

RUG

Ψ  $\bar{E}$   $t'$  & N<sub>2</sub>  
\$ © ℋ △ % Σ  
ω ⊥ № [k] ë ∠ §

ME/CVS,

een transportprobleem?



Janet Hoven  
Hanneke Kruidhof  
Evelyn Schaafsma

De Wetenschapswinkel Geneesmiddelen verricht onderzoek voor maatschappelijke organisaties zoals bijvoorbeeld patiëntenverenigingen, vrouwengroepen en ouderenorganisaties.  
Doel hiervan is wetenschappelijke kennis toegankelijk te maken voor een breed publiek.  
De wetenschapswinkel is een onderdeel van het Universitair Centrum voor Farmacie te Groningen.

## Colofon

Een uitgave van: Wetenschapswinkel Geneesmiddelen  
Ant. Deusinglaan 1  
9713 AV GRONINGEN  
tel: 050-363 33 32  
fax: 050-363 27 72  
e-mail: [wewi@farm.rug.nl](mailto:wewi@farm.rug.nl)  
website: [www.farm.rug.nl/wewi](http://www.farm.rug.nl/wewi)

Auteurs: Janet Hoven  
Hanneke Kruidhof  
Evelyn Schaafsma

In opdracht van: ME lotgenotengroep Kennemerland

Prijs: €2,50 inclusief verzendkosten

Bestellen: Schriftelijk onder vermelding van naam, adres en postcode

Met dank aan: Dr. R.C.W. Vermeulen, arts  
Dr. J.G. Maring, ziekenhuisapotheker

## Inhoudsopgave

Inleiding	1
Wat is ME/CVS?	2
Carnitine	4
Onderzoeken	5
1. Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases.	5
2. Serum levels of Carnitine in Chronic Fatigue Syndrome: Clinical Correlates.	6
3. Normal carnitine levels in patients with chronic fatigue syndrome.	8
4. Amantadine and l-carnitine treatment of chronic fatigue syndrome.	9
Discussie	11
Conclusie	13
Referenties	14

## Inleiding

Acetylcarnitine is een lichaamseigen stof die betrokken is bij de energiehuishouding van de cel. Daarom zou deze stof potentieel interessant zijn voor mensen die lijden aan het chronische vermoeidheidssyndroom. Momenteel wordt in het CVS Research Center in Amsterdam (voor)onderzoek gedaan naar de werking van onder meer acetylcarnitine bij ME/CVS patiënten. Mee naar aanleiding van dit onderzoek heeft de ME lotgenotengroep Kennemerland de vraag gesteld wat de achtergrond van acetylcarnitine is en wat dit voor ME/CVS zou kunnen betekenen. In dit rapport wordt allereerst beschreven wat ME/CVS is. Vervolgens wordt de rol van acylcarnitine<sup>☆</sup> en carnitine in het lichaam besproken. Daarna volgt een drietal onderzoeken naar eventuele carnitine en acylcarnitine tekorten bij mensen met ME/CVS. Als laatste wordt een onderzoek besproken naar de toepassing van carnitine bij ME/CVS patiënten. Bij de bespreking van de onderzoeken worden de resultaten, gevonden bij vrouwelijke patiënten- en -controlegroepen eruit gelicht omdat voornamelijk vrouwen lijden aan dit syndroom. Op basis van de beschreven onderzoeken zal worden bekeken of het toedienen van acetylcarnitine bij ME/CVS zin heeft.

---

<sup>☆</sup> Acylcarnitine is de groepsnaam van alle vetzuren die aan carnitine gekoppeld kunnen zijn; acetylcarnitine is daar één van.

## Wat is ME/CVS?

Myalgische Encephalomyelitis (ME), ook wel het Chronisch Vermoeidheid Syndroom (ME/CVS) genoemd, is een syndroom waarvan de oorzaak nog onduidelijk is. Het syndroom is in 1992 als ziekte erkend door de WHO en opgenomen in de internationale ziekteclassificatie.<sup>1</sup> Onderzoek van het ME fonds in samenwerking met de Katholieke Universiteit Nijmegen heeft aangetoond dat in Nederland ongeveer 27.000 mensen aan ME/CVS lijden. Dat is bijna 1 op de 500.<sup>2</sup>

De ziekte uit zich in de eerste plaats in een allesoverheersende geestelijke en lichamelijke moeheid. Naast griepachtige verschijnselen zoals koorts en spierpijnen treden er ook neurologische klachten op zoals hoofdpijn, concentratie- en slaapproblemen. Diagnose van het syndroom kan alleen geschieden als alle andere medische en psychische oorzaken van chronisch vermoeidheidsziekten zijn uitgesloten. Op dit moment zijn er nog geen diagnostische testen beschikbaar, noch is er een definitieve behandeling bekend. De diagnose wordt gesteld op basis van criteria.

Het meest gebruikt worden de criteria van de CDC (Center of Disease Control) van 1994. De CDC hanteert 2 hoofdcriteria en 8 nevcriteria. Om de diagnose te kunnen stellen moet aan beide hoofdcriteria en tenminste 4 nevcriteria voldaan worden.<sup>6</sup>

### Hoofdcriteria:

- Vermoeidheid die langer dan 6 maanden maar niet het leven lang bestaat, niet het gevolg is van aanhoudende inspanning, niet in belangrijke mate wordt verlicht door rust en resulteert in een belangrijke vermindering van het niveau van beroeps-, studie-, sociale en persoonlijke activiteiten;
- Andere oorzaken voor de chronische vermoeidheid moeten zijn uitgesloten.

### Nevencriteria:

- Vermindering van het korte termijn geheugen en /of de concentratie in dusdanige mate, dat deze leidt tot een belangrijke vermindering van het niveau van beroeps-, studie-, sociale en persoonlijke activiteiten;
- Koorts;
- Keelpijn;
- Pijnlijke lymfeklieren in de hals of oksel;
- Spierpijn;
- Gewrichtspijn in meerder gewrichten zonder roodheid of zwelling;
- Hoofdpijn van een nieuw type, patroon of ernst;
- Niet verkwikkende slaap;
- Malaisegevoel na inspanning, dat meer dan 24 uur aanhoudt.

Elk van de genoemde klachten moet tenminste 6 achtereenvolgende maanden van de ziekte aanwezig zijn geweest (continu of in perioden).

