

DISSERTATION

Natriumgehalt des Muskelgewebes von Patientinnen mit
Myalgischer Enzephalomyelitis/Chronischem Fatigue Syndrom
vor und nach Belastung der Unterschenkelmuskulatur

Sodium Content in Muscle Tissue of Patients with
Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome
before and after Exercise of Lower Leg Muscles

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Elisabeth Petter

Erstbetreuerin: Prof. Carmen Scheibenbogen

Datum der Promotion: 29.11.2024

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	vi
Abkürzungsverzeichnis	vii
Zusammenfassung	1
1 Einleitung	5
1.1 <i>Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Fatigue Syndrom</i>	5
1.2 <i>Muskelschmerzen und Muskeler schöpfung bei ME/CFS</i>	7
1.3 <i>Natrium-MRT</i>	8
1.3 <i>Fragestellungen und Zielsetzungen</i>	9
2 Methodik	10
2.1 <i>Studiendesign</i>	10
2.2 <i>Datenerhebung</i>	10
2.2.1 <i>Skala des Grads der Behinderung nach David Bell</i>	10
2.2.2 <i>Chalder Fatigue Skala</i>	12
2.2.3 <i>Likert Skala für Muskelschmerzen</i>	12
2.2.4 <i>Fragebogen zur Salzaufnahme</i>	13
2.3 <i>Belastungsprotokoll</i>	13
2.4 <i>²³Na-MRT Bildgebung</i>	14
2.5 <i>Auswertung der MRT-Datensätze</i>	16
2.6 <i>Kraftmessung der Handmuskulatur</i>	17
2.7 <i>Datenerfassung</i>	18
2.8 <i>Statistische Analyse</i>	18
3. Ergebnisse	20
3.1 <i>Studienteilnehmerinnen</i>	20
3.2 <i>Bewertung der Bildqualität, des ²³Na-MRT-Messprotokolls und des Belastungsprotokolls</i>	21
3.3 <i>Dynamischer Verlauf des Natrium- und Wassergehalts im Muskelgewebe</i>	21
3.4 <i>Vergleich des Natrium- und Wassergehalts zwischen Patientinnen und Gesunden</i>	24
3.5 <i>Korrelation zwischen Handmuskelfkraft und Natriumgehalt im Muskelgewebe</i>	26
4. Diskussion	29
4.1 <i>Wesentliche Ergebnisse der Studie</i>	29
4.2 <i>Interpretation der Ergebnisse</i>	29
4.3 <i>Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand</i>	34

4.4	<i>Limitationen der Studie</i>	35
4.5	<i>Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen</i>	36
5.	Schlussfolgerungen	38
	Literaturverzeichnis	39
	Eidesstattliche Versicherung	45
	Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	46
	Druckexemplar der Publikation	48
	Lebenslauf	61
	Komplette Publikationsliste	62
	Danksagung	63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Kanadische Kriterien für die Diagnose ME/CFS.	5
Tabelle 2. Fragebogen zum Salzkonsum.	20
Tabelle 3. Natriumgehalt des Gewebes und Wassergehalt des Gewebes.....	25

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: ^{23}Na -MRT	15
Abbildung 2: Methodik der Auswertung der MRT-Datensätze	17
Abbildung 3: ^{23}Na -MRT-Bilder des Unterschenkels einer ME/CFS-Patientin und einer gesunden Kontrollperson	22
Abbildung 4: Natriumgehalt der Unterschenkelmuskulatur	23
Abbildung 5: Messung der Handmuskelkraft	26
Abbildung 6: Streudiagramme mit linearen Regressionslinien.	28
Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Myozyten.	30

Abkürzungsverzeichnis

ANCOVA: Analysis of covariance
A.U.: Arbitrary Unit
BMI: Body mass index
Bzw.: Beziehungsweise
 β 2R: β 2-adrenerger Rezeptor
CFS: Chronisches Fatigue Syndrom
DICOM: Digital imaging and communications in medicine
EBV: Epstein-Barr virus
FA: Flip angle
Kg: Kilogramm
ME: Myalgische Enzephalomyelitis
mM: Millimolar
MRT: Magnetresonanztomographie
Na: Natrium
NaCl: Natriumchlorid
Na-MRT, ^{23}Na -MRT: ^{23}Na -Natrium-Magnetresonanztomographie
NCX: Natrium-Calcium-Austauscher
NHE: Natrium-Protonen-Austauscher
PEM: Postexertionelle Malaise
POTS: Posturales Tachykardiesyndrom
ROI: Region of Interest
ROS: Reaktive Sauerstoffspezies
SARS-Cov2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SD: Standard deviation, Standardabweichung
SE: Spin echo
Sog.: Sogenannt
TA: Scan duration
TE: Echo times
TI: Inversion time
TR: Repetition time
T2: Transversal relaxation time
Vs.: Versus
WHO: Weltgesundheitsorganisation

Zusammenfassung

Hintergrund

Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Erschöpfungssyndrom (ME/CFS) ist eine komplexe, schwere Erkrankung, die mit Muskelschmerzen und -ermüdung einhergeht. Die Pathophysiologie von ME/CFS ist bisher ungeklärt, es gibt jedoch zahlreiche Hinweise auf endotheliale Dysfunktion und Hypoperfusion des Gewebes. Studien weisen darauf hin, dass ein Ungleichgewicht der Ionen in der Skelettmuskulatur, insbesondere eine Natrium- und nachfolgende Calciumüberladung, eine Folge der Hypoxämie bei ME/CFS sein könnte. Ziel dieser Studie war es daher, den Natriumgehalt des Muskelgewebes von ME/CFS-Patientinnen zu untersuchen und mit dem gesunder Kontrollpersonen zu vergleichen.

Methoden

Sechs Patientinnen mit ME/CFS und sechs passende, gesunde Kontrollpersonen unterzogen sich einer Natrium-Magnetresonanztomographie (^{23}Na -MRT) des linken Unterschenkels mit einem klinischen 3T-MRT-Scanner. Die Bildgebung wurde vor und nach einem dreiminütigen, anaeroben, dynamischen Training durchgeführt, wobei die Unterschenkelmuskeln durch Plantarflexion belastet wurden. Der dynamische Verlauf des Natriumgehalts der Unterschenkelmuskulatur wurde über einen Zeitraum von 40 Minuten mit Hilfe von Natrium-Referenzphantomen mit NaCl-Lösungen und einem speziellen Plug-in im Open-Source-DICOM-Viewer Horos gemessen. Außerdem wurde die Handmuskelfkraft gemessen und mit dem Natriumgehalt der Muskulatur korreliert.

Ergebnisse

In allen Muskelkompartimenten des Unterschenkels waren die Ausgangswerte des Natriumgehalts bei ME/CFS höher als bei der Kontrollgruppe. In den Extensoren zeigte sich der größte Unterschied im Ausgangswert des Natriumgehalts (Mittelwert \pm SD; 12,20 \pm 1,66mM bei ME/CFS vs. 9,38 \pm 0,71mM bei Kontrollpersonen, $p=0,0034$). Direkt nach dem Training stieg der Natriumgehalt des Gewebes des M. Triceps surae mit +30% bei ME/CFS ($p=0,0005$) und +24% bei den Kontrollen ($p=0,0007$) im M. Gastrocnemius medialis an. Der Anstieg des Natriumgehalts im M. Gastrocnemius medialis nach dem Training war bei ME/CFS stärker als bei den Kontrollpersonen mit +30% vs.

+17% vom Ausgangswert nach 12 Minuten ($p=0,0326$) und +29% vs. +16% vom Ausgangswert nach 15 Minuten ($p=0,0265$). Im Vergleich zu den Kontrollen wiesen die Patientinnen eine geringere durchschnittliche Handmuskelkraft auf, die mit einem erhöhten durchschnittlichen Natriumgehalt im Muskelgewebe assoziiert war ($p=0,0319$; $R^2=0,3832$).

Zusammenfassung

Die ^{23}Na -MRT bietet die Möglichkeit, die Natriumhomöostase bei ME/CFS zu untersuchen. Der Natriumgehalt der Unterschenkelmuskeln war bei ME/CFS-Patientinnen vor und nach der Muskelbelastung höher als bei gesunden Kontrollpersonen. Außerdem wurde eine inverse Korrelation zwischen dem Natriumgehalt und der Handmuskelkraft festgestellt. Die Ergebnisse unserer Studie deuten darauf hin, dass Natriumüberladung und konsekutive Calciumüberladung eine Rolle in der Pathophysiologie von ME/CFS spielen könnte. Mithilfe weiterer Forschung könnte ein therapeutischer Ansatz ermöglicht werden.

Abstract

Background

Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) is a complex and debilitating disease with key symptoms of muscle fatigue and pain. While the distinct pathophysiology of ME/CFS remains unclear, there is substantial evidence indicating endothelial dysfunction and tissue hypoperfusion. Research hypothesized that ion imbalances in skeletal muscles, specifically sodium and subsequent calcium overload, may result from hypoxemia of ME/CFS patients. Thus, this study aimed to evaluate the sodium levels in skeletal muscle tissue of ME/CFS patients and compare them to those of healthy individuals.

Methods

Six female patients with ME/CFS and six corresponding healthy controls underwent Sodium magnetic resonance imaging (^{23}Na -MRI) of the left lower leg using a clinical 3T MR scanner. Imaging was performed before and after three minutes of anaerobic dynamic training of plantar flexion to exercise the lower leg muscles. The dynamic progression of lower leg muscles sodium content over 40 min was measured using sodium reference phantoms with NaCl solutions and a dedicated plugin in the open-source DICOM viewer Horos. Furthermore, handgrip strength was assessed and correlated with muscle sodium content.

Results

In all lower leg muscle compartments, baseline tissue sodium levels were higher in ME/CFS than in control subjects. The highest difference in baseline muscle sodium content between ME/CFS and controls was observed in the anterior extensor muscle compartment (mean \pm SD; 12.20 \pm 1.66 mM in ME/CFS vs. 9.38 \pm 0.71 mM in controls, $p=0.0034$). Immediately after exercise, tissue sodium content increased in the triceps surae muscles with +30% in ME/CFS ($p=0.0005$) and +24% in controls ($p=0.0007$) in the medial gastrocnemius muscle. The increase of sodium content in the medial gastrocnemius muscle after exercise was stronger in ME/CFS than in healthy controls with +30% vs. +17% to baseline at 12 minutes ($p=0.0326$) and +29% vs. +16% to baseline at 15 minutes ($p=0.0265$). Compared to healthy subjects, patients had lower average

handgrip strength, which was associated with increased average sodium levels of muscle tissue ($p=0.0319$, $R^2=0.3832$).

Conclusion

^{23}Na -MRI provides the opportunity to study the sodium homeostasis in patients with ME/CFS. Sodium content of lower leg muscles was higher in ME/CFS patients than in healthy controls, both before and after exercise. Moreover, an inverse correlation was found between muscle sodium content and handgrip strength. Our findings suggest that sodium overload and consecutive calcium overload may play a pivotal role in the pathophysiology of ME/CFS, indicating that further research could allow for potential therapeutic targeting.

1 Einleitung

1.1 Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Fatigue Syndrom

Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Fatigue Syndrom (ME/CFS) ist eine komplexe, chronische Erkrankung unbekannter Ursache, die mit einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität einhergeht (1-3). Neben persistierender Fatigue leiden Patient:innen an Kopf-, Hals-, Gelenk- und Muskelschmerzen, Schlafstörungen, neurokognitiven Störungen, grippeähnlichem Krankheitsgefühl und subfebrilen Temperaturen (4, 5). Als Kardinalsymptom zählt die Postexertionelle Malaise (PEM), welche eine unproportionale Zunahme der Beschwerden und verlängerte Erholungsphasen nach einer vorausgegangenen geistigen oder körperlichen Belastung beschreibt (6, 7). Von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) in der ICD-11 als Krankheit des Nervensystems klassifiziert, handelt es sich bei ME/CFS um eine der letzten häufigen Krankheiten, die wenig erforscht ist (8). Somit sind weder kausale Therapiemöglichkeiten noch kurative Behandlungsmethoden vorhanden. Die weltweite Prävalenz lag präpandemisch geschätzt bei 0,3-0,9%, wobei Frauen ungefähr doppelt so häufig wie Männer betroffen sind (9, 10). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 29-35 Jahren (11). In den meisten Fällen wird die Erkrankung durch eine Infektion ausgelöst, bekannte Erreger sind zum Beispiel Epstein-Barr-Viren (infektiöse Mononukleose), Influenzaviren, Enteroviren oder SARS-CoV-2-Viren (12-14). Als präzipitierende Faktoren gelten außerdem psychosozialer Stress, Überlastung und HWS-Traumata (11). Es existieren keine diagnostischen Biomarker, nach Ausschluss anderer Ursachen für die Symptomatik - als Differentialdiagnosen kommen beispielsweise Autoimmunerkrankungen, Neoplasien oder Herzinsuffizienz infrage - wird ME/CFS anhand von Anamnese, körperlicher Untersuchung und verschiedener Fragebögen diagnostiziert (15). Am häufigsten verwendet werden hierbei die sogenannten (sog.) „Kanadischen Kriterien für die Diagnose ME/CFS“ (1), die „IOM 2015 Diagnostischen Kriterien“ (16) und die „Diagnostischen Kriterien für das Chronische Fatigue Syndrom nach Fukuda“ (17).

Tabelle 1. Kanadische Kriterien für die Diagnose ME/CFS.

1. Erschöpfung/ Fatigue und Zustandsverschlechterung nach Belastung

- deutliches Ausmaß einer neu aufgetretenen, anderweitig nicht erklärbaren, andauernden körperlichen oder mentalen Erschöpfung, die zu einer erheblichen Reduktion des Aktivitätsniveaus führt

- Erschöpfung, Verstärkung des schweren Krankheitsgefühls und/oder Schmerzen nach Belastung mit einer verzögerten Erholungsphase (meist mehr als 24 Stunden, kann Tage dauern)
- Die Symptome können durch jede Art von körperlicher oder mentaler Anstrengung oder Stress verschlechtert werden

2. Schlafstörungen

- Einschlafstörung
- Durchschlafstörung
- Veränderter Tag-Nacht-Rhythmus
- Schlaf führt zu keiner Erholung

3. Schmerzen

- Gelenkschmerzen
- Muskelschmerzen
- Kopfschmerzen

4. Neurologische/ Kognitive Manifestation

- Beeinträchtigung der Konzentrationsfähigkeit und des Kurzzeitgedächtnisses
- Schwierigkeiten mit der Informationsverarbeitung
- Wortfindungsstörungen
- Lesestörungen
- Wahrnehmungs- und Sinnesstörungen
- Desorientierung oder Verwirrtheit
- Bewegungskordinationsstörungen
- Es kommt zu Überlastungserscheinungen (Rückfälle und/oder Ängste) durch: zu viele Informationen, zu viele Sinneseindrücke (zum Beispiel Licht, Lärm), zu viel Stress

5. Autonome Manifestation

- Schnelle Lagewechsel (v.a. Liegen zum Stehen) führen zu Schwindel und/oder „Schwarzwerden vor Augen“
- Bei Lagewechsel tritt Herzrasen auf (POTS)
- Schwindel und Benommenheit
- Extreme Blässe
- Darmstörungen (diffuse Schmerzen, Brennen, Blähungen)
- Blasenstörungen
- Palpitation (Herzklopfen)
- Atemnot bei leichter Belastung

6. Neuroendokrine Manifestation

- Anpassung Körpertemperatur gestört
- Schwitzen, fiebriges Gefühl
- Hitze oder Kälte nicht gut vertragen
- Kalte Extremitäten (kalte Hände oder Füße)
- Gewichtszunahme oder abnormaler Appetit
- Gewichtsabnahme
- Stress ist schlechter zu verarbeiten, Stress führt zu einer Verstärkung der Erschöpfung und emotionaler Unsicherheit

7. Immunologische Manifestation

- Schmerzhaftes Lymphknoten
- Wiederkehrende Halsschmerzen
- Neue Allergien/ Bereits bestehende Allergien haben sich verändert
- Grippeähnliche Symptome oder allgemeines Krankheitsgefühl
- Überempfindlichkeit, Unverträglichkeit von Nahrungsmitteln, Medikamenten, Chemikalien

Erläuterung zur Auswertung

- Die Erkrankung muss für mindestens 6 Monate bestehen, um CFS von einer postinfektiösen Fatigue abzugrenzen.
 - Für die Diagnose CFS/ME müssen die Kriterien (1) Fatigue, Zustandsverschlechterung nach Belastung (post exertionelle Malaise = PEM*) alle erfüllt sein, mindestens eines bei (2) Schlafstörungen** und (3) Schmerzen**; zwei oder mehr bei (4) neurologische / kognitive Manifestationen und eins oder mehrere Symptome von mindestens zwei der Kategorien (5) autonome, (6) neuroendokrine und (7) Immunmanifestationen.
 - *Die Zustandsverschlechterung tritt nach leichter körperlicher oder mentaler Belastung auf und ist ausgeprägt und länger anhaltend, meist für mehr als 24 Stunden. Inzwischen besteht Konsens, dass auch 14 Stunden als Diagnosekriterium ausreichen (Cotler J, Diagnostics, 2018).
-

Während Sport Erschöpfung bei vielen Erkrankungen bessert, führt es bei CFS zu Zustandsverschlechterung.

- **Es gibt eine kleine Gruppe von Patienten, die keine Schlafstörungen oder Schmerzen haben. Wenn die Erkrankung mit einer Infektion begonnen hat, sollte die Diagnose CFS/ME auch in Erwägung gezogen werden.
 - CFS ist eine Ausschlussdiagnose. CFS-Symptome können auch bei anderen Erkrankungen auftreten. Häufige komorbide Erkrankungen bei CFS sind: Fibromyalgie, Reizdarm, Hashimoto Thyreoiditis.
-

Die genaue Pathophysiologie von ME/CFS ist bis dato noch nicht geklärt. Immer mehr Studien weisen jedoch darauf hin, dass eine Dysregulation des Immunsystems und des autonomen Nervensystems sowie eine gestörte Gefäßregulation eine Rolle in der Entstehung beziehungsweise (bzw.) Aufrechterhaltung der Erkrankung ME/CFS spielen (18-21). Viele Patient:innen mit ME/CFS leiden unter Symptomen, die auf eine Fehlregulation des autonomen Nervensystems hindeuten: Schwindel, Tachykardie und Blutdruckschwankungen. Insbesondere das posturale Tachykardiesyndrom (POTS) mit orthostatischer Intoleranz und lageabhängiger Tachykardie findet sich bei vielen Patient:innen als Komorbidität (22, 23). Es wird angenommen, dass endotheliale Dysfunktion, Hypoperfusion der Muskeln und ein gestörter zerebraler Blutfluss mitverantwortlich sind für Symptome wie Müdigkeit, Erschöpfung, kognitive Störungen, PEM und Muskelschmerzen (24-26).

1.2 Muskelschmerzen und Muskelerschöpfung bei ME/CFS

Muskelschmerzen, -ermüdung und -kraftlosigkeit werden zwar zu den Hauptsymptomen von ME/CFS gezählt, jedoch leiden nicht alle Patient:innen mit ME/CFS darunter. Es wird davon ausgegangen, dass es eine Subgruppe an Patient:innen gibt, bei denen Symptome wie Muskelschmerzen und Muskelerschöpfung im Vordergrund stehen (27, 28). Zur Beurteilung von Muskelermüdung und -ermüdbarkeit dient die Handmuskelfkraftmessung mittels eines Dynamometers, wobei die Handgreifkraft in Kilogramm (kg) gemessen wird (29). Bereits in mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass Patient:innen mit ME/CFS im Vergleich zu gesunden Personen eine reduzierte Muskelkraft und erhöhte Muskelermüdbarkeit aufweisen (30-32). In einer Studie korrelierte die maximale Handmuskelfkraft bei Patient:innen mit ME/CFS mit der maximalen Sauerstoffaufnahme und der maximalen körperlichen Leistungsfähigkeit (33). Bislang gibt es im klinischen Alltag – abgesehen von Fragebögen und der Muskelkraftmessung – jedoch keine diagnostischen Methoden, welche die teils schwerwiegenden muskulären Beschwerden der Patient:innen mit ME/CFS objektivieren können.

Basierend auf den Studienergebnissen erhöhter dysfunktionaler β 2-Adrenorezeptor (β 2R)- und M3-Muscarin-Acetylcholinrezeptor (M3R)-Antikörpern bei Patient:innen mit ME/CFS wird angenommen, dass einige Symptome der Erkrankung durch eine Verminderung des Blutflusses beeinflusst werden. Da β 2R und M3R wichtige gefäßerweiternde Wirkungen haben, kann davon ausgegangen werden, dass ihre Fehlfunktion zu einer Gefäßverengung und Hypoxämie führt (20). Mehrere Studien zeigten eine verminderte maximale Sauerstoffaufnahme und eine verminderte Sauerstoffversorgung der Muskeln bei ME/CFS (34-36). Patient:innen mit ME/CFS schnitten in einer kontrollierten Studie mit wiederholter kardiopulmonaler Belastung schlechter ab als gesunde Kontrollpersonen, sie erreichten die anaerobe Schwelle und die maximale Belastungsgrenze bereits bei einem viel niedrigeren Sauerstoffverbrauch als die gesunden Kontrollpersonen (37). In einer anderen Studie zeigten Patient:innen mit ME/CFS eine erhöhte intramuskuläre Azidose und Anomalien bei der Erholung des muskulären pH-Wertes nach standardisierter Übung der Wadenmuskulatur (38). Im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen wurde bei ME/CFS-Patient:innen ein abnorm verlängerter Protonenausfluss unmittelbar nach Belastung der Muskulatur und auch bei maximaler Belastung festgestellt (39).

Die Ermüdbarkeit der Muskulatur wird durch einen adäquaten Blutfluss und die Funktion der Na⁺-K⁺-ATPase beeinflusst. Da β 2R die Na⁺-K⁺-ATPase im Skelettmuskel stimuliert, könnte ein dysfunktionaler β 2R zu einer unzureichenden Stimulation der Na⁺-K⁺-ATPase führen (40-42). Störungen des Ionenhaushalts in der Skelettmuskulatur, unter anderem eine Natriumüberladung und eine sekundäre Calciumüberladung, werden als Folgen der Hypoxämie bei ME/CFS und als Ursache der muskulären Beschwerden vermutet (43). Ausgehend von dieser Hypothese konzentrierte sich unser Studienprojekt auf den Natriummetabolismus in Skelettmuskelzellen von ME/CFS-Patientinnen vor und nach Belastung der Muskulatur.

1.3 Natrium-MRT

Mit der ²³Natrium-Magnetresonanztomographie (²³Na-MRT, Na-MRT) wurde in den letzten Jahrzehnten bzw. Jahren eine zuverlässige, nichtinvasive Methode zur Quantifizierung des Natriumspiegels im Gewebe etabliert. Die ²³Na-MRT liefert neue biochemische Informationen als Ergänzung zur Protonen-MRT und kann in vielen Teilen des

Körpers zur Beurteilung von Gewebeveränderungen infolge von Krankheiten eingesetzt werden (44-46). Die ^{23}Na -MRT diente bereits bei verschiedenen klinisch relevanten Fragestellungen als Untersuchungsmethode, unter anderem wurden Patient:innen mit arterieller Hypertonie (47), Herzinsuffizienz (48), Hyperaldosteronismus (49), akuter Niereninsuffizienz (50), Hirntumoren (51), Krebserkrankungen (52), Multipler Sklerose (53, 54) und Diabetes Mellitus (55) untersucht. Außerdem wurden verschiedene Muskelerkrankungen in ^{23}Na -MRT-Studien untersucht (56, 57). Bei Patient:innen mit der Muskelkanalopathie Hyperkaliämische periodische Paralyse beispielsweise wurde in einer ^{23}Na -MRT-Studie eine intrazelluläre Natriumakkumulation während episodischer Schwäche nach muskulärer Belastung festgestellt (58). Auch die Duchenne-Muskeldystrophie wird mit erhöhtem Gewebenatrium in Verbindung gebracht (59, 60). Einige Forscher:innen führten bereits ^{23}Na -MRT Studien mit Bildgebung nach einer Muskelbelastung oder Sportübung durch. In mehreren Studien wurden bei gesunden Proband:innen nach Muskelbelastung erhöhte Natriumwerte im zuvor beanspruchten Muskelgewebe nachgewiesen. Nach einer Ruhephase kehrten die Natriumwerte wieder auf die ursprünglichen Ausgangswerte zurück (61-63).

