korrelasjon mellom økt [Kyn/Tryp]-ratio og fatigue, noe som tilser at vi kunne ha funnet en noe økt ratio hos våre CFS/ME-pasienter. Flere andre studier har funnet at en aktivering av IDO via IFN- $\alpha$  gir en økning i [Kyn/Tryp]-ratio (11, 12) og også en økning av «sickness behaviour» og depressive symptomer. Så hvorfor fant vi ingen forskjell i vår studie?

Her er det gjort én studie som kan kaste noe lys over dette. I denne studien kritiseres bruken av [Kyn/Tryp]-ratio som et mål på IDO-aktivitet i in vivo studier. Studien argumenterer med at det er flere faktorer som påvirker denne ratioen in vivo enn det er in vitro, og at man derfor ikke kan overføre metodene brukt i lukkede systemer in vitro til studier gjort in vivo. Man kan ifølge dem ikke se på [Kyn/Tryp]-ratio som en markør på IDO-aktivitet uten å ta hensyn til flere andre faktorer som TDO-aktivitet i lever, nyrefunksjon og aktiviteten til andre enzymer i kynureninveien, som KAT, KYNU og KMO (19). For å videre forstå våre resultater bør det derfor gjøres flere studier der man tar hensyn til disse faktorene. Andre forklaringer på at våre negative funn avviker fra andre positive kan være størrelse på materialet som kan gi en falsk negativ verdi hos oss. De andre studiene vi refererer her er også gjort på helt andre pasientpopulasjoner, andre har sett på fatigue og hos pasienter med helt andre, svært alvorlige lidelser med høy aktivering av immunsystemet, vi har sett på en pasientgruppe med relativt lite objektive funn. Det er behov for flere studier for å kartlegge dette.

Når det gjelder de andre funnene våre er det så langt vi har kjennskap til gjort veldig lite forskning på sammenhengen mellom tryptofanmetabolismen, kynurenin-veien og CFS/ME. Det er gjort en del studier på en rekke cytokiner i sammenheng med CFS/ME men så langt svært få på kynurenin (20). I én studie vi fant er det foreslått en matematisk modell som knytter historiske epidemier med CFS/ME til en mutasjon i genet for enzymet IDO som gir en forstyrrelse i tryptofanmetabolismen i fire forskjellige typer celler, inkludert antigenpresenterende celler, serotonin-produserende celler i tarm, melatoninproduserende celler i CNS og serotonerge nevroner (21). I denne studien er det foreslått at substratinhibering av IDO i celler som kan produsere kynurenin fra tryptofan gjør at CFS/ME-

pasienter får for lav kynureninproduksjon, og at de samme mekanismene kan påvirke andre metabolitter av tryptofan, som f.eks. serotonin og melatonin. Våre funn av høyere kynureninkonsentrasjon hos kontrollgruppen enn hos CFS/ME-gruppen kan støtte opp under denne hypotesen hvis man tenker seg at en genetisk mutasjon som forstyrrer tryptofanmetabolismen generelt fører til at pasientene ikke bare får lav kynurenin, men også lavere serotonin og melatonin. Man kan se for seg at istedenfor at tryptofanmetabolismen skyves mot kynurenin, så bremses metabolismen generelt og fører til lave nivåer av alle substrater, inkludert kynurenin og serotonin.

Selv om det ikke er gjort spesielt mye forskning på CFS/ME med tanke på kynureninveien og tryptofanmetabolismen er det gjort en hel del forskning på kynurenin og dets metabolitter i sammenheng med schizofreni, depresjon og stress. Det er for eksempel foreslått at proinflammatoriske cytokiner induserer IDO under stress og at dette fører til at tryptofan man har i cellene omdannes til kynurenin istedenfor serotonin, noe som støtter opp under den patofysiologiske monoaminhypotesen for depresjon (22). Våre funn av lavere kynureninkonsentrasjon hos CFS/ME-pasienter enn hos friske kontroller står i motsetning til denne hypotesen, men det kan skyldes at CFS/ME og depresjon er to forskjellige diagnoser som sannsynligvis har forskjellig patofysiologi på tross av en del felles symptomer.