Omdat de oorzaak van dit syndroom nog steeds niet opgehelderd is, zijn verschillende onderzoekers bezig met het achterhalen hiervan. Mede daarom is er nog geen diagnostische test beschikbaar of een definitieve behandeling voor ME/CVS.<sup>3,4,5,6</sup> Vermoed wordt dat ME/CVS mogelijk meerdere oorzaken heeft en dat er daarom wellicht een onderverdeling gemaakt moet worden in subgroepen.

Enkele veronderstellingen als mogelijke oorzaak voor ME/CVS worden hieronder toegelicht.

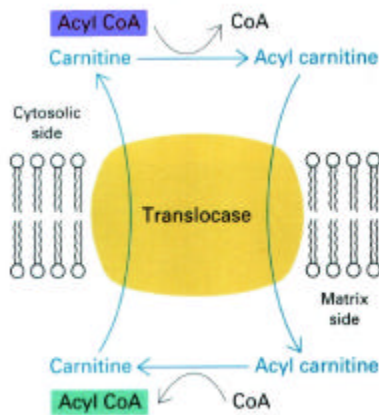
1. **ME/CVS is mogelijk een immuunziekte.** Deze veronderstelling is gebaseerd op de in eerste instantie gerapporteerde griepachtige verschijnselen. Het immuunsysteem lijkt in eerste instantie normaal op het binnendringen van een bacterie of virus te reageren. De afweerreactie wordt echter niet gestopt na het vernietigen van deze indringer, het lichaam vecht dus tegen een tegenstander die er niet (meer) is. De patiënt is constant veel energie kwijt is aan deze immuunreactie en als gevolg daarvan moe. Daarnaast keren de stoffen die onder invloed van de doorgaande immuunreactie gevormd worden zich tegen het eigen lichaam.<sup>3, 4</sup>
2. **ME/CVS ontstaat mogelijk in een periode van chronische stress.** Dit komt bijvoorbeeld door overbelasting op het werk, studie of sociale leven, of door psychische trauma's, zoals relatieproblemen of het verlies van een dierbare. Bij chronische stress wordt er een groot beroep gedaan op de bijnier. De bijnier raakt door de aanmaak van grote hoeveelheden cortisol en adrenaline uitgeput. Verder heeft stress invloed op de weerbaarheid van de mens. Het immuunsysteem gaat minder goed werken waardoor de mens gevoeliger wordt voor infecties. Deze immuunzwakte neemt verder toe door slaapstoornissen, die vaak gepaard gaan met stress. <sup>7</sup>
3. **ME/CVS wordt mogelijk veroorzaakt door een afwijking in de energiefabrieken van de cel, de zogenaamde mitochondriën.** Omdat ME/CVS geassocieerd wordt met een gebrek aan energie wordt ME/CVS ook wel in verband gebracht met een slecht functioneren van de mitochondriën.<sup>5</sup> Het mitochondrion is een onderdeel van de lichaamscel en verantwoordelijk voor de energieproductie voor deze cel.<sup>17</sup> De mitochondriën maken uit brandstoffen (glucose en vetzuren) een energievorm die het lichaam kan gebruiken, namelijk ATP (Adenosine Trifosfaat). Het proces lijkt wel wat op het maken van elektriciteit in een energiecentrale.

Zowel uit glucose als uit vetzuren, afkomstig uit het voedsel, kan ATP worden gevormd. *Vetzuren* worden daartoe in het mitochondrion eerst omgezet in acyl Co-enzym A, waarna vervolgens ATP gevormd kan worden.<sup>9</sup> Voordat deze omzetting in het mitochondrion plaats kan vinden moet het vetzuur eerst het mitochondrion binnen komen. Het vetzuur kan dit niet op eigen kracht maar wordt over de membraan getransporteerd. Hierbij speelt carnitine een belangrijke rol. In de volgende hoofdstukken zal deze functie van carnitine nader worden bekeken.

## Carnitine

Carnitine (l-carnitine) is een stof die door het lichaam zelf gemaakt wordt uit de aminozuren lysine en methionine. Dit vindt voornamelijk plaats in de nieren, de lever en de hersenen.<sup>10</sup>

Carnitine is onmisbaar bij het transport van vetzuren het mitochondrion in. Dit transportsysteem (het zogenaamde translocase) werkt als volgt: de vetzuurketens worden eerst omgezet tot hun actieve acylvorm. In deze geactiveerde staat worden de vetzuurketens herkend door carnitine, waarna deze een binding met de vetzuurketens aangaat. Het hierdoor gevormde acylcarnitine wordt herkend als zijnde de sleutel die past op het slot van het transportenzym acyltransferase I, die gebonden is aan het membraan van het mitochondrion. De acylcarnitine wordt vervolgens door het membraan heen geloodst door een tweede enzym, carnitine acyltransferase II. Eenmaal in het mitochondrion wordt het carnitine weer losgekoppeld van het vetzuur (met behulp van Coenzym A) en teruggetransporteerd naar buiten. Het resterende acyl Co-enzym A kan nu verder in het mitochondrion worden verwerkt, waar het dan omgezet wordt tot energie (zie figuur 1).<sup>8,10,11</sup>



**Figuur 1: Carnitine en vetzuurtransport over het mitochondriale membraan<sup>8</sup>.**

*Het binnenkomen van acyl carnitine in het mitochondrion vindt plaats door middel van een transportsysteem (translocase). Terwijl acyl carnitine naar binnen gaat wordt carnitine tegelijkertijd weer naar buiten getransporteerd.*

In een aantal gevallen werkt dit proces niet goed door een carnitinedeficiëntie. Deze carnitine tekorten zijn onder te verdelen in twee soorten<sup>10, 14</sup>:

- Primair (direct) carnitine tekort: dit kan een algemeen carnitine tekort zijn, dus in het hele lichaam of een plaatselijk tekort, alleen in de spieren. Een algemeen tekort ontstaat als gevolg van transportproblemen, waardoor carnitine onvoldoende uit het voedsel wordt opgenomen of onvoldoende in de nieren wordt geresorbeerd en dus teveel uitgescheiden. Een plaatselijk tekort treedt op in de skelet- en (soms) hartspieren, en is mogelijk het gevolg van een genetisch defect in het transportsysteem in deze spieren.
- Secundaire (indirect) carnitine tekorten ontstaan als gevolg van een andere aandoening zoals stoornissen in de vetzuurstofwisseling, levercirrose of chronisch nierfalen. Ook het gebruik van bepaalde geneesmiddelen kan een carnitinetekort veroorzaken.