1.3 Fragestellungen und Zielsetzungen

Das Ziel dieser Forschungsarbeit war es, mittels ^{23}Na -MRT den Natriumgehalt des Muskelgewebes der Unterschenkelmuskulatur zu erfassen und außerdem den Natriumgehalt der Patientinnen mit ME/CFS mit dem Natriumgehalt der gesunden Kontrollpersonen zu vergleichen. Im Fokus stand dabei die kontinuierliche Messung des Natriumgehalts über die Zeit nach einem dynamischen Krafttraining der Unterschenkelmuskulatur. Hierbei wurde nach der Muskelbelastung über 40 Minuten lang der Verlauf des Natriumgehalts von Patientinnen mit ME/CFS im Vergleich zu dem der Probandinnen aus der gesunden Kontrollgruppe gemessen.

2 Methodik

2.1 Studiendesign

Die Durchführung der Studie erfolgte nach Genehmigung der Ethikkommission der Charité (EA4/108/19) und gemäß den Prinzipien der Deklaration von Helsinki. Alle Testpersonen wurden sowohl mündlich als auch schriftlich aufgeklärt, und eine schriftliche Einwilligung wurde vor der Teilnahme eingeholt. Für die Pilotstudie wurden insgesamt sechs Patientinnen mit ME/CFS rekrutiert, und außerdem sechs gesunde Probandinnen, welche die Kontrollgruppe bildeten. Die Rekrutierung der Patientinnen erfolgte zwischen August 2020 und November 2020 am Institut für Medizinische Immunologie der Charité, wo die Patientinnen zuvor in der ME/CFS Sprechstunde des Fatigue Centrums mit der Erkrankung ME/CFS diagnostiziert wurden. Die Einschlusskriterien waren folgende: Erfüllung der „Kanadischen Konsensus Kriterien“, Vorliegen einer signifikanten Fatigue nach der „Chalder Fatigue Skala“, ME/CFS ausgelöst durch eine Infektion, Muskelschmerzen >5 (Schmerzen bewertet auf einer Likert-Skala von 0=keine bis 10=am stärksten), „Bell-Score“ von 20-40, weibliches Geschlecht und Alter zwischen 20 und 45 Jahren. Die Kontrollpersonen hatten keine Vorerkrankungen und waren passenden Alters, Geschlechts und Body Mass Indexs (BMIs). Außerdem nahmen sie keine Medikamente ein, insbesondere keine, die die Muskelfunktion beeinflussen oder beeinträchtigen können, hatten sitzende Tätigkeiten und machten weniger als drei Stunden Sport pro Woche (64). Nicht in die Studie eingeschlossen wurden Personen mit Klaustrophobie oder MRT-inkompatiblen implantierten Geräten wie zum Beispiel einem Herzschrittmacher (65, 66).

2.2 Datenerhebung

Es wurden Gewicht, Größe und BMI der Studienteilnehmerinnen dokumentiert. Des Weiteren wurden den Studienteilnehmerinnen die folgenden Fragebögen ausgehändigt.

2.2.1 Skala des Grads der Behinderung nach David Bell

Zur Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung wurden die Patientinnen mit ME/CFS gebeten, die „Skala des Grads der Behinderung nach David Bell“ auszufüllen, welcher einen Maßstab für Behinderung und Einschränkung bei CFS/ME darstellt (67).

- 100 Punkte: Keine Symptome in Ruhe; keine Symptome in Ruhe und bei körperlicher Belastung; insgesamt ein normales Aktivitätsniveau; ohne Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 90 Punkte: Keine Symptome in Ruhe; leichte Symptome bei körperlicher und geistiger Belastung; insgesamt ein normales Aktivitätsniveau; ohne Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 80 Punkte: Leichte Symptome in Ruhe; die Symptome verstärken sich durch Belastung; nur bei Tätigkeiten, die anstrengend sind, ist eine geringfügige Leistungseinschränkung spürbar; mit Schwierigkeiten in der Lage, an Arbeitsplätzen, die Kraftanstrengungen erfordern, Vollzeit zu arbeiten
- 70 Punkte: Leichte Symptome in Ruhe; deutliche Begrenzungen in den täglichen Aktivitäten spürbar; der funktionelle Zustand beträgt insgesamt etwa 90% der Norm – mit Ausnahme von Tätigkeiten, die einer Kraftanstrengung bedürfen; mit Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 60 Punkte: Leichte Symptome in Ruhe; deutliche Begrenzungen in den täglichen Aktivitäten spürbar; Der funktionelle Zustand beträgt insgesamt etwa 70%—90% der Norm; Unfähig, einer Vollzeitbeschäftigung nachzugehen, wenn dort körperliche Arbeit gefordert wird; aber in der Lage, Vollzeit zu arbeiten, wenn es um leichte Arbeiten geht und die Arbeitszeit flexibel gehandhabt werden kann
- 50 Punkte: Mittelschwere Symptome in Ruhe; mittelschwere bis schwere Symptome bei körperlicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 70% der Norm reduziert; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 4-5 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden
- **40 Punkte:** Mittelschwere Symptome in Ruhe; mittelschwere bis schwere Symptome bei Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 50%-70% der Norm reduziert; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 3-4 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden
- **30 Punkte:** Mittelschwere bis schwere Symptome in Ruhe; schwere Symptome bei jeglicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 50% der Norm reduziert; in der Regel ans Haus gefesselt; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 2-3 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden

- **20 Punkte:** Mittelschwere bis schwere Symptome in Ruhe; schwere Symptome bei jeglicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 30%-50% der Norm reduziert; bis auf seltene Ausnahmen unfähig, das Haus zu verlassen; den größten Teil des Tages ans Bett gefesselt; unfähig, sich mehr als eine Stunde am Tag zu konzentrieren
- 10 Punkte: Schwere Symptome in Ruhe; die meiste Zeit bettlägerig; ein Verlassen des Hauses ist nicht möglich; deutliche kognitive Symptome, die eine Konzentration verhindern
- 0 Punkte: Ständig schwere Symptome; immer ans Bett gefesselt; unfähig zu einfachsten Pflegemaßnahmen

2.2.2 Chalder Fatigue Skala

Außerdem erhielten die Patientinnen mit ME/CFS die „Chalder Fatigue Skala“, mithilfe derer eingeschätzt werden kann, ob eine signifikante Fatigue vorliegend ist (68). Die Antworten wurden dabei angegeben von 0 (weniger als üblich) bis 3 (sehr viel mehr als üblich):

- Ist Müdigkeit ein Problem für Sie?
- Müssen Sie öfter ausruhen?
- Fühlen Sie sich müde oder schläfrig?
- Haben Sie Schwierigkeiten, Dinge in Angriff zu nehmen?
- Mangelt es Ihnen an Energie?
- Haben Sie weniger Kraft in Ihren Muskeln?
- Fühlen Sie sich schwach?
- Fällt es Ihnen schwer, sich zu konzentrieren?
- Passieren Ihnen Versprecher beim Reden?
- Fällt es Ihnen schwer, klar zu denken?

Bzw. von 0 (besser als üblich) bis 3 (sehr viel schlechter als üblich):

- Wie ist Ihr Gedächtnis?

Auswertung: 0–1 = 0, 2–3 = 1, **≥ 4 Punkte = „signifikante Fatigue“**

2.2.3 Likert Skala für Muskelschmerzen

Um die subjektiven Beschwerden der Patientinnen quantitativ zu erfassen, wurde die Likert-Skala für die Muskelschmerzen angewendet (69). Die Patientinnen wurden gebeten, ihre täglichen Muskelschmerzen auf einer Skala von 0 (keine Schmerzen) bis 10 (stärkste Schmerzen) anzugeben.

2.2.4 Fragebogen zur Salzaufnahme

Das Verhalten der Studienteilnehmerinnen bezüglich der Salzaufnahme im täglichen Leben wurde semiquantitativ durch einen Fragebogen bestimmt (70, 71).

Die Skala der Antwortmöglichkeiten reichte von 1 (stimme überhaupt nicht zu) bis 10 (stimme vollständig zu). Die Fragen sowie die Auswertung des Salzfragebogens sind der Tabelle 2 im Kapitel 3.1 zu entnehmen.

2.3 Belastungsprotokoll

Nach umfassender Literaturrecherche etablierten wir ein eigens für die Studie konzipiertes Belastungsprotokoll (56, 61-63). Alle Studienteilnehmerinnen wurden instruiert, sich vor der MRT-Untersuchung eine Woche lang weder sportlich zu betätigen noch intensive Beinbewegungen auszuführen. Am Tag der Untersuchung wurden die Patientinnen mit dem Taxi von zu Hause abgeholt und zum Deutschen Herzzentrum Berlin - wo die MRT-Untersuchung stattfand - gebracht, während die gesunden Kontrollpersonen öffentliche Verkehrsmittel oder das Auto benutzten, um ihre Muskeln nicht anzustrengen. Die Bildgebung der linken Waden der Studienteilnehmerinnen erfolgte nach einer Ruhezeit von 30 Minuten in liegender Position. Somit wurde eine konstante Verteilung des interstitiellen Volumens erreicht und vergleichbare Ruhezustände der Muskeln gewährleistet (72). Nach der anfänglichen Baseline-Bildgebung wurden die Probandinnen gebeten, von der MRT-Liege aufzustehen und die Muskelbelastung (Plantarflexion, sog. „Heel raises“ aus dem Stand) durchzuführen, um den Musculus triceps surae zu trainieren. Das Belastungsprotokoll umfasste drei Minuten anaerobes dynamisches Training. Die Plantarflexion wurde durchgeführt, indem sich die Probandinnen nach Anheben der Fersen gegen das eigene Körpergewicht auf die Zehenspitzen stellten. Folgend wurden die Fersen wieder auf den Boden gesetzt. Die Übung erfolgte mit einer Frequenz von 30, insgesamt führten die Probandinnen die Plantarflexion also 90-mal hintereinander durch. Unmittelbar nach der Muskelübung legten sich die Probandinnen für den zweiten Durchgang des Messprotokolls wieder in den MRT-Scanner. Herzfrequenz und Blutdruck wurden parallel zur Bildaufnahme vor und nach der Muskelbelastung gemessen. Hierzu wurde ein oszillometrisches Dinamap pro-100-Gerät (Critikon, Milwaukee, WI, USA) verwendet (73).

2.4 ²³Na-MRT Bildgebung

Im klinischen Alltag wird fast ausschließlich die auf Wasserstoffkern (¹H) bzw. Protonen basierte Magnetresonanztomographie (¹H-MRT) eingesetzt, welche einen hohen Weichgewebekontrast aufweist und im Gegensatz zur Computertomographie ohne ionisierende Strahlung auskommt. Die MRT basiert auf dem physikalischen Prinzip, dass Atomkerne mit einer ungeraden Anzahl an Protonen oder Neutronen (wie zum Beispiel ¹H) im Grundzustand einen Kernspin besitzen und dadurch ein Magnetfeld induzieren. Diese ungeordneten Magnetfelder kompensieren sich im menschlichen Körper gegenseitig. Durch das Magnetfeld der MRT kommt es jedoch zu einer parallelen oder antiparallelen Ausrichtung der Atomkerne. Die Anregung der Kernspins zur sog. transversalen Magnetisierung wird durch Einwirkung von Hochfrequenzwellen induziert. Bei Wegfall des Impulses nehmen die transversale Magnetisierung und damit das MRT-Signal ab und es kommt zur Abgabe von Energie an die Umgebung (Spin-Gitter-Wechselwirkung, T1, longitudinale Relaxation) und zum Energieaustausch der Spins untereinander (Spin-Spin-Wechselwirkung, T2, transversale Relaxation). Diese freiwerdenden Impulse werden gemessen und der Bildkontrast kann durch die T1- und T2-Gewichtung bestimmt werden (74). Natrium, bzw. dessen stabiles Isotop ²³Na, ist aufgrund seiner Konzentration und Eigenschaften ebenfalls ein gut detektierbarer Kern im menschlichen Körper. Allerdings ist ²³Na im Vergleich zu ¹H nicht nur in einer viel kleineren Konzentration vorhanden, sondern weist auch ein kleineres gyromagnetisches Verhältnis auf, welches zu einer geringeren Kernspinresonanz-Empfindlichkeit führt. Durch die dadurch erforderliche Aufnahmetechniken mit einem niedrigen Signal-zu-Rauschen-Verhältnis (engl. Signal-to-noise ratio, SNR) sind sehr sensitive, speziell eingestellte Sender/Empfänger-Spulen und Sequenzen für die Natrium-Bildgebung nötig (75, 76).

Zur Bildgebung in unserer Studie diente ein in der klinischen Routine genutzter 3 Tesla MRT-Scanner (Philips Ingenia, Software-Release 5.6.1, Philips Healthcare, Best, Niederlande) mit einer ²³Na Sende-/Empfangs-Spule des Knies (Rapid Biomedical, Rimpar, Deutschland). Hierbei wurde eine 2D-spoiled Gradienten-Multiechosequenz mit Flyback-Gradienten verwendet (12 Echos; Echozeit, echo times TE = 2.44ms + n x 3.05ms; Wiederholungszeit, repetition time TR = 100 ms; Anregungswinkel, flip angle FA = 90°; Auflösung, measured resolution = 3 x 3 x 30mm², 132 Mittelwerte, Gesamtaufnahmezeit, scan duration TA = 14min).

Gemeinsam mit dem linken Unterschenkel der Probandinnen wurden als Referenzstandard vier Kalibrierungsphantome mit wässrigen Kochsalzlösungen gescannt (47). Die vier Phantome beinhalteten Konzentrationen von 10, 20, 30 und 40 mmol/L (mM) Natriumchlorid (NaCl). Mittels ^1H -MRI wurde der Wassergehalt des Gewebes gemessen. Verwendet wurde hierbei eine fettgesättigte Inversions-SE-Sequenz (Inversionszeit, inversion time TI = 210 ms; Gesamtaufnahmezeit, scan duration TA = 6,27 min; Echozeit, echo times TE = 12 ms; Wiederholungszeit, repetition time TR = 3000 ms; Anregungswinkel, flip angle FA = 90° ; 1 Durchschnitt, Auflösung = $1,5 \times 1,5 \times 5 \text{ mm}^3$), die bereits in vorherigen Studien etabliert und validiert wurde (48, 70).

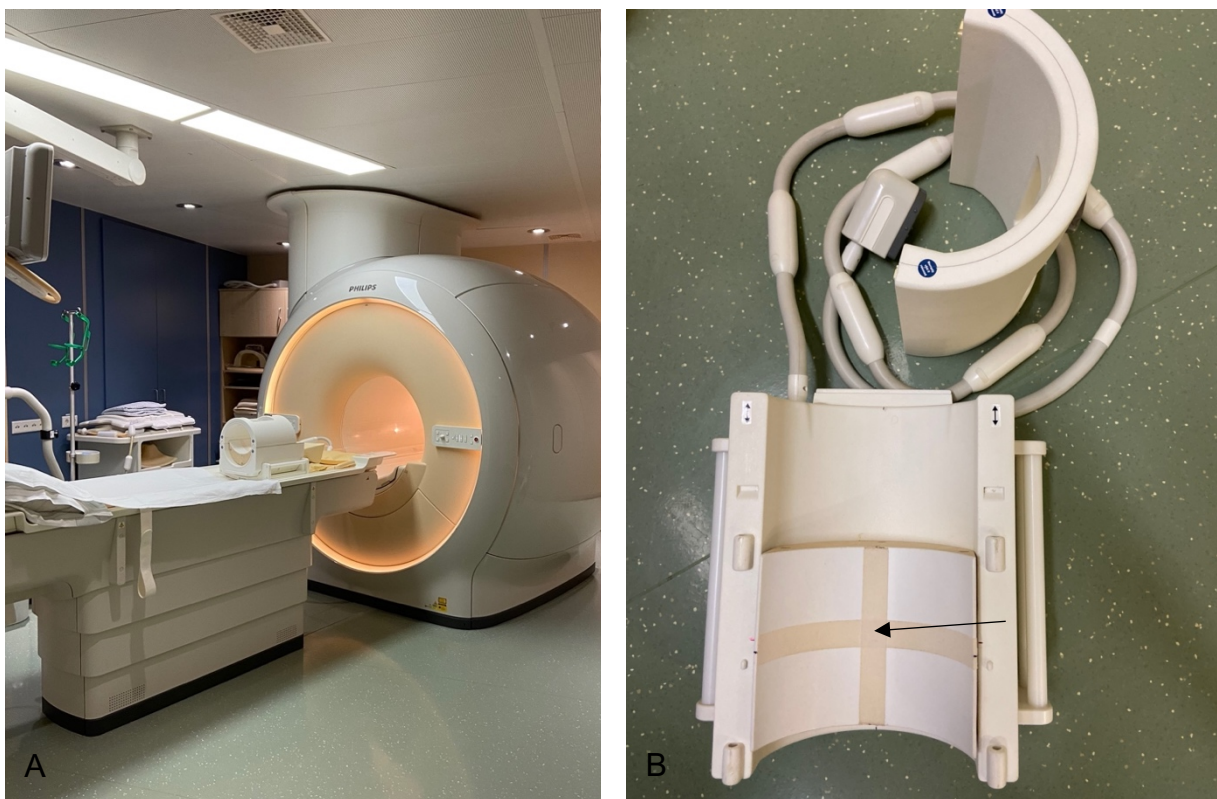


Abbildung 1: ^{23}Na -MRT. (A) Klinischer 3 Tesla MR-Scanner mit einer ^{23}Na Sende-/Empfangsspule des Knies (B) Nahaufnahme der (geöffneten) ^{23}Na Sende-/Empfangsspule des Knies, in die der Unterschenkel platziert wird. Der breiteste Umfang des Unterschenkels liegt dabei an der mit dem Pfeil markierten Stelle (Fotos: Elisabeth Petter).

Zur Verarbeitung der ^{23}Na -MRT-Datensätze wurde vom Physiker des Studienteams ein spezielles Postprocessing-Plugin programmiert. Die Bildrekonstruktion erfolgte dann mithilfe dieses Plugins in Horos („open source software“, <https://horosproject.org>, gesponsert von Nimble Co LLC, Purview, Annapolis, Maryland, Vereinigte Staaten von

Amerika). Das Plugin mit Möglichkeit der Anwendung eines sog. „Moving Average Filters“ diene hauptsächlich zur Bewertung der dynamischen Veränderung des intramuskulären Natriumspiegels während der 40-minütigen Messdauer. Es wurde nicht wie sonst üblich ein gemittelttes Bild über die gesamte Messdauer erstellt, sondern es erfolgte die Ausgabe von 160 Einzelbildern, um nachträglich entscheiden zu können, aus welchem Zeitbereich der Messung die Mittelung des Natriumsignals bzw. die Rekonstruktion der Bilder stattfinden soll. Die Mittelung des ^{23}Na -Signals erfolgte über die ersten drei Echos der Multi-Echo-Akquisition, die bei Echozeiten, echo times $T_{En} = 2,44\text{ms}$, $5,49\text{ms}$ und $8,54\text{ms}$ erfasst wurden, wodurch die Visualisierung auf lange T_2^* -Natriumkomponenten beschränkt wurde. Mithilfe des „Moving Average Filters“ erfolgte die dynamische Rekonstruktion der Daten über die gewählte Messdauer. Somit wurde eine komplexe, retrospektive Mittelwertbildung aus einer eigens definierten Teilmenge aus 80 Mittelwerten und Echos mit kleineren zeitlichen Abschnitten ermöglicht. Die MRT-Bilder wurden schließlich für die folgenden Zeitpunkte rekonstruiert: vor Belastung und eine, drei, sechs, neun, 12, 15, 25 und 40 Minuten nach der Belastung (73).

2.5 Auswertung der MRT-Datensätze

Nachdem die MRT-Bilder in das Programm Horos („open source software“, <https://horosproject.org>, gesponsert von Nimble Co LLC, Purview, Annapolis, Maryland, Vereinigte Staaten von Amerika) zur medizinischen Bildbetrachtung und -bearbeitung geladen wurden, wurden die Regions of Interest (ROIs) so zentral wie möglich mithilfe des anatomischen Bildes (T1-gewichtete Spoiled-Gradienten-Echo-Sequenz) als Leitlinie gezeichnet. Die ROIs wurden über dem Hintergrund (0 mM NaCl) und über den vier Referenzphantomen gezeichnet und in willkürlicher Einheit/ „arbitrary unit“ (a.u.) gemessen. Wichtige ROIs umfassten den größten Unterschenkelmuskel (Musculus triceps surae, bestehend aus dem medialen und lateralen Musculus gastrocnemius und dem Musculus soleus) und die Streckmuskeln/ Extensoren des vorderen Beinkompartiments (Musculus tibialis anterior, Musculus extensor hallucis, Musculus extensor digitorum und Musculus fibularis), die bei der durchgeführten Muskelbelastung nicht trainiert wurden und daher als interne Kontrollen dienten. Natriumreiche Bereiche wie beispielsweise prominente Gefäßstrukturen wurden bei der Messung ausgeschlossen, um verfälschte intramuskuläre Natriumwerte zu vermeiden. Die jeweiligen Signalintensitäten der Referenzphantome wurden für die Berechnung der Signalintensitäten der ROIs verwendet.

renzphantome dienten als Kalibrierstandards. Für jeden einzelnen Zeitpunkt der Messung (sowohl vor Belastung als auch im Verlauf nach Belastung) wurde mithilfe einer linearen Trendanalyse in Microsoft Excel (Version 16.54, Microsoft, Redmond, Washington, Vereinigte Staaten von Amerika) der Natriumgehalt des Gewebes gemessen, indem die Intensität in die entsprechende Natriumkonzentration umgerechnet wurde (77). Als primärer Endpunkt der Studie wurde der absolute Natriumgehalt des Muskelgewebes des Unterschenkels definiert. Eine grafische Zusammenfassung zur Methodik der Auswertung der MRT-Datensätze ist in Abbildung 2 dargestellt (73).

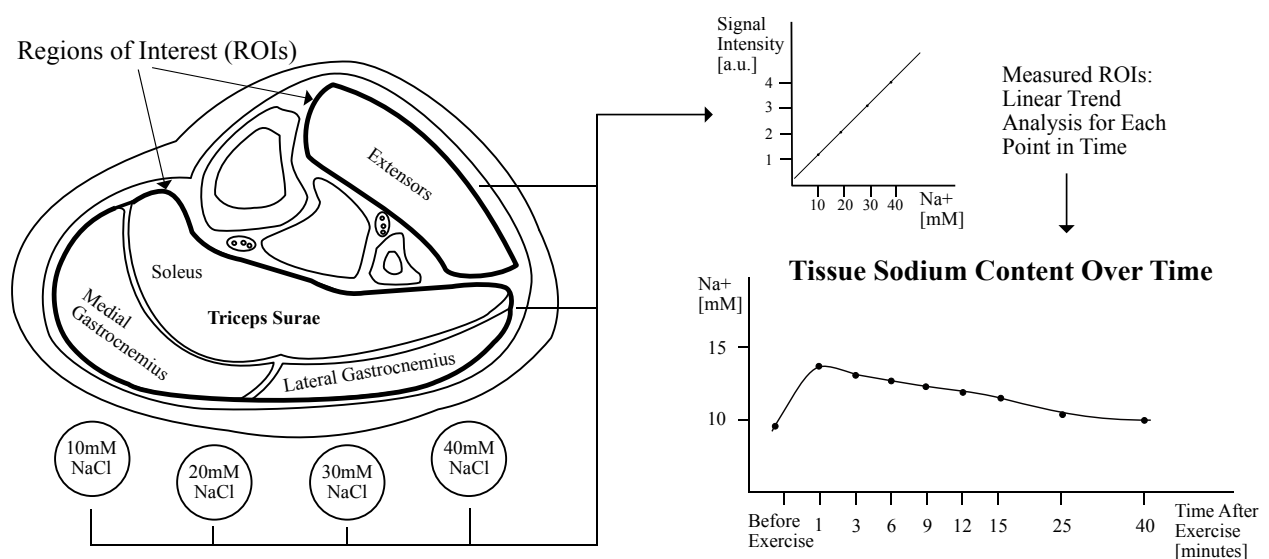


Abbildung 2: Methodik der Auswertung der MRT-Datensätze. Nachdem in den MRT-Bildern die Regions of Interest (ROIs) in Horos über dem Hintergrund, den vier Referenzphantomen und den Muskeln und Muskelkompartimenten des Unterschenkels eingezeichnet wurden, wurden die Signalintensitäten der ROIs (in willkürlicher Einheit, arbitrary unit, a.u.) mithilfe einer linearen Trendanalyse in den Natriumgehalt (in mM) umgerechnet. Anschließend wurde für jeden Zeitpunkt der Messung der Natriumgehalt (in mM) des Gewebes des jeweiligen Muskels bzw. der jeweiligen Muskelgruppe berechnet (modifiziert nach Petter et al., 2022).