I samme artikkel (22) nevnes det også at noen metabolitter fra kynureninveien kan være nevrotoksiske. De to metabolittene som nevnes er 3-OH-kynurenin og kvinolonsyre, som vi har målt hos våre deltakere. Når det gjelder depresjon er det vist at pasienter med alvorlig depresjon får atrofi av hippocampale områder i hjernen, noe som de foreslår er grunnet i en ubalanse mellom de nevrotoksiske metabolittene 3-OH-kynurenin og kvinolonsyre, og den neuroprotektive metabolitten kynureninsyre. For CFS/ME-pasienter er det ikke påvist noen slik atrofi, så langt vi kjenner til, men det er derimot påvist nevroinflammasjon ved hjelp av PET-scan av pasienter med CFS/ME (23). Hvis man ser for seg at kvinolonsyre og 3-OH-kynurenin påvirker denne nevroinflammasjonen skulle man tro at CFS/ME-pasienter hadde høyere konsentrasjon av disse metabolittene enn kontrollene. Dette ble ikke støttet i vår studie, der det ikke var noen statistisk signifikant forskjell.

Det er ikke gjort noe forskning spesifikt på effekten av 3-OH-kynurenin og kvinolonsyre på CFS/ME-pasienter som vi vet, og det er derfor vanskelig å si om deres rolle i patofysiologien. En årsak til at vi ikke fant forhøyede nivåer hos CFS/ME-gruppen vår kan være at vi har tatt prøver fra perifert blod, ikke fra cerebrospinalvæske, og at det er teoretisk mulig at nivåene av disse metabolittene og andre relevante stoffer er høyere hos pasienter med CFS/ME enn hos

kontroller, men kun i cerebrospinalvæsken. En artikkel som taler imot dette (13) skriver at toksisiteten til en del inflammatoriske stoffer er grunnet deres evne til å krysse og tære på blod-hjerne-barrieren. I tillegg vet vi at den inflammatoriske prosessen påvirker permeabiliteten til blodkar, så man ville kunne tenke seg at med en neuroinflammatorisk prosess og en opphopning av nevrotoksiske metabolitter ville vise seg også i perifert blod på tross av hjernens unike immunologiske situasjon og blod-hjerne-barrieren. Det er derimot eksempler på studier som er gjort på pasienter med schizofreni og depresjon der man har funnet forhøyede nivåer av proinflammatoriske cytokiner (24) og kynurenin (25) i cerebrospinalvæsken, og det er derfor en mulighet for at man kan finne det samme i cerebrospinalvæsken hos CFS/ME-pasienter selv om man ikke har funnet det i perifert blod.

Når det gjelder tryptofan er det gjort en god del forskning på sammenhengen mellom tryptofan, depresjon, IDO, schizofreni og kynurenin (11, 12, 15, 16, 22, 24). Én studie har sett på pasienter med alvorlig depresjon og målt deres plasmanivåer av tryptofan og flere av metabolittene, inkludert kynurenin og serotonin. De fant i denne studien ingen forskjell i tryptofanverdier hos pasienter med alvorlig depresjon og friske kontroller (26). De fant derimot at konsentrasjonen av en del av metabolittene, inkludert serotonin og kynureninsyre, var lavere hos pasientene med alvorlig depresjon enn hos kontrollene. I vår studie har vi funnet det motsatte, lavere tryptofanverdier hos pasientene med CFS/ME og ingen forskjell når det gjelder metabolittene til tryptofan, med unntak av kynurenin.

Det er et behov for videre forskning på sammenhengen mellom CFS/ME, tryptofan, inflammasjon og kynurenin ettersom det er gjort svært lite forskning på denne pasientgruppen med tanke på spesifikke inflammatoriske prosesser. Det kan være en idé å se på nivåene av de forskjellige metabolittene til tryptofan i cerebrospinalvæske hos CFS/ME-pasienter og sammenligne med prøver fra perifert blod. I tillegg bør man kartlegge enda flere av metabolittene og ratio mellom sentrale metabolitter og se på forholdet mellom de antatte nevrotoksiske metabolittene, 3-OH-kynurenin og kvinolonsyre, og den nevroprotektive kynureninsyren. Ettersom mange CFS/ME-pasienter rapporterer en triggende hendelse i form av enten sykdom eller stressende livssituasjoner (5) bør man fortsette å se på sammenhengen mellom immunologisk aktivering og symptomdebut med håp om å finne en årsakssammenheng og evt. behandling.