Gevolgen van carnitinedeficiëntie zijn onder andere afwijkingen aan de hartspier (cardiomyopathie) en aandoeningen aan de hersenen (encefalopathie). Een behandeling met carnitine is bij een primair carnitine tekort effectief.<sup>10,14</sup>

## Onderzoeken

Naar (acyl)carnitine bij ME/CVS is een aantal onderzoeken gedaan waarvan hieronder een viertal wordt besproken. In de eerste drie onderzoeken is gekeken naar acylcarnitine en carnitine serumconcentraties bij ME/CVS patiënten en de eventuele samenhang van deze concentraties met de klinische symptomen. In het vierde onderzoek is gekeken naar de werkzaamheid van carnitine in vergelijking met amantadine, een geneesmiddel dat zeer effectief is bij vermoeidheid die zich voordoet bij andere chronische neurologische ziektebeelden, zoals MS.

### 1. **Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases (Japan/Zweden).**<sup>13</sup>

*(Lage concentraties serum acylcarnitine gevonden bij CVS en chronische hepatitis C, maar niet bij andere ziekten)*

#### **Doel en opzet**

Doel van het onderzoek was het meten van de serum acylcarnitine en vrij carnitineconcentraties bij ME/CVS patiënten en gezonde controles van verschillende raciale afkomst (Japan en Zweden). Naar aanleiding van een onderzoek door Fukawaza et al.<sup>☆</sup> naar de relatie tussen serum acylcarnitine-gehalten en vermoeidheid bij multiple sclerosis, is het onderzoek in Japan ook uitgevoerd bij andere patiëntengroepen met ernstige vermoeidheidsklachten. Van alle deelnemers werden bloedmonsters genomen waarin de gehalten aan acylcarnitine en vrij carnitine werden bepaald.

#### **Uitvoering**

Alle geselecteerde patiënten (in Japan en Zweden) voldeden aan de criteria voor ME/CVS zoals vastgesteld door Holmes et al.<sup>4</sup> of door Fukuda et al.<sup>5</sup> Aan het Zweedse onderzoek deden 57 vrouwelijke ME/CVS patiënten en 46 gezonde vrouwelijke controles mee.

In Japan deden de volgende groepen patiënten en controles mee:

- 146 patiënten met ME/CVS (64 mannen en 82 vrouwen).
- 27 patiënten met een vorm van leukemie (14 mannen en 13 vrouwen)
- 10 patiënten met chronische alveesklierontsteking en hoge bloeddruk (5 mannen en 5 vrouwen)
- 20 patiënten met een psychiatrische ziekte (10 mannen en 10 vrouwen)
- 56 patiënten met chronische hepatitis type C (36 mannen en 20 vrouwen)
- 22 patiënten met diabetes mellitis (alleen mannen).
- 308 gezonde controles (177 mannen en 131 vrouwen).

De bloedmonsters werden in het geval van de leukemiepatiënten afgenomen voorafgaande aan de eerste chemotherapie. In de rest van de gevallen werden de bloedmonsters 's ochtends voor het ontbijt afgenomen, dit vanwege de sterke daling van het serumgehalte van acylcarnitine na het eten.

De gehalten van vrij carnitine en acylcarnitine in het serum werden gemeten met behulp van de 'enzymatic cycling method' die gebruik maakt van NADH, thio-NAD<sup>+</sup> en carnitine dehydrogenase. De resultaten werden gescheiden bij mannen en vrouwen bestudeerd.

---

☆ Fukawaza T, Sasaki H, Kikuchi S, Hamada T and Tashiro K: Serum carnitine and disabling fatigue in multiple sclerosis. Psychiatr. Clin. Neurosci. 50: 323-325, 1996.

## Resultaten

De Zweedse patiënten hadden de Zweedse gezonde controles gemiddeld een lagere **vrij carnitine** ( $34.8 \pm 7.8$  vs.  $38.5 \pm 8.1 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) en een lagere **acylcarnitine** ( $9.6 \pm 2.6$  vs.  $11 \pm 3.4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) serumconcentratie. Tevens hadden de Zweedse gezonde controles ten opzichte van de Japanse vrouwelijke gezonde controles een substantieel lagere **vrij carnitine** ( $38.5 \pm 8.1$  vs.  $43.6 \pm 10.0 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) en een lagere **acylcarnitine** ( $11 \pm 3.4$  vs.  $15.5 \pm 4.5 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) serumconcentratie.

De meerderheid van de 146 Japanse ME/CVS-patiënten liet ten opzichte van de gezonde controles lagere niveaus van **acylcarnitine** in het serum zien (vrouwen  $9.4 \pm 3.7$  vs.  $15.5 \pm 4.5 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ). Ook een meerderheid van de chronische hepatitis C patiënten bleek een **acylcarnitine** deficiëntie te hebben (vrouwen  $6.4 \pm 3.1$  vs.  $15.5 \pm 4.5 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ). Alle andere patiëntgroepen hadden geen verlaagde acylcarnitine serumconcentratie.

De serumconcentratie **vrije carnitine** was bij geen enkele patiëntgroep verlaagd, ook niet bij de Japanse ME/CVS patiënten. Bij chronische hepatitis type C patiënten werd als enige een significante verhoging waargenomen van het vrije carnitine-gehalte ten opzichte van de controles (vrouwen  $51.3 \pm 6.9$  vs.  $43.6 \pm 10.0 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ).

## Conclusie

De onderzoekers zien hun eerdere bevindingen uit 1992 bevestigd.<sup>20</sup> Ook toen vonden zij een verband tussen het chronische vermoeidheidssyndroom en een tekort aan acylcarnitine in het serum. De resultaten in de Zweedse (patiënten)groep vormen een aanwijzing dat acylcarnitine deficiëntie bij ME/CVS geen lokaal Japans fenomeen is. Vanwege de gevonden verschillen tussen de Zweedse en Japanse vrouwelijke gezonde controles zouden bij onderzoek naar vrij en acylcarnitine altijd controles meegenomen moeten worden die dezelfde raciale afkomst hebben als de patiënten.