2.6 Kraftmessung der Handmuskulatur

Bei allen Studienteilnehmerinnen wurde in zwei getrennten Sitzungen die Handmuskulaturkraft mit einem elektrischen Dynamometer (CAMRY, Modell: SCACAM-EH101) gemessen, um die muskuläre Kraft und Ermüdung zu beurteilen. Die Patientinnen und die Kontrollpersonen saßen hierfür in einer aufrechten Position und legten den Unterarm der dominanten Hand in Supination auf einen Tisch. Der Griff des elektrischen Dynamometers wurde zehn Mal hintereinander mit maximaler Kraft für drei Sekunden gezogen.

Nach jedem Zug erfolgte eine fünf-sekündige Entspannungsphase. Ein zweiter Durchgang der Messung wurde nach einer Erholungspause von 60 Minuten durchgeführt (31, 78). Alle Werte (in kg) wurden manuell notiert und im Anschluss in Microsoft Excel (Version 16.54, Microsoft, Redmond, Washington, Vereinigte Staaten von Amerika) dokumentiert.

2.7 Datenerfassung

Klinische Charakteristika der Studienteilnehmerinnen wurden sowohl aus den internen elektronischen Patientenakten (SAP, SAP SE, Walldorf, Deutschland) gesammelt als auch eigens erhoben. Zur Datensammlung und -dokumentation wurde Microsoft Excel (Version 16.54, Microsoft, Redmond, Washington, Vereinigte Staaten von Amerika) benutzt. Alle Patientendaten wurden pseudonymisiert, die Namen wurden durch eine zweistellige Identifikationsnummer ersetzt. Nur autorisierte Mitglieder des Studienteams hatten Zugriff auf die verschlüsselten Daten.

2.8 Statistische Analyse

Alle im Rahmen der Studie erhobenen Daten wurden mittels GraphPad Prism (Version 9.0.2, GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, Vereinigte Staaten von Amerika) statistisch analysiert. Mit dem Shapiro-Wilk-Test und dem Kolmogorov-Smirnov-Test wurde zunächst die Verteilung der Daten getestet. Kontinuierliche Daten wurden, sofern nicht anders angegeben als Mittelwerte mit Standardabweichung (\pm SD) dargestellt. Die 95%-Konfidenzintervalle wurden berechnet, und ein p-Wert kleiner gleich 0,05 wurde für alle statistischen Testungen als signifikant angesehen. Die p-Werte sind unkorrigiert und sollten aufgrund von Mehrfachtestungen als deskriptiv angesehen werden. Um den zeitlichen Verlauf des Natrium- und Wassergehalts im Muskelgewebe zu testen, wurde der gepaarte t-Test innerhalb der Gruppen verwendet. Der gepaarte t-Test diente auch dafür, die beiden Sitzungen der Handkraftmessung innerhalb der Gruppen zu vergleichen. Der ungepaarte t-Test wurde verwendet, um die Unterschiede im Natrium- und Wassergehalt des Gewebes, in den Charakteristika und in der Handgriffstärke zwischen Patientinnen mit ME/CFS und Kontrollpersonen zu testen. Unterschiede in der Abnahme des Natriumgehalts nach den Spitzenwerten wurden durch den Vergleich von linearen Regressionslinien bewertet, wobei es sich um eine Anwendung der ANCOVA

(Kovarianzanalyse) handelt. Lineare Regressionsmodelle und Pearson-Korrelationskoeffizienten wurden zur Bewertung der Korrelationen verwendet (73).

3. Ergebnisse

3.1 Studienteilnehmerinnen

²³Na-MRT-Untersuchungen des linken Unterschenkels wurden bei insgesamt 12 Studienteilnehmerinnen durchgeführt. Der Natrium- und Wassergehalt des Muskelgewebes vor und nach Belastung der Unterschenkelmuskulatur wurde nichtinvasiv gemessen und analysiert. Sechs Patientinnen mit ME/CFS wurden mit sechs gesunden Kontrollpersonen verglichen. Geschlecht (weiblich), Alter (ME/CFS 30.3±7.6 Jahre, Kontrollen 27.3±4.8 Jahre; $p=0.4308$), BMI (ME/CFS 21.6±4.1 kg/m², Kontrollen 23.4±5.1 kg/m², $p=0.5253$) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen, ebenso wenig das Verhalten in Bezug auf den Salzappetit, die Salzaufnahme und das Verlangen nach salzigen Speisen und Getränken. Die Ergebnisse des Fragebogens zum Salzkonsum (70) sind in Tabelle 2 dargestellt. Hinsichtlich der Herzfrequenz und des Blutdrucks vor und nach der Belastung gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patientinnen und Kontrollpersonen. Patientinnen mit ME/CFS hatten einen signifikanten Anstieg der Herzfrequenz direkt nach der Belastung ($p=0,0054$), die gesunden Kontrollpersonen ebenso ($p=0,0360$). Der systolische Blutdruck stieg bei den Patientinnen ($p=0,0312$) und bei den Kontrollen ($p=0,0381$) nach der Belastung an, ebenso der diastolische Blutdruck bei den Patientinnen ($p=0,0080$) und bei den Kontrollpersonen ($p<0,0001$). Außerdem stieg der mittlere arterielle Blutdruck nach dem Training bei den Patientinnen ($p=0,0003$) und bei den gesunden Kontrollen ($p=0,0003$) an.

Tabelle 2. Fragebogen zum Salzkonsum.

	Patientinnen mit ME/CFS (n=6)	Kontrollen (n=6)	P-Wert ME/CFS versus Kontrollen
Fragebogen zum Salzkonsum			
“Wie gern auf einer Skala von 1-10 mögen Sie Salziges?”	6.0 (0.9)	5.7 (2.9)	0.7961
“Wie oft salzen Sie Ihr Essen nach?”	3.7 (2.0)	4.7 (3.8)	0.5819
“Wie gern mögen Sie Knabbereien wie Chips, Flips, Salzbrezeln?”	5.5 (1.4)	5.3 (3.4)	0.9146
“Wie oft gehen Sie in Fastfood-Restaurants essen?”	2.0 (1.5)	2.3 (0.8)	0.6510

“Wieviel geben Sie durchschnittlich bei einem Besuch aus?” (€)	3.8 (4.9)	7.0 (4.3)	0.2640
“Wie oft trinken Sie Mineralwasser ohne zusätzliche Geschmacksstoffe?”	7.7 (2.7)	6.2 (3.7)	0.4438
“Wieviel trinken Sie am Tag?” (L)	2.1 (0.4)	2.1 (0.4)	>0.9999

Tabelle 2. ME/CFS, Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Fatigue Syndrom. Mittelwerte mit Standardabweichung (SD) in Klammern. Fragebogen auf einer Skala von 1-10 (1 = stimme überhaupt nicht zu; 10 = stimme voll zu). P-Wert bezieht sich auf den Vergleich der beiden Gruppen (modifiziert nach Petter et al., 2022).

3.2 Bewertung der Bildqualität, des ^{23}Na -MRT-Messprotokolls und des Belastungsprotokolls

Die Bildqualität der MRT-Datensätze war bei allen 12 Probandinnen zufriedenstellend. Keines der Bilder wies nennenswerte Bewegungsartefakte auf. Bei einer gesunden Probandin zeigte sich ein leichtes Unterschenkelödem, welches jedoch keinen Einfluss auf die Messung des Natriumgehalts der Muskulatur hatte. Mithilfe des eigens für die Studie programmierten Postprocessing-Plugins mit einem „Moving Average Filter“ gelang uns die dynamische Rekonstruktion der ^{23}Na -MRT-Datensätze. Die Mittelung des Natriumsignals bzw. die Rekonstruktion der MRT-Bilder erfolgte für den Zeitpunkt vor der Belastung und die Zeitpunkte eine Minute, drei, sechs, neun, 12, 15, 25 und 40 Minuten nach der Belastung. Somit war es möglich, die dynamische Veränderung des intramuskulären Natriumspiegels während der 40-minütigen Messdauer zu messen und bewerten. Alle Teilnehmerinnen berichteten über leichte Schmerzen und Erschöpfung direkt nach der Muskelbelastung. Die gesunden Probandinnen hatten zwei Tage lang schmerzhaften Muskelkater und die Patientinnen mit ME/CFS litten an PEM, die bei allen sechs Patientinnen mehrere Tage lang andauerte.

3.3 Dynamischer Verlauf des Natrium- und Wassergehalts im Muskelgewebe

Abbildung 3 zeigt ^{23}Na -MRT-Bilder einer Patientin und einer Kontrollperson jeweils vor der Belastung, direkt nach der Belastung und 25 Minuten nach der Belastung der Unterschenkelmuskulatur. Direkt nach der Belastung zeigten sich bei beiden Studienteilnehmerinnen leicht erhöhte Intensitäten im Muskelgewebe, welche mit dem in mM gemessenen Anstieg des Natriumgehalts korrelierten. Ebenfalls in den Bildern sichtbar ist eine

Abschwächung der Signalintensität 25 Minuten nach der Muskelbelastung. Die einzelnen Werte des Natrium- und Wassergehalts des Gewebes in den verschiedenen Muskelkompartimenten der beiden Gruppen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

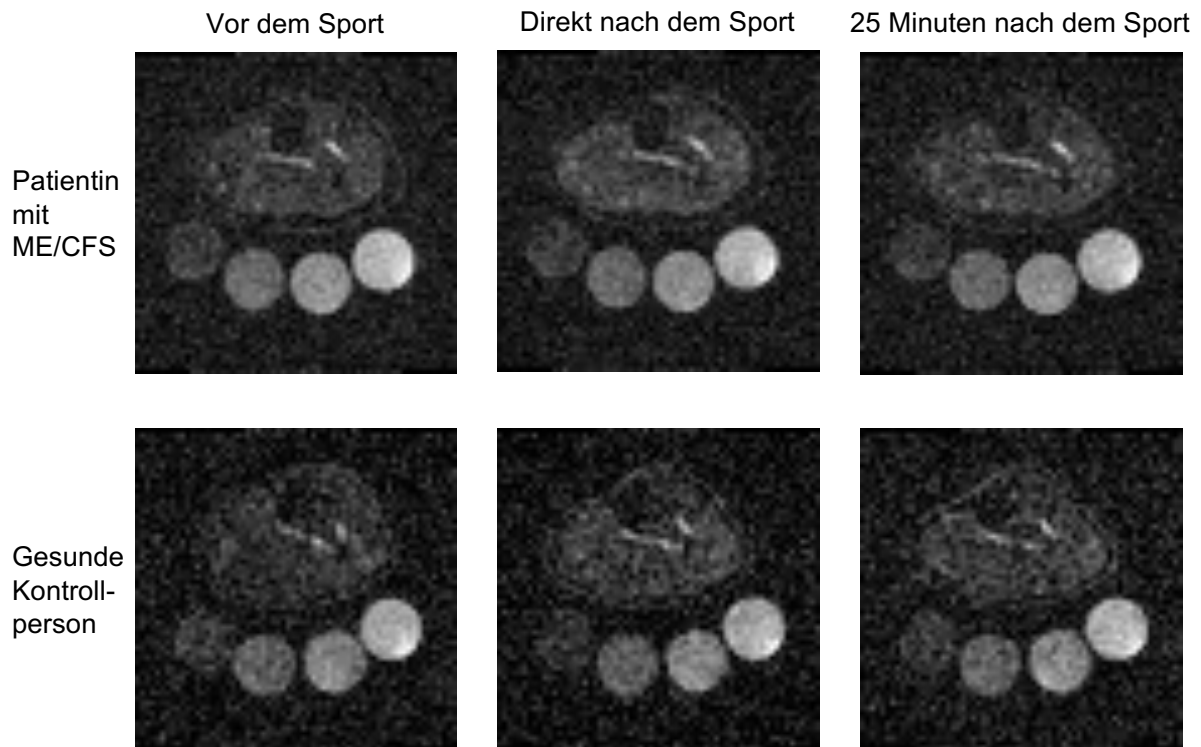


Abbildung 3: ^{23}Na -MRT-Bilder des Unterschenkels einer ME/CFS-Patientin und einer gesunden Kontrollperson zeigen die dynamische Entwicklung des Natriumgehalts über die Zeit. Erhöhte Natriumsignale sind im Muskelgewebe direkt nach der Belastung im Vergleich zum Ausgangswert und nach einer Erholungszeit von 25 Minuten sichtbar. Die Referenzphantome unterhalb des Unterschenkelquerschnitts erscheinen aufgrund ihrer Natriumkonzentration in unterschiedlicher Intensität (von links nach rechts: 10, 20, 30 und 40 mmol/L NaCl, modifiziert nach Petter et al., 2022).

Im M. Triceps surae sowie im medialen und lateralen M. Gastrocnemius zeigte sich nach der Muskelbelastung in beiden Gruppen im Vergleich zu den Ausgangswerten ein statistisch signifikant erhöhter Natriumgehalt. Im medialen M. Gastrocnemius wurde der stärkste Anstieg des Natriumgehalts beobachtet: Patientinnen mit ME/CFS von $10,50 \pm 0,78$ mM vor Belastung auf $13,65 \pm 0,69$ mM eine Minute nach Belastung (+30%; $p=0,0005$), gesunde Kontrollen von $10,23 \pm 1,24$ vor Belastung auf $12,67 \pm 1,28$ eine Minute nach Belastung (+24 %; $p=0,0007$).

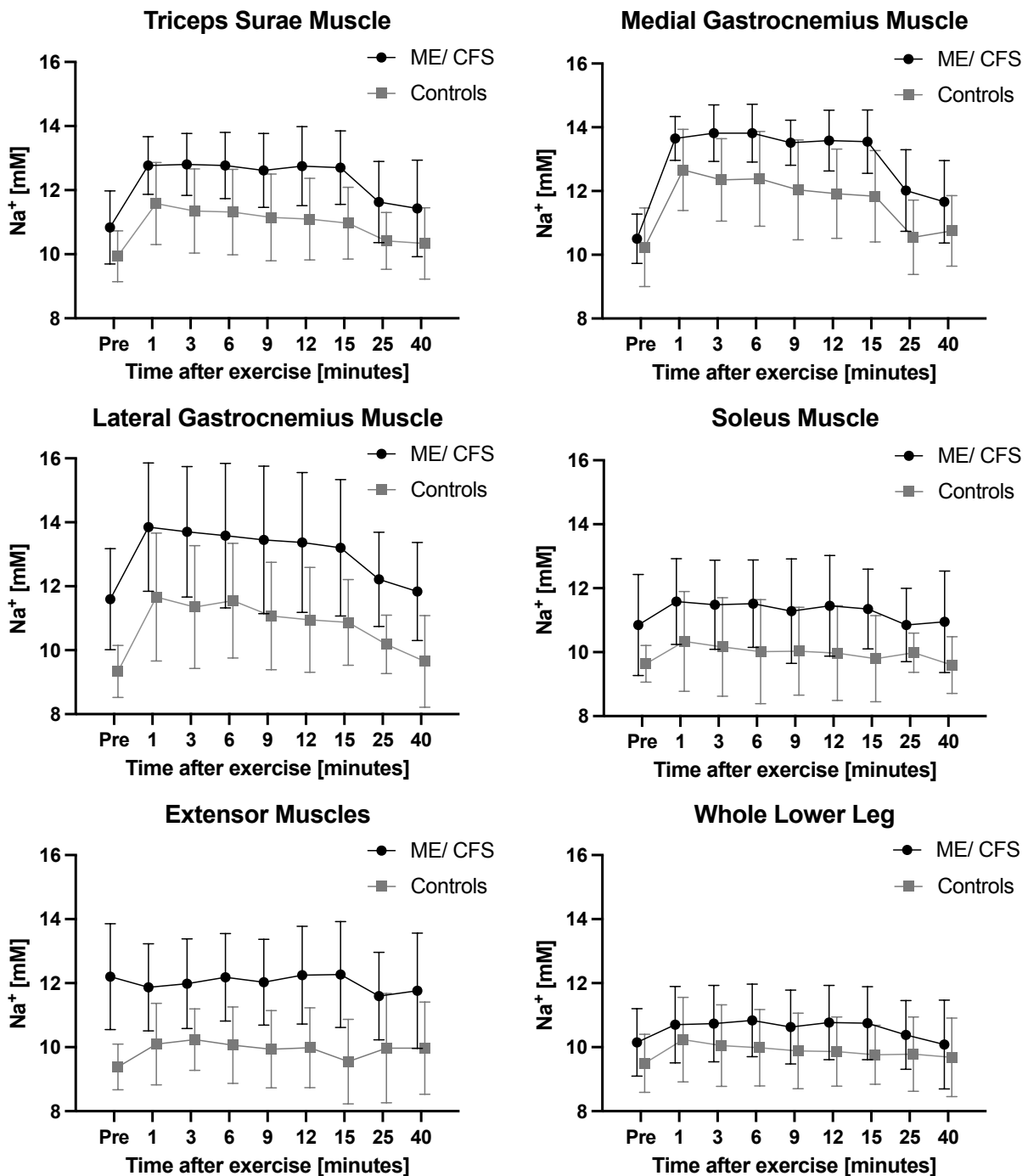


Abbildung 4: Natriumgehalt der Unterschenkelmuskulatur. Mittelwerte in mM mit Standardabweichung. Sechs Kompartimente des Unterschenkels von Patientinnen und Kontrollen wurden untersucht: Triceps surae, medialer Gastrocnemius, lateraler Gastrocnemius, Soleus, Streckmuskeln/Extensoren und der gesamte Unterschenkelquerschnitt. Direkt nach dem Training stieg der Natriumgehalt im Gewebe aller trainierten Muskelkompartimente in beiden Gruppen an. Bei den Patientinnen war der Natriumgehalt der trainierten Muskeln höher als bei den Kontrollpersonen. Der Natriumgehalt des Gewebes nahm innerhalb der 40-minütigen Erholungsphase in beiden Gruppen wieder ab. In den Extensoren, die nicht trainiert wurden, zeigten die Patientinnen durchgehend höhere Werte als die Kontrollen (modifiziert nach Petter et al., 2022).

Innerhalb der 40-minütigen Erholungsphase nahm der Natriumgehalt in den zuvor belasteten Muskeln in beiden Gruppen wieder ab. Im M. Soleus, welcher nicht an der Muskelübung beteiligt war, zeigte sich nach der Belastung in beiden Gruppen nur ein geringer Anstieg des Natriumgehalts. Weder Patientinnen mit ME/CFS noch die gesunden Kontrollpersonen zeigten einen Anstieg des Natriumgehalts in den Extensoren, welche zur internen Kontrolle dienten, da sie bei der Übung nicht belastet wurden. Der Wassergehalt des Gewebes der Unterschenkelmuskulatur zeigte sich in beiden Gruppen über die Zeit unverändert. Abbildung 4 zeigt graphisch den dynamischen Verlauf des Natriumgehalts der einzelnen Muskeln vor und nach Belastung der Wadenmuskulatur kontinuierlich über die Zeit.

3.4 Vergleich des Natrium- und Wassergehalts zwischen Patientinnen und Gesunden

Der Ausgangswert des Natriumgehalts vor Belastung der Wadenmuskulatur war bei den Patientinnen mit ME/CFS in allen fünf Muskeln des Unterschenkels höher als bei den gesunden Kontrollen (Abb. 4). Ein statistisch signifikanter Unterschied des Natriumgehalts vor Belastung der Muskulatur zeigte sich jedoch lediglich in den Extensoren mit $12,2 \pm 1,66$ mM bei den Patientinnen mit ME/CFS und $9,38 \pm 0,71$ mM bei den gesunden Kontrollpersonen ($p=0,0034$). Nach dem Muskeltraining stieg der Natriumgehalt im Gewebe aller beanspruchten Muskeln an und war bei den Patientinnen mit ME/CFS zu allen acht Messzeitpunkten während der 40-minütigen Messperiode höher als bei den Personen der Kontrollgruppe (jeweils $p < 0,0001$). Die Abnahme des Natriumgehalts über die Zeit zeigte sich bei den Patientinnen mit ME/CFS langsamer als bei den gesunden Kontrollen. Im medialen M. Gastrocnemius beispielsweise war der Natriumgehalt mit +30% bei ME/CFS vs. +17% bei den Kontrollen nach 12 Minuten im Vergleich zum Ausgangswert ($p=0,0326$), und +29% bei ME/CFS vs. +16% bei den Kontrollen nach 15 Minuten im Vergleich zum Ausgangswert ($p=0,0265$) signifikant höher. Zu keinem Zeitpunkt der gesamten Messung konnte in den verschiedenen Muskeln des Unterschenkels ein Unterschied im Wassergehalt des Gewebes zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

Tabelle 3. Natriumgehalt des Gewebes und Wassergehalt des Gewebes.

	ME/CFS			Kontrollen		
	Ausgangs- werte	Direkt nach dem Sport	40 Minu- ten nach dem Sport	Ausgangs- werte	Direkt nach dem Sport	40 Minu- ten nach dem Sport
Na⁺ [mM]						
Triceps surae						
Mittelwert (SD)	10.83 (1.15)	12.77 (0.90)	11.43 (1.51)	9.93 (0.79)	11.58 (1.13)	10.33 (1.12)
Δ (%)	+18	-10		+17	-11	
P-Wert	<0.0001	0.0090		0.0081	0.0002	
Medialer Gastrocnemius						
Mittelwert (SD)	10.50 (0.78)	13.65 (0.69)	11.67 (1.30)	10.23 (1.24)	12.67 (1.28)	10.75 (1.11)
Δ (%)	+30	-15		+24	-15	
P-Wert	0.0005	0.0182		0.0007	0.0002	
Lateraler Gastrocnemius						
Mittelwert (SD)	11.60 (1.58)	13.85 (2.01)	11.83 (1.54)	9.33 (0.82)	11.67 (2.01)	9.65 (1.44)
Δ (%)	+19	-15		+25	-17	
P-Wert	0.0060	0.0023		0.0373	0.0099	
Soleus						
Mittelwert (SD)	10.85 (1.58)	11.58 (1.34)	10.95 (1.59)	9.63 (0.58)	10.33 (1.56)	9.60 (0.89)
Δ (%)	+7	-5		+7	-7	
P-Wert	0.0197	0.1334		0.3220	0.0974	
Extensoren						
Mittelwert (SD)	12.20 (1.66)	11.87 (1.37)	11.77 (1.81)	9.38 (0.71)	10.10 (1.28)	9.97 (1.45)
Δ (%)	-3	-1		+8	-1	
P-Wert	0.5354	0.9014		0.2492	0.7796	
H₂O [kg/L]						
Triceps surae						
Mittelwert (SD)	1.16 (0.09)	1.16 (0.06)	-	1.16 (0.07)	1.16 (0.07)	-
Δ (%)	0			0		
P-Wert	0.8590			0.7131		
Medialer Gastrocnemius						
Mittelwert (SD)	1.19 (0.08)	1.19 (0.05)	-	1.21 (0.07)	1.19 (0.07)	-
Δ (%)	0			-1		
P-Wert	0.8240			0.2078		
Lateraler Gastrocnemius						
Mittelwert (SD)	1.10 (0.10)	1.08 (0.07)	-	1.09 (0.08)	1.09 (0.06)	-
Δ (%)	-2			0		
P-Wert	0.2676			0.7558		
Soleus						
Mittelwert (SD)	1.19 (0.09)	1.20 (0.06)	-	1.20 (0.08)	1.20 (0.08)	-
Δ (%)	+1			0		
P-Wert	0.4045			0.8302		
Extensoren						
Mittelwert (SD)	1.22 (0.10)	1.24 (0.10)	-	1.21 (0.07)	1.23 (0.08)	-
Δ (%)	+2			+1		
P-Wert	0.1345			0.5989		

Tabelle 3. ME/CFS, Myalgische Enzephalomyelitis/Chronisches Fatigue Syndrom. Mittelwerte des Natrium- und Wassergehalts mit Standardabweichung (SD) in Klammern. Δ (%) ist der Prozentsatz der Zunahme/Abnahme nach der Belastung und nach einer Erholungszeit von 40 Minuten. P-Wert bezieht sich auf den Vergleich der Ausgangswerte mit den Werten direkt nach dem Sport bzw. der Werte direkt nach dem Sport mit den Werten nach 40 Minuten Erholung (modifiziert nach Petter et al., 2022).

