

MMD GmbH & Co. KG / Prof. Dr. Brigitte König

- Eine in-vivo / ex-vivo / in-vitro Pilotstudie -
Beeinflussung von klinisch-chemischen
Parametern und von Mitochondrienfunktionen
peripherer Blutleukozyten (PBMC)
durch Kleinsche Felder Magnetstreifen

in-vitro Analyse mit peripheren Blutleukozyten	6
Fragestellung	6
Methodik	6
Zusammenfassung	9
Ergebnisse	9
klassische Klinisch-chemische Parameter	9
Probandin E.K.	11
Proband H.T.	11
Proband R.B.	12
Proband B.K.	12
Probandin P.T.	12
Weitere klinisch-chemische Parameter	13
Klinische Parameter	14
Indirekte Mitochondrienparameter	15
Direkte Mitochondrienparameter	16
Verhältnis mitochondrialer DNA:nukleärer DNA / Mitochondrienmasse	17
Rate mutierter mitochondrialer DNA (MtDNA,delta4766)	18
PGC-1-alpha Expression in PBMC vor und nach Therapie	19
Nrf-2 Expression in PBMC vor und nach Therapie	19
Direkte Mitochondrienparameter nach Stimulation mit dem Stressor H2O2	20
mitochondriales ATP	20
individuelle PGC-1-alpha, Nrf-2, Rhodanese Expression unter Zugabe des Stressors H2O2 in unterschiedlichen Konzentrationen	21
Proband P.T.	22
Proband E.K.	23
Proband H.T.	25
Proband B.K.	26
Proband R.B.	27

Abbildung 1: anti-ox-LDL Antikörper im Serum vor und nach der Therapie.	13
Abbildung 2: ox-LDL im Serum vor und nach der Therapie. Referenzwert 95,3+/- 37,9 ng/ml.....	13
Abbildung 3: Thiolstatus im Serum vor und nach der Therapie.	14
Abbildung 4: Dokumentation der Oberflächenvenen vor und nach der Therapie bei der Probandin P.T.	14
Abbildung 5: M2-PK im Serum vor und nach der Therapie. Referenzbereich <15 U/ml; Graubereich 15-25 U/ml	15
Abbildung 6: % LDH Isoenzym 4 vom Gesamt-LDH Wert.	16
Abbildung 7: % LDH Isoenzym 5 vom Gesamt-LDH Wert.	16
Abbildung 8: Einfluss der Therapie auf das Verhältnis mitochondrialer DNA : nukleärer DNA	17
Abbildung 9: Einfluss der Therapie auf die Mitochondrienzahl (gemessen an 50000 PBMC) dargestellt als n- facher Anstieg der Mitochondrien pro Zelle durch die Therapie.	18
Abbildung 10: Einfluss der Therapie auf Bildung/Eradikation der mitochondrialen Mutation delta4977 dargestellt als das Verhältnis mutierter mitochondrialer DNA (mtDNA) auf eine Kopie nukleärer DNA.	18
Abbildung 11: Einfluss der Therapie auf die Expression von PGC-1-alpha in PBMC (gemessen an 500000 peripheren Blutleukozyten). Die Werte sind dargestellt als N-fache Steigerung der Expression von PGC-1-alpha nach Therapie im Vergleich zu der PGC-1-alpha-Expression vor der Therapie.	19
Abbildung 12: Einfluss der Therapie auf die Expression von Nrf-2 in PBMC (gemessen an 500000 peripheren Blutleukozyten). Die Werte sind dargestellt als N-fache Steigerung der Expression von Nrf-2 nach Therapie im Vergleich zu der Nrf-2-Expression vor der Therapie.	20
Abbildung 12: Einfluss der Therapie auf die Bildung von mitochondrialem ATP in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von 0,00005% H ₂ O ₂ . Die Werte sind dargestellt als prozentualer Anteil des ATP Gehaltes zur Kontrolle (ohne H ₂ O ₂ ; = 100%)	21
Abbildung 13: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H ₂ O ₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H ₂ O ₂ ; = 100%)	22
Abbildung 14: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H ₂ O ₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H ₂ O ₂ ; = 100%).....	22
Abbildung 15: Einfluss der Therapie auf die Rhodanase Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H ₂ O ₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Rhodanase im Vergleich zur Kontrolle (ohne H ₂ O ₂ ; = 100%) 23	
Abbildung 16: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H ₂ O ₂ Konzentrationen bei der Probandin E.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H ₂ O ₂ ; = 100%)	23

Abbildung 17: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin E.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%)..... 24

Abbildung 18: Einfluss der Therapie auf die Rhodanase Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin E.K.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Rhodanase im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%) 24

Abbildung 19: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei dem Probanden H.T. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%) 25

Abbildung 20: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin H.T. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%)..... 25

Abbildung 21: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin B.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%) 26

Abbildung 22: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin B.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%)..... 26

Abbildung 23: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin R.B. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%) 27

Abbildung 24: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H_2O_2 Konzentrationen bei der Probandin R.B.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%)..... 27