Uit de resultaten bij de Japanse patiëntengroepen die geen ME/CVS hadden maar wel ernstige vermoeidheidsklachten werd tevens geconcludeerd dat een acylcarnitine deficiëntie in het serum gevonden bij ME/CVS patiënten geen algemeen voorkomend fenomeen is bij patiënten met vermoeidheid. Dit bevestigde de resultaten van Fukawaza et al. die geen verschil vonden tussen serumconcentraties van MS patiënten met en zonder vermoeidheidsklachten. De opvallende bevindingen bij patiënten met chronische hepatitis C zijn verder door de onderzoekers bestudeerd (zie pagina 14,2)).

## 2. *Serum levels of Carnitine in Chronic Fatigue Syndrome: Clinical Correlates (Verenigde Staten).*<sup>21</sup> (Carnitine serumconcentraties bij CVS: klinische correlaties)

### Doel en opzet

Het doel van dit onderzoek was te bepalen of ME/CVS patiënten inderdaad een verlaagd serum carnitine-gehalte hebben, zoals eerder werd gevonden<sup>20</sup> en of er een verband is tussen deze gehalten en de klinische symptomen. Hiertoe werden van alle deelnemers bloedmonsters genomen waarna de serumconcentraties aan acylcarnitine, vrij carnitine en totaal carnitine werden bepaald. De uitkomsten werden vergeleken met de referentiewaarden van het laboratorium dat de analyses uitvoerde en met data van patiënten en controles afkomstig uit eerder uitgevoerd Japans onderzoek.<sup>20</sup>

## Uitvoering

35 patiënten werden geselecteerd (27 vrouwen en 8 mannen). Allen voldeden ze aan de CDC criteria voor ME/CVS zoals vastgesteld door Holmes et al.<sup>4</sup> Voor aanvang van het onderzoek werden alle deelnemers psychologisch en neurologisch onderzocht en werd hun medische geschiedenis in kaart gebracht. Verder kregen ze allen een uitgebreid bloedonderzoek wat onder meer inhield een bloedbeeldbepaling, een chemische screening en serum carnitine bepalingen. Verder werd de urine van de patiënten onderzocht. Alle deelnemers aan het onderzoek ondergingen een krachttest en er werd een röntgenfoto van de borst genomen. Alle betrokkenen werden verder klinisch onderzocht met behulp van de volgende vragenlijsten: de Vermoeidheidstest schaal (FSS), de Beck Depression Inventory (BDI)<sup>☆</sup>, de Symptoom checklist 90-R (SCL-90-R)<sup>☆☆</sup>, en de CFS-impairment index (CFS-II) (lichamelijke en mentale parameters).

Na afname werden de bloedmonsters onmiddellijk ingevroren en naar het laboratorium gebracht voor analyse met behulp van radiogelabelde ezymtechnieken.

## Resultaten

Zowel de in vrouwelijke als de mannelijke patiëntengroep was het (gemiddeld) **totale carnitine**-gehalte lager dan de gemiddelde referentiewaarde van het laboratorium. Op 4 na vielen alle gehalten wel binnen het normale bereik van de referentiewaarden. Hetzelfde werd gevonden voor het gemiddelde **vrije carnitine**-gehalte waarbij slechts 1 patiënt een gehalte had lager dan de referentiewaarden. Voor acylcarnitine waren geen referentiewaarden beschikbaar zodat geen vergelijking kon plaatsvinden.

In vergelijking met een eerder uitgevoerd Japanse onderzoek van Kuratsune et al. uit 1992<sup>20</sup> bleek het gemiddeld gehalte aan totaal, vrij en acylcarnitine voor zowel mannen als vrouwen in dit onderzoek lager te liggen. Wat betreft **acylcarnitine** lieten zowel de vrouwelijke patiëntengroep uit dit onderzoek ( $8.9 \pm 7.0 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) als de Japanse vrouwelijke patiëntengroep ( $8.4 \pm 4.4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) significant lagere gehalten zien in vergelijking met de Japanse vrouwelijke controles ( $15.5 \pm 4.4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ). De serumconcentraties **vrij carnitine** van de vrouwelijke patiëntengroep uit dit onderzoek was verlaagd in vergelijking met de Japanse vrouwelijke controles ( $32.1 \pm 6.9$  vs.  $43.6 \pm 10.0 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ). Bij de Japanse vrouwelijke patiënten werd geen verlaging aangetroffen. De resultaten van de mannelijke patiëntengroepen lieten een zelfde beeld zien.

Ten aanzien van de klinische symptomen werden correlaties gevonden tussen hogere vrije en/of totale carnitine-gehalten en minder ernstige vermoeidheid (FSS vragenlijst). Ook was er een correlatie tussen hogere vrije carnitine-gehalten en een beter lichamelijke conditie (CFS-II vragenlijst). Er werd geen enkele correlatie gevonden tussen de acylcarnitine-gehalten en de scores op de vragenlijsten, dit in tegenstelling tot het Japanse onderzoek waar wel een relatie wordt gevonden tussen de acylcarnitine-concentratie en de ernst van de ME/CVS symptomen.

## Conclusie

De belangrijkste conclusie van de onderzoekers is dat ME/CVS patiënten verlaagde **acylcarnitine**concentraties hebben en dat er ook sprake is van een verlaagd **vrij en totaal** carnitine-gehalte bij deze mensen. Dit bevestigt hun eerdere bevindingen. Omdat hun resultaten met betrekking tot acylcarnitine vergelijkbaar zijn met het Japanse onderzoek betekent dit onderzoek dat er wellicht een mogelijkheid is ME/CVS te diagnosticeren in verschillende geografische gebieden aan de hand van serum carnitine-gehalten. De 3 correlaties (tussen 0.4-0.5) gevonden tussen totale en vrije carnitine-gehalten en klinische symptomen geven aanleiding tot verder onderzoek.

---

☆ BDI: dit is een scorelijst waarmee een mogelijke depressie is aan te tonen.

☆☆ SCL-90-R: bestaat uit een meerdere psychologische test categorieën en algemene samenvattende schalen.

### 3. *Normal carnitine levels in patients with chronic fatigue syndrome (Nederland).*<sup>18</sup> (Normale carnitineconcentraties in CVS patiënten)

#### **Doel en opzet**

Doel van dit onderzoek was om te kijken of carnitinedeficiëntie inderdaad (zoals gevonden in de hiervoor beschreven onderzoeken) een belangrijke rol speelt bij ME/ CVS in vrouwelijke ME/ CVS patiënten in vergelijking met gezonde vrouwelijke controles. Hiertoe werden de gehalten aan totaal carnitine, vrij carnitine, acylcarnitine en carnitine esters gemeten en vergeleken met referentiewaarden.