3.5 Korrelation zwischen Handmuskelkraft und Natriumgehalt im Muskelgewebe

Alle 12 Studienteilnehmerinnen absolvierten zwei Durchgänge zehn aufeinanderfolgender Messungen der maximalen Handmuskelkraft, wobei der zweite 60 Minuten nach dem ersten Messdurchgang stattfand. Im Vergleich zu den gesunden Probandinnen zeigten die Patientinnen mit ME/CFS eine statistisch signifikante geringere maximale und mittlere Handmuskelkraft (Abb. 5). In der ersten Messung wiesen die Patientinnen eine mittlere Handmuskelkraft von $12,6 \pm 6,3$ kg, während sie bei den gesunden Kontrollen bei $27,2 \pm 4,8$ kg lag ($p=0,0011$). Auch in der zweiten Messung lag die mittlere Handmuskelkraft der Patientinnen mit ME/CFS ($10,1 \pm 5,6$ kg) deutlich unter der der gesunden Kontrollpersonen ($26,9 \pm 4,2$ kg; $p=0,0002$). Außerdem wiesen die Patientinnen mit ME/CFS eine geringere Erholungsrate (mittlere Handmuskelkraft der ersten Messung/ die der zweiten Messung) auf ($p=0,0055$), während sich bei den gesunden Kontrollen in beiden Sitzungen eine ähnliche mittlere Handgriffstärke zeigte ($p=0,5342$; Abb. 5).

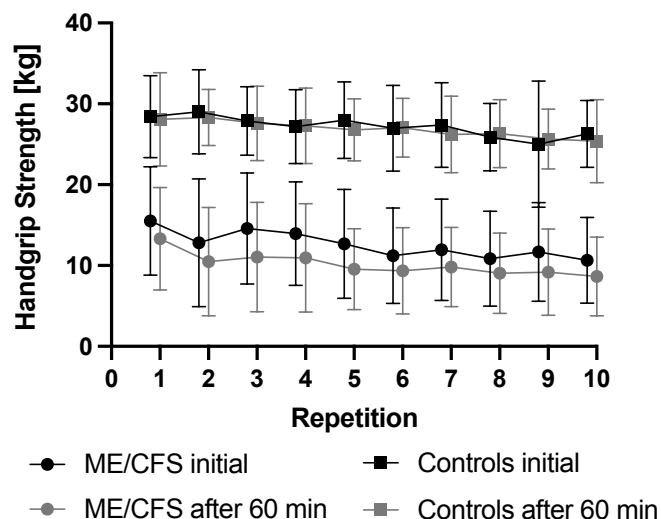


Abbildung 5: Messung der Handmuskelkraft mit 10 Wiederholungen in zwei Durchgängen. Mittelwerte in kg mit Standardabweichung. Die Ergebnisse des ersten Messdurchgangs sind durch die schwarze Linie dargestellt, die des zweiten durch die graue Linie. Die Patientinnen mit ME/CFS schnitten im zweiten Durchgang nach 60 Minuten deutlich schlechter ab als im ersten, während die mittlere Handmuskelkraft bei den Gesunden unverändert blieb. Im Vergleich zu den Kontrollen zeigten die Patientinnen in beiden Messdurchgängen eine signifikant geringere mittlere Handgriffkraft (modifiziert nach Petter et al., 2022).

Schließlich korrelierten wir sowohl die Werte der mittleren Handmuskelkraft des ersten Messdurchgangs mit den Ausgangswerten des Natriumgehalts als auch die Werte der mittleren Handmuskelkraft des zweiten Messdurchgangs mit dem durchschnittlichen Natriumgehalt nach Belastung der Muskulatur. In Abbildung 6 sind die Korrelationen

zwischen der Handgriffstärke und den einzelnen Muskeln des Unterschenkels dargestellt. Es wurde eine inverse Korrelation zwischen der Handmuskelkraft des ersten Messdurchgangs und dem Ausgangswert des Natriumgehalts aller Unterschenkelmuskeln (Durchschnitt aus M. Triceps surae, medialem und lateralem M. Gastrocnemius, M. Soleus und Extensoren) beobachtet ($p=0,0500$; $R^2=0,3317$; $N=12$). Des Weiteren konnte zwischen der Handmuskelkraft des zweiten Messdurchgangs und dem Natriumgehalt aller Unterschenkelmuskeln im Durchschnitt nach der Belastung ($p=0,0319$; $R^2=0,3832$; $N=12$) eine inverse Korrelation festgestellt werden. Eine inverse Korrelation zeigte sich zwischen der Handmuskelkraft des zweiten Durchgangs und dem Natriumgehalt des M. Triceps surae ($p=0,0203$; $R^2=0,4317$; $N=12$) und des medialen M. Gastrocnemius ($p=0,0095$; $R^2=0,5055$; $N=12$), jeweils nach der Belastung. Bei allen anderen Muskeln konnte keine statistisch signifikante inverse Korrelation zwischen Natriumgehalt und der Handmuskelkraft festgestellt werden.

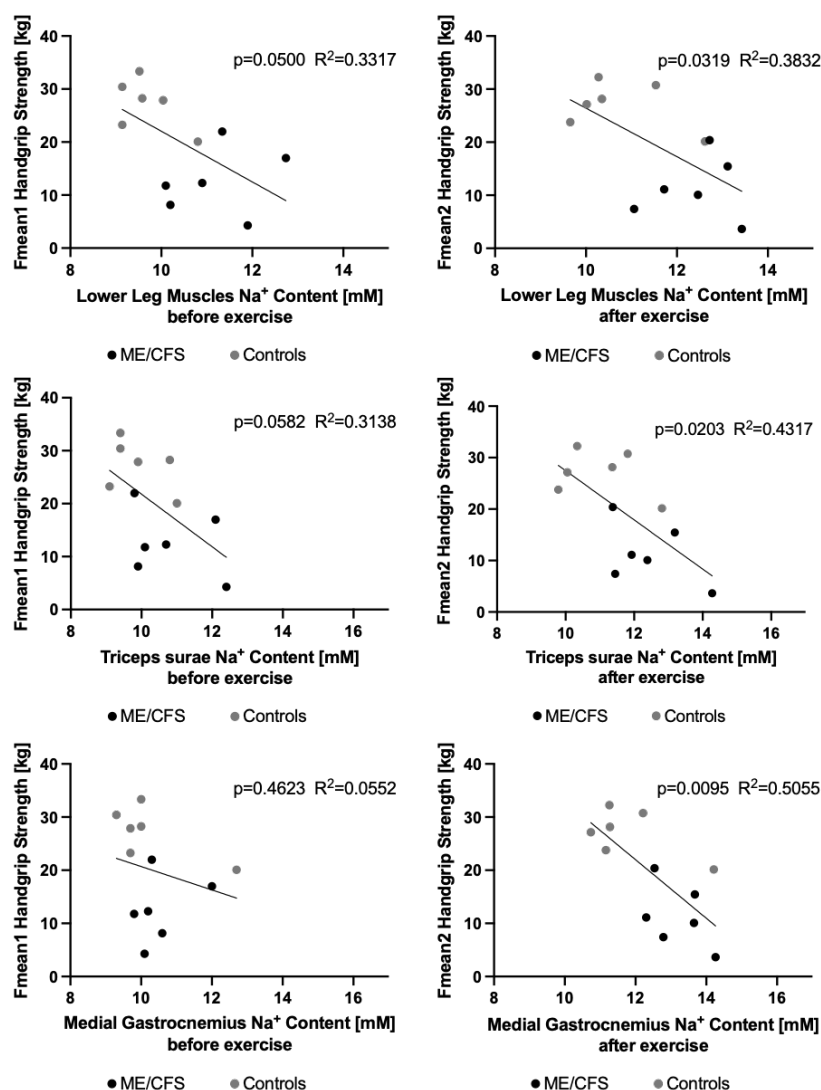


Abbildung 6: Fortsetzung auf der nächsten Seite.

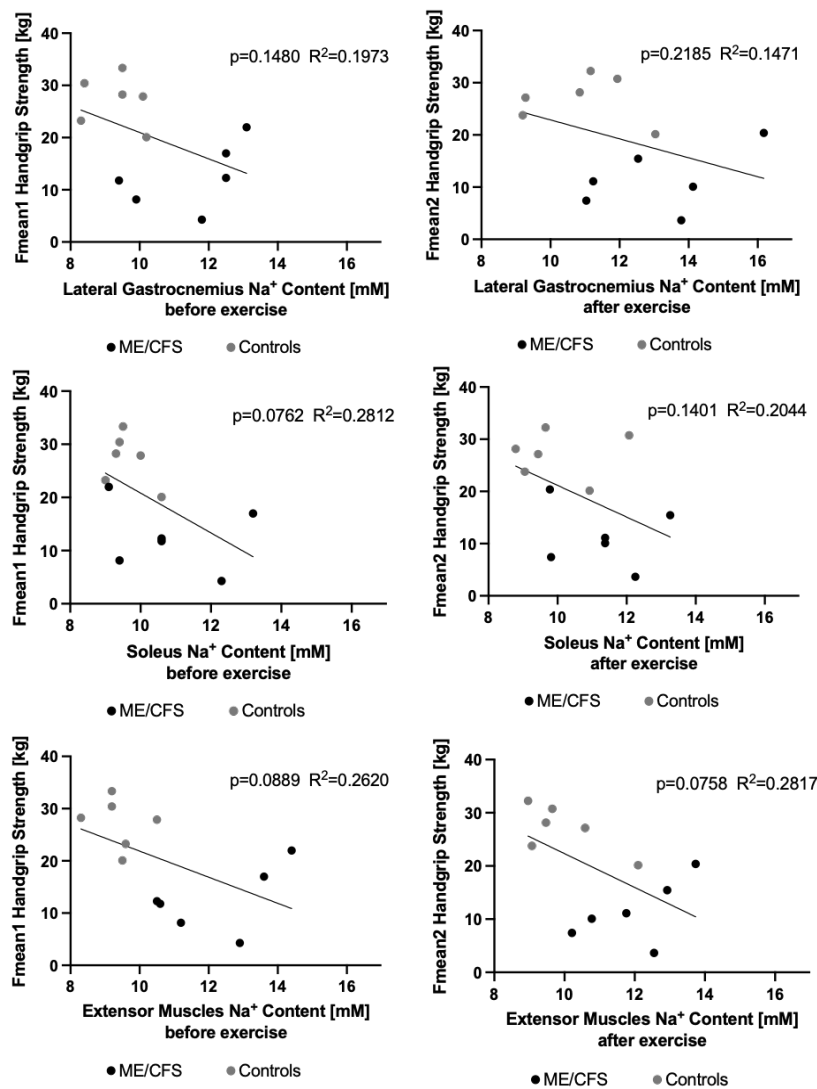


Abbildung 6: Streudiagramme mit linearen Regressionslinien. Es wurde eine inverse Korrelation zwischen der Handmuskelkraft des ersten Messdurchgangs und dem Ausgangswert des Natriumgehalts aller Unterschenkelmuskeln (Durchschnitt aus *M. Triceps surae*, medialem und lateralem *M. Gastrocnemius*, *M. Soleus* und Extensoren) beobachtet ($p=0,0500$; $R^2=0,3317$; $N=12$). Ebenso zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen der Handmuskelkraft des zweiten Messdurchgangs und dem Natriumgehalt aller Unterschenkelmuskeln im Durchschnitt ($p=0,0319$; $R^2=0,3832$; $N=12$), des *M. Triceps surae* ($p=0,0203$; $R^2=0,4317$; $N=12$) und des medialen *M. Gastrocnemius* ($p=0,0095$; $R^2=0,5055$; $N=12$), jeweils nach der Belastung. Zwischen dem Natriumgehalt aller anderen Unterschenkelmuskeln und der Handmuskelkraft zeigte sich keine signifikante inverse Korrelation (modifiziert nach Petter et al., 2022).

4. Diskussion

4.1 Wesentliche Ergebnisse der Studie

Die ^{23}Na -MRT bietet eine Methode zur Untersuchung der Natriumhomöostase bei Patient:innen mit ME/CFS. Der intramuskuläre Natriumgehalt kann hiermit nichtinvasiv quantifiziert werden. Mithilfe des eigens für die Studie programmierten Plugins ließen sich die Bilder des MR-Datensatzes so rekonstruieren, dass eine kontinuierliche Messung über die Zeit möglich war. Somit konnten wir die Veränderung des Natriumgehalts in der Muskulatur von ME/CFS-Patientinnen und gesunden Probandinnen nach einer Belastung der Unterschenkelmuskeln ermitteln. Der Natriumgehalt der Unterschenkelmuskulatur bei Patientinnen mit ME/CFS war sowohl in Ruhe als auch nach Belastung höher als bei den gesunden Kontrollpersonen. Patientinnen mit ME/CFS wiesen im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen eine geringere Handmuskelkraft auf. Darüber hinaus konnte eine inverse Korrelation zwischen dem mittleren Natriumgehalt der Unterschenkelmuskeln und der Handgriffstärke gezeigt werden.

4.2 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse unserer Studie bekräftigen die Theorien der kürzlich veröffentlichten Hypothesenpapieren von Scheibenbogen und Wirth zur Pathophysiologie der Erkrankung ME/CFS. In diesen wird eine Dysfunktion β_2 -adrenerger Rezeptoren ($\beta_2\text{R}$) mit resultierender Dysfunktion des autonomen Nervensystems samt vaskulärer Dysregulation als entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung diskutiert. Als Resultat dieser Dysfunktion wird eine Störung der intrazellulären Ionenhomöostase, eine Dysfunktion der Mitochondrien und eine Hypoperfusion der Muskulatur angenommen (43). Eine intrazelluläre Natriumüberladung mit darauffolgender Calciumüberladung wird als Folge der Hypoxämie und Ursache der muskulären Beschwerden bei ME/CFS vermutet. Die Ermüdung und Ermüdbarkeit der Muskulatur werden durch eine adäquate Muskeldurchblutung sowie die Funktion der Na^+/K^+ -ATPase beeinflusst. Endotheliale Dysfunktion, die bei ME/CFS bereits nachgewiesen werden konnte, führt zu einer Hypoperfusion der Muskulatur und verminderter ATP-Produktion, was für die Energiebereitstellung im Muskel essenziell ist (26, 79). Da die Na^+/K^+ -ATPase im Skelettmuskel von $\beta_2\text{R}$ stimuliert wird, können dysfunktionale $\beta_2\text{R}$ zu einer inadäquaten Stimulation der Na^+/K^+ -ATPase führen (40-42). Im Skelettmuskel gilt der Natrium-Protonen-Austauscher 1 (NHE1) als

wichtigster Exporteur von Protonen. Dieser exportiert als an der Zellmembran lokalisierter Transporter Protonen über den Import von Natriumionen. In Situationen mit geringer Energie führt eine erhöhte Produktion von Protonen zu einem Anstieg des intrazellulären Natriums über NHE1. Einen Überblick über die zahlreichen Transporter und Pumpen in der Zellmembran der Myozyten, welche am Transport von Natrium, Calcium, Kalium und Protonen beteiligt sind, verschafft die Abbildung 7.

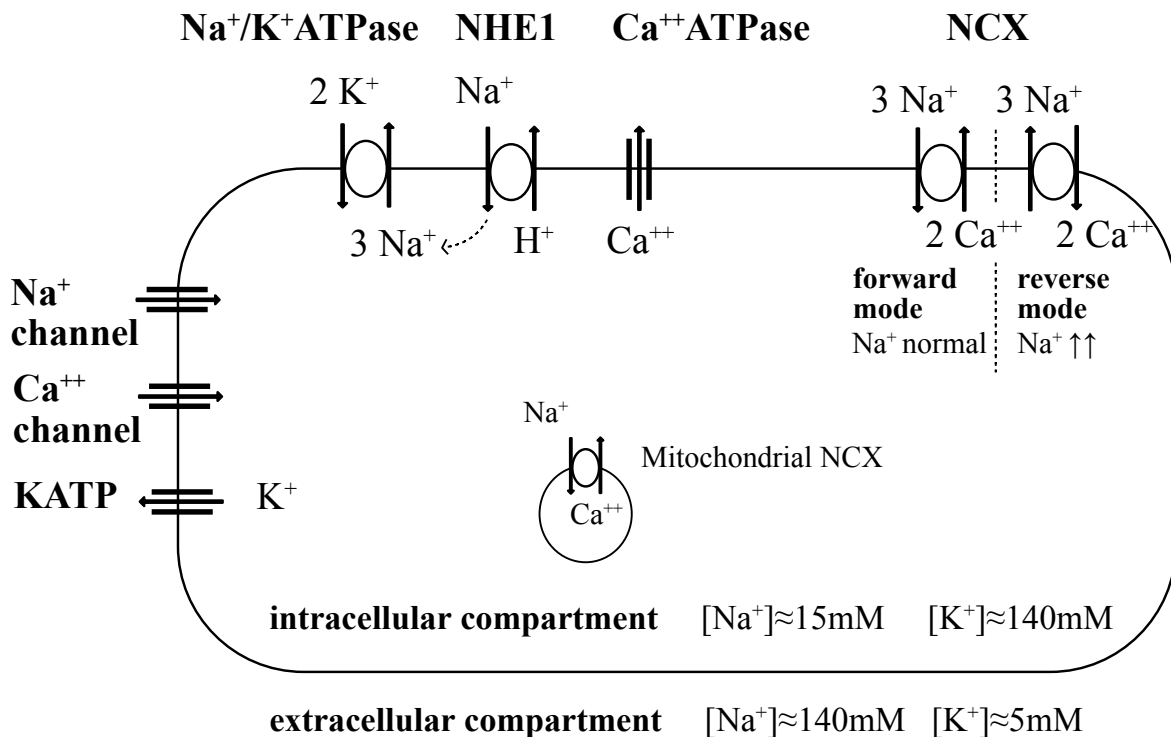


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Myozyten. Zahlreiche Kanäle, Pumpen und Transporter der Zellmembran sind am Transport von Protonen, Natrium, Calcium und Kalium beteiligt. Physiologisch arbeitet der Natrium-Calcium-Austauscher (NCX) im „Vorwärtsmodus“, um Calcium zu exportieren. Eine hohe intrazelluläre Natriumkonzentration, die durch eine hohe Aktivität des Natrium-Wasserstoff-Austauschers (NHE1) und eine geringe Aktivität der Na⁺/K⁺-ATPase verursacht wird, kann die Transportrichtung des NCX umkehren, sodass Calcium importiert anstatt exportiert wird, was zu einer intrazellulären Calciumüberladung führt (modifiziert nach Petter et al., 2022).

Unter ATP-Verbrauch wird Natrium durch die Na⁺/K⁺-ATPase aus dem Myozyten heraustransportiert. Wir gehen davon aus, dass der Transport des Natriums aus der Zelle heraus neben der verminderten Bildung von ATP durch die Dysfunktion des β₂R (welche in Folge zu einer inadäquaten Stimulation der Na⁺/K⁺-ATPase führt) beeinträchtigt wird (43). Durch den erhöhten intrazellulären Natriumgehalt kann die Transportrichtung des Natrium-Calcium-Austauschers (NCX) umgekehrt werden. In Folge dieses außergewöhnlichen Zustandes wird Calcium in die Zelle importiert anstatt exportiert, der NCX

arbeitet also im Rückwärtsmodus. Dieser Mechanismus wird auch im Kontext des Ischämie-Reperfusionssparadox als Ursache für Störungen des Ionentransportes verantwortlich gemacht (80, 81). Durch die resultierende intrazelluläre Calciumüberladung wird der mitochondriale Stoffwechsel und das Endothelium beeinträchtigt, was die energetische Situation weiter verschlechtern kann. Eine Erklärung für Symptome wie Schmerzen und Unwohlsein nach einer Belastung, PEM und Chronifizierung, die nur durch eine intramuskuläre Azidose nicht begründet werden können, liegt somit vor. Mitochondriale Dysfunktion wird in der Literatur oft eine Rolle in der Pathophysiologie von ME/CFS und in der Entstehung von Fatigue zugeschrieben (82, 83). Veränderungen des Calciumgehalts in der Zelle und im Mitochondrium durch den NCX, induziert durch einen Anstieg des intramuskulären Natriums, können als zentrale Mechanismen für die energetische und mitochondriale Störung bei ME/CFS angesehen werden. Mit derzeitigen Forschungsmethoden gelang bis zum jetzigen Zeitpunkt jedoch kein direkter Nachweis dieser Hypothesen (25, 43). Der in dieser Studie nachgewiesene erhöhte Natriumgehalt bei Patientinnen mit ME/CFS liefert den Beweis, dass die Bedingungen für einen gestörten Calciumhaushalt durch den NCX in der Skelettmuskulatur bei ME/CFS tatsächlich vorhanden sind. Wir nehmen an, dass letztlich die intrazelluläre Calciumüberladung der schädigende Mechanismus ist, der zu den Muskelbeschwerden bei ME/CFS führt. Unsere Ergebnisse tragen zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie von ME/CFS bei und können langfristig als Grundlage für die Entwicklung therapeutischer Strategien dienen.