Tabelle 1: Eckdaten der freiwilligen Probanden vor Beginn der Therapiestudie (Beginn zwischen 03.06.2014 und 01.07.2014)	7
Tabelle 2: Eckdaten der freiwilligen Probanden am Ende der Studie (23.09.2014).....	8
Tabelle 3: Alle gemessenen klinisch-chemische Parameter ohne signifikanten Veränderungen / Verbesserungen	10
Tabelle 4: Proband E. K.; 23.06.1932, weiblich	11
Tabelle 5: Proband H. T.; 21.06.1942, männlich	11
Tabelle 6: Proband R. B.; 24.01.1958, männlich	12
Tabelle 7: Proband B. K.; 01.11.1959, weiblich	12
Tabelle 8: Probandin P. T.; 16.06.1974, weiblich	12

FRAGESTELLUNG

Die Verwendung von Kleinsche Felder Magnetstreifen in der therapeutischen Anwendung hat bisher zumindest subjektiv bei zahlreichen Patienten gemäß derer vorliegenden Eigenerfahrungsberichten zu Verbesserungen des klinischen Krankheitsbildes gebracht, wie Verbesserungen des Schlafverhaltens, Reduzierung von multiplen Schmerzzuständen (degenerativer orthopädischer Erkrankungen, Polyneuropathie), Parkinson, Erschöpfungszuständen, Tinnitus, Reduktion kapillarer und lymphatischer Stauungen und somit Verbesserung der Mikrozirkulation. Der Mechanismus ist nicht gänzlich bekannt, eine direkte und/oder indirekte Wirkung u. a. auf die Mitochondrienfunktionen wird angenommen. Diese Annahme beruht neben gängigen Überlegungen auch auf eine zuvor durchgeführte in vitro – Studie. Bei dieser kam es unter Einfluss der Kleinsche Felder u.a. zu einer Steigerung der mitochondrialen ATP – Bildung nebst Erhöhung der Bildung von PGC-1-alpha. Diese und andere eventuelle Effekte sollten nun in vivo geprüft werden.

Die übergeordneten Fragestellungen dieser in-vivo / ex-vivo / in-vitro Studie mit 5 Probanden lassen sich folgendermaßen formulieren:

- Hat die Anwendung der Kleinsche Felder Magnetstreifen positive Auswirkungen auf den Gesundheitsstatus ?
- Sind Einflüsse der Kleinsche Felder Magnetstreifen auf den menschlichen Organismus nur subjektiv oder/und objektiv zu erfassen ?

Im Detail sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Werden klinisch-chemische Parameter beeinflusst ?
- Werden und die Mitochondrienparameter peripherer Blutleukozyten (PBMC) beeinflusst ?

METHODIK

Es wurden 5 freiwillige Probanden ausgewählt. Die Eckdaten der Patienten vor Therapie und nach Therapie sind in der Tabelle 1 und Tabelle 2 dargestellt. Bei dieser „proof-of-principle“ Studie hatten die Probanden eine Schlafauflage mit Kleinsche Felder (System ohne Strom) auf ihrer Schlafmatratze aufgelegt. Darüber wurde nur ein Bettlaken gelegt. Ein Proband verwendete neben der Schlafauflage auch die Sitzauflage. Der Lebensstil und die Essgewohnheiten wurden während dieser Zeit nicht geändert. Ebenso fand keine Substitution mit Nahrungsergänzungsmitteln bzw. Therapeutika statt. Die gesamten Laboruntersuchungen wurden unmittelbar vor Beginn der Therapie (Schlafen auf der Auflage) und 3 Monate nach Therapie mit Kleinsche Felder monotherapeutisch durchgeführt.

Den Probanden wurde vor Beginn der Studie und nach der Studie Blut entnommen und untersucht. Die Behandlung mit Kleinsche Felder wurde für die Dauer von 3 Monaten festgelegt. Das Blut wurde a) für die Bestimmung klassischer klinisch-chemischer Parameter (CST-Profil) und b) für die Isolierung peripherer Blutleukozyten (PBMC) und der Mitochondrien verwendet. Die Analysen wurden a) direkt nach ihrer Isolierung durchgeführt; b) nach 24 Stunden Inkubation in der Anwesenheit von dem Stressor H_2O_2 . Als Untersuchungsparameter wurden gewählt: 1) Das Verhältnis mitochondrialer DNA zu nukleärer DNA; 2) das Vorhandensein der mitochondrialen delta 4977 Mutation; 3) die mitochondriale ATP Bildung.