#### **Uitvoering**

De patiënten in dit onderzoek werden geselecteerd uit de database van ME/ CVS patiënten van het 'Department of General Internal Medicine' van het Universitair Medisch Centrum, St. Radboud, Nijmegen tussen 1996 en 1998. Bij deze patiënten was de diagnose ME/ CVS gesteld volgens de inclusie en exclusie criteria van Fukuda et al.<sup>5</sup> Omdat 75% van de ME/ CVS patiënten vrouw is en mannen en vrouwen verschillende carnitine niveaus hebben zijn alleen vrouwelijke patiënten toegelaten tot het onderzoek. Om redenen van homogeniteit werden alleen blanke patiënten geselecteerd. De patiënten voldeden aan de eis dat hun vermoeidheid hun dagelijkse leven substantieel beperkte. Als maat hiervoor werd een score genomen van 35 of meer op de Checklist Individual Strength (CIS)<sup>☆</sup> schaal. Daarnaast moest er een score gehaald worden van 750 of meer op een gewogen score van het Sickness Impact Profile (SIP)<sup>☆☆</sup>. Om in het onderzoek opgenomen te kunnen worden moesten de deelnemers verder een gezonde uit de buurt afkomstige controle van ongeveer dezelfde leeftijd (verschil van ±5 jaar) meenemen. Aan het onderzoek deden 25 patiënten en 25 controles mee. Beide groepen waren qua leeftijd en B.M.I. (body mass index, gewicht per lengte-eenheid) met elkaar vergelijkbaar. Geen van beide groepen had 3 maanden voorafgaand aan het onderzoek een carnitine supplement ingenomen.

Het serum van alle deelnemers werd op dezelfde dag 's ochtends tussen 9.00 en 10.30 uur genomen. Deze tijdsspanne was volgens de onderzoekers noodzakelijk en acceptabel in verband met de reistijd van de verschillende deelnemers. Daarnaast hadden de onderzoekers hiertegen geen bezwaar omdat de carnitinespiegel niet onderhevig is aan een 24 uurs ritme. Alle deelnemers hadden voorafgaand aan de bloedprik tenminste vier uur gevast. De genomen bloedmonsters werden direct ingevroren (-20°C), vervolgens geanonimiseerd en naar het laboratorium gebracht. De gehalten aan totaal, vrij en acylcarnitine in het serum werden bepaald met behulp van een radiochemische assay gebruikmakend van [1-<sup>14</sup>C]acetyl CoA. De carnitine esters werden met behulp van een massaspectrometer bepaald.

#### **Resultaten**

Zoals te verwachten scoorden de ME/ CVS patiënten hoger op de CIS en SIP vragenlijsten dan hun gezonde controles. De niveaus van het totale carnitine, het vrije carnitine, acylcarnitine en alle carnitine esters van zowel patiënten als controles vielen binnen het normale bereik van de referentiewaarden. Ook verschilden de gehalten van beide groepen niet significant. Voor **acylcarnitine** bedroeg het gehalte van de patiënten  $11.53 \pm 3.52$  vs.  $12.14 \pm 3.88$   $\mu\text{mol/l}$  voor de controlegroep. In het onderzoek werd geen significante correlatie gevonden tussen de mate van vermoeidheid en de functionele beperkingen aan de ene kant en het totale carnitine, vrije carnitine en acylcarnitine aan de andere kant.

---

☆ CIS: dit is een betrouwbare en gevalideerde vragenlijst die vier aspecten van vermoeidheid meet, te weten het subjectieve niveau van vermoeidheid, van concentratie, van motivatie en van lichamelijke activiteit.

☆☆ SIP: meet de invloed van de symptomen op de dagelijkse activiteiten, gebaseerd op de volgende subschalen: huishouding, mobiliteit, alertheid, gedrag, slaap/rust, wandeling, sociale contacten, werk en recreatie en tijdverdrif.

## Conclusie

Op basis van deze resultaten wordt geconcludeerd dat dit onderzoek voorgaande onderzoeken niet bevestigd. De resultaten spreken de hypothese tegen dat tekorten van totaal carnitine, vrij carnitine, acylcarnitine of een specifieke deficiëntie van een of meerdere individuele carnitine esters een belangrijke rol speelt in het ziektebeeld van ME/CVS. Een carnitine deficiëntie zou volgens de onderzoekers dan ook niet algemeen bij ME/CVS patiënten voorkomen. De verschillen in uitkomsten met de voorgaande onderzoeken zijn volgens hen het gevolg van de wijze waarop de patiënt selectie plaatsvindt, de keuze van de controlegroep en verschillen in de analysemethoden.

## 4. *Amantadine and L-carnitine treatment of chronic fatigue syndrome (Verenigde Staten).*<sup>11</sup> (Behandeling van CVS met amantadine en L-carnitine)

### Doel en opzet

Doel van het onderzoek was om te bepalen of ME/CVS patiënten effectief behandeld konden worden met amantadine en/of L-carnitine. Het onderzoek werd uitgevoerd op basis van een cross-over systeem. Dit betekende dat eerst de ene helft van de groep L-carnitine kreeg en de andere helft amantadine. De geneesmiddelen werden voor de duur van twee maanden voorgeschreven. Vervolgens werd er een uitwasperiode (geen medicatie) van twee weken gehanteerd, waarna de eerste helft van de groep amantadine kreeg en de tweede helft L-carnitine. Deze periode duurde ook weer twee maanden.

### Uitvoering

Voor deze test en alle andere te beschrijven testen werden, tenzij anders vermeld, patiënten geselecteerd volgens de criteria van de CDC en zoals deze geformuleerd zijn door Holmes et al.<sup>4</sup> en Fukuda et al.<sup>5</sup> In dit specifieke onderzoek voldeden alle patiënten ook aan de definitie voor ME/CVS zoals die in Groot Brittannië en Australië geldt.