Die Na^+/K^+ -ATPase transportiert als eine in der Zellmembran verankerte Pumpe drei Natriumionen aus der Zelle heraus und zwei Kaliumionen in die Zelle hinein. Im Falle einer unzureichenden Stimulation der Na^+/K^+ -ATPase kommt es zu einem Anstieg des intrazellulären Natriums und gleichzeitig zu einer Abnahme des intrazellulären Kaliums. Die Ergebnisse unserer Pilotstudie zeigen ebendiesen Anstieg des intrazellulären Natriums direkt nach der muskulären Belastung. Zuvor veröffentlichte Studien geben wiederum Hinweise auf eine Abnahme des intrazellulären Kaliums. In einer Forschungsarbeit wurde mithilfe eines Ganzkörper-Szintillationszählers bei Patient:innen mit ME/CFS eine signifikante Verminderung des Gesamtkörperkaliums um etwa 10% im Vergleich zu gesunden Proband:innen festgestellt (84). Eine aktuellere Studie stellte bei Patient:innen mit ME/CFS niedrigere Plasmakaliumwerte im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen fest. Interessanterweise war eine längere Krankheitsdauer signifikant

mit dem Kaliumspiegel verbunden, der mit zunehmender Dauer der Erkrankung abnahm (85). In einer weiteren Studie wurde der Kaliumgehalt im Blut vor und nach einer muskulären Belastung am Ergometer gemessen, um den Kaliumefflux im Verhältnis zur Belastung zu bewerten. Hierbei konnte bei Patient:innen mit ME/CFS nach muskulärer Belastung ein verminderte Kaliumefflux festgestellt werden, welcher durch die Entwicklung einer intrazellulären Hypokaliämie erklärt werden könnte (86). Als Ursache wurde der Einfluss von Reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) diskutiert, eine Erhöhung der ROS nach dem Training könnte die Na^+/K^+ -ATPase zusätzlich hemmen (87). Wenn das während der Repolarisation aus den Zellen freigesetzte Kalium nicht schnell genug und suffizient von der Na^+/K^+ -ATPase in der arbeitenden Muskulatur aufgenommen wird, gelangt es in den Blutkreislauf und wird renal ausgeschieden, sodass es während des Trainings zu einem Kaliumverlust kommen kann (43). Die in der Literatur aufgeführten Nachweise eines verminderten intrazellulären Kaliums in Zusammenhang mit dem ungelungenen direkten Nachweis des intrazellulären Natriumanstiegs nach körperlicher Belastung stützen die Hypothese einer verminderten Na^+/K^+ -ATPase-Aktivität bei der Erkrankung ME/CFS.

Da die ^{23}Na -MRT-Bildgebung nur in Ruhe stattfinden kann, um die gewünschte Bildqualität zu gewährleisten, ist es technisch nicht möglich, Natrium während der Muskelbelastung zu messen. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass das Natrium während der Belastung sehr viel stärker ansteigt als man es vor und nach dem Training intrazellulär im Muskel messen kann. Im Falle einer Exzitation gelangt Natrium über Natriumkanäle und Ionentransporter, wie beispielsweise dem NHE1, in die Zellen. Demnach müsste während des Trainings der Natriumgehalt höher sein als im Ruhezustand. Wenn der Prozess des Natriumanstiegs und -abfalls sehr dynamisch ist, wäre es denkbar, dass es während der Belastung zu einem Anstieg des Natriums kommt und der tatsächliche Natriumgehalt höher ist als der messbare. Möglicherweise ist die Akkumulation des Natriums jedoch nicht so stark, sodass der Großteil des Natriumüberschusses nach einigen Minuten schon wieder beseitigt werden kann. Der nach der Belastung festgestellte Anstieg des Natriums könnte auf eine erhöhte Aktivität des NHE1 nach muskulärer Belastung zurückzuführen sein. Eine erhöhte Aktivität des NHE1 kann durch den Protonenausfluss als Folge eines glykolytischen Stoffwechsels bei verminderter Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase entstehen. Jones et al. berichteten über einen abnorm verlängerten Protonenausfluss unmittelbar nach Belastung der Muskulatur bei ME/CFS-Patient:innen

(39). Womöglich ist die Aktivität des NHE1 während des Trainings vermindert, da hohe intrazelluläre Natriumspiegel eine geringere Antriebskraft bewirken können. Dies wäre eine plausible Erklärung für den beobachteten verlängerten Protonenausfluss. Außerdem würde es den erhöhten Natriumanstieg und -gehalt während der Belastung im Vergleich zu dem nach der Belastung erklären. Direkt nach der muskulären Belastung kann das intrazelluläre Natrium schnell wieder abfallen, da kein weiteres Natrium mehr über die Natriumkanäle eintritt. Protonen können sich tatsächlich während des Trainings in den Muskelzellen ansammeln, das Resultat ist eine intrazelluläre Azidose. Eine Azidose bzw. Dysregulation der Protonen während oder nach körperlichem Training konnte bereits in mehreren Studien bei Patient:innen mit ME/CFS belegt werden (37, 38, 88). Nach Wiederherstellung der Antriebskraft des NHE1 könnte der nach dem Training beobachtete Anstieg des intrazellulären Natriums wiederum durch die Beseitigung des Protonenüberschusses über den NHE1 verursacht werden.

Die Messung des Natriumgehalts im Muskelgewebe wurde durch die Intensitätswerte der vier Kalibrierungsphantome mit NaCl-Lösungen in verschiedenen Konzentrationen ermöglicht (77). Nachdem die Intensitäten der Referenzphantome und des Gewebes in einer linearen Trendanalyse in die Konzentrationen umgerechnet wurden, verwendeten wir mM als Einheit, um den Natriumgehalt im Gewebe auszudrücken. Es ist jedoch zu beachten, dass bei den Methoden unseres Scanprotokolls das Signal sehr schnell abklingt und Anteile des Natriums im Gewebe zum Zeitpunkt der Messung nicht mehr sichtbar bzw. messbar sind. Aus diesem Grund sind unsere Werte in mM niedriger als die Werte aus früheren Veröffentlichungen und können nicht direkt mit diesen verglichen werden (73).

Der Gesamtnatriumgehalt wurde im Muskelgewebe und in den kleinen Gefäßen, die das Muskelgewebe versorgen, gemessen und bestimmt. Mittels ^{23}Na -MRT lassen sich prinzipiell lang- und kurzlebige Natriumkomponenten messen. Es wird angenommen, dass es sich bei den langlebigen Komponenten vorwiegend um das mobile, flüssige Natrium handelt, welches das extrazelluläre Natrium darstellt. Kurzlebiges Natrium wiederum wird als intrazelluläres Natrium angesehen.

Bei der Echozeit (TE 2,44), die wir in unserem Messprotokoll verwendeten sind nur noch etwa 30% des kurzlebigen Natriums detektierbar, daher gehen wir davon aus, dass wir somit hauptsächlich die langlebigen Natriumkomponenten gemessen haben,

denn zum Messzeitpunkt war ein Großteil des kurzlebigen Natriumsignals bereits wieder abgeklungen (72). Da Scan-Protokolle, die eine Abbildung von hauptsächlich intrazellulärem Natrium ermöglichen länger als zehn Minuten andauern, konzentrierten wir uns ähnlich wie Hammon et al. in ihrer Studie auf die Ergebnisse der Bildgebung direkt nach der Belastung (62). Innerhalb des 10-minütigen Zeitraums beobachteten wir jedoch bereits eine Abnahme des Natriumgehalts. Ein länger als zehn Minuten andauerndes Messprotokoll hätte uns daher nicht ermöglicht, den dynamischen Verlauf den Natriumgehalts direkt nach der Belastung kontinuierlich zu messen. Um eine präzise Unterscheidung zwischen intrazellulärem und extrazellulärem Natrium zu gewährleisten, empfehlen wir die Durchführung weiterer Studien unter Verwendung von radialen Sequenzen und kürzeren Echozeiten. Eine Optimierung der von uns verwendeten MRT-Methode und -Technik für eine Anwendungen in größeren Studienkohorten und langfristig potenziell auch im klinischen Alltag wäre wünschenswert. Dies könnte unserer Meinung nach mittels einer Reduktion von Bewegungsartefakten durch Maßnahmen wie Navigationsimpulse oder Kamerasteuerung ermöglicht werden (73).

Durch die Verwendung des semiquantitativen Salzfragebogens konnten wir ausschließen, dass durch individuell unterschiedlichen Salzkonsum unsere Messergebnisse des Natriumgehalts beeinflusst wurden. Zwischen den beiden Studienpopulationen zeigten sich keine Unterschiede hinsichtlich der täglichen Salzaufnahme und des Salzappetits.

4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand

Unseres Wissens führten wir weltweit die erste ^{23}Na -MRT-Studie bei Patient:innen mit ME/CFS durch (73). Aus diesem Grund liegen in der Literatur keine Daten vor, mit denen wir unsere Studienergebnisse vergleichen können. Bezüglich zukünftiger Forschung wären weitere klinische Studien mit ME/CFS-Patient:innen mit der Frage nach Reliabilität und Validität der Ergebnisse unserer Pilotstudie wünschenswert.

Bei gesunden Personen konnte schon in mehreren ^{23}Na -MRT-Studien ein Anstieg des Natriumgehalts im Muskelgewebe direkt nach anaerober Belastung beobachtet werden (61, 62). Diese Ergebnisse konnten wir anhand unserer gesunden Studienpopulation validieren. Unsere MRT-Bilder zeigten nach der Muskelbelastung einen Anstieg des Natriumgehalts ohne gleichzeitigen Anstieg des Wassergehalts im Muskelgewebe. In einer anderen Studie zeigten sich dieselben Ergebnisse, weswegen man davon ausge-

hen kann, dass Natrium nicht-osmotisch im Gewebe gespeichert werden kann (48). Unsere Ergebnisse sind konsistent mit einer vorherigen Studie, die zeigte, dass bei gesunden Personen der Natriumgehalt etwa 35 Minuten nach einer Muskelbelastung wieder auf die Ausgangswerte zurückkehrt (63). In unserer Studie konnten wir feststellen, dass sowohl bei den gesunden Probandinnen als auch bei den Patientinnen mit ME/CFS der Natriumgehalt im Gewebe etwa 40 Minuten nach der Muskelbelastung auf das Ausgangsniveau zurückging. Ähnlich wie die gesunden Probandinnen reagierten auch die Patientinnen mit ME/CFS auf die Belastung mit einer initialen Erhöhung des Natriumgehalts im Muskelgewebe, gefolgt von einer kontinuierlichen Abnahme über die Zeit.

4.4 Limitationen der Studie

In unserer Pilotstudie wurde, soweit uns bekannt ist, erstmalig der Natriumgehalt der Muskulatur von Patient:innen mit ME/CFS mittels ^{23}Na -MRT gemessen und analysiert. In der Literatur lagen keine krankheitsspezifischen Daten vor, daher wurde prospektiv keine Power-Kalkulation durchgeführt. Trotz der kleinen Stichprobe ($n=12$) konnten signifikante Unterschiede im Natriumgehalt der Muskulatur zwischen den sechs Patientinnen mit ME/CFS und den sechs Probandinnen der gesunden Kontrollgruppe festgestellt werden. Die Ergebnisse dieser Gruppenunterschiede können für die Planung zukünftiger, prospektiver Studien mit größeren Kohorten genutzt werden.

Es ist unklar, inwieweit die Ergebnisse unserer Studie von der Immobilität der Patientinnen mit ME/CFS beeinflusst wurden. Möglicherweise wurden die Ergebnisse durch individuellen Muskelzustand und unterschiedliche Trainingsintensität und Muskelaktivierung beeinflusst. Dieses potenzielle Bias könnte in zukünftigen Studien durch die Verwendung eines speziell angefertigten, MRT-kompatiblen Trainingsgeräts für die Wadenmuskulatur verhindert werden. Die Erstellung unseres Belastungsprotokolls erfolgte nach einer umfassenden Literaturrecherche und zahlreichen internen Testungen. Infolgedessen gingen wir davon aus, dass eine ausreichende Belastung der Muskulatur wichtiger ist als die Art der Übung. Alle 12 Studienteilnehmerinnen führten das gleiche Belastungsprotokoll durch. Die Muskelbelastung erfolgte drei Minuten lang bis zur Erschöpfung. Eine Person aus dem Studienteam war währenddessen anwesend und überprüfte die Übung auf korrekte Ausführung und ausreichende Intensität. Als Indikator für eine adäquate Muskelbelastung zählt die Tatsache, dass alle 12 Studienteilnehmerinnen

nach der Übung einen Muskelkater hatten bzw. über Muskelschmerzen und Muskeler-schöpfung berichteten.

Für die Berechnung der Korrelation zwischen Muskelkraft und Natriumgehalt der Mus-kulatur wurde in unserer Studie nicht dieselbe Muskelgruppe verwendet. Die Kraftmes-sung in kg erfolgte an der Hand- und Unterarmmuskulatur und die Messung des Natri-umgehalts in mM an der Unterschenkelmuskulatur. In zukünftigen Studien wäre es wün-schenswert, die Muskelkraft der Wadenmuskulatur mit einem Trainingsgerät in kg zu messen und mit dem Natriumgehalt in mM derselben Muskelgruppen zu korrelieren. Ein solches Trainingsgerät für die Unterschenkelmuskulatur stand uns nicht zur Verfügung. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass bei Patient:innen mit ME/CFS in den Muskelgruppen der Arme und Beine des Körpers ähnliche Situationen vorzufinden sind (31).

Die Verarbeitung und Analyse aller MR-Datensätze inklusive Einzeichnung aller ROIs in Horos erfolgten durch nur eine Person der Forschungsgruppe. In der Literatur zeigten Analysen der Inter- und Intraoperator-Variabilität bei ROI-basierten Messungen jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messungen (46, 70, 89).

4.5 Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen

Die Ergebnisse unserer Pilotstudie liefern die Grundlage zur Planung weiterführender Studien mit größeren Kohorten. Basierend auf unseren Ergebnissen führten wir eine statistische Power-Kalkulation durch, deren Resultate als Anhaltspunkte für weitere Stu-dien dienen können. Die Power-Kalkulation basierte auf dem primären Endpunkt, wel-cher als absoluter Natriumgehalt im Muskelgewebe vor dem Training definiert war. Der Stichprobenumfang wurde anhand eines Zwei-Stichproben-Mittelwerttests geschätzt. Für den primären Endpunkt der Studie wäre eine Stichprobengröße von 40 Personen erforderlich (20 in der ME/CFS-Gruppe und 20 in der Kontrollgruppe), um eine Aussa-gekraft von 80% und ein Signifikanzniveau von 5% (zweiseitig) zu erreichen, basierend auf unseren vorläufigen Tests. Um eine Aussagekraft von 90% und ein Signifikanzni-veau von 5% (zweiseitig) zu erreichen, wäre für den primären Endpunkt der Studie eine Stichprobengröße von 54 erforderlich (27 in der ME/CFS-Gruppe und 27 in der Kontroll-gruppe). Um eine Aussagekraft von 95% und ein Signifikanzniveau von 5% (zweiseitig) zu erreichen, wäre für den primären Endpunkt der Studie eine Stichprobengröße von 66 erforderlich (33 in der ME/CFS-Gruppe und 33 in der Kontrollgruppe). Das Ziel sollte

sein, unsere ^{23}Na -MRT-Untersuchungen mit weiterentwickelter Methodik in größeren Studienkohorten durchzuführen und die Ergebnisse unserer Pilotstudie zu reproduzieren und validieren.

Sicherlich interessant wäre auch die Durchführung einer ^{39}K -MRT-Studie mit einer wie von uns verwendeten Wadenspule bei Patient:innen mit ME/CFS, um den Kaliumgehalt der Unterschenkelmuskulatur zu bestimmen. Ein verminderter Kaliumgehalt in der Muskulatur bei ME/CFS wäre ein weiterer Beweis, der die Hypothesen zur Pathophysiologie bekräftigen könnte. Hierbei muss jedoch erwähnt werden, dass die Bildgebung von Kalium noch nicht so weit entwickelt und verbreitet ist wie die von Natrium und aufgrund einer noch geringeren Signalintensität eine große Herausforderung darstellt (90, 91).

Für die klinische Routine würden wir, solange keine Auswirkungen auf Diagnostik oder Therapie nachgewiesen werden können, unser Untersuchungsverfahren nicht empfehlen, da alle Patientinnen mit ME/CFS direkt nach der muskulären Belastung über Unwohlsein und Schmerzen berichteten und im Anschluss unter PEM litten. Außerdem sind die Messmethoden, mit denen wir im Rahmen unserer Studie arbeiteten für die klinische Praxis eher ungeeignet, da die Vorbereitung sehr aufwändig und die Messdauer insgesamt sehr lange ist. Die weitere wissenschaftliche Nutzung von angepassten Messprotokollen der ^{23}Na -MRT in Kombination mit muskulärer Belastung könnte jedoch angesichts der hohen Krankheitslast bei ME/CFS gerechtfertigt werden.

Auf Grundlage der aufgestellten Hypothesen zur Pathophysiologie und der Ergebnisse unserer Studie könnte eine therapeutische Behandlung möglich werden. Die medikamentöse Stimulation der Na^+/K^+ -ATPase und des Blutflusses in der Skelettmuskulatur als neues Wirkstoffprinzip könnte Symptome wie Muskelschmerzen, -erschöpfung und -kraftlosigkeit bei Patient:innen mit ME/CFS wirksam behandeln.

5. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse unserer Pilotstudie deuten darauf hin, dass Natriumüberladung eine Rolle in der Pathophysiologie von ME/CFS spielen könnte. Es wäre wünschenswert, die erhöhten Natriumwerte im Muskelgewebe von Patient:innen mit ME/CFS auch in größeren Studienpopulationen nachzuweisen. Mithilfe weiterer Forschung könnte langfristig ein therapeutischer Ansatz für die Erkrankung ME/CFS ermöglicht werden.

Literaturverzeichnis

1. Carruthers BM, Jain AK, De Meirleir KL, Peterson DL, Klimas NG, Lerner AM, Bested AC, Flor-Henry P, Joshi P, Powles AP. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: clinical working case definition, diagnostic and treatment protocols. *Journal of chronic fatigue syndrome*. 2003;11(1):7-115.
2. Vyas J, Muirhead N, Singh R, Ephgrave R, Finlay AY. Impact of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) on the quality of life of people with ME/CFS and their partners and family members: an online cross-sectional survey. *BMJ Open*. 2022;12(5):e058128.
3. Lim EJ, Son CG. Review of case definitions for myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2020;18(1):289.
4. Bested AC, Marshall LM. Review of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: an evidence-based approach to diagnosis and management by clinicians. *Rev Environ Health*. 2015;30(4):223-49.
5. Clark JE, Fai Ng W, Watson S, Newton JL. The aetiopathogenesis of fatigue: unpredictable, complex and persistent. *Br Med Bull*. 2016;117(1):139-48.
6. Mateo LJ, Chu L, Stevens S, Stevens J, Snell CR, Davenport T, VanNess JM. Post-exertional symptoms distinguish Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome subjects from healthy controls. *Work*. 2020;66(2):265-75.
7. Keech A, Sandler CX, Vollmer-Conna U, Cvejic E, Lloyd AR, Barry BK. Capturing the post-exertional exacerbation of fatigue following physical and cognitive challenge in patients with chronic fatigue syndrome. *J Psychosom Res*. 2015;79(6):537-49.
8. WHO. ICD-11 2022, January 1 [Available from: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http://id.who.int/icd/entity/569175314> Accessed April 27, 2023].
9. Lim EJ, Ahn YC, Jang ES, Lee SW, Lee SH, Son CG. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis (CFS/ME). *J Transl Med*. 2020;18(1):100.
10. Bhui KS, Dinos S, Ashby D, Nazroo J, Wessely S, White PD. Chronic fatigue syndrome in an ethnically diverse population: the influence of psychosocial adversity and physical inactivity. *BMC Med*. 2011;9:26.
11. Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, M D. *Harrisons Innere Medizin*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2016.
12. Rasa S, Nora-Krukle Z, Henning N, Eliassen E, Shikova E, Harrer T, Scheibenbogen C, Murovska M, Prusty BK. Chronic viral infections in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2018;16(1):268.
13. Tokumasu K, Honda H, Sunada N, Sakurada Y, Matsuda Y, Yamamoto K, Nakano Y, Hasegawa T, Yamamoto Y, Otsuka Y, Hagiya H, Kataoka H, Ueda K, Otsuka F. Clinical Characteristics of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) Diagnosed in Patients with Long COVID. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(7).
14. Kedor C, Freitag H, Meyer-Arndt L, Wittke K, Hanitsch LG, Zoller T, Steinbeis F, Haffke M, Rudolf G, Heidecker B, Bobbert T, Spranger J, Volk HD, Skurk C, Konietzschke F, Paul F, Behrends U, Bellmann-Strobl J, Scheibenbogen C. A prospective observational study of post-COVID-19 chronic fatigue syndrome following the first pandemic wave in Germany and biomarkers associated with symptom severity. *Nat Commun*. 2022;13(1):5104.
15. Nacul L, Authier FJ, Scheibenbogen C, Lorusso L, Helland IB, Martin JA, Sirbu CA, Mengshoel AM, Polo O, Behrends U, Nielsen H, Grabowski P, Sekulic S, Sepulveda N, Estévez-López F, Zalewski P, Pheby DFH, Castro-Marrero J, Sakkas GK,

- Capelli E, Brundsdlund I, Cullinan J, Krumina A, Bergquist J, Murovska M, Vermuelen RCW, Lacerda EM. European Network on Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (EUROMENE): Expert Consensus on the Diagnosis, Service Provision, and Care of People with ME/CFS in Europe. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(5).
16. Committee on the Diagnostic Criteria for Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue S, Board on the Health of Select P, Institute of M. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. *Beyond Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: Redefining an Illness*. Washington (DC): National Academies Press (US) Copyright 2015 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.; 2015.
17. Fukuda K, Straus SE, Hickie I, Sharpe MC, Dobbins JG, Komaroff A. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group. *Ann Intern Med*. 1994;121(12):953-9.
18. Sotzny F, Blanco J, Capelli E, Castro-Marrero J, Steiner S, Murovska M, Scheibenbogen C. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome - Evidence for an autoimmune disease. *Autoimmunity reviews*. 2018;17(6):601-9.
19. Nguyen CB, Kumar S, Zucknick M, Kristensen VN, Gjerstad J, Nilsen H, Wyller VB. Associations between clinical symptoms, plasma norepinephrine and deregulated immune gene networks in subgroups of adolescent with Chronic Fatigue Syndrome. *Brain Behav Immun*. 2019;76:82-96.
20. Loebel M, Grabowski P, Heidecke H, Bauer S, Hanitsch LG, Wittke K, Meisel C, Reinke P, Volk HD, Fluge Ø, Mella O, Scheibenbogen C. Antibodies to β adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in patients with Chronic Fatigue Syndrome. *Brain Behav Immun*. 2016;52:32-9.
21. Light AR, White AT, Hughen RW, Light KC. Moderate exercise increases expression for sensory, adrenergic, and immune genes in chronic fatigue syndrome patients but not in normal subjects. *J Pain*. 2009;10(10):1099-112.
22. Garner R, Baraniuk JN. Orthostatic intolerance in chronic fatigue syndrome. *J Transl Med*. 2019;17(1):185.
23. Reynolds GK, Lewis DP, Richardson AM, Lidbury BA. Comorbidity of postural orthostatic tachycardia syndrome and chronic fatigue syndrome in an Australian cohort. *J Intern Med*. 2014;275(4):409-17.
24. van Campen C, Rowe PC, Visser FC. Cerebral Blood Flow Is Reduced in Severe Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome Patients During Mild Orthostatic Stress Testing: An Exploratory Study at 20 Degrees of Head-Up Tilt Testing. *Healthcare (Basel)*. 2020;8(2).
25. Wirth K, Scheibenbogen C. A Unifying Hypothesis of the Pathophysiology of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS): Recognitions from the finding of autoantibodies against β 2-adrenergic receptors. *Autoimmunity reviews*. 2020;19(6):102527.
26. Haffke M, Freitag H, Rudolf G, Seifert M, Doehner W, Scherbakov N, Hanitsch L, Wittke K, Bauer S, Konietschke F, Paul F, Bellmann-Strobl J, Kedor C, Scheibenbogen C, Sotzny F. Endothelial dysfunction and altered endothelial biomarkers in patients with post-COVID-19 syndrome and chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2022;20(1):138.
27. Meeus M, Nijs J, Meirleir KD. Chronic musculoskeletal pain in patients with the chronic fatigue syndrome: a systematic review. *Eur J Pain*. 2007;11(4):377-86.
28. Nijs J, Meeus M, De Meirleir K. Chronic musculoskeletal pain in chronic fatigue syndrome: recent developments and therapeutic implications. *Man Ther*. 2006;11(3):187-91.