#### [Styrker og svakheter ved vår studie](#)

Alle deltakerne i vår studie er hentet fra en homogen gruppe der alle har samme kjønn, alle er hentet fra Trondheim og omegn, ingen har immunologiske sykdommer eller står på

immunmodulerende medikamenter og vi har ekskludert pasienter med komorbide tilstander. En svakhet ved vår studie er at vi har relativt få pasienter, 49 i CFS/ME og 53 i kontrollgruppen. I tillegg har vi bare tatt ett sett med blodprøver og kan derfor ikke si noe om utvikling over tid. Vi har heller ikke sett på sammenhengen mellom funnene våre og symptomtrykket til pasientene eller utviklingen av sykdommen da vi ikke har skilt mellom mild og alvorlig CFS/ME og heller ikke fulgt pasientene opp over tid.

## Konklusjon

I denne studien har vi undersøkt sammenhengen mellom inflammatorisk aktivering av IDO-enzymet og CFS/ME-diagnosen. Det er gjort svært få studier innenfor dette feltet på denne pasientgruppen, og det trengs helt klart flere studier for å kunne si noe om kausalitet og sikker sammenheng. Vi fant lavere konsentrasjon av kynurenin og tryptofan hos CFS/ME-gruppen enn hos kontrollene og ingen signifikant forskjell for 3-OH-kynurenin, kvinolonsyre og ratioen mellom kynurenin og tryptofan. Det trengs flere, større studier på dette som kanskje vil kunne forklare våre funn og fortsette søket etter kausalitet og evt. kurativ behandling for CFS/ME.

## Kilder

1. Ventriglio A, Bhugra D. Descartes' dogma and damage to Western psychiatry. *Epidemiology and psychiatric sciences*. 2015;24(5):368-70.
2. Goldsmith DR, Rapaport MH, Miller BJ. A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol Psychiatry*. 2016;21(12):1696-709.
3. Avdeling rehabilitering og sjeldne tilstander. Nasjonal veileder Pasienter med CFS/ME: Utredning, diagnostikk, behandling, rehabilitering, pleie og omsorg [Pamphlet]. HelseDirektoratet; 2014 [updated 2015. Available from: [https://www.helsedirektoratet.no/veiledere/pasienter-med-cfsme-utredning-diagnostikk-behandling-rehabilitering-pleie-og-omsorg/CFS-ME%20-%20Nasjonal%20veileder%20for%20utredning,%20diagnostikk,%20behandling,%20pleie%20og%20omsorg.pdf/\\_/attachment/inline/63b695db-59b0-48e9-9da5-f49a4de282ba:35fd11d1509dd099b5bf142021e5813d10070553/CFS-ME%20-%20Nasjonal%20veileder%20for%20utredning,%20diagnostikk,%20behandling,%20pleie%20og%20omsorg.pdf](https://www.helsedirektoratet.no/veiledere/pasienter-med-cfsme-utredning-diagnostikk-behandling-rehabilitering-pleie-og-omsorg/CFS-ME%20-%20Nasjonal%20veileder%20for%20utredning,%20diagnostikk,%20behandling,%20pleie%20og%20omsorg.pdf/_/attachment/inline/63b695db-59b0-48e9-9da5-f49a4de282ba:35fd11d1509dd099b5bf142021e5813d10070553/CFS-ME%20-%20Nasjonal%20veileder%20for%20utredning,%20diagnostikk,%20behandling,%20pleie%20og%20omsorg.pdf)
4. Slomko J, Newton JL, Kujawski S, Tafil-Klawe M, Klawe J, Staines D, et al. Prevalence and characteristics of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis (CFS/ME) in Poland: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2019;9(3):e023955.
5. Chu L, Valencia IJ, Garvert DW, Montoya JG. Onset Patterns and Course of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *Front Pediatr*. 2019;7:12.
6. Pendergrast T, Brown A, Sunnquist M, Jantke R, Newton JL, Strand EB, et al. Housebound versus nonhousebound patients with myalgic encephalomyelitis and chronic fatigue syndrome. *Chronic Illn*. 2016;12(4):292-307.