Alle patiënten, 30 in aantal waarvan 13 mannen en 17 vrouwen, werden uitgebreid lichamelijk en neurologisch onderzocht. De patiënten werden onderworpen aan de onderstaande testen. Een routine bloedonderzoek wat onder meer inhield een bloedbeeldbepaling, een chemische screening en serum carnitine bepalingen. Na afname werden de bloedmonsters onmiddellijk ingevroren en naar het laboratorium gebracht voor analyse met behulp van radiogelabelde ezymtechnieken. Verder werd de urine van de patiënten onderzocht. Alle deelnemers aan het onderzoek ondergingen een krachttest en er werd een röntgenfoto van de borst genomen. Alle betrokkenen werden ook klinisch onderzocht met behulp van de volgende vragenlijsten: de Vermoeidheidstest schaal (FSS), de Beck Depression Inventory (BDI)<sup>☆</sup>, de Symptoom checklist 90-R (SCL-90-R)<sup>☆☆</sup>, en de CFS-impairment index (CFS-II) (lichamelijke en mentale parameters). Daarnaast werd door de onderzoekers een ME/CVS-index ontwikkeld, de zogenaamde CFS-severity index (CFS-SI). Hiermee konden de betrokkenen deelnemers de ernst van hun ziekte weergeven. Het totale aantal parameters in deze testen bedroeg 18.

Alle patiënten werden voorafgaand, tijdens en na afloop van het onderzoek uitgebreid beoordeeld. Deze beoordeling vond om de twee weken plaats. Indien een bijwerking van het geneesmiddel zich voordeed en dusdanig ernstig was dat een voortzetting van de behandeling niet gewenst was, werd de behandeling gestaakt. Na een twee weken durende uitwasperiode werd dan gestart met het tweede geneesmiddel.

Omdat 2 deelnemers werden uitgesloten van het onderzoek deden uiteindelijk 28 patiënten mee. Amantadine werd gegeven in een dosis van 1 maal daags 100 mg, 's ochtends in te nemen. Werd het geneesmiddel in de eerste maand goed verdragen dan werd de dosis verhoogd tot 2 maal daags 100 mg amantadine. L-carnitine werd in een dosering van 3 maal daags 1 gram voorgeschreven.

☆ BDI: dit is een scorelijst waarmee een mogelijke depressie is aan te tonen.

☆☆ SCL-90-R: bestaat uit een meerdere psychologische test categorieën en algemene samenvattende schalen.

## Resultaten

Het gebruik van amantadine veroorzaakte veel bijwerkingen bij de deelnemers zoals slaperigheid, verhoogde geïrriteerdheid, meer vermoeid zijn, meer geestelijk verward, meer spierpijn en maagdarm problemen. Slechts 15 patiënten waren in staat om de therapie met amantadine af te maken. De rest van deelnemers (13) was genoodzaakt te stoppen met de behandeling vanwege een van de bovengenoemde bezwaren.

Verder wees het onderzoek bij de overgebleven deelnemers uit dat amantadine na acht weken statistisch gezien geen verbetering gaf. Dit werd bepaald aan de hand van de score op de 18 parameters van voornoemde vragenlijsten in vergelijking met de score aan het begin van het onderzoek.

Het gebruik van l-carnitine veroorzaakte bij één persoon last van bijwerkingen zoals buikpijn en diarree. Deze patiënt was daardoor genoodzaakt na 4 weken te stoppen met l-carnitine zodat 27 van 28 personen de therapie met l-carnitine afmaakten. Het gebruik van carnitine resulteerde na vier weken in een significante verbetering van 5 van de 18 parameters. Na 8 weken waren alle 18 parameters verbeterd, waarvan 12 significant. Dit resulteerde onder meer in een afname van depressieve klachten. Hierbij werd geen verschil waargenomen tussen de groep die als eerste en de groep die als tweede l-carnitine kreeg. Verder bleken de meest zieke patiënten bij aanvang van het onderzoek door het gebruik van l-carnitine het sterkst te verbeteren.

Er werd een significant verband gevonden tussen de hoogte van de acylcarnitine-concentraties bij aanvang van het onderzoek en de mate van verbetering van 2 van de 18 parameters na de behandeling met l-carnitine. Verder was er 1 parameter die sterker verbeterde bij een kortere ziekte duur na behandeling met l-carnitine. Er werden geen significante verbanden gevonden tussen vrij en totale carnitine-gehalten en de verbetering in de scores op de vragenlijsten<sup>11</sup>.

## Discussie

### Japans/Zweeds onderzoek (1)

Het Japanse/Zweedse onderzoek kiest voor een geselecteerde patiëntengroep en een controlegroep die wat betreft de geografische en raciale achtergrond vergelijkbaar zijn. Uit de resultaten blijkt ook het belang hiervan. Het niveau van zowel acylcarnitine en vrij carnitine in het serum van de Zweedse vrouwelijke gezonde controles is aanzienlijk lager dan dat van de Japanse vrouwelijke gezonde controles. De onderzoekers voeren als mogelijke redenen hiervoor aan naast de raciale verschillen, verschillen in levensstijl, in dieet en in lichaamsgrootte.

De gevonden verlaging van acylcarnitine in zowel de Zweedse ME/CVS groep als de Japanse ME/CVS groep is moeilijk te interpreteren omdat geen referentiewaarden worden weergegeven. Het feit dat verlaging van het acylcarnitine-gehalte gevonden wordt ongeacht de afkomst van de patiënt, is een interessant gegeven maar dient met enige voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd. Het verschil namelijk tussen de Japanse patiënten en hun controles ( $9.4 \pm 3.7$  vs.  $15.5 \pm 4.5 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) is aanzienlijk groter dan die tussen de Zweedse patiënten en hun controles ( $9.6 \pm 2.6$  vs.  $11 \pm 3.4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ). Bovendien hebben de Japanse en Zweedse ME/CVS patiënten gemiddeld vrijwel hetzelfde gehalte ( $9.4$  vs.  $9.6$ ). Het zou in de lijn der verwachting liggen dat het acylcarnitine-gehalte bij Zweedse ME/CVS patiënten lager zou zijn dan dat van de Japanse ME/CVS patiënten, zoals dat ook bij de controles het geval is. Ook hier is het ontbreken van referentiewaarden een beperkende factor bij de interpretatie. Tenslotte wordt in dit onderzoek niet aangegeven hoe wordt uitgesloten dat patiënten met een carnitinetekort niet lijden aan een ander ziektebeeld, nl. primaire of secundaire carnitinedeficiëntie.