29. Cronin J, Lawton T, Harris N, Kilding A, McMaster DT. A Brief Review of Handgrip Strength and Sport Performance. *J Strength Cond Res.* 2017;31(11):3187-217.
30. Neu D, Mairesse O, Montana X, Gilson M, Corazza F, Lefevre N, Linkowski P, Le Bon O, Verbanck P. Dimensions of pure chronic fatigue: psychophysical, cognitive and biological correlates in the chronic fatigue syndrome. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(9):1841-51.
31. Jäkel B, Kedor C, Grabowski P, Wittke K, Thiel S, Scherbakov N, Doehner W, Scheibenbogen C, Freitag H. Hand grip strength and fatigability: correlation with clinical parameters and diagnostic suitability in ME/CFS. *J Transl Med.* 2021;19(1):159.
32. Meeus M, Ickmans K, Struyf F, Kos D, Lambrecht L, Willekens B, Cras P, Nijs J. What is in a name? Comparing diagnostic criteria for chronic fatigue syndrome with or without fibromyalgia. *Clin Rheumatol.* 2016;35(1):191-203.
33. Jammes Y, Stavris C, Charpin C, Rebaudet S, Lagrange G, Retornaz F. Maximal handgrip strength can predict maximal physical performance in patients with chronic fatigue. *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2020;73:162-5.
34. Keller BA, Pryor JL, Giloteaux L. Inability of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome patients to reproduce VO_2 peak indicates functional impairment. *J Transl Med.* 2014;12:104.
35. Inbar O, Dlin R, Rotstein A, Whipp BJ. Physiological responses to incremental exercise in patients with chronic fatigue syndrome. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(9):1463-70.
36. Farquhar WB, Hunt BE, Taylor JA, Darling SE, Freeman R. Blood volume and its relation to peak O_2 consumption and physical activity in patients with chronic fatigue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282(1):H66-71.
37. Vermeulen RC, Kurk RM, Visser FC, Sluiter W, Scholte HR. Patients with chronic fatigue syndrome performed worse than controls in a controlled repeated exercise study despite a normal oxidative phosphorylation capacity. *J Transl Med.* 2010;8:93.
38. Jones DE, Hollingsworth KG, Jakovljevic DG, Fattakhova G, Pairman J, Blamire AM, Trenell MI, Newton JL. Loss of capacity to recover from acidosis on repeat exercise in chronic fatigue syndrome: a case-control study. *Eur J Clin Invest.* 2012;42(2):186-94.
39. Jones DE, Hollingsworth KG, Taylor R, Blamire AM, Newton JL. Abnormalities in pH handling by peripheral muscle and potential regulation by the autonomic nervous system in chronic fatigue syndrome. *J Intern Med.* 2010;267(4):394-401.
40. Clausen T. Na^+-K^+ pump stimulation improves contractility in damaged muscle fibers. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1066:286-94.
41. Clausen T, Andersen SL, Flatman JA. Na^+-K^+ pump stimulation elicits recovery of contractility in K^+ -paralysed rat muscle. *J Physiol.* 1993;472:521-36.
42. Mikkelsen UR, Gissel H, Fredsted A, Clausen T. Excitation-induced cell damage and β_2 -adrenoceptor agonist stimulated force recovery in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006;290(2):R265-72.
43. Wirth KJ, Scheibenbogen C. Pathophysiology of skeletal muscle disturbances in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). *J Transl Med.* 2021;19(1):162.
44. Madelin G, Lee JS, Regatte RR, Jerschow A. Sodium MRI: methods and applications. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2014;79:14-47.
45. Dyke JP, Meyring-Wösten A, Zhao Y, Linz P, Thijssen S, Kotanko P. Reliability and agreement of sodium (^{23}Na) MRI in calf muscle and skin of healthy subjects from the US. *Clin Imaging.* 2018;52:100-5.

46. Gerhalter T, Gast LV, Marty B, Uder M, Carlier PG, Nagel AM. Assessing the variability of ²³Na MRI in skeletal muscle tissue: Reproducibility and repeatability of tissue sodium concentration measurements in the lower leg at 3 T. *NMR Biomed.* 2020;33(5):e4279.
47. Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, Schmieder RE, Cavallaro A, Eckardt KU, Uder M, Luft FC, Titze J. ²³Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension.* 2013;61(3):635-40.
48. Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Garlichs C, Janka R, Cavallaro A, Luft FC, Uder M, Titze J. ²³Na Magnetic Resonance Imaging of the Lower Leg of Acute Heart Failure Patients during Diuretic Treatment. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141336.
49. Kopp C, Linz P, Wachsmuth L, Dahlmann A, Horbach T, Schöfl C, Renz W, Santoro D, Niendorf T, Müller DN, Neininger M, Cavallaro A, Eckardt KU, Schmieder RE, Luft FC, Uder M, Titze J. ²³Na magnetic resonance imaging of tissue sodium. *Hypertension.* 2012;59(1):167-72.
50. Dahlmann A, Dörfelt K, Eicher F, Linz P, Kopp C, Mössinger I, Horn S, Büschges-Seraphin B, Wabel P, Hammon M, Cavallaro A, Eckardt KU, Kotanko P, Levin NW, Johannes B, Uder M, Luft FC, Müller DN, Titze JM. Magnetic resonance-determined sodium removal from tissue stores in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2015;87(2):434-41.
51. Nagel AM, Bock M, Hartmann C, Gerigk L, Neumann JO, Weber MA, Bendszus M, Radbruch A, Wick W, Schlemmer HP, Semmler W, Biller A. The potential of relaxation-weighted sodium magnetic resonance imaging as demonstrated on brain tumors. *Invest Radiol.* 2011;46(9):539-47.
52. Poku LO, Phil M, Cheng Y, Wang K, Sun X. ²³Na-MRI as a Noninvasive Biomarker for Cancer Diagnosis and Prognosis. *J Magn Reson Imaging.* 2021;53(4):995-1014.
53. Inglese M, Madelin G, Oesingmann N, Babb JS, Wu W, Stoeckel B, Herbert J, Johnson G. Brain tissue sodium concentration in multiple sclerosis: a sodium imaging study at 3 tesla. *Brain.* 2010;133(Pt 3):847-57.
54. Petracca M, Vancea RO, Fleysheer L, Jonkman LE, Oesingmann N, Inglese M. Brain intra- and extracellular sodium concentration in multiple sclerosis: a 7 T MRI study. *Brain.* 2016;139(Pt 3):795-806.
55. Kannenkeril D, Karg MV, Bosch A, Ott C, Linz P, Nagel AM, Uder M, Schmieder RE. Tissue sodium content in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2019;33(7):485-9.
56. Constantinides CD, Gillen JS, Boada FE, Pomper MG, Bottomley PA. Human skeletal muscle: sodium MR imaging and quantification-potential applications in exercise and disease. *Radiology.* 2000;216(2):559-68.
57. Nagel AM, Amarteifio E, Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K, Semmler W, Schad LR, Weber MA. 3 Tesla sodium inversion recovery magnetic resonance imaging allows for improved visualization of intracellular sodium content changes in muscular channelopathies. *Invest Radiol.* 2011;46(12):759-66.
58. Weber MA, Nielles-Vallespin S, Essig M, Jurkat-Rott K, Kauczor HU, Lehmann-Horn F. Muscle Na⁺ channelopathies: MRI detects intracellular ²³Na accumulation during episodic weakness. *Neurology.* 2006;67(7):1151-8.
59. Gerhalter T, Gast LV, Marty B, Martin J, Trollmann R, Schüssler S, Roemer F, Laun FB, Uder M, Schröder R, Carlier PG, Nagel AM. ²³Na MRI depicts early

- changes in ion homeostasis in skeletal muscle tissue of patients with duchenne muscular dystrophy. *J Magn Reson Imaging*. 2019;50(4):1103-13.
60. Weber MA, Nagel AM, Wolf MB, Jurkat-Rott K, Kauczor HU, Semmler W, Lehmann-Horn F. Permanent muscular sodium overload and persistent muscle edema in Duchenne muscular dystrophy: a possible contributor of progressive muscle degeneration. *J Neurol*. 2012;259(11):2385-92.
61. Bansal N, Szczepaniak L, Ternullo D, Fleckenstein JL, Malloy CR. Effect of exercise on (23)Na MRI and relaxation characteristics of the human calf muscle. *J Magn Reson Imaging*. 2000;11(5):532-8.
62. Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Janka R, Cavallaro A, Uder M, Titze J. 3 Tesla (23)Na magnetic resonance imaging during aerobic and anaerobic exercise. *Acad Radiol*. 2015;22(9):1181-90.
63. Chang G, Wang L, Schweitzer ME, Regatte RR. 3D 23Na MRI of human skeletal muscle at 7 Tesla: initial experience. *Eur Radiol*. 2010;20(8):2039-46.
64. Bernstein MS, Morabia A, Sloutskis D. Definition and prevalence of sedentarism in an urban population. *Am J Public Health*. 1999;89(6):862-7.
65. Shinbane JS, Colletti PM, Shellock FG. MR in patients with pacemakers and ICDs: Defining the issues. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2007;9(1):5-13.
66. DeLuca SA, Castronovo FP, Jr. Hazards of magnetic resonance imaging. *American family physician*. 1990;41(1):145-6.
67. Bell D. *The Doctor's Guide to Chronic Fatigue Syndrome*: Addison-Wesley Publishing Company Reading; 1995.
68. Chalder T, Berelowitz G, Pawlikowska T, Watts L, Wessely S, Wright D, Wallace EP. Development of a fatigue scale. *J Psychosom Res*. 1993;37(2):147-53.
69. Sullivan GM, Artino AR, Jr. Analyzing and interpreting data from likert-type scales. *J Grad Med Educ*. 2013;5(4):541-2.
70. Roth S, Markó L, Birukov A, Hennemuth A, Kühnen P, Jones A, Ghorbani N, Linz P, Müller DN, Wiegand S, Berger F, Kuehne T, Kelm M. Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents. *J Clin Med*. 2019;8(12).
71. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. *Guideline: Sodium Intake for Adults and Children*. Geneva: World Health Organization Copyright © 2012, World Health Organization.; 2012.
72. Gerlach DA, Schopen K, Linz P, Johannes B, Titze J, Zange J, Rittweger J. Atrophy of calf muscles by unloading results in an increase of tissue sodium concentration and fat fraction decrease: a (23)Na MRI physiology study. *Eur J Appl Physiol*. 2017;117(8):1585-95.
73. Petter E, Scheibenbogen C, Linz P, Stehning C, Wirth K, Kuehne T, Kelm M. Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *J Transl Med*. 2022;20(1):580.
74. *Diagnostische und interventionelle Radiologie*: Springer-Verlag 2011.
75. Nagel A. *Natrium-Magnetresonanztomographie: Entwicklung einer 3D radialen Messtechnik mit optimierter k-Raum-Abtastdichte und hoher SNR-Effizienz [Dissertation]*2009.
76. Lykowsky G. *Hardware- und Methodenentwicklung für die 23Na- und 19F-Magnetresonanztomographie. Hardware and method development for 23Na and 19F magnetic resonance imaging [Dissertation]*2019.
77. Wang P, Deger MS, Kang H, Ikizler TA, Titze J, Gore JC. Sex differences in sodium deposition in human muscle and skin. *Magn Reson Imaging*. 2017;36:93-7.
78. Nacul LC, Mudie K, Kingdon CC, Clark TG, Lacerda EM. Hand Grip Strength as a Clinical Biomarker for ME/CFS and Disease Severity. *Front Neurol*. 2018;9:992.

79. Scherbakov N, Szklarski M, Hartwig J, Sotzny F, Lorenz S, Meyer A, Grabowski P, Doehner W, Scheibenbogen C. Peripheral endothelial dysfunction in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *ESC Heart Fail.* 2020;7(3):1064-71.
80. Iwamoto T, Watanabe Y, Kita S, Blaustein MP. Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitors: a new class of calcium regulators. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2007;7(3):188-98.
81. Ferrari R, Pedersini P, Bongrazio M, Gaia G, Bernocchi P, Di Lisa F, Visioli O. Mitochondrial energy production and cation control in myocardial ischaemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol.* 1993;88(5):495-512.
82. Armstrong CW, McGregor NR, Butt HL, Gooley PR. Metabolism in chronic fatigue syndrome. *Adv Clin Chem.* 2014;66:121-72.
83. Myhill S, Booth NE, McLaren-Howard J. Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction. *Int J Clin Exp Med.* 2009;2(1):1-16.
84. Burnet RB, Yeap BB, Chatterton BE, Gaffney RD. Chronic fatigue syndrome: is total body potassium important? *Med J Aust.* 1996;164(6):384.
85. Baklund IH, Dammen T, Moum T, Kristiansen W, Duarte DS, Castro-Marrero J, Helland IB, Strand EB. Evaluating Routine Blood Tests According to Clinical Symptoms and Diagnostic Criteria in Individuals with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *J Clin Med.* 2021;10(14).
86. Jammes Y, Adjriou N, Kipson N, Criado C, Charpin C, Rebaudet S, Stavris C, Guieu R, Fenouillet E, Retornaz F. Altered muscle membrane potential and redox status differentiates two subgroups of patients with chronic fatigue syndrome. *J Transl Med.* 2020;18(1):173.
87. Fulle S, Belia S, Vecchiet J, Morabito C, Vecchiet L, Fanò G. Modification of the functional capacity of sarcoplasmic reticulum membranes in patients suffering from chronic fatigue syndrome. *Neuromuscul Disord.* 2003;13(6):479-84.
88. Tomas C, Newton J. Metabolic abnormalities in chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: a mini-review. *Biochem Soc Trans.* 2018;46(3):547-53.
89. Hakulinen U, Brander A, Ilvesmäki T, Helminen M, Öhman J, Luoto TM, Eskola H. Reliability of the freehand region-of-interest method in quantitative cerebral diffusion tensor imaging. *BMC Med Imaging.* 2021;21(1):144.
90. Umathum R, Rösler MB, Nagel AM. In vivo 39K MR imaging of human muscle and brain. *Radiology.* 2013;269(2):569-76.
91. Gast LV, Völker S, Utzschneider M, Linz P, Wilferth T, Müller M, Kopp C, Hensel B, Uder M, Nagel AM. Combined imaging of potassium and sodium in human skeletal muscle tissue at 7 T. *Magn Reson Med.* 2021;85(1):239-53.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Elisabeth Petter, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Natriumgehalt des Muskelgewebes von Patientinnen mit Myalgischer Enzephalomyelitis/Chronischem Fatigue Syndrom vor und nach Belastung der Unterschenkelmuskulatur, Muscle Tissue Sodium Content in Patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome before and after Exercise of Lower Leg Muscles“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Elisabeth Petter hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Petter Elisabeth, Scheibenbogen Carmen, Linz Peter, Stehning Christian, Wirth Klaus, Kuehne Titus, Kelm Marcus. Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome, Journal of Translational Medicine, 2022.

Bei der oben genannten Publikation handelt es sich um eine alleinige Erstautorenschaft, sie wird und wurde zum Zwecke der Dissertation ausschließlich von Elisabeth Petter und keiner anderen Person verwendet.

Beitrag im Einzelnen:

- Literaturrecherche bezüglich ^{23}Na -MRT und ME/CFS (insbesondere Studien zur Muskelfunktion bei Patient:innen mit ME/CFS und zur Pathophysiologie der Erkrankung ME/CFS)
- Eigenständige Erstellung und Einreichung des Ethikantrags
- Eigenständige Rekrutierung der Studienteilnehmerinnen
- Organisation der Termine für die MRT-Untersuchungen und der Taxifahrten für die Patientinnen (mit Unterstützung der Study Nurse Silvia Thiel)
- Betreuung der Studienteilnehmerinnen am Untersuchungstag und Erhebung der klinischen Parameter (Aufklärung ^{23}Na -MRT, Anleitung der Übung zur Belastung der Unterschenkelmuskulatur und Überprüfung dieser, Fragebögen, Handmuskelfkraftmessung, Blutdruck- und Pulsmessung)
- Selbstständige Einarbeitung in die Auswertungs-Software Horos
- Auswertung der MRT-Datensätze in Horos: Markierung der ROIs und Bestimmung des Natrium- und Wassergehalts der Unterschenkelmuskulatur aller Studienteilnehmerinnen
- Erstellung einer anonymisierten Datenbank aller gesammelten Daten der Studienteilnehmerinnen
- Statistische Auswertung der Daten mit GraphPad Prism (mit Unterstützung von Dr. Kelm)
- Eigenständige Erstellung aller Tabellen und Abbildungen der Publikation

- Eigenständige Interpretation der Daten und Verfassung der Abschnitte Abstract, Introduction, Methods und Results der Publikation (Überarbeitung in Kooperation mit Prof. Scheibenbogen, Dr. Kelm und Prof. Kühne)
- Verfassung der Discussion der Publikation gemeinsam mit Prof. Scheibenbogen und Prof. Wirth
- Einreichung beim Journal of Translational Medicine und eigenständige Revision des Manuskripts

Unterschrift, Datum und Stempel der erstbetreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift der Doktorandin

Druckexemplar der Publikation

Petter *et al. Journal of Translational Medicine* (2022) 20:580
<https://doi.org/10.1186/s12967-022-03616-z>

Journal of
 Translational Medicine

RESEARCH

Open Access



Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome

Elisabeth Petter^{1,2,3} , Carmen Scheibenbogen¹ , Peter Linz⁴ , Christian Stehning⁵ , Klaus Wirth⁶ , Titus Kuehne^{2,3} and Marcus Kelm^{2,3,7,8*}

Abstract

Background Muscle fatigue and pain are key symptoms of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). Although the pathophysiology is not yet fully understood, there is ample evidence for hypoperfusion which may result in electrolyte imbalance and sodium overload in muscles. Therefore, the aim of this study was to assess levels of sodium content in muscles of patients with ME/CFS and to compare these to healthy controls.

Methods Six female patients with ME/CFS and six age, BMI and sex matched controls underwent ²³Na-MRI of the left lower leg using a clinical 3T MR scanner before and after 3 min of plantar flexion exercise. Sodium reference phantoms with solutions of 10, 20, 30 and 40 mmol/L NaCl were used for quantification. Muscle sodium content over 40 min was measured using a dedicated plugin in the open-source DICOM viewer Horos. Handgrip strength was measured and correlated with sodium content.

Results Baseline tissue sodium content was higher in all 5 lower leg muscle compartments in ME/CFS compared to controls. Within the anterior extensor muscle compartment, the highest difference in baseline muscle sodium content between ME/CFS and controls was found (mean \pm SD; 12.20 \pm 1.66 mM in ME/CFS versus 9.38 \pm 0.71 mM in controls, $p = 0.0034$). Directly after exercise, tissue sodium content increased in gastrocnemius and triceps surae muscles with +30% in ME/CFS ($p = 0.0005$) and +24% in controls ($p = 0.0007$) in the medial gastrocnemius muscle but not in the extensor muscles which were not exercised. Compared to baseline, the increase of sodium content in medial gastrocnemius muscle was stronger in ME/CFS than in controls with +30% versus +17% to baseline at 12 min ($p = 0.0326$) and +29% versus +16% to baseline at 15 min ($p = 0.0265$). Patients had reduced average handgrip strength which was associated with increased average muscle tissue sodium content ($p = 0.0319$, $R^2 = 0.3832$).

Conclusion Muscle sodium content before and after exercise was higher in ME/CFS than in healthy controls. Furthermore, our findings indicate an inverse correlation between muscle sodium content and handgrip strength. These findings provide evidence that sodium overload may play a role in the pathophysiology of ME/CFS and may allow for potential therapeutic targeting.

Keywords Chronic Fatigue Syndrome, Sodium, Magnetic Resonance Imaging, Muscle, skeletal, Myalgia, Exercise, Sodium-potassium-exchanging ATPase, Sodium-hydrogen exchangers

*Correspondence:

Marcus Kelm
 mkelm@dhzb.de

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2022, corrected publication 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Background

Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) is a complex and chronic disease with a worldwide prevalence of up to 0.9% often triggered by viral infections such as EBV or SARS-Cov2 [1, 2]. Patients suffer from severe central and muscular fatigue, sleep disturbance, cognitive impairment, and immune and autonomic dysfunction. The cardinal symptom is exertional intolerance with post-exertional malaise, which describes a disproportionate aggravation of symptoms and a prolonged recovery period after physical or mental exertion [3]. Muscle fatigue and myalgia are key symptoms of ME/CFS. Muscle fatigue and fatigability can be measured by the assessment of hand grip strength [4]. Although the etiology and pathophysiology of ME/CFS is not fully understood yet, there is ample evidence for an autoantibody mediated dysregulation of the autonomic nervous system and disturbed vascular regulation [5–8]. Endothelial dysfunction, hypoperfusion of muscles and impaired cerebral blood flow are assumed to be key mechanisms for symptoms like fatigue, myalgia, post-exertional malaise and impaired cognition [9, 10]. Patients with ME/CFS performed worse than healthy controls in a controlled repeated exercise study and showed increased intramuscular acidosis and abnormalities in recovery of muscular pH after standardized exercise of lower leg muscles [11, 12]. Compared to healthy controls, diminished proton efflux was observed in ME/CFS patients immediately after exercise and maximum proton efflux was also reduced [13]. Disturbances of ions in skeletal muscles such as sodium overload and subsequent calcium overload was hypothesized as consequences of hypoxemia in ME/CFS [14]. Based on these assumptions, in this study we analyzed sodium content in skeletal muscle tissue in patients with ME/CFS.

Recent studies have established ^{23}Na -magnetic resonance imaging (MRI) as a reliable, non-invasive method to quantify sodium content in muscle tissue [15–17]. The method has been used in a broad set of study cohorts, such as arterial hypertension [18], acute heart failure [19], kidney failure [20], diabetes mellitus [21], multiple sclerosis [22] and muscle diseases [23, 24]. Duchenne muscular dystrophy and muscle channelopathy were associated with elevated tissue sodium [25, 26]. Some researchers already conducted sodium MRI studies with exercise or muscle strain [27, 28]. Increased levels of sodium content in exercised muscles were found after leg strain compared to baseline in healthy subjects [29, 30]. Therefore, the aim of this study was to comparatively assess muscle sodium in ME/CFS and healthy controls at baseline and after exercise.

Materials and methods

Subjects and study design

In this pilot study, six patients with ME/CFS and six healthy controls were studied. All patients were recruited between August 2020 and November 2020 at the Institute of Medical Immunology at Charité where they were previously diagnosed with ME/CFS based on Canadian Consensus Criteria. Inclusion Criteria were: ME/CFS triggered by an infection, muscle pain >5 assessed by a likert scale from 0 (none) to 10 (severest), a Bell Score from 20 to 40 [1, 31, 32], female sex (as women suffer more often from ME/CFS) and age 20–45 years. Healthy controls were age, BMI and sex matched with no history of illnesses and no medication, that could affect the muscle function. They were required to have sedentary jobs and perform less than three hours of physical activity per week [33].

Exercise protocol

Study participants were instructed not to exercise or perform intense leg movements for 1 week before the MR examination. On examination day, patients were picked up from home by taxi and healthy controls used public transportation or car to not overstress their muscles. Before the subjects' left calf was scanned at its widest circumference, they rested in a lying position for at least 30 min to reach a constant distribution of the interstitial volume and to ensure comparable resting states of the muscles [34]. After the initial baseline imaging subjects were asked to get off the MR to perform heel raises to exercise the triceps surae muscle. The exercise protocol contained 3 min of anaerobic dynamic training [27]. Plantar flexion was done by raising both heels from standing position, stand on tiptoes and return to the floor, against one's own body weight with a frequency of 30/min [13, 29, 30]. Subjects were repositioned to MR scanner immediately after exercise for the second run of the measurement protocol. To assess muscular fatigue, hand-grip strength was measured in all study participants with an electric dynamometer (CAMRY, model: SCACAM-EH101) in two separate sessions. Patients and controls had to sit in an upright position and place the forearm of the dominant hand on a standard table in full supination. The handle was pulled 10 times with maximum force for 3 s, each time followed by a 5 s relaxation phase [35, 36]. A second session was performed after a recovery break of 60 min. Heart rate and blood pressure were measured alongside to image acquisition before and after exertion.