7. Taylor RR, Jason LA. Chronic fatigue, abuse-related traumatization, and psychiatric disorders in a community-based sample. *Soc Sci Med*. 2002;55(2):247-56.
8. Dansie EJ, Heppner P, Furberg H, Goldberg J, Buchwald D, Afari N. The comorbidity of self-reported chronic fatigue syndrome, post-traumatic stress disorder, and traumatic symptoms. *Psychosomatics*. 2012;53(3):250-7.
9. Heim C, Wagner D, Maloney E, Papanicolaou DA, Solomon L, Jones JF, et al. Early adverse experience and risk for chronic fatigue syndrome: results from a population-based study. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63(11):1258-66.
10. Mueller C, Lin JC, Sheriff S, Maudsley AA, Younger JW. Evidence of widespread metabolite abnormalities in Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: assessment with whole-brain magnetic resonance spectroscopy. *Brain Imaging Behav*. 2019.
11. Wichers MC, Koek GH, Robaey G, Verkerk R, Scharpe S, Maes M. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol Psychiatry*. 2005;10(6):538-44.
12. Wichers MC, Maes M. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression. *J Psychiatry Neurosci*. 2004;29(1):11-7.
13. Yarlagadda A, Hampe CS, Clayton AH. The blood brain barrier and the role of ratiometric molecular analysis in schizophrenia. *Psychiatry (Edmont (Pa : Township))*. 2010;7(12):20-3.
14. Pacheco R, Gallart T, Lluís C, Franco R. Role of glutamate on T-cell mediated immunity. *J Neuroimmunol*. 2007;185(1-2):9-19.
15. Reale M, Patruno A, De Lutiis MA, Pesce M, Felaco M, Di Giannantonio M, et al. Dysregulation of chemo-cytokine production in schizophrenic patients versus healthy controls. *BMC Neurosci*. 2011;12:13.
16. Plitman E, Iwata Y, Caravaggio F, Nakajima S, Chung JK, Gerretsen P, et al. Kynurenic Acid in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2017;43(4):764-77.
17. Groven N, Fors EA, Reitan SK. Patients with Fibromyalgia and Chronic Fatigue Syndrome show increased hsCRP compared to healthy controls. *Brain Behav Immun*. 2019;81:172-7.
18. Akesson K, Pettersson S, Stahl S, Surowiec I, Hedenstrom M, Eketjall S, et al. Kynurenine pathway is altered in patients with SLE and associated with severe fatigue. *Lupus Sci Med*. 2018;5(1):e000254.
19. Badawy AA, Guillemin G. The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *Int J Tryptophan Res*. 2019;12:1178646919868978.
20. Fletcher MA, Zeng XR, Barnes Z, Levis S, Klimas NG. Plasma cytokines in women with chronic fatigue syndrome. *J Transl Med*. 2009;7:96.
21. Kashi AA, Davis RW, Phair RD. The IDO Metabolic Trap Hypothesis for the Etiology of ME/CFS. *Diagnostics (Basel)*. 2019;9(3).
22. Miura H, Ozaki N, Sawada M, Isobe K, Ohta T, Nagatsu T. A link between stress and depression: shifts in the balance between the kynurenine and serotonin pathways of tryptophan metabolism and the etiology and pathophysiology of depression. *Stress*. 2008;11(3):198-209.
23. Nakatomi Y, Mizuno K, Ishii A, Wada Y, Tanaka M, Tazawa S, et al. Neuroinflammation in Patients with Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis: An (1)(1)C-(R)-PK11195 PET Study. *J Nucl Med*. 2014;55(6):945-50.
24. Lindqvist D, Janelidze S, Hagell P, Erhardt S, Samuelsson M, Minthon L, et al. Interleukin-6 is elevated in the cerebrospinal fluid of suicide attempters and related to symptom severity. *Biol Psychiatry*. 2009;66(3):287-92.
25. Erhardt S, Blennow K, Nordin C, Skogh E, Lindstrom LH, Engberg G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2001;313(1-2):96-8.
26. Colle R, Masson P, Verstuyft C, Feve B, Werner E, Boursier-Neyret C, et al. Peripheral tryptophan, serotonin, kynurenine and their metabolites in major depression: a case-control study. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019.