Tabelle 1: Eckdaten der freiwilligen Probanden vor Beginn der Therapiestudie (Beginn zwischen 03.06.2014 und 01.07.2014)

Kürzel	Geschlecht	Geb. Datum	Erkrankungen / Diagnosen / pers. Empfinden
E.K.	W	23.06.1932	Darmkrebs vor 5 Jahren, Post-Chemo Polyneuropathie in Fingern, Füßen und Beinen seit Chemo vor 5 Jahren, Schlafstörung, melancholisch-depressive Störung, Nierenarterienstenose mit Kreatininerhöhung, BMI :26
H.T.	M	21.06.1942	Übergewicht, Diabetes, Bluthochdruck, postoperative Wundheilungsstörungen (Entfernung von 2 Rippen nach endogenen Rippenbrüchen, massive Dauerschmerzen, „sieht aus und fühlt sich wie Häuflein Elend“ BMI: 30
R.B.	M	24.01.1958	Chronisch „verspannt“ im HSW/Schulterbereich, hochgradig allergisch, Vitiligo, Autoimmunerkrankung der Schilddrüse (Medikamenteneinnahme) BMI: 26
B.K.	W	01.11.1959	Besenreiser, gelegentlich Durchschlafstörungen (nach 2 Stunden Schlaf stundenlanges Wachliegen), Schlafstörung mit Tachykardie bei Vollmond BMI: 19
P.T.	W	16.06.1974	Übergewichtig, verhärtete Venenkonglomerate (dunkelblau), „schwere“ Beine, Besenreiser, „schlechter“ Schlaf BMI: 27

Tabelle 2: Eckdaten der freiwilligen Probanden am Ende der Studie (23.09.2014)

Kürzel	Geschlecht	Geb. Datum	Erkrankungen / Diagnosen / pers. Empfinden
E.K.	W	23.06.1932	Darmkrebs vor 5 Jahren, Post-Chemo Polyneuropathie in Fingern, Füßen und Beinen seit Chemo vor 5 Jahren, Schlafstörung, melancholisch-depressive Störung, Nierenarterienstenose mit Kreatininerhöhung, BMI :26 Polyneuropathie gänzlich verschwunden
H.T.	M	21.06.1942	Übergewicht, Diabetes, Bluthochdruck, postoperative Wundheilungsstörungen (Entfernung von 2 Rippen nach endogenen Rippenbrüchen, massive Dauerschmerzen „sieht aus wie Häuflein Elend“ BMI: 30 Blutzuckerwerte normalisiert, Bluthochdruck „im Griff“ (von 180/120 auf 140/80), Wundheilung „im Griff“ (Wunde jetzt verschlossen, keine Schmerzen), sieht aus wie das „blühende Leben“
R.B.	M	24.01.1958	Chronisch „verspannt“ im HSW/Schulterbereich, hochgradig allergisch, Vitiligo, Autoimmunerkrankung der Schilddrüse BMI: 26 Empfindet keine subjektiven Veränderungen
B.K.	W	01.11.1959	Besenreiser, gelegentlich Durchschlafstörungen (nach 2 Stunden Schlaf stundenlanges Wachliegen), Schlafstörung mit Tachykardie bei Vollmond BMI: 19 Schlafstörung und Tachykardie bei Vollmond behoben. Generell tiefer und erholsamer Schlaf
P.T.	W	16.06.1974	Übergewichtig, verhärtete Venenkonglomerate (dunkelblau), „schwere“ Beine, Besenreiser, „schlechter“ Schlaf. BMI: 27 Venenkonglomerate sind weich, keine schweren Beine

ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die Benutzung von Kleinsche Felder Magnetstreifen als Schlafauflagen subjektiv einen positiven Einfluss auf das Gesundheitsempfinden fast aller Probanden (4 von 5) hatte. Dieses subjektive Empfinden kann durch die gemessenen Veränderungen durch bekannte spezifische und individuelle klinisch-chemische Parameter nicht, höchstens ansatzweise oder nur teilweise erklärt werden. Einige Veränderungen von klinisch-chemischen Parametern widersprechen nach allgemeiner Auffassung sogar dem subjektiven Empfinden einer gesundheitlichen Besserung (gemessene Parameter in Tabelle 3).

Es konnten allerdings Veränderungen indirekter und insbesondere direkter Mitochondrienparameter festgestellt werden, die auf eine positive Auswirkung auf die Gesundheit schließen lassen. Diese waren nach 3 monatiger Monotherapie mit Kleinsche Felder Magnetstreifen u. a. insbesondere

- **Eine Zunahme der Mitochondrienmasse in den peripheren Blutleukozyten (PBMC)**
 - **Zunahme des Verhältnisses mitochondrialer DNA zu Zellkern – DNA**
- **Verminderter Nachweis von Mitochondrien mit der Deletionsmutation delta4977 in den PBMC**
- **Zunahme der Basis PGC – 1 – alpha Produktion in den PBMC**
- **Veränderte Expression der LDH Isoenzyme 4 und 5**
- **Steigerung der Resistenz gegenüber Stressoren.**
 - **Aufrechterhaltung der ATP Produktion nach H₂O₂ Stimulation**

Insgesamt lassen die Daten den Schluss zu, dass die Benutzung von Kleinsche Felder Schlafauflagen einen positiven Einfluss auf die Mitochondrien und deren Funktionen ausübt. Die vorliegenden Ergebnisse sollten allerdings nur wegweisend bewertet werden. Um eine allgemeingültige Wirkung auf eine oder mehrere Mitochondrienfunktionen postulieren zu können, müssen die gewonnenen Ergebnisse durch Untersuchungen bei weiteren Probanden / Patienten bestätigt werden. Auch sollten die bedeutendsten Ergebnisse durch ergänzende Methoden abgesichert werden. Daher sind weitere