MRI acquisition protocol and data processing

Imaging was performed on a clinical 3 Tesla MR scanner (Philips Ingenia, Software Release 5.6.1, Philips Healthcare, Best, The Netherlands) with

a ^{23}Na send/receive knee-coil (Rapid Biomedical, Rimpar, Germany) using a 2D spoiled gradient multi-echo sequence with flyback gradients (12 echoes, echo times $\text{TE} = 2.44 \text{ ms} + n \times 3.05 \text{ ms}$), repetition time $\text{TR} = 100 \text{ ms}$, flip angle $\text{FA} = 90^\circ$, measured resolution = $3 \times 3 \times 30 \text{ mm}^2$, 132 averages, scan duration $\text{TA} = 14 \text{ min}$. To assess dynamic alterations of sodium levels during the prolonged imaging procedure, complex images were stored for each individual average, in order to allow for retrospective averaging with smaller temporal footprints. Averaging was performed via a dedicated postprocessing plugin for Horos, to enable complex averaging from a user-defined subset of averages and echoes. The ^{23}Na signal was averaged over the first three echoes of the multi-echo acquisition, acquired at $\text{TE}_n = 2.44 \text{ ms}$, 5.49 ms and 8.54 ms , restricting the visualization to long T2^* sodium components. Furthermore, a moving average filter over 80 respective average was employed, yielding a time-resolved reconstruction with 53 timeframes over the prolonged acquisition duration. Along with the subjects' calf, four calibration phantoms containing aqueous solutions of 10, 20, 30 and 40 mmol/L (mM) NaCl were scanned as reference standards [18]. Tissue water content was measured by ^1H -MRI, using a fat-saturated inversion-prepared SE sequence (inversion time, $\text{TI} = 210 \text{ ms}$; $\text{TA} = 6.27 \text{ min}$; $\text{TE} = 12 \text{ ms}$; $\text{TR} = 3000 \text{ ms}$; $\text{FA} = 90^\circ$; 1 average, resolution: $1.5 \times 1.5 \times 5 \text{ mm}^3$), as already conducted by other scientists [19, 37].

Regions of interest (ROI) were drawn using the medical image viewer Horos (version 3.3.6) and the anatomical image (T1 -weighted spoiled gradient echo sequence) as guideline. ROIs were drawn over noise background (0 mM NaCl) and over all reference phantoms and were measured in arbitrary units (a.u.). The respective signal intensities served as calibration standards by translating intensity to concentration in a linear trend analysis. Important ROIs enclosed (a) the largest lower leg muscle (triceps surae consisting of the medial and lateral gastrocnemius and soleus muscle) and (b) the extensor muscles of the anterior compartment of the leg (tibialis anterior, extensor hallucis, extensor digitorum and fibularis muscles), which were not exercised were used for internal control. Since prominent vascular structures are rich in sodium, they were excluded during measurement. The primary outcome was defined as the absolute sodium content in the muscle tissue. A graphical summary of the study methods is outlined in Fig. 1.

Statistical analysis

Continuous data are presented as means with standard deviation ($\pm \text{SD}$), unless stated otherwise. Using the Shapiro–Wilk test and Kolmogorov–Smirnov test, data distribution was tested. The 95% confidence intervals were

calculated and $p < 0.05$ was considered significant for all statistical tests. P-values are uncorrected and considered descriptive due to multiple testing. Paired t-test was used within the groups to test the progression of sodium and water content in muscle tissue over time, and to compare the two sessions of handgrip strength measurement. Unpaired t-test was used to test the differences in tissue sodium and water content, characteristics, and handgrip strength between patients with ME/CFS and controls. Differences in decrease of sodium content after its peak values were assessed by comparison of linear regression lines, which is one use of ANCOVA. Correlations were assessed by linear regression model and Pearson correlation coefficient. GraphPad Prism (version 9.0.2) was used for statistical analysis.

Results

Study population

Muscle sodium and water content at baseline and changes over time after lower leg muscle exercise were measured noninvasively and analyzed in a total of 12 study subjects. Six patients with ME/CFS were compared to six matched healthy controls, the characteristics of the study population are shown in Table 1. Age, BMI, and sex did not differ between the groups, neither did behaviors regarding salt appetite, salty food craving and consumption of beverages. All study subjects had an increase in heart rate and blood pressure directly after exercise. All subjects reported mild pain and exhaustion immediately after exercise. Controls had painful sore muscles for two days after exercise. All patients with ME/CFS reported post-exertional malaise following exercise.

Dynamic of sodium and water content

Image quality was satisfactory for all 12 study subjects and none of the images had remarkable motion artefacts. Dynamic progressions of tissue sodium content in lower leg muscles over time in patients and in controls are shown in Fig. 2. Directly after exercise, we found elevated sodium content in triceps surae, medial and lateral gastrocnemius. The strongest increase of tissue sodium content was observed in medial gastrocnemius muscle (patients from 10.50 ± 0.78 to 13.65 ± 0.69 at minute 1, +30%, $p = 0.0005$; controls from 10.23 ± 1.24 to 12.67 ± 1.28 at minute 1, +24%, $p = 0.0007$) as shown in Fig. 2. Within the 40-min recovery period, sodium content decreased in these muscles. Neither ME/CFS patients nor controls had an increase upon exertion in sodium content in the extensor muscles and only a minor increase in the soleus, which were not involved in the exercise. There were no changes in tissue water content in any muscles of the lower leg in both groups. Values of tissue sodium and water content of different

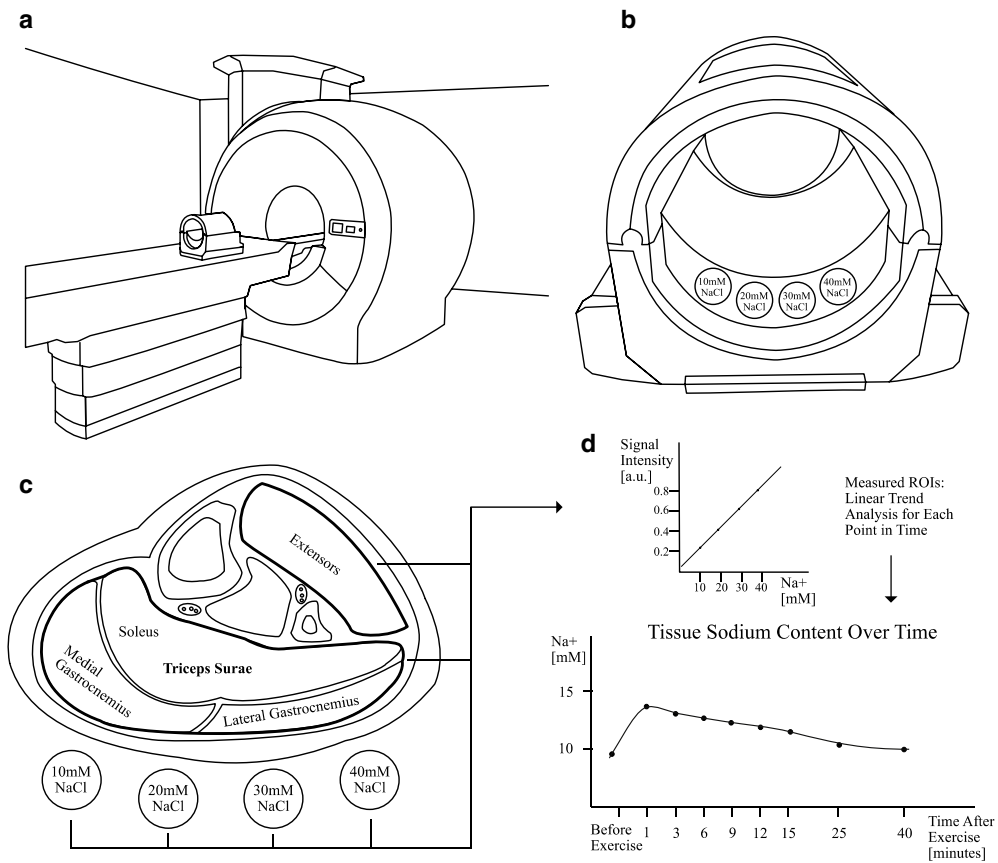


Fig. 1 Schematic overview of methods. **a** Clinical 3 Tesla MR scanner with ^{23}Na knee-coil for lower leg muscles placed in. **b** ^{23}Na knee-coil with four calibration phantoms containing solutions of 10, 20, 30 and 40 mmol/L NaCl. **c** After dynamic reconstruction of the data based on a dedicated plugin, regions of interest (ROI) were drawn in Horos on MR images for all lower leg muscles and all calibration phantoms. **d** Signal intensities of ROIs (measured in arbitrary units) were translated to sodium content in mM using a linear trend analysis. Finally, sodium content of muscle tissue was assessed over time after exercise

muscle compartments are outlined in Table 2. Figure 3 shows representative ^{23}Na images from two subjects at baseline, directly after exercise and 25 min after exercise. The increased intensities which are faintly visible in the images directly after exercise correlate with an increase of tissue sodium content measured and expressed in mM.

Comparison of tissue sodium content in patients with ME/CFS and controls

Baseline tissue sodium content was higher in all 5 muscle compartments in ME/CFS compared to controls (Fig. 2). The strongest difference was observed within the anterior

extensor muscle compartment, with 12.2 ± 1.66 mM in patients and 9.38 ± 0.71 mM in controls ($p = 0.0034$). After exercise tissue sodium content increased in all exercised muscles and was higher in ME/CFS than in controls at all 8 time points during the 40-min measurement period ($p < 0.0001$, respectively). The decrease of sodium content in medial gastrocnemius was slower in ME/CFS than in controls with +30% versus +17% to baseline at 12 min ($p = 0.0326$) and +29% versus +16% to baseline at 15 min ($p = 0.0265$). No difference in tissue water content between the two groups was detected in any muscle compartment at any point in time.

Table 1 Baseline characteristics

Subjects	Patients with ME/CFS (n = 6)	Controls (n = 6)	P-value ME/CFS versus Controls
Sex	Female	Female	–
Age (years)	30.3 (7.6)	27.3 (4.8)	0.4308
BMI (kg/m ²)	21.6 (4.1)	23.4 (5.1)	0.5253
Bell Score [0–100]	30 (6.3)	–	–
Chalder Fatigue Score [0–33]	29.5 (1.4)	–	–
Systolic blood pressure baseline	108.0 (11.1)	115.7 (8.0)	0.1997
Diastolic blood pressure baseline	63.2 (7.5)	62.0 (2.8)	0.7295
Mean arterial pressure baseline	77.3 (8.8)	78.7 (5.1)	0.7560
Heart rate baseline	63.8 (7.9)	64.7 (6.0)	0.8411
Systolic blood pressure after exercise	119.8 (12.0)	125.5 (10.8)	0.4116
Diastolic blood pressure after exercise	72.2 (11.9)	71.0 (3.3)	0.8215
Mean arterial pressure after exercise	90.7 (8.4)	87 (4.9)	0.3777
Heart rate after exercise	76.5 (6.7)	69.8 (4.2)	0.0672
<i>Salt questionnaire</i> [37]			
“How much do you like salty food?”	6.0 (0.9)	5.7 (2.9)	0.7961
“How often do you add more salt to your food?”	3.7 (2.0)	4.7 (3.8)	0.5819
“How much do you like salty snacks such as crisps?”	5.5 (1.4)	5.3 (3.4)	0.9146
“How often do you eat in fast food restaurants?”	2.0 (1.5)	2.3 (0.8)	0.6510
“How much money do you usually spend there?” (€)	3.8 (4.9)	7.0 (4.3)	0.2640
“How often do you drink beverages without additional flavour?”	7.7 (2.7)	6.2 (3.7)	0.4438
“How much do you drink daily?” (L)	2.1 (0.4)	2.1 (0.4)	> 0.9999

ME/CFS, Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. Mean values with standard deviation (SD) in brackets, unless stated otherwise. Questionnaire on a scale from 1–10 (1 = I strongly agree; 10 = I strongly disagree). P value refers to comparison of both groups

Handgrip strength and correlation with tissue sodium content

Patients with ME/CFS showed reduced maximal and mean handgrip strength compared to controls (fmean1 12.6 ± 6.3 kg in patients versus 27.2 ± 4.8 kg in controls; $p = 0.0011$) and after 60 min (fmean2 10.1 ± 5.6 in patients versus 26.9 ± 4.2 in controls; $p = 0.0002$). Further, the recovery rate fmean2/fmean1 in patients was lower ($p = 0.0055$), while controls showed similar mean handgrip strength in both sessions ($p = 0.5342$, Fig. 4a). We observed an inverse correlation between fmean1 handgrip strength and baseline tissue sodium content of all lower leg muscles (average of triceps, extensors, medial and lateral gastrocnemius and soleus; $p = 0.0500$, $R^2 = 0.3317$, Fig. 4b), and between fmean2 handgrip strength and average tissue sodium content of all lower leg muscles after exercise ($p = 0.0319$, $R^2 = 0.3832$, $N = 12$, Fig. 4c). The correlations of handgrip strength and the individual muscles are shown in Additional file 1: Fig. S1.

Discussion

To the best of our knowledge, we conducted the first ²³Na-MRI study in ME/CFS. This study provides evidence that sodium content of lower leg muscles is higher

in ME/CFS than in healthy controls at rest and after exercise. Furthermore, our findings indicate an inverse correlation between mean muscle sodium content and handgrip strength. Thus, sodium overload may play a role in the pathophysiology of ME/CFS and may allow for potential treatment targeting.

This study demonstrates the feasibility of monitoring changes in muscle sodium content in ME/CFS and healthy subjects after exercise using ²³Na-MRI. As already shown in previous studies in healthy persons, our study populations also had an increase in muscle tissue sodium content directly after anaerobic exercise [27, 29]. Our MR images indicate an increase of sodium without concomitant water increase, as it was shown in another study, which postulates that sodium can be stored non-osmotically [19]. Our findings that tissue sodium content in healthy controls returned to baseline levels approximately 40 min after muscle exercise correspond to the results of a study showing a return to baseline levels 35 min after exercise in healthy controls [30]. Like healthy subjects, patients with ME/CFS responded to exercise with an initial increase in muscle sodium content followed by a decrease over time. Since all patients with ME/CFS suffered from post-exertional malaise after exercise, we would not recommend this examination

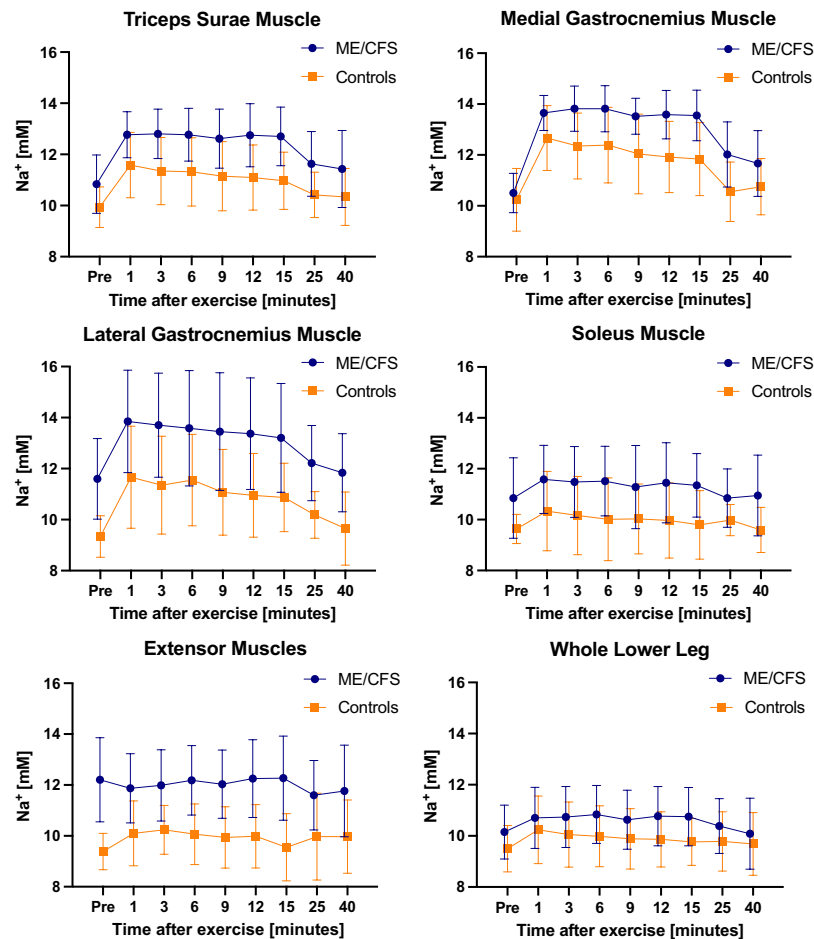


Fig. 2 Mean tissue sodium content in lower leg muscles. Mean values in mM with standard deviation. Curves were plotted for six compartments of the lower leg of patients with ME/CFS and controls: triceps surae, medial gastrocnemius, lateral gastrocnemius, soleus, extensor muscles and whole lower leg. After exercise, tissue sodium content increased in all exercised muscle compartments in both groups. Patients showed higher tissue sodium content in exercised muscles compared to controls. Tissue sodium content decreased within the 40-min recovery period in both groups. In extensor muscles which were not exercised, patients showed continuously higher values than controls

method for clinical routine as long as no implications the diagnostic or therapeutic management of the patients can be made. Nevertheless, the burden of the disease is high, and the identification of potential treatment targets may merit further scientific use of exercise testing in conjunction with the non-invasive MRI method.

The findings of our study are in line with our recent hypothesis paper on the mechanisms of the energetic situation in muscles in ME/CFS and the

underlying disturbance in ion homeostasis [14]. Appropriate muscular perfusion as well as function of the Na⁺/K⁺-ATPase determine muscle fatigability. The sodium-proton exchanger subtype1 (NHE1) exports protons via the import of sodium ions. In poor energetic situations increased proton production raises intracellular sodium via NHE1, the most important proton-extruder in skeletal muscle. Endothelial dysfunction leads to muscle hypoperfusion and diminished ATP generation in ME/CFS [9].

Table 2 Tissue sodium content and tissue water content

	ME/CFS				Controls			
	Baseline	Directly after exercise	40 minutes after exercise	40 minutes after exercise	Baseline	Directly after exercise	40 minutes after exercise	40 minutes after exercise
Na ⁺ [mM]								
Triceps surae								
Mean (SD)	10.83 (1.15)	12.77 (0.90)	11.43 (1.51)	9.93 (0.79)	11.58 (1.13)	10.33 (1.12)	11.58 (1.13)	10.33 (1.12)
Δ (%)	+18	-10	-10	+17	-11	-11	-11	-11
P value	<0.0001	0.0090	0.0090	0.0081	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
Medial gastrocnemius								
Mean (SD)	10.50 (0.78)	13.65 (0.69)	11.67 (1.30)	10.23 (1.24)	12.67 (1.28)	10.75 (1.11)	12.67 (1.28)	10.75 (1.11)
Δ (%)	+30	-15	-15	+24	-15	-15	-15	-15
P value	0.0005	0.0182	0.0182	0.0007	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
Lateral gastrocnemius								
Mean (SD)	11.60 (1.58)	13.85 (2.01)	11.83 (1.54)	9.33 (0.82)	11.67 (2.01)	9.65 (1.44)	11.67 (2.01)	9.65 (1.44)
Δ (%)	+19	-15	-15	+25	-17	-17	-17	-17
P value	0.0060	0.0023	0.0023	0.0373	0.0099	0.0099	0.0099	0.0099
Soleus								
Mean (SD)	10.85 (1.58)	11.58 (1.34)	10.95 (1.59)	9.63 (0.58)	10.33 (1.56)	9.60 (0.89)	10.33 (1.56)	9.60 (0.89)
Δ (%)	+7	-5	-5	+7	-7	-7	-7	-7
P value	0.0197	0.1334	0.1334	0.3220	0.0974	0.0974	0.0974	0.0974
Extensors								
Mean (SD)	12.20 (1.66)	11.87 (1.37)	11.77 (1.81)	9.38 (0.71)	10.10 (1.28)	9.97 (1.45)	10.10 (1.28)	9.97 (1.45)
Δ (%)	-3	-1	-1	+8	-1	-1	-1	-1
P value	0.5354	0.9014	0.9014	0.2492	0.7796	0.7796	0.7796	0.7796
H ₂ O [kg/L]								
Triceps surae								
Mean (SD)	1.16 (0.09)	1.16 (0.06)	-	1.16 (0.07)	1.16 (0.07)	-	1.16 (0.07)	-
Δ (%)	0	0	-	0	0	-	0	-
P value	0.8590	0.8590	0.8590	0.7131	0.7131	0.7131	0.7131	0.7131
Medial gastrocnemius								
Mean (SD)	1.19 (0.08)	1.19 (0.05)	-	1.21 (0.07)	1.19 (0.07)	-	1.19 (0.07)	-
Δ (%)	0	0	-	-1	-1	-	-1	-
P value	0.8240	0.8240	0.8240	0.2078	0.2078	0.2078	0.2078	0.2078

Table 2 (continued)

	ME/CFS			Controls		
	Baseline	Directly after exercise	40 minutes after exercise	Baseline	Directly after exercise	40 minutes after exercise
Lateral gastrocnemius						
Mean (SD)	1.10 (0.10)	1.08 (0.07)	–	1.09 (0.08)	1.09 (0.06)	–
Δ (%)		–2			0	
P value		0.2676			0.7558	
Soleus						
Mean (SD)	1.19 (0.09)	1.20 (0.06)	–	1.20 (0.08)	1.20 (0.08)	–
Δ (%)		+1			0	
P value		0.4045			0.8302	
Extensors						
Mean (SD)	1.22 (0.10)	1.24 (0.10)	–	1.21 (0.07)	1.23 (0.08)	–
Δ (%)		+2			+1	
P value		0.1345			0.5989	

ME/CFS Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. Mean values of sodium and water content with standard deviation (SD) in brackets. Δ (%) is percentage of increase/decrease after exercise and after recovery period of 40 minutes. P value refers to comparison of baseline values with values directly after exercise and values directly after exercise with values after 40 minutes recovery, respectively

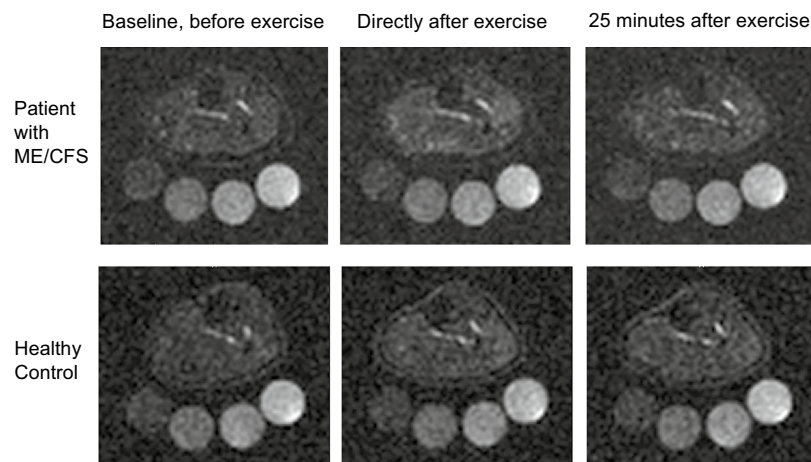


Fig. 3 ^{23}Na MR images of the lower leg of a ME/CFS patient and a healthy control. Increased sodium signals are visible in the muscle tissue directly after exercise in comparison to baseline and after recovery period of 25 min. The reference phantoms below the leg appear in variable intensity due to their sodium concentrations (from left to right: 10, 20, 30 and 40 mmol/L NaCl)

Sodium is removed from the muscle by the Na^+/K^+ -ATPase at the expense of ATP consumption. We assume that the removal of sodium is further impaired due to dysfunction of the β_2 adrenergic receptor which leads to an insufficient stimulation of the Na^+/K^+ -ATPase [14]. High intracellular sodium can reverse the transport direction of the sodium–calcium exchanger (NCX) to import calcium instead of exporting which is also known from the ischemia–reperfusion paradigm [38]. Channels and transporters that play a role in ion transport in myocytes are depicted in Fig. 5. The ensuing calcium overload affects the mitochondrial metabolism and the endothelium, which further worsens the energetic situation in a vicious circle which can explain post-exertional malaise, exercise intolerance and chronification. Changes in intracellular and mitochondrial calcium via NCX induced by the rise in intramuscular sodium are considered the key pathomechanism in the energetic and mitochondrial disturbance in ME/CFS as outlined in a recent hypothesis paper [9, 14] but cannot be directly demonstrated with current methods *in vivo*. The demonstration of elevated intramuscular sodium in this study provides, however, evidence that the conditions for a disturbed calcium handling via the NCX are indeed present in skeletal muscles in ME/CFS. The biological significance of these results is a better understanding of the pathophysiology of ME/CFS. This is a prerequisite for developing therapeutic strategies for this frequent and debilitating disease for which no effective treatment exists so far.