### Onderzoek Verenigde Staten (2)

Het Amerikaanse onderzoek werkt met een zorgvuldig gescreende patiëntengroep en vergelijkt deze vervolgens met controles en patiënten afkomstig uit een eerder, Japans, onderzoek. Aangezien hiervoor is geconstateerd dat de raciale afkomst van de patiënt van invloed lijkt op de carnitine serumconcentraties kan worden getwijfeld aan de waarde van deze resultaten.

In het licht van voorgaand Japans/Zweeds onderzoek is het dan ook niet verwonderlijk dat de Amerikaanse patiënten lager scoren dan de Japanse controles ten aanzien van hun totale, vrije en acylcarnitine-concentratie. Ook in vergelijking met de Japanse patiënten scoren de Amerikaanse patiënten lager, met uitzondering van acylcarnitine. Het acylcarnitine-gehalte is in beide groepen vrijwel gelijk, namelijk  $8.9 \pm 7.0$  (Amerikaanse vrouwelijke patiënten) vs.  $8.4 \pm 4.4 \text{ } \mu\text{mol/l}$  (Japanse vrouwelijke patiënten). Ook hier zou logischerwijs het acylcarnitine-gehalte van de Amerikaanse patiënten lager moeten zijn dan dat van de Japanse patiënten.

De gevonden gehalten van zowel totaal als vrij carnitine vallen bijna allemaal binnen de normale grenzen. Helaas zijn deze grenzen voor acylcarnitine niet bepaald waardoor niet is vast te stellen of het gevonden gehalte daadwerkelijk een tekort aan acylcarnitine in het serum van de ME/CVS patiënten betekent.

De correlaties die beschreven zijn tussen de gehalten en de klinische symptomen zijn redelijk (tussen 0.4 en 0.5) en verdienen nader onderzoek. Echter, omdat de totale en vrije carnitine-gehalten allemaal binnen de normale grenzen vallen is het niet aannemelijk dat ze ten grondslag liggen aan de symptomen die bij ME/CVS optreden. Daarnaast is er sprake van 1 uitschieter waardoor 2 van de 3 gevonden correlaties een vertekend beeld vertonen. Er is geen correlatie tussen het verlaagde acylcarnitine-gehalte en de scores op de vragenlijsten. Wanneer het acylcarnitine-gehalte bepalend zou zijn voor de ME/CVS diagnose zoals door de onderzoekers gesuggereerd, zou een correlatie tussen dit gehalte en ME/CVS symptomen te verwachten zijn. Zonder referentiewaarden kan er echter weinig over acylcarnitine worden geconcludeerd.

### **Nederlandse onderzoek (3)**

Het Nederlandse onderzoek heeft zowel de patiëntengroep als de controlegroep zorgvuldig geselecteerd. Hun resultaat echter spreekt dat van de voorgaande onderzoeken tegen. De onderzoekers geven aan dat alle serumcarnitine-gehalten binnen de normale grenzen vallen maar welke referentiewaarden worden gehanteerd is onduidelijk. Vergelijken met de Zweedse patiënten in het Japans/Zweedse onderzoek scoren de Nederlandse patiënten iets hoger. ( $9.6 \pm 2.6$  vs.  $11.5 \pm 3.5 \mu\text{mol/l}$ ). Ook vinden de Nederlandse onderzoekers geen correlaties tussen de gehalten en de klinische symptomen wat niet verwonderlijk is aangezien de gehalten nauwelijks afwijken.

### **Amantadine en l-carnitine behandeling (4)**

Het onderzoek naar het effect van amantadine en l-carnitine op de symptomen van ME/CVS laat een positief resultaat zien voor carnitine maar een negatief resultaat voor amantadine. Slechts de helft van de deelnemers wist de behandeling met amantadine af te maken. Dit komt een vergelijk met de carnitine behandeling niet ten goede. Het is opmerkelijk dat amantadine relatief slecht verdragen wordt in dit onderzoek. Daarbij lieten de deelnemers die de amantadine behandeling wel afmaakten, geen enkele verbetering zien. Amantadine lijkt dus geen geschikt middel voor de behandeling van de symptomen van ME/CVS in tegenstelling tot de resultaten bij MS. Waarom dit zo is blijft vooralsnog onopgehelderd.

Het onderzoek laat een positief effect van carnitine substitutie zien op de symptomen van ME/CVS. Opvallend is daarbij dat de meest zieke mensen de sterkste verbetering toonden. De gevonden correlaties worden echter niet weergegeven, hierdoor is niets te zeggen over de sterkte van de correlaties. Ook zijn de carnitine serumconcentraties van de patiënten bij aanvang van het onderzoek niet weergegeven zodat onduidelijk blijft of er sprake is van een carnitinedeficiëntie. Hierdoor is niet aan te geven of het positieve effect inderdaad berust op een toename van het carnitine-gehalte. Verder is het onderzoek is niet dubbelblind uitgevoerd wat de gevonden data beperkte waarde geeft. Uitgebreider dubbelblind en placebo gecontroleerd onderzoek lijkt echter gerechtvaardigd.

### **Tot slot**

Dr.Vermeulen van het ME/CVS Research Centrum Amsterdam is momenteel bezig met een open, gerandomiseerd onderzoek naar de effecten van acetyl-L-carnitine, propionyl-L-carnitine en een combinatie van beiden bij 90 ME/CVS patiënten <sup>19</sup>. Dit onderzoek is bedoeld om eventuele verschillen in werking te onderzoeken en om de meetmethoden uit te testen. Interim resultaten van dit onderzoek laten een positief effect zien van de behandeling met acetylcarnitine. Uiteindelijk moet deze open studie uitmonden in een definitief onderzoek. Ook Vermeulen heeft gekeken naar de carnitine-gehalten van de deelnemers en komt tot de voorlopige conclusie dat de waarden van carnitine en carnitine esters in het serum geen aanwijzingen zijn voor ME/CVS. Volgens hem is het positieve effect van acetylcarnitine deels onbegrepen en dicht hij in dit verband ook een rol toe aan het acetyl wat in een hoge dosering een positief effect heeft op processen in de hersenen. Deze hypothese is echter niet van toepassing op de positieve effecten beschreven na behandeling met carnitine.

## Conclusie

De beschreven artikelen geven geen eenduidig beeld van het carnitinemetabolisme bij ME/CVS patiënten en de rol die afwijkingen in dit metabolisme kunnen spelen bij het ontstaan c.q. het voortduren van ME/CVS. De metingen die gedaan zijn ten aanzien van de totale, vrije en acetylcarnitine serumconcentraties geven een gevarieerd beeld waarbij verschillen optreden tussen vrouwen, mannen, raciale en geografische afkomst. Daarnaast kunnen de diverse toegepaste meetmethoden invloed hebben op de verschillen in uitkomsten.

Het carnitinemetabolisme lijkt dus vooralsnog geen voldoende aanwijzingen in de richting van ME/CVS op te leveren. Het meten van de serumconcentraties en dan met name acetylcarnitine om daarmee ME/CVS te diagnosticeren zoals gesuggereerd door Plioplys et al. is daarmee wellicht een brug te ver. Het is de vraag of een stof als acylcarnitine, waarvan de concentratie onderhevig lijkt aan vele factoren niet een te wankel basis is om een diagnose op te baseren.

De gevonden correlaties tussen klinische symptomen en carnitine-concentraties zijn lastig te beoordelen doordat of sprake is van een open studie, of doordat uitschieters zijn meegenomen of omdat de carnitine-concentraties binnen de normale grenzen lagen. Dit verdient verder onderzoek evenals het positieve effect van een behandeling met carnitine op de symptomen van ME/CVS. Vervolgonderzoek zou aan de volgende eisen moeten voldoen:

- Zeer zorgvuldige selectie / intake van deelnemers aan het onderzoek.
- Zeer zorgvuldige selectie / intake van de controles, rekeninghoudend met geslacht, ras, geografische afkomst.
- Gescheiden onderzoek van mannen en vrouwen
- Hanteren van duidelijke referentiewaarden voor de onderzochte parameters.
- Eenduidige gevalideerde analysemethode.

Voorlopig lijkt de toepassing van acetylcarnitine bij ME/CVS dus niet zinvol omdat de werkzaamheid ervan onvoldoende is aangetoond.

## Referenties

1. Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde 1997 2 augustus;141 (31) p1505- 1519.
2. ME fonds <http://www.mefonds.nl/nieuws/samenvatting.txt> (30-08-2001)
3. Treatment of the Chronic Fatigue Syndrome; Drugs 46 (4): p 639-651, 1993, E. Blondel-Hil, Stephen D. Shafran.
4. Chronic Fatigue Syndrome: A working case definition; Annals of Internal Medicine 1988;108:387-389, Holmes et al..
5. The Chronic Fatigue Syndrome: A comprehensive approach to its definition and study; Annals of internal Medicine121 (12) pp 953-959; 1994 Fukuda et al.
6. Webpagina CDC: <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/cfs/index.htm>
7. Lezing Paul van Meerendonck <http://peefie.www.cistron.nl/lezing.htm> (09/09/99).
8. Stryer, Biochemistry
9. Mitochondrial Medicine;Journal of Internal Medicine 238:405-421;1995; R.Luft en B.R. Landau
10. Levocarnitine, Haarlemmerolie voor metabole stoornissen?; Pharmaceutisch weekblad 1994; 129(24):596-601; E.L. Swart, A.C. van Loenen.
11. Amantadine and L-Carnitine treatment of chronic fatigue syndrome; Neuropsychobiology 1997;35:16-23; A.V. Plioplys & S. Plioplys.
12. Algemene Farmacotherapie; het geneesmiddel in theorie en praktijk 7<sup>e</sup> druk, 1999, H. Wesseling et al. Bohn Stafleu Van Loghum.
13. Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases.; International journal of molecular medicine; 1998 2: pp51-56; H. Kuratsune et al..
14. Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management; Annual review Nutrition; 1998; 18: 179-206; J. Kerner & C. Hoppel.
15. Effect of externally added carnitine on the synthesis of acetylcholine in rat cerebral cortex cells; Neurochem. Int. Vol. 26, No. 6 pp 635-641, 1995; Wawrzenczyk A., et al.
16. Zakwoordenboek der geneeskunde 25<sup>e</sup> druk,1997, Elsevier/PBNA
17. Molecular Biology of The Cell, Bruce Alberts et al. 3<sup>e</sup> ed.Garland Publishing, Inc.
18. Normal carnitine levels in patients with chronic fatigue syndrome; the Netherlands Journal of Medicine 2000;57:20-24; P.M.M.B. Soetekauw et al..
19. [www.intermedclin.com](http://www.intermedclin.com) (2-07-2001); email communicatie.
20. Kuratsune H et al.: Acylcarnitine deficiency in chronic fatigue syndrome. Clin. Infect. Dis. 18:S62-S67,1994.
21. Plioplys, A.V., Plioplys, S.; Serum levels of Carnitine in Chronic Fatigue Syndrome: Clinical Correlates. Neuropsychobiology 32: 132-138, 1995.

**Meer informatie over dit onderwerp vindt u in de volgende artikelen en boeken:**

- 1) NADH, energiebron voor de ME/CVS patiënt? Wetenschapswinkel Geneesmiddelen, RUG, juni 2000
- 2) Acylcarnitine and chronic fatigue Syndrome; Carnitine today; 1997; H. Kuratsune et al.
- 3) Geen harde aanwijzingen voor gestoorde bloeddrukregeling bij het chronische- vermoeidheidsyndroom; Nederlands tijdschrift voor de geneeskunde 1998; 21 maart; 142(12) p625-628
- 4) Harrison's principles of Internal Medicine, 14<sup>e</sup> ed. 1998 vol.1 p216 en p2483-2485
- 5) Carnitine Metabolism and its regulation in microorganisms and mammals; Annual review of Nutrition, 1998; 18: 39-61; C.J.Rebouche en H. Seim.
- 6) Pharmacological approaches to the therapy of chronic fatigue syndrome; Ciba foundation 1993 p280-297
- 7) Acylcarnitine Metabolism during fasting and after Refeeding. Biochemical and biophysical research communications. 225, 740-746 (1996); K.Yamaguti.
- 8) Synthesis of O-[<sup>11</sup>C]Acetyl-L-Carnitine, and L-[<sup>11</sup>C]Carnitine Labelled in Specific Positions, Applied in PET Studies on Rhesus Monkey; Nuclear medicine & Biology, Vol. 24, pp. 471-478, 1997; G.B.Jacobson.