

MMD GmbH & Co. KG

Einfluss von Klein`sche Felder Magnetstreifen auf Mitochondrienfunktionen

Eine in-vitro Pilotstudie

INHALTSVERZEICHNIS

in-vitro Analyse mit peripheren Blutleukozyten	6
Fragestellung	6
Methodik	6
ZUSAMMENFASSUNG	6
Ergebnisse für den Probanden mit Ermüdungserscheinungen	7
Aktivität mitochondrialer Enzyme	7
Mitochondriale ATP Generierung	11
Mitochondrienmasse	15
Mitochondriales Potential	18
PGC-1-alpha Expression	21
Ergebnisse für den Probanden ohne Ermüdungserscheinungen („Normalperson“)	23

Abbildung 1: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen. Dargestellt ist die Absolutwerte von 4 separaten Analysen und dem Mittelwert.	7
Abbildung 2: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ (Endkonzentration) für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	8
Abbildung 3: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	8
Abbildung 4: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	9
Abbildung 5: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	10
Abbildung 6: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	10
Abbildung 7: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	11
Abbildung 8: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	12
Abbildung 9: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	12
Abbildung 10: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	13
Abbildung 11: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	13
Abbildung 12: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	14
Abbildung 13: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	14

Abbildung 14: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	15
Abbildung 15: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	16
Abbildung 16: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	16
Abbildung 17: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	17
Abbildung 18: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	17
Abbildung 19: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	18
Abbildung 20: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	18
Abbildung 21: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H ₂ O ₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	19
Abbildung 22: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	19
Abbildung 23: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	20
Abbildung 24: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	20
Abbildung 25: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.	21

Tabelle 1: Abhängigkeit der PGC-1-alpha Expression in PBMC von der eingesetzten H₂O₂ Konzentration nach einer Kulturdauer von 7 Tagen. Dargestellt ist die n-fache Expression von PGC-1-alpha in PBMC in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen im Vergleich zur PGC-1-alpha Expression in PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen. 21

Tabelle 2: Abhängigkeit der PGC-1-alpha Expression in PBMC von der eingesetzten H₂O₂ Konzentration nach einer Kulturdauer von 21 Tagen. Dargestellt ist die n-fache Expression von PGC-1-alpha in PBMC in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen im Vergleich zur PGC-1-alpha Expression in PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen. 22

Tabelle 3: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H₂O₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulationen (Negativkontrolle, NK). 23

Tabelle 4: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulationen (Negativkontrolle, NK)..... 23

Tabelle 5: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulationen (Negativkontrolle, NK)..... 24

IN-VITRO ANALYSE MIT PERIPHEREN BLUTLEUKOZYTEN

FRAGESTELLUNG

Die Verwendung von Klein`sche Felder Magnetstreifen in der therapeutischen Anwendung hat Verbesserungen des klinischen Krankheitsbildes gebracht. Der Mechanismus ist nicht gänzlich bekannt, eine direkte und/oder indirekte Wirkung auf die Mitochondrienfunktionen ist anzunehmen. Daher sollte in einer in-vitro Pilotstudie überprüft werden ob die Anwendung von Klein`sche Magnetstreifen zentrale Mitochondrienfunktionen beeinflusst.

METHODIK

Es wurde von 2 freiwilligen Probanden, einer „Normalperson“ und einer Person mit Ermüdungserscheinungen Blut entnommen aus dem periphere Blutleukozyten (PBMC) isoliert wurden. Die isolierten PBMC wurden in zwei Aliquots geteilt. Jedes Aliquot wurde entweder in der Abwesenheit oder Anwesenheit von Klein`sche Felder Magnetstreifen bei 37°C unter 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Die Kultivierung in An- bzw. Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen erfolgte bis zu 28 Tage. Nach den entsprechenden Inkubationszeiten wurden die PBMC der entsprechenden Aliquots entweder mit H₂O₂, mit Valinomycin, oder mit Lipopolysaccharid von Escherichia coli (LPS) für weitere 24 Stunden inkubiert. Im Anschluss erfolgte die Analyse der Aktivitäten von mitochondrialen Dehydrogenasen, des mitochondrial generierten ATP, des mitochondrialen Membranpotentials, der Mitochondrienmasse und der PGC-1-alpha Expression.

ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dass die Anwesenheit von Klein`sche Felder Magnetstreifen die Mitochondrien resistenter gegenüber Stressoren macht. Insbesondere die mitochondriale ATP Generierung wird durch die Anwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen aufrecht erhalten und bleibt auch nach Zugabe unterschiedlicher Stressoren (H₂O₂, Valinomycin, LPS) signifikant höher im Vergleich zu den in der Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen kultivierten PBMC. Diese Ergebnisse werden untermauert durch die Analyse der PGC-1-alpha mRNA Expression in den PBMC in der Anwesenheit bzw. Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen. Die gesteigerte Basisexpression an PGC-1-alpha in PBMC in der Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen deutet auf einen „Stress“ durch die Kulturbedingungen hin. Die Zugabe eines weiteren Stressors (H₂O₂) führt in diesen PBMC zu einer Beeinträchtigung der PGC-1-alpha Expression und so zu einer Beeinträchtigung der mitochondrialen Biogenese. Dem gegenüber haben in der Anwesenheit von Klein`sche Felder Magnetstreifen kultivierte PBMC einen geringeren Basisstress. Nach Zugabe eines weiteren Stressors (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) wird die PGC-1-alpha Expression gesteigert. Die gesteigerte PGC-1-alpha mRNA Expression in Gegenwart der Klein`sche Felder Magnetstreifen spiegelt sich wieder in einer signifikanten Erhöhung der Mitochondrienmasse die nach 21 Tagen messbar wird.

Zwischen den beiden Probanden, einer „Normalperson“ und einer Person mit Ermüdungserscheinungen sind keine signifikanten Unterschiede bei den untersuchten Parametern zu erkennen.

ERGEBNISSE FÜR DEN PROBANDEN MIT ERMÜDUNGERSCHEINUNGEN

Im Folgenden sind die Ergebnisse nach 7 Tagen und nach 21 Tagen dargestellt. Die übrigen Zeitpunkte (4 Tage, 28 Tage) zeigten keine Veränderungen der Ergebnisse im Vergleich zu den Ergebnissen nach 7 Tagen bzw. 21 Tagen.

AKTIVITÄT MITOCHONDRIALER ENZYME

Zunächst ist der Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Enzyme nach 7 Tage Kultivierung analysiert worden. Die Aktivität der mitochondrialen Enzyme nach dieser Inkubationsperiode ist in Abbildung 1 dargestellt. Die in Ab- bzw. Anwesenheit von Klein`sche Felder Magnetstreifen kultivierten PBMC wurden entweder mit H_2O_2 , mit Valinomycin oder mit LPS für 24 Stunden stimuliert. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 2 bis 4 nachfolgend dargestellt.

INSGESAMT ZEIGT SICH, DASS DIE KULTIVIERUNG VON PBMC IN GEGENWART DER KLEIN`SCHE FELDER MAGNETSTREIFEN DIE MITOCHONDRIALEN ENZYME AKTIVIERT.

OHNE WEITERE STIMULATION

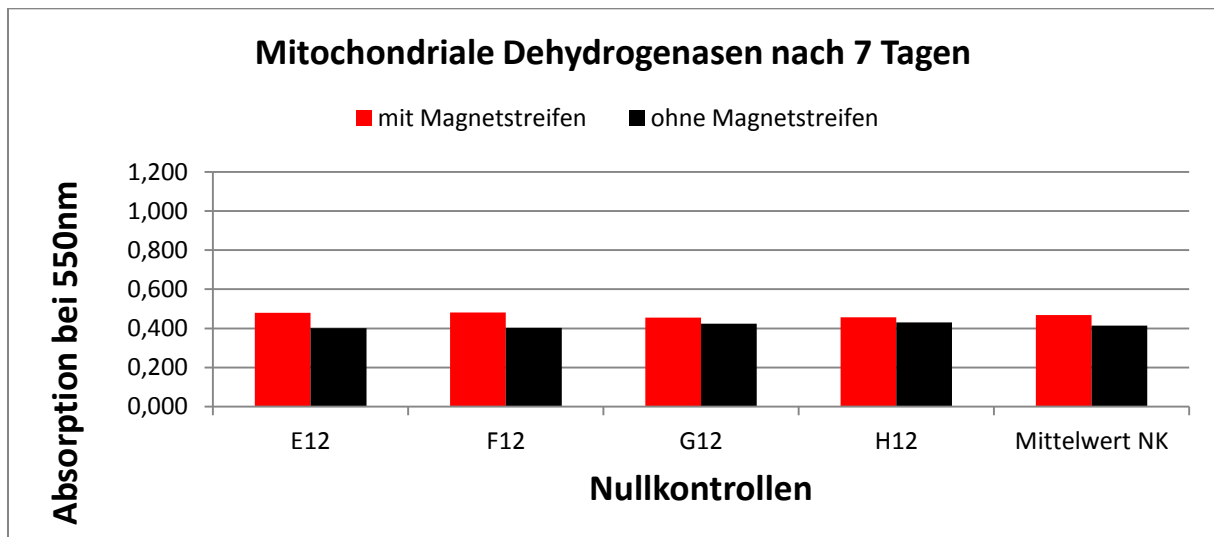


Abbildung 1: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen. Dargestellt ist die Absolutwerte von 4 separaten Analysen und dem Mittelwert.

Nach 7 Tagen Kultivierung der Zellen mit den Klein`sche Felder Magnetstreifen erhöhten sich die Enzymaktivitäten mitochondrialer Enzyme um circa 30%.

NACH STIMULATION MIT H2O2

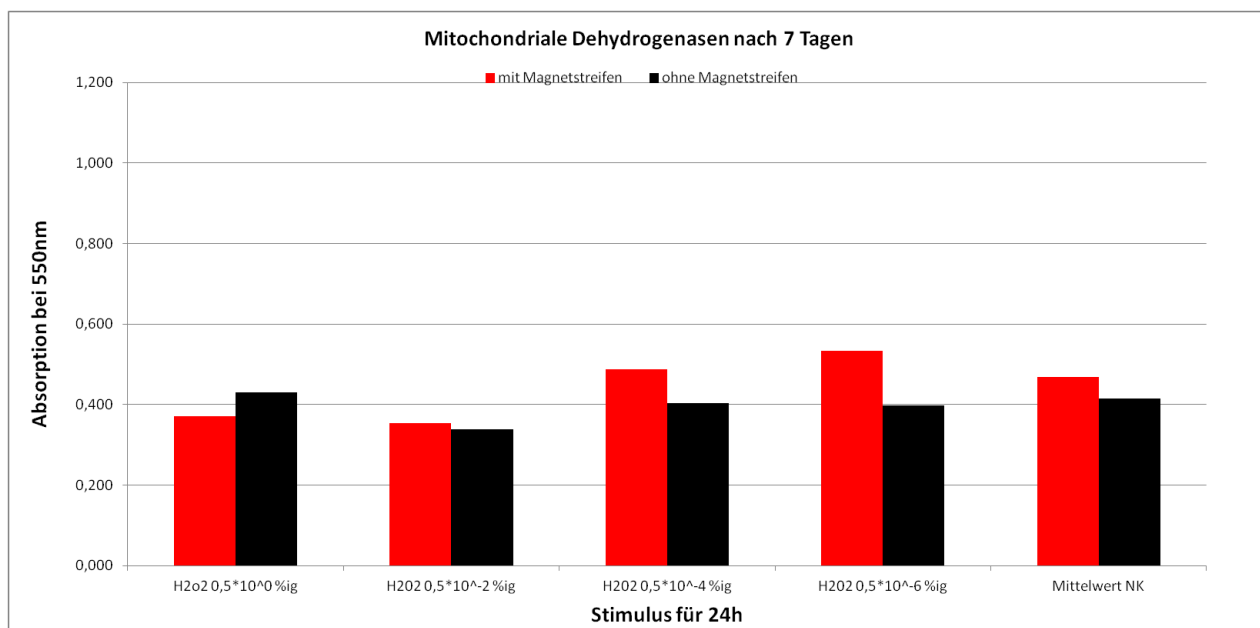


Abbildung 2: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 (Endkonzentration) für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen um 35% nach Stimulation mit H2O2 im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

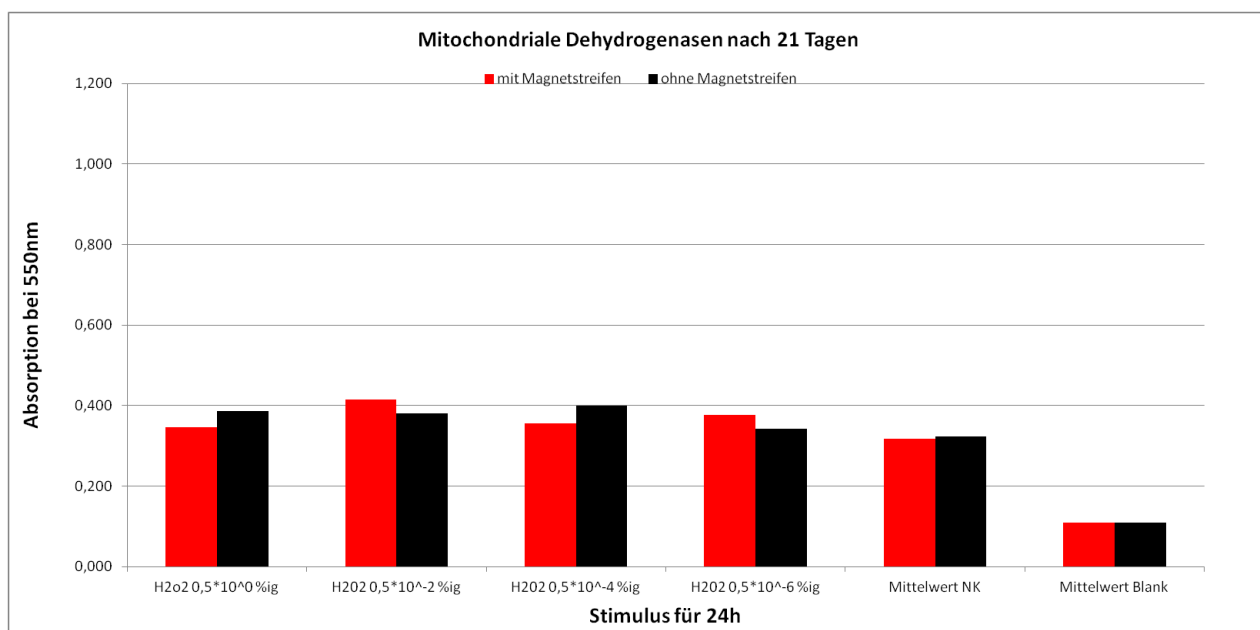


Abbildung 3: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Nach einer vorherigen Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage ist die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen nach Stimulation mit H₂O₂ vergleichbar zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

NACH STIMULATION MIT VALINOMYCIN

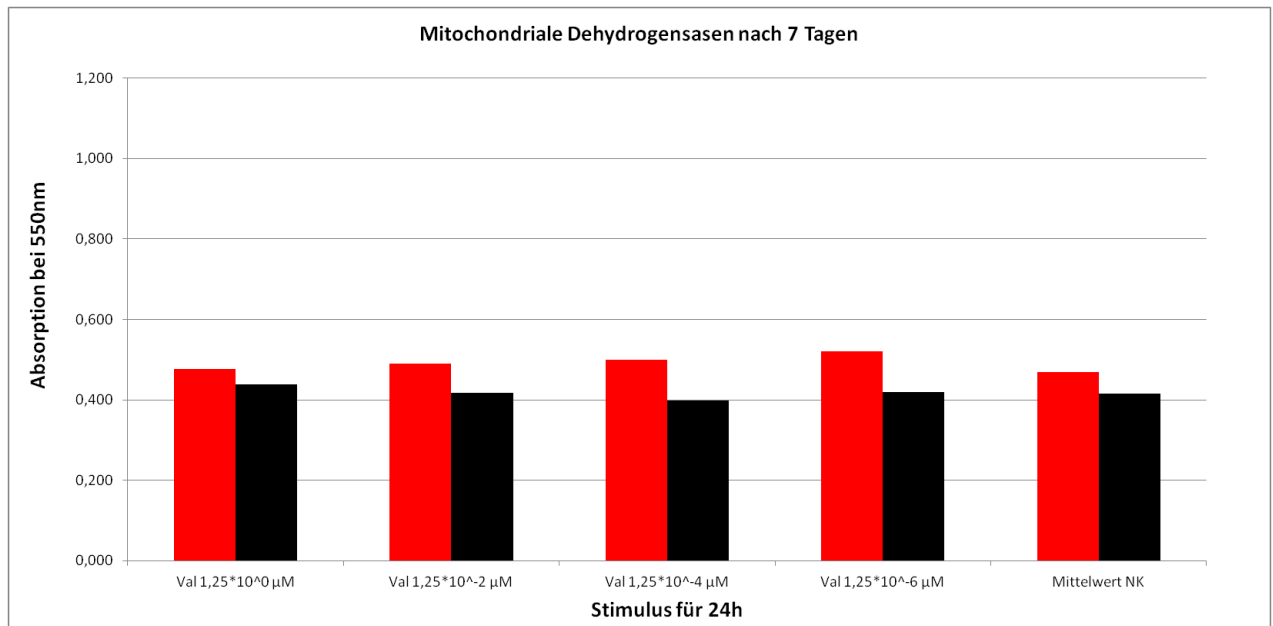


Abbildung 4: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen um etwa 25% nach Stimulation mit Valinomycin im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

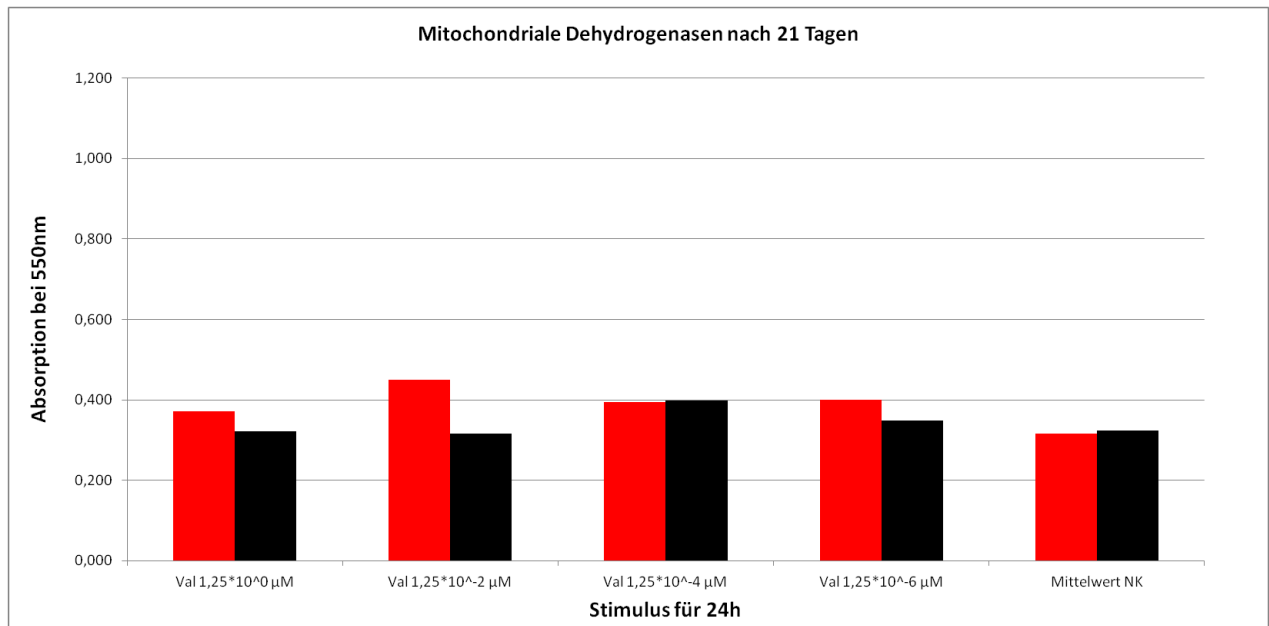


Abbildung 5: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Nach einer vorherigen Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage ist die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen nach Stimulation mit Valinomycin vergleichbar zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

NACH STIMULATION MIT LPS

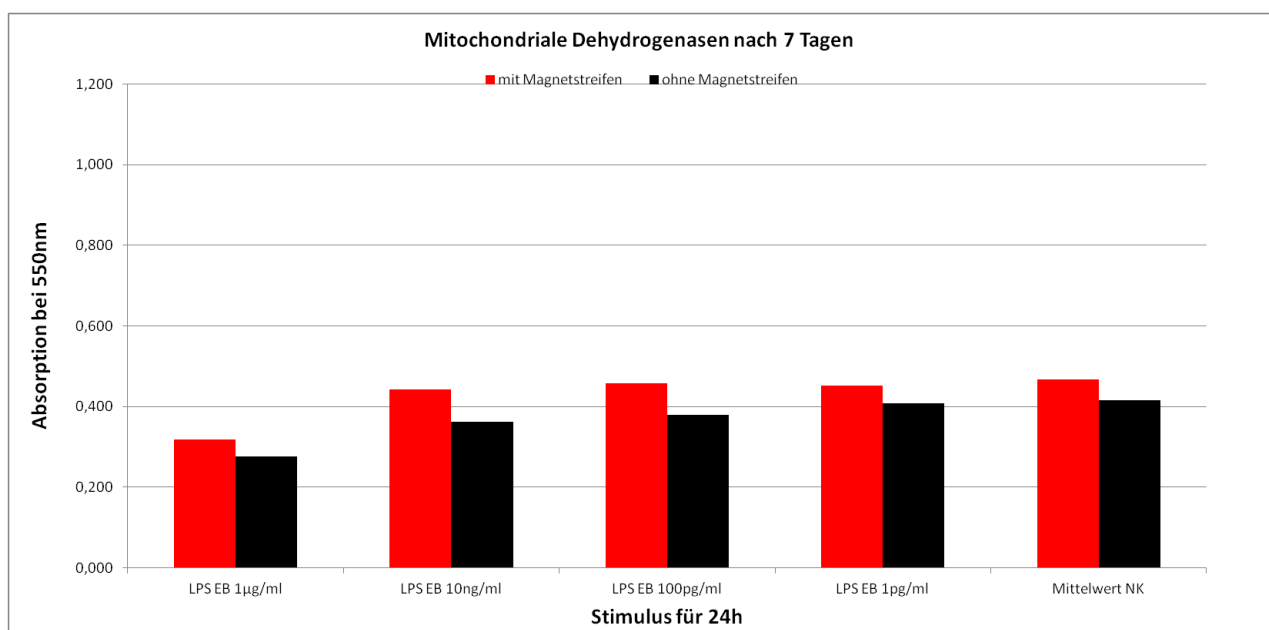


Abbildung 6: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen um etwa 20% nach Stimulation mit LPS im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

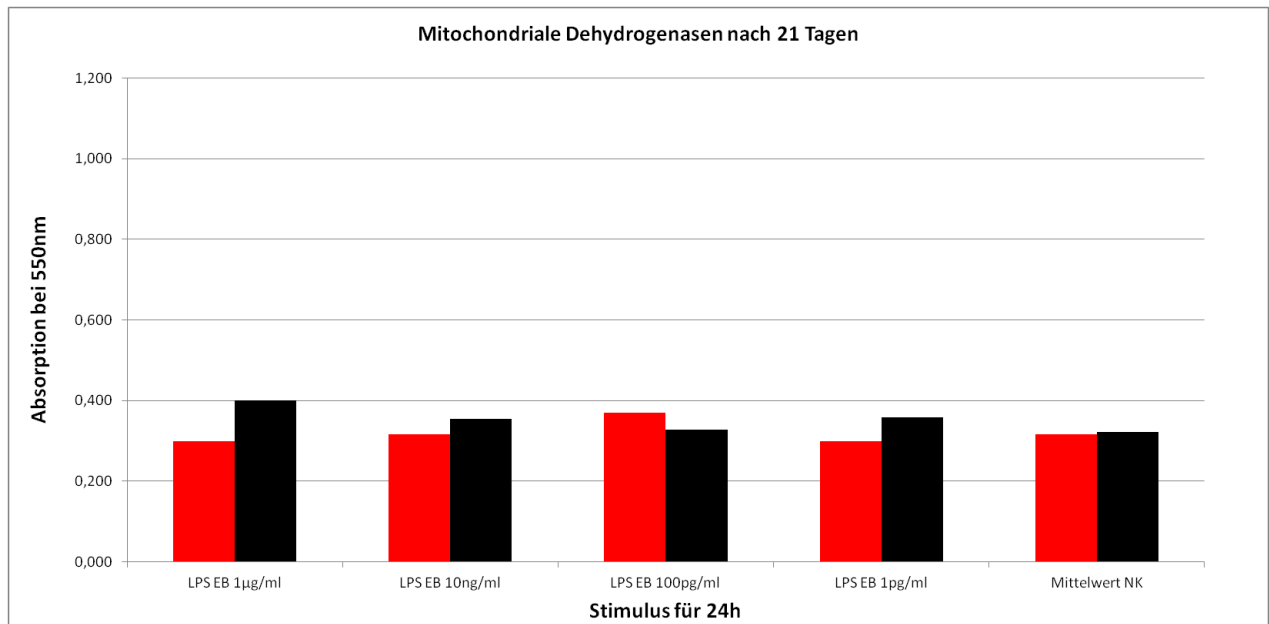


Abbildung 7: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen Dehydrogenasen in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Nach einer vorherigen Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage ist die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen nach Stimulation mit Valinomycin vergleichbar zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

MITOCHONDRIALE ATP GENERIERUNG

Als nächstes wurde der Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondriale ATP Generierung nach 7 Tage und nach 21 Tagen Kultivierung analysiert. Die in Ab- bzw. Anwesenheit von Klein'sche Felder Magnetstreifen kultivierten PBMC wurden entweder mit H₂O₂, mit Valinomycin oder mit LPS für 24 Stunden stimuliert. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 8 bis 10 nachfolgend dargestellt.

INSGESAMT ZEIGT SICH, DASS DIE KULTIVIERUNG VON PBMC IN GEGENWART DER KLEIN'SCHE FELDER MAGNETSTREIFEN DIE MITOCNDRIALE ATP GENERIERUNG SIGNIFIKANT STEIGERT BZW. AUFRECHT ERHÄLT.

NACH STIMULATION MIT H2O2

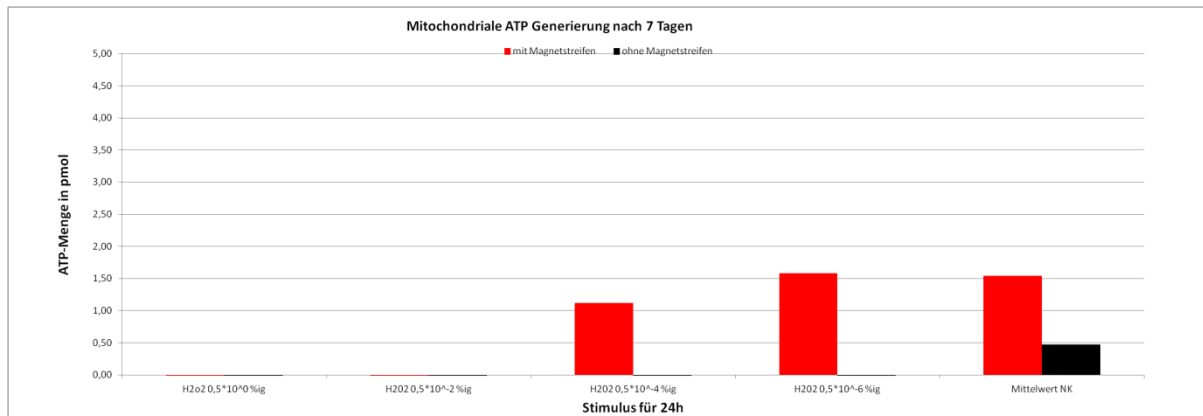


Abbildung 8: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H₂O₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge nach Stimulation mit H₂O₂ signifikant um mehr als 300% im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

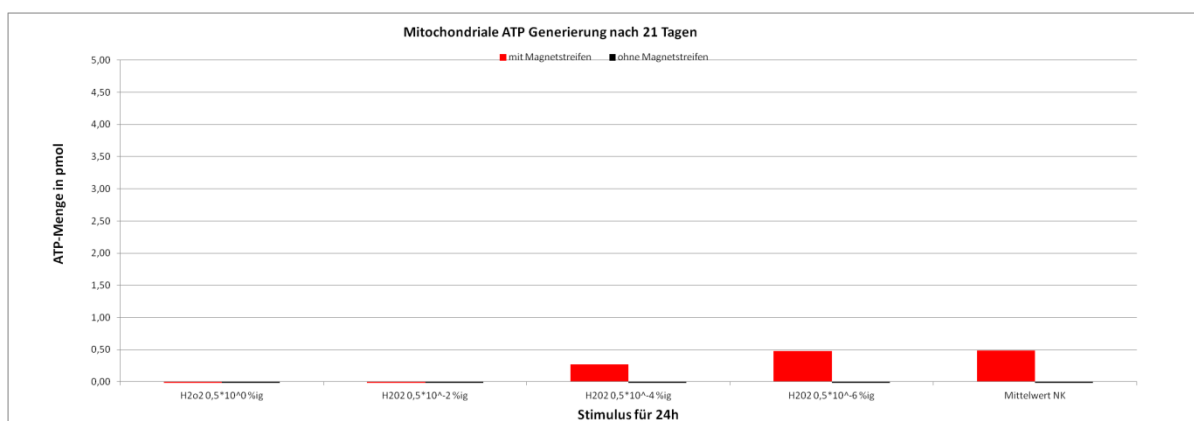


Abbildung 9: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H₂O₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge

nach Stimulation mit H_2O_2 signifikant im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

NACH STIMULATION MIT VALINOMYCIN

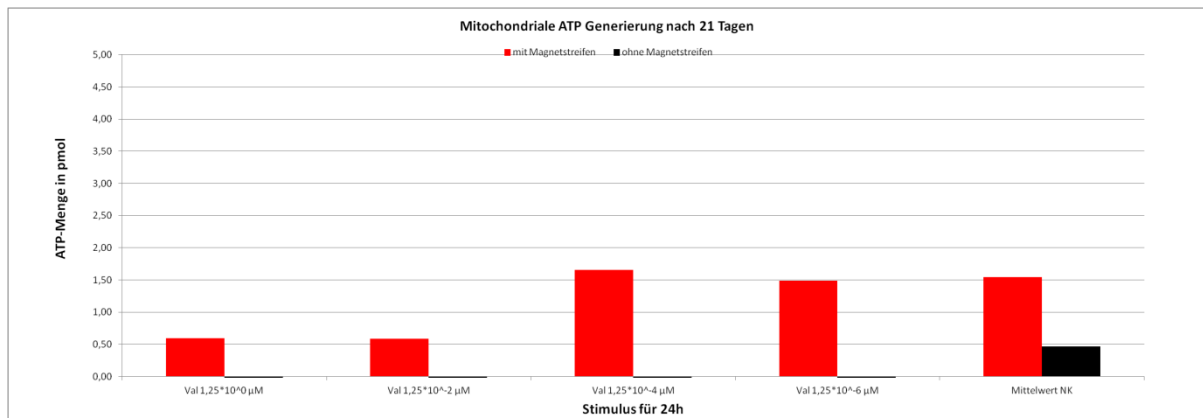


Abbildung 10: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge nach Stimulation mit Valinomycin signifikant um mehr als 300% im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

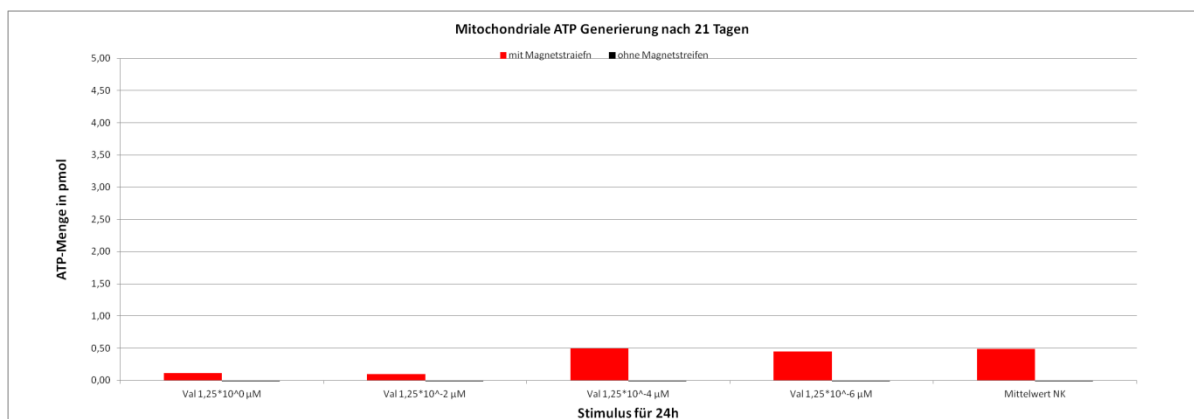


Abbildung 11: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge nach Stimulation mit Valinomycin signifikant im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

NACH STIMULATION MIT LPS

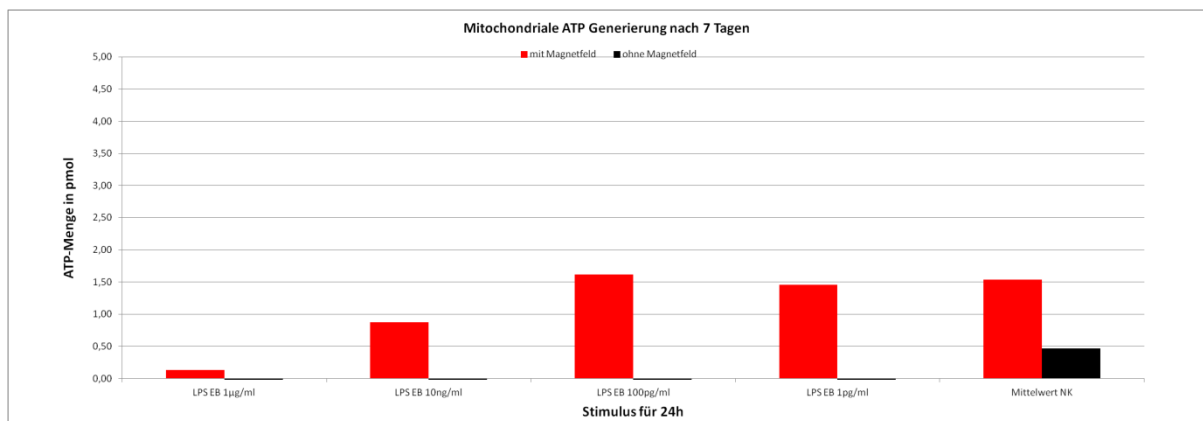


Abbildung 12: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 7 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge nach Stimulation mit LPS signifikant um mehr als 300% im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

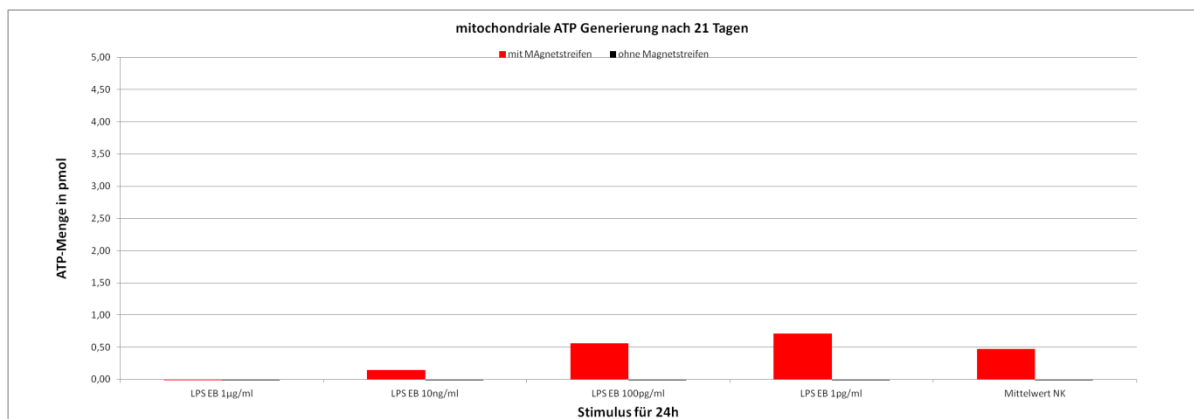


Abbildung 13: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die mitochondrialen ATP Generierung in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

Die vorherige Kultivierung der PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen für 21 Tage erhöht die generierte mitochondriale ATP Menge nach Stimulation mit LPS signifikant im Vergleich zur Kultivierung in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.

MITOCHONDRIENMASSE

NACH 21 TAGEN ERHÖHT SICH DIE MITOCHONDRIENMASSE DER IN ANWESENHEIT DER KLEIN'SCHE FELDER MAGNETSTREIFEN KULTIVierten PBMC SIGNIFIKANT IM VERGLEICH ZU PBMC IN DER ABWESENHEIT DER KLEIN'SCHE FELDER MAGNETSTREIFEN KULTIVIERT.

NACH STIMULATION MIT H2O2

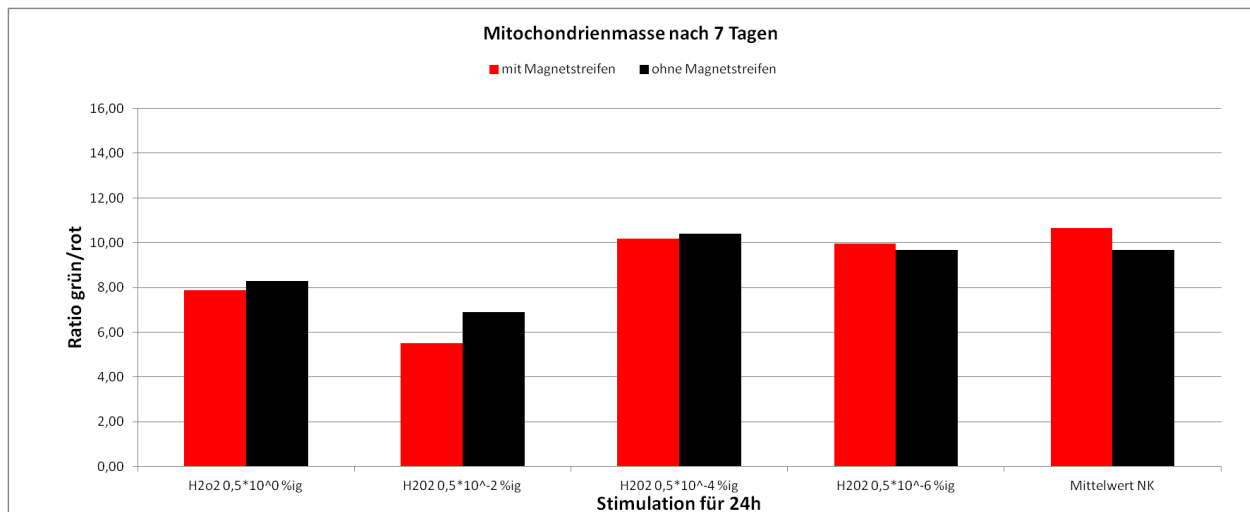


Abbildung 14: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

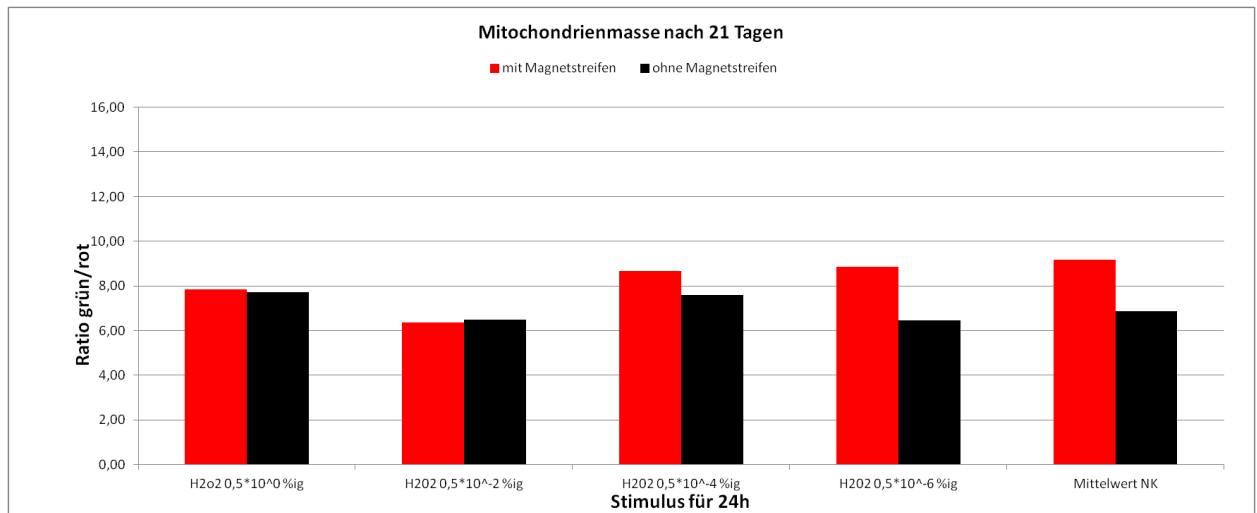


Abbildung 15: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

NACH STIMULATION MIT VALINOMYCIN

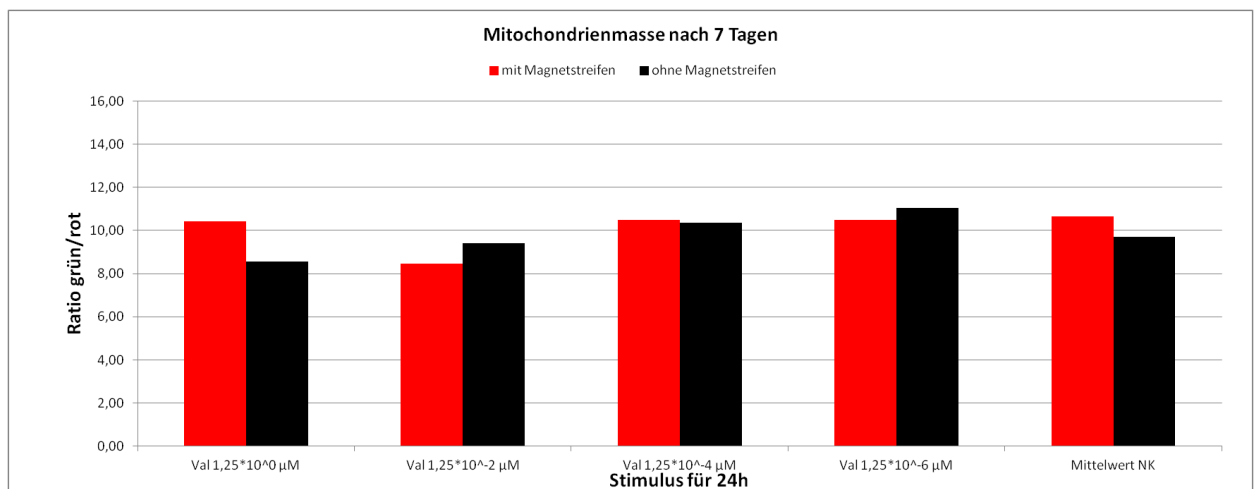


Abbildung 16: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

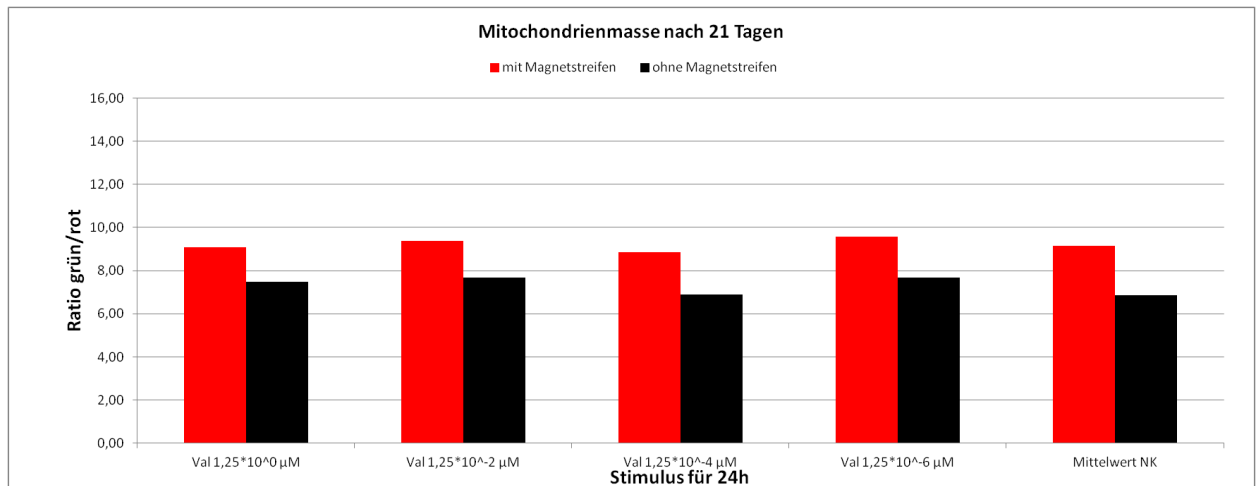


Abbildung 17: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

NACH STIMULATION MIT LPS

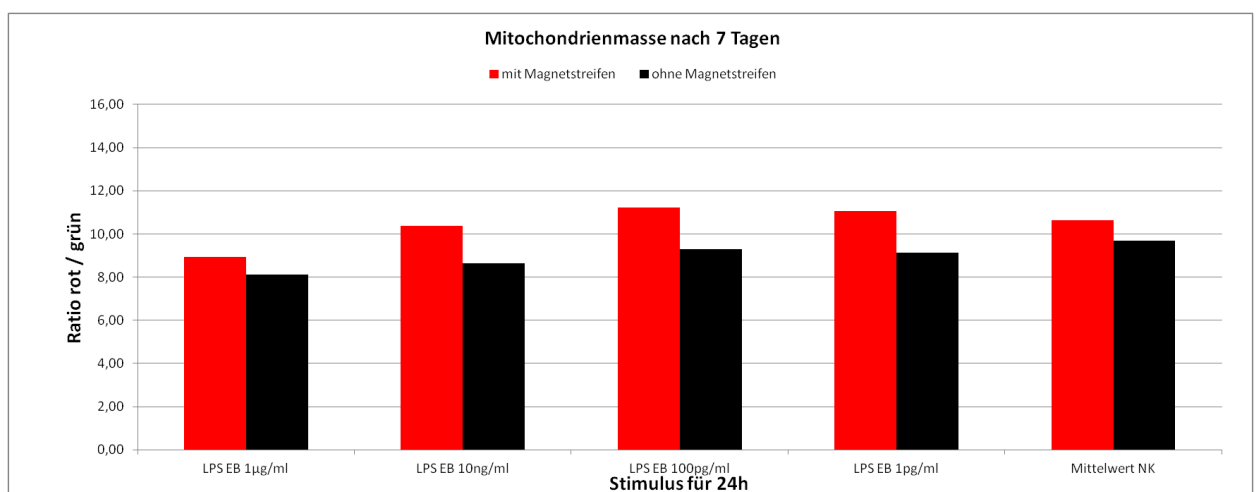


Abbildung 18: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

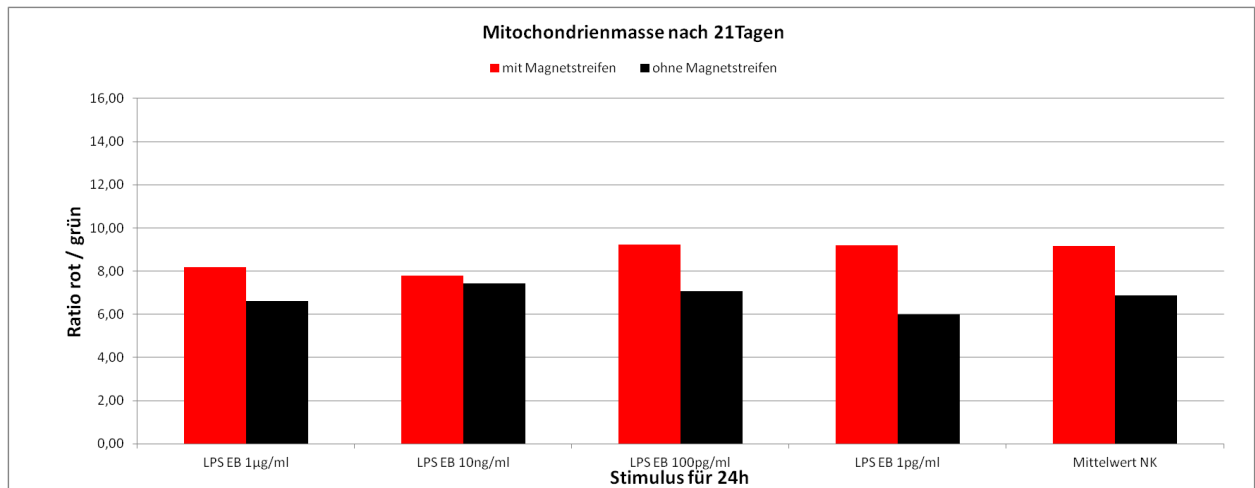


Abbildung 19: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf die Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

MITOCHONDRIALES POTENTIAL

ZWISCHEN PBMC KULTIVIERT IN ABWESENHEIT BZW. ANWESENHEIT DER KLEIN'SCHE FELDER MAGNETSTREIFEN GIBT ES IN BEZUG AUF DAS MITOCHONDRIALE MEMBRANPOTENTIAL KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE.

NACH STIMULATION MIT H2O2

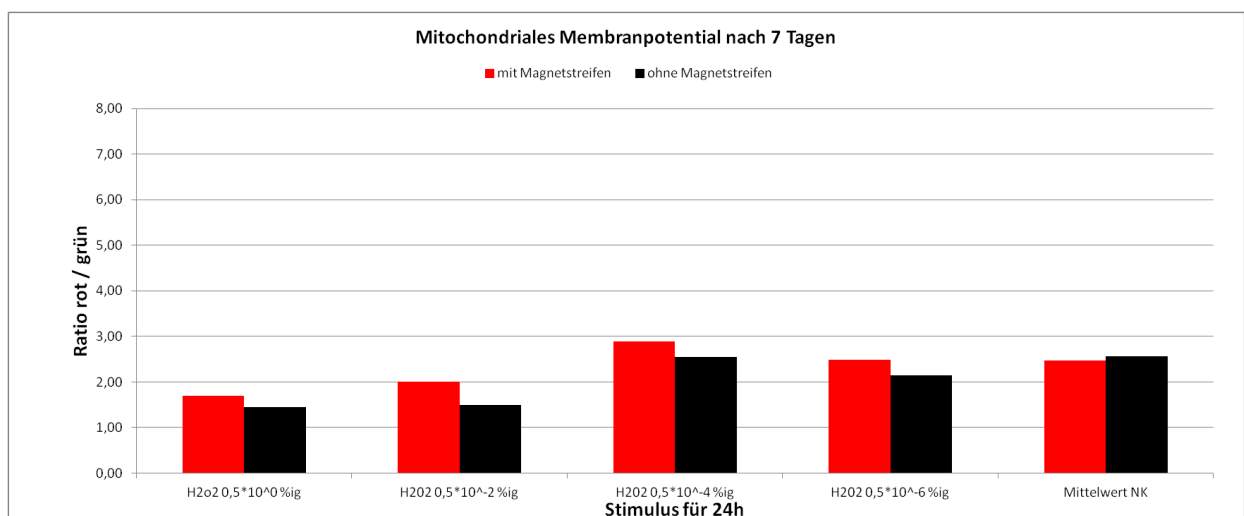


Abbildung 20: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

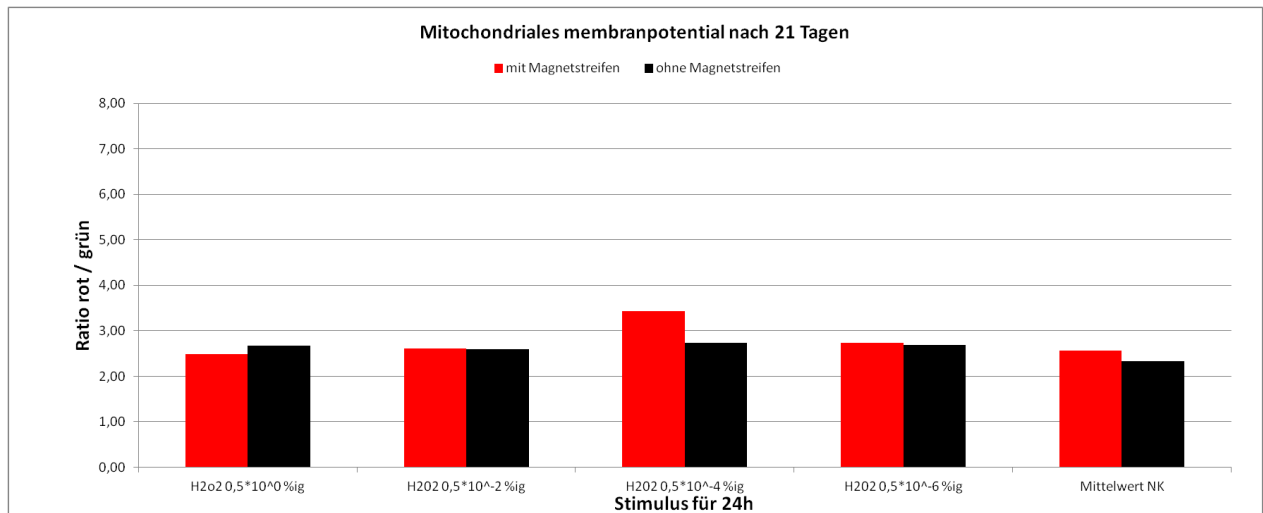


Abbildung 21: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H2O2 für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

NACH STIMULATION MIT VALINOMYCIN

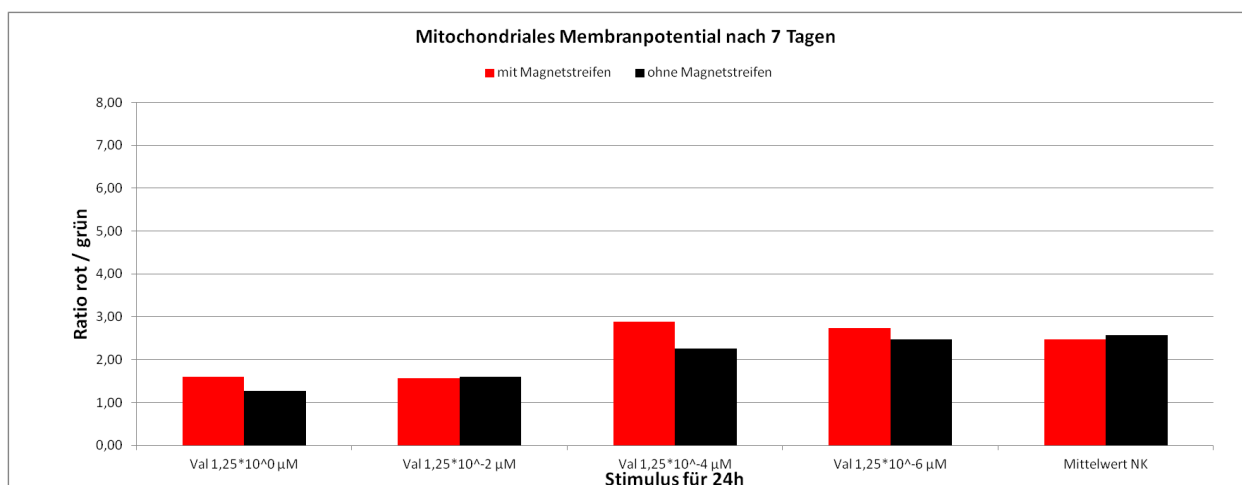


Abbildung 22: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

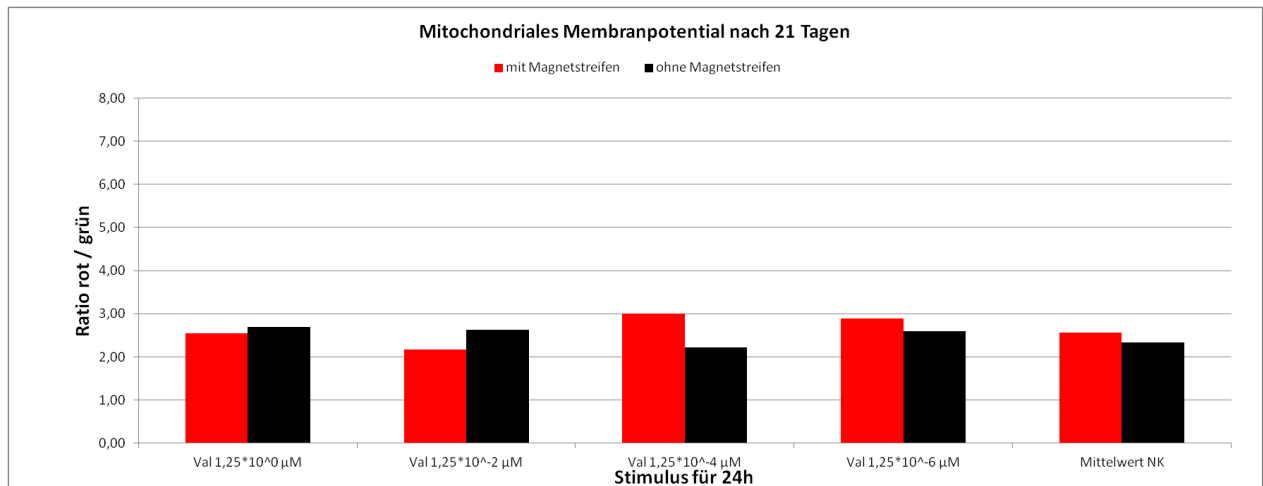


Abbildung 23: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

NACH STIMULATION MIT LPS

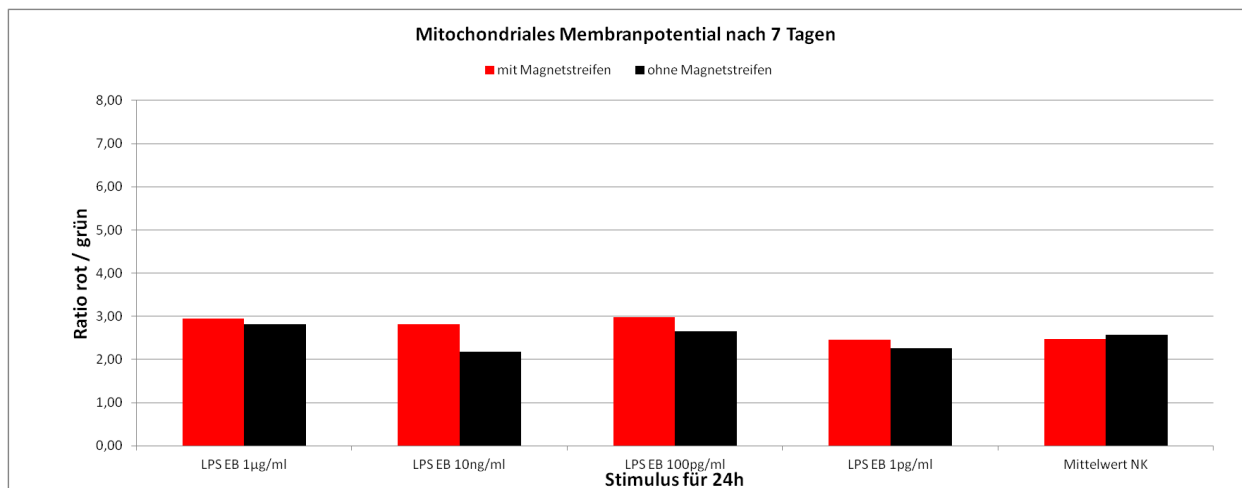


Abbildung 24: Einfluss der Klein'sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

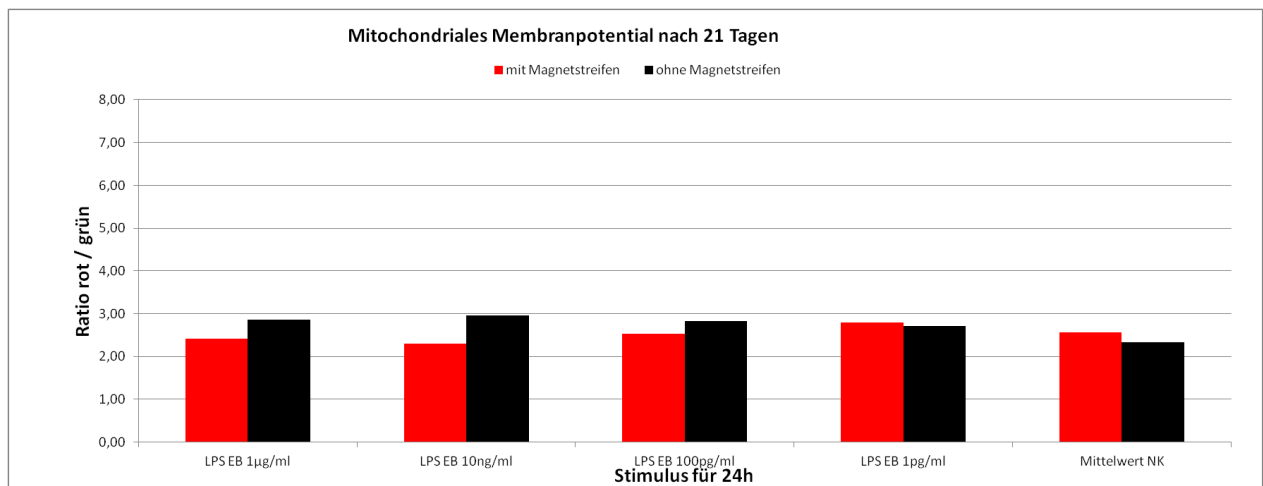


Abbildung 25: Einfluss der Klein`sche Felder Magnetstreifen auf das mitochondriale Membranpotential in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen.

PGC-1-ALPHA EXPRESSION

NACH STIMULATION MIT H₂O₂

NACH 7 TAGEN

Die Ergebnisse zeigen dass unstimulierte PBMC in der Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen signifikant mehr PGC-1-alpha exprimieren (8 fach mehr) im Vergleich zu PBMC in der Anwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen. Dies deutet auf einen höheren Stress der Zellen ohne Magnetstreifen hin. Mit steigender H₂O₂ Konzentration haben die PBMC ohne Klein`sche Felder-Magnetstreifen eine eingeschränkte Fähigkeit PGC-1-alpha zu exprimieren.

H ₂ O ₂ Konzentration	n-fache Expression von PGC-1-Alpha aus den unbehandelten Zellen gegenüber den Zellen welche dem Klein`sche Felder Magnetstreifen ausgesetzt waren
1%	0,14
0,01%	0,38
0,0001%	0,58
0,000001%	2,68
0%	8,06

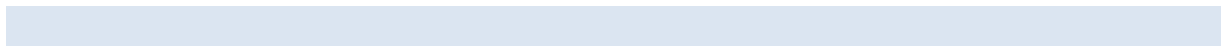
Tabelle 1: Abhängigkeit der PGC-1-alpha Expression in PBMC von der eingesetzten H₂O₂ Konzentration nach einer Kulturdauer von 7 Tagen. Dargestellt ist die n-fache Expression von PGC-1-alpha in PBMC in Abwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen im Vergleich zur PGC-1-alpha Expression in PBMC in Anwesenheit der Klein`sche Felder Magnetstreifen.

NACH 21 TAGEN

Die Ergebnisse zeigen dass unstimulierte PBMC in der Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen signifikant mehr PGC-1-alpha exprimieren (ungefähr 60-fach mehr) im Vergleich zu PBMC in der Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen. Dies deutet auf einen höheren Stress der Zellen ohne Klein'sche Felder Magnetstreifen hin. Mit steigender H2O2 Konzentration nimmt die PGC-1-alpha Expression in den PBMC ohne Klein'sche Felder Magnetstreifen stetig ab bzw. die PBMC in der Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen haben eine höhere Kapazität dem H2O2 Stress mit einer Neusynthese von PGC-1-alpha entgegen zu wirken.

H ₂ O ₂ Konzentration	n-fache Expression von PGC-1-Alpha aus den nicht Magnet behandelten Zellen gegenüber den Zellen welche dem Klein'sche Felder Magnetstreifen ausgesetzt waren
1%	0,52
0,01%	11,08
0,0001%	57,03
0,000001%	57,28
0%	58,49

Tabelle 2: Abhängigkeit der PGC-1-alpha Expression in PBMC von der eingesetzten H2O2 Konzentration nach einer Kulturdauer von 21 Tagen. Dargestellt ist die n-fache Expression von PGC-1-alpha in PBMC in Abwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen im Vergleich zur PGC-1-alpha Expression in PBMC in Anwesenheit der Klein'sche Felder Magnetstreifen.



ERGEBNISSE FÜR DEN PROBANDEN OHNE ERMÜDUNGERSCH EINUNGEN („NORMALPERSON“)

Analog zu dem Probanden mit Ermüdungerscheinungen wurden auch Untersuchungen mit den isolierten PBMC einer Person ohne Ermüdungerscheinungen („Normalperson“) durchgeführt. Die Ergebnisse waren für die einzelnen analysierten Parameter vergleichbar und sind deshalb nicht im Detail aufgeführt. Die Ergebnisse für die Parameter mitochondriale Dehydrogenasen, mitochondriale ATP Generierung und Mitochondrienmasse sind in den Tabellen 3,4 und 5 für die Stimulantien H₂O₂ (Tabelle 3), Valinomycin (Tabelle 4) und LPS (Tabelle 5) nach 21 Tagen Kultivierung dargestellt. Das mitochondriale Membranpotential zeigte keine Beeinflussung durch die Anwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen.

NACH STIMULATION MIT H₂O₂

	Mitochondriale Dehydrogenasen		Mitochondriale ATP Generierung		Mitochondrienmasse	
	Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen	
Eingesetzte H ₂ O ₂ Konzentration (%)	nein	ja	nein	ja	nein	ja
0 (NK)	100%	100%	100%	300%	100%	130%
1	100%	100%	0%	0%	100%	130%
0,01	100%	100%	0%	>200%	95%	101%
0,0001	100%	100%	0%	>200%	98%	100100%%
0,000001	100%	100%	100%	400%	100%	110%

Tabelle 3: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit H₂O₂ für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulation (Negativkontrolle, NK).

NACH STIMULATION MIT VALINOMYCIN

	Mitochondriale Dehydrogenasen		Mitochondriale ATP Generierung		Mitochondrienmasse	
	Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen	
Eingesetzte Valinomycin Konzentration (µM)	nein	ja	nein	ja	nein	ja
0 (NK)	100%	100%	100%	>500%	100%	110%
1	100%	100%	0%	>100%	98%	98%
0,01	100%	100%	0%	>200%	102%	102%
0,0001	100%	100%	50%	400%	100%	110%
0,000001	100%	100%	100%	>500%	100%	110%

Tabelle 4: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit Valinomycin für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen

als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulation (Negativkontrolle, NK).

NACH STIMULATION MIT LIPOPOLYSACCHARID (LPS)

	Mitochondriale Dehydrogenasen		Mitochondriale ATP Generierung		Mitochondrienmasse	
	Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen		Klein'sche Felder Magnetstreifen	
Eingesetzte LPS Konzentration	nein	ja	nein	ja	nein	Ja
0 pg (NK)	100%	100%	100%	400%	100%	120%
1 pg	100%	100%	100%	400%	100%	135%
100 pg	100%	100%	40%	500%	100%	135%
10 ng	100%	100%	0%	200%	95%	110%
1 µg	100%	100%	0%	>100%	93%	104%

Tabelle 5: Einfluß der Klein'schen Felder Magnetstreifen auf die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen, der mitochondrialen ATP Generierung und der Mitochondrienmasse in PBMC nach einer Inkubationszeit von 21 Tagen und anschließender Stimulation mit LPS für 24h. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen. Dargestellt ist der Mittelwert von 3 separaten Analysen als prozentuale Veränderung im Vergleich zu PBMC kultiviert in der Abwesenheit von Klein'schen Felder Magnetstreifen und in Abwesenheit von Stimulation (Negativkontrolle, NK).