The Na^+/K^+ -ATPase exchanges three sodium ions for two potassium ions. Insufficient stimulation is expected to lead to a rise in intracellular sodium and concomitantly to a decrease in intracellular potassium. Here we show a rise in intracellular sodium post-exercise. Concerning potassium, there is evidence for a decrease in intracellular potassium from two publications. Reduced potassium efflux was found in exercising muscle in ME/CFS patients which can only be explained by the development of intracellular hypokalemia [39]. The authors incriminated ROS to inhibit the Na^+/K^+ -ATPase. In an earlier paper total body potassium was found decreased by about 10% in a group of ME/CFS patients with severe fatigue [40]. In this study, there was a strong inverse correlation of the total body potassium and the total time spent resting as a measure of fatigue and exhaustion. Lower plasma potassium levels were also found in a recent study in patients with ME/CFS compared with healthy controls [41]. If potassium leaving the cell during the process of repolarization via potassium channels is not taken up fast enough by the Na^+/K^+ -ATPase in the working muscles, it reaches the blood stream to be renally excreted so that loss of potassium occurs during exercise. Thus, the indirect evidence for a lowered intracellular potassium together with our direct demonstration of a rise in intracellular sodium provides very strong arguments for a diminished Na^+/K^+ -ATPase activity in ME/CFS.

Since it is technically not possible to measure intracellular sodium during exercise the possibility exists that sodium rises much higher than we measured pre- and

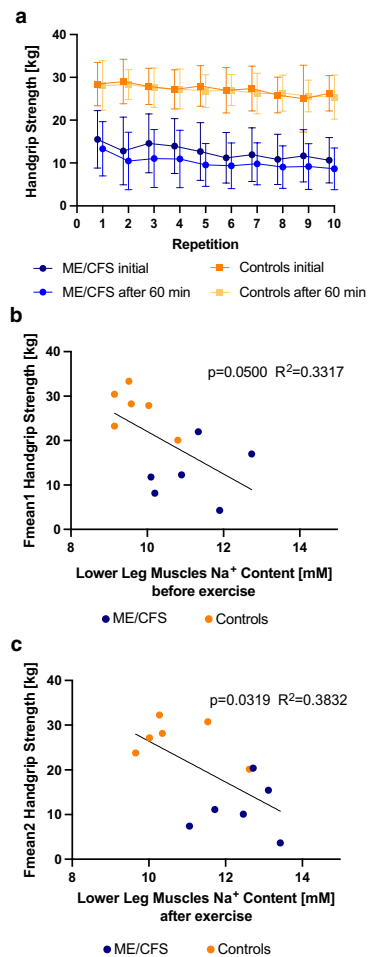


Fig. 4 **a** Handgrip strength measurement with 10 repeats in two sessions. Mean values in kg with standard deviation. Black line shows results of initial session and grey line of second session after 60 min. ME/CFS patients show lower mean handgrip strength compared to controls and perform worse in their second session. Mean handgrip strength of controls remains unchanged after 60 min. The scatter plot with linear regression line shows **(b)** an inverse correlation of baseline tissue sodium content in lower leg muscles (average of triceps, extensors, medial and lateral gastrocnemius and soleus) and initial mean handgrip strength ($p=0.0500$, $R^2=0.3317$, $N=12$) and **(c)** an inverse correlation of average tissue sodium content in lower leg muscles after exercise (minutes 1–40) and mean handgrip strength of the second session ($p=0.0319$, $R^2=0.3832$, $N=12$)

post-exercise. During exercise sodium loading must be higher compared with rest because of sodium entry via sodium channels in the process of excitation which adds to sodium import via ion transporters of whom NHE1 may be the most important one. If this is a very dynamic process there may be a rise of sodium during exercise (reaching a steady state) over the level we see post-exercise, but sodium does not necessarily accumulate to a level that it would take minutes to remove the excess. The rise in sodium we found post-exercise may be due to increased NHE1-activity post-exercise due to proton extrusion as a consequence of a glycolytic metabolism in the presence of a diminished $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ activity. Jones et al. reported a decreased proton extrusion immediately post-exercise [13]. It is possible that NHE1 activity is diminished during exercise due to high intracellular sodium reducing its driving force. This is even the only plausible explanation for the observed reduced proton extrusion. It is also an argument for a higher sodium rise during exercise compared with post-exercise. Immediately after exercise intracellular sodium can quickly fall as there is no more sodium entry via sodium channels to restore the driving force of the NHE1. Protons can indeed accumulate during exercise (intracellular acidosis). Removing the excess via the NHE1 (after restoring its driving force) at rest could then cause the rise in intracellular sodium we found post-exercise.

The intensity values of the 4 reference phantoms with different NaCl solutions allowed us to measure sodium content via the signal intensities. After translating intensity to concentration in a linear trend analysis, we used mM as the unit to express tissue sodium content. However, it should be noted that with the methods of our scan protocol the signal decays very quickly and parts of tissue sodium are no longer visible and measurable at the time of measurement. Therefore, our values in mM are lower than those from previous publications and cannot be directly compared to them.

We measured total sodium content in muscle tissue and small vessels which supply muscle tissue. Long- and short-lived sodium components are measurable via ^{23}Na -MRI. The long-lived components are assumed to be the mobile, liquid sodium, which is mainly extracellular sodium and short-lived sodium is assumed to be intracellular sodium. Since only about 30% of the short-lived sodium is still visible at TE 2.44, which we used in our protocol, we assume that we measured mainly the long-lived sodium, since a large number of short-lived sodium signals have already decayed [34]. Like Hammon et al. we focused on postexercise imaging results, which would not have been possible with scan protocols depicting more intracellular sodium, because they take longer than 10 min [27]. Within this period, however, we already

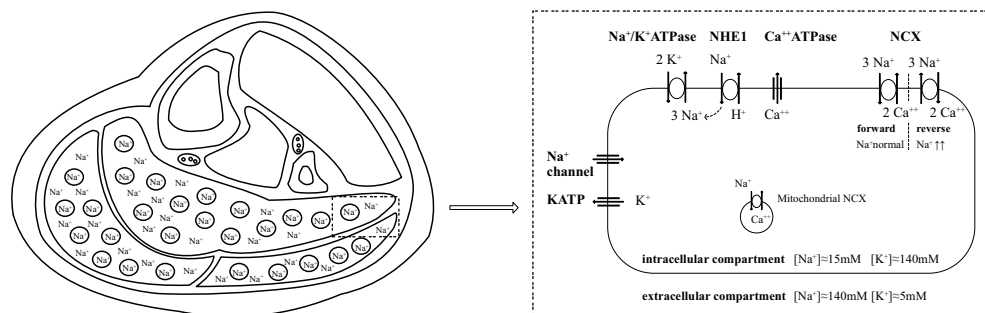


Fig. 5 Illustration of the lower leg cross-section with exemplary representation of intracellular and extracellular sodium in the muscle tissue. The zoomed section on the right shows a myocyte with all its channels and transporters involved in the handling of protons, sodium, calcium, and potassium. Physiologically, the NCX works in forward mode to export calcium. High sodium concentration caused by high NHE1- and low Na⁺/K⁺-ATPase activity can reverse the transport direction of the NCX to import calcium instead of exporting it, resulting in calcium overload

observed a decrease in sodium content. For exact differentiation between intracellular and extracellular sodium, we recommend the realization of further studies with radial sequences and shorter TEs. Since the MRI method used has a potential clinical benefit, optimization of the technique for applications in larger clinical cohorts or even clinical routine would be desirable. To make this possible, we believe that one of the most important features would be the reduction of motion artefacts through e.g. navigator pulses or camera control.

Limitations

Since our study was a preliminary study, it was performed with a very small sample. In our pilot study we found despite the small size significant differences between ME/CFS and healthy controls and showed in the results the ranges and standard deviations as well as the individual measurements in the scatter plot with the linear regression line (Fig. 4). This information will be valuable for planning future studies on larger cohorts, possibly with therapeutic interventions.

Moreover, it is unclear to what extent the immobility of patients with ME/CFS has influenced the results. It is possible that results were affected by variable exercise intensity, muscle condition and activation. This potential bias could be prevented in further studies by using a purpose-built, MRI-compatible exercise apparatus for calf muscles. However, we established our exercise protocol after extensive literature review and internal tests, and we assume that sufficient load matters more than the type of exercise. The same exercise protocol was followed in all patients. The exercise was performed for 3 min to exhaustion and checked for correctness of performance and intensity by a person of the researchers' team. The

fact that all 12 study participants experienced muscle soreness or muscle pain after the exercise is also an indicator for a sufficient muscle load.

All data were processed and analyzed in Horos by one person. Previous analyses of inter- and intra-operator variability in ROI-based measurements, however, revealed no significant differences between measurements [17, 37, 42].

Conclusion and outlook

²³Na-MRI confirms our hypothesis of increased sodium content in muscles of ME/CFS patients. It provides the opportunity to study the sodium homeostasis in patients with ME/CFS. Our findings lead to a better understanding of the pathophysiology of ME/CFS and open up diagnostic possibilities and potential therapeutic targeting. As our results are encouraging, further research with a larger study population and an adapted methodology should be conducted.

Abbreviations

ANCOVA	Analysis of covariance
A.U.	Arbitrary units
BMI	Body mass index
CFS	Chronic Fatigue Syndrome
DICOM	Digital imaging and communications in medicine
EBV	Epstein-Barr virus
FA	Flip angle
ME	Myalgic Encephalomyelitis
mM	Millimolar
MRI	Magnetic resonance imaging
Na	Sodium
NaCl	Sodium chloride
ROI	Region of Interest
SARS-Cov2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SD	Standard deviation
SE	Spin echo
TA	Scan duration

TE	Echo times
TI	Inversion time
TR	Repetition time
T2	Transversal relaxation time

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03616-z>.

Additional file 1: Figure S1. Correlations of handgrip strength and tissue sodium content.

Acknowledgements

We are grateful to the patients who agreed to participate in the study. We thank Alireza Khasheei for technical support and Silvia Thiel for organizational support. Also, we thank our colleagues Sophie Roth, Armin Nagel, Rafael Heiss and Svenja Höger for their help and for sharing their knowledge with us.

Author contributions

KW and CS (Scheibenbogen) conceived the concept. EP performed the study. PL and CHS (Stehning) helped with technical details. EP performed analysis of the data, designed the figures, and wrote the manuscript with support from MK, CS and KW. CS, MK, and TK supervised the project. All authors provided approval for publication.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. CS receives funding from the Weidenhammer Zoebele and Lost Voices Foundation for education and research in ME/CFS. MK is a participant in the Charité Digital Clinician Scientist Program funded by DFG.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article and its supplementary information files.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the institutional ethics review board of the Charité-Universitätsmedizin Berlin (approval reference number EA4/108/19). All study subjects provided written informed consent for participation and the study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Author details

¹Institute of Medical Immunology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow, Berlin, Germany. ²Institute of Computer-Assisted Cardiovascular Medicine, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany. ³Department of Congenital Heart Disease, German Heart Center Berlin, Berlin, Germany. ⁴Institute of Radiology, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU), University Hospital Erlangen, Erlangen, Germany. ⁵Philips Healthcare, Hamburg, Germany. ⁶Institute of General Pharmacology and Toxicology, University Hospital Frankfurt am Main, Goethe-University, Theodor-Stern Kai 7, Frankfurt am Main, Germany. ⁷Berlin Institute of Health (BIH), Berlin, Germany. ⁸German Centre for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site, Berlin, Germany.

Received: 13 May 2022 Accepted: 25 August 2022

Published online: 09 December 2022

References

- Carruthers BM, Jain AK, De Meirleir KL, Peterson DL, Klimas NG, Lerner AM, et al. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: clinical working case definition, diagnostic and treatment protocols. *J Chronic Fatigue Syndr*. 2003;11(1):7–115.
- Lim EJ, Ahn YC, Jang ES, Lee SW, Lee SH, Son CG. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis (CFS/ME). *J Transl Med*. 2020;18(1):100.
- Mateo LJ, Chu L, Stevens S, Stevens J, Snell CR, Davenport T, et al. Post-exertional symptoms distinguish Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome subjects from healthy controls. *Work*. 2020;66(2):265–75.
- Bohannon RW. Muscle strength: clinical and prognostic value of hand-grip dynamometry. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(5):465–70.
- Sotzny F, Blanco J, Capelli E, Castro-Marrero J, Steiner S, Murovska M, et al. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome—evidence for an autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2018;17(6):601–9.
- Nguyen CB, Kumar S, Zucknick M, Kristensen VN, Gjerstad J, Nilsen H, et al. Associations between clinical symptoms, plasma norepinephrine and deregulated immune gene networks in subgroups of adolescent with Chronic Fatigue Syndrome. *Brain Behav Immun*. 2019;76:82–96.
- Light AR, White AT, Hughen RW, Light KC. Moderate exercise increases expression for sensory, adrenergic, and immune genes in chronic fatigue syndrome patients but not in normal subjects. *J Pain*. 2009;10(10):1099–112.
- Loebel M, Grabowski P, Heidecke H, Bauer S, Hanitsch LG, Wittke K, et al. Antibodies to β adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in patients with Chronic Fatigue Syndrome. *Brain Behav Immun*. 2016;52:32–9.
- Wirth K, Scheibenbogen C. A Unifying Hypothesis of the Pathophysiology of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS): recognitions from the finding of autoantibodies against β 2-adrenergic receptors. *Autoimmun Rev*. 2020;19(6):102527.
- van Campen C, Rowe PC, Visser FC. Cerebral Blood Flow Is Reduced in Severe Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome Patients During Mild Orthostatic Stress Testing: An Exploratory Study at 20 Degrees of Head-Up Tilt Testing. *Healthcare (Basel)*. 2020;8(2).
- Vermeulen RC, Kurk RM, Visser FC, Sluiter W, Scholte HR. Patients with chronic fatigue syndrome performed worse than controls in a controlled repeated exercise study despite a normal oxidative phosphorylation capacity. *J Transl Med*. 2010;8:93.
- Jones DE, Hollingsworth KG, Jakovljevic DG, Fattakhova G, Paiman J, Blamire AM, et al. Loss of capacity to recover from acidosis on repeat exercise in chronic fatigue syndrome: a case-control study. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(2):186–94.
- Jones DE, Hollingsworth KG, Taylor R, Blamire AM, Newton JL. Abnormalities in pH handling by peripheral muscle and potential regulation by the autonomic nervous system in chronic fatigue syndrome. *J Intern Med*. 2010;267(4):394–401.
- Wirth KJ, Scheibenbogen C. Pathophysiology of skeletal muscle disturbances in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2021;19(1):162.
- Madelin G, Lee JS, Regatte RR, Jerschow A. Sodium MRI: methods and applications. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*. 2014;79:14–47.
- Kopp C, Linz P, Wachsmuth L, Dahlmann A, Horbach T, Schöfl C, et al. (23)Na magnetic resonance imaging of tissue sodium. *Hypertension*. 2012;59(1):167–72.
- Gerhalter T, Gast LV, Marty B, Uder M, Carlier PG, Nagel AM. Assessing the variability of (23) Na MRI in skeletal muscle tissue: reproducibility and repeatability of tissue sodium concentration measurements in the lower leg at 3 T. *NMR Biomed*. 2020;33(5):e4279.
- Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, et al. 23Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*. 2013;61(3):635–40.
- Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Garlich C, et al. 23Na magnetic resonance imaging of the lower leg of acute heart failure patients during diuretic treatment. *PLoS ONE*. 2015;10(10):e0141336.
- Dahlmann A, Dörfelt K, Eicher F, Linz P, Kopp C, Mössinger I, et al. Magnetic resonance-determined sodium removal from tissue stores in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2015;87(2):434–41.

21. Kannerkeril D, Karg MV, Bosch A, Ott C, Linz P, Nagel AM, et al. Tissue sodium content in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2019;33(7):485–9.
22. Inglese M, Madelin G, Oesingmann N, Babb JS, Wu W, Stoeckel B, et al. Brain tissue sodium concentration in multiple sclerosis: a sodium imaging study at 3 tesla. *Brain*. 2010;133(Pt 3):847–57.
23. Weber MA, Nagel AM, Wolf MB, Jurkat-Rott K, Kauczor HU, Semmler W, et al. Permanent muscular sodium overload and persistent muscle edema in Duchenne muscular dystrophy: a possible contributor of progressive muscle degeneration. *J Neurol*. 2012;259(11):2385–92.
24. Nagel AM, Amarteifio E, Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K, Semmler W, Schad LR, et al. 3 Tesla sodium inversion recovery magnetic resonance imaging allows for improved visualization of intracellular sodium content changes in muscular channelopathies. *Invest Radiol*. 2011;46(12):759–66.
25. Weber MA, Nielles-Vallespin S, Essig M, Jurkat-Rott K, Kauczor HU, Lehmann-Horn F. Muscle Na⁺ channelopathies: MRI detects intracellular ²³Na accumulation during episodic weakness. *Neurology*. 2006;67(7):1151–8.
26. Gerhalter T, Gast LV, Marty B, Martin J, Trollmann R, Schüssler S, et al. (23)Na MRI depicts early changes in ion homeostasis in skeletal muscle tissue of patients with duchenne muscular dystrophy. *J Magn Reson Imaging*. 2019;50(4):1103–13.
27. Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Janka R, et al. 3 Tesla (23)Na magnetic resonance imaging during aerobic and anaerobic exercise. *Acad Radiol*. 2015;22(9):1181–90.
28. Constantinides CD, Gillen JS, Boada FE, Pomper MG, Bottomley PA. Human skeletal muscle: sodium MR imaging and quantification-potential applications in exercise and disease. *Radiology*. 2000;216(2):559–68.
29. Bansal N, Szczepaniak L, Ternullo D, Fleckenstein JL, Malloy CR. Effect of exercise on (23)Na MRI and relaxation characteristics of the human calf muscle. *J Magn Reson Imaging*. 2000;11(5):532–8.
30. Chang G, Wang L, Schweitzer ME, Regatte RR. 3D ²³Na MRI of human skeletal muscle at 7 Tesla: initial experience. *Eur Radiol*. 2010;20(8):2039–46.
31. Bell D. *The doctor's guide to chronic fatigue syndrome*. Boston: Addison-Wesley Publishing Company Reading; 1995.
32. Chalder T, Berelowitz G, Pawlikowska T, Watts L, Wessely S, Wright D, et al. Development of a fatigue scale. *J Psychosom Res*. 1993;37(2):147–53.
33. Bernstein MS, Morabia A, Slutskis D. Definition and prevalence of sedentarism in an urban population. *Am J Public Health*. 1999;89(6):862–7.
34. Gerlach DA, Schopen K, Linz P, Johannes B, Titze J, Zange J, et al. Atrophy of calf muscles by unloading results in an increase of tissue sodium concentration and fat fraction decrease: a (23)Na MRI physiology study. *Eur J Appl Physiol*. 2017;117(8):1585–95.
35. Jäkel B, Kedor C, Grabowski P, Wittke K, Thiel S, Scherbakov N, et al. Hand grip strength and fatigability: correlation with clinical parameters and diagnostic suitability in ME/CFS. *J Transl Med*. 2021;19(1):159.
36. Nacul LC, Mudie K, Kingdon CC, Clark TG, Lacerda EM. Hand grip strength as a clinical biomarker for ME/CFS and disease severity. *Front Neurol*. 2018;9:992.
37. Roth S, Markó L, Birukov A, Hennemuth A, Kühnen P, Jones A, et al. Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents. *J Clin Med*. 2019;8(12):2036.
38. Iwamoto T, Watanabe Y, Kita S, Blaustein MP. Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitors: a new class of calcium regulators. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2007;7(3):188–98.
39. Jammes Y, Adjriou N, Kipson N, Criado C, Charpin C, Rebaudet S, et al. Altered muscle membrane potential and redox status differentiates two subgroups of patients with chronic fatigue syndrome. *J Transl Med*. 2020;18(1):173.
40. Burnet RB, Yeap BB, Chatterton BE, Gaffney RD. Chronic fatigue syndrome: is total body potassium important? *Med J Aust*. 1996;164(6):384.
41. Baklund IH, Dammen T, Moum T, Kristiansen W, Duarte DS, Castro-Marrero J, et al. Evaluating routine blood tests according to clinical symptoms and diagnostic criteria in individuals with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *J Clin Med*. 2021;10(14):3105.
42. Hakulinen U, Brander A, Ilvesmäki T, Helminen M, Ohman J, Luoto TM, et al. Reliability of the freehand region-of-interest method in quantitative cerebral diffusion tensor imaging. *BMC Med Imaging*. 2021;21(1):144.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Originalarbeiten in Zeitschriften mit peer-reviewed Verfahren:

- **Petter E**, Scheibenbogen C, Linz P, Stehning C, Wirth K, Kuehne T, Kelm M. Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. J Transl Med. 2022 Dec 9;20(1):580. doi: 10.1186/s12967-022-03616-z. PMID: 36494667; PMCID: PMC9733289.
- **Petter E**, Scheibenbogen C, Linz P, Stehning C, Wirth K, Kuehne T, Kelm M. Correction: Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. J Transl Med. 2023 Apr 4;21(1):243. doi: 10.1186/s12967-023-03948-4. Erratum for: J Transl Med. 2022 Dec 9;20(1):580. PMID: 37016384.

Publizierte Abstracts und Poster:

- **Petter E**, Scheibenbogen C, Linz P, Stehning C, Wirth K, Kuehne T, Kelm M. Natriumgehalt der Unterschenkelmuskulatur bei Patientinnen mit ME/CFS. Netzwerktreffen der Lost Voices Stiftung in Hannover 10/2022 - Posterpräsentation.
- **Petter E**, Scheibenbogen C, Linz P, Stehning C, Wirth K, Kuehne T, Kelm M. Muscle sodium content in patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. 2nd International Meeting of the Charité Fatigue Center ME/CFS Conference in Berlin 05/2023 - Abstract, Poster und Präsentation.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen danken, die mich bei der Anfertigung der Doktorarbeit unterstützt und motiviert haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter und Betreuerin Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen für die Überlassung der Arbeit, die ausgezeichnete Betreuung und Unterstützung und ihr entgegengebrachtes Vertrauen in meine Arbeit.

Zudem bedanke ich mich herzlich bei meinen Betreuern Prof. Dr. Titus Kühne und Dr. Marcus Kelm für ihre Unterstützung, Geduld und den konstruktiven Austausch bei der Durchführung der Promotion.

Ebenfalls danke ich Silvia Thiel und Alireza Khasheei für ihre Hilfsbereitschaft und ihren tatkräftigen Einsatz an den Wochenenden.

Ich danke der Lost Voices Stiftung für die Großzügigkeit meines Stipendiums und den Patientinnen für die Teilnahme an der Studie.

Insbesondere bedanke ich mich bei meinen Eltern Ingrid und Christian Petter für ihre liebevolle Unterstützung und motivierenden Worte und zuletzt bei Madlen Ungersböck und meinem Bruder Emmanuel Petter für die ein oder andere Statistik-Nachhilfestunde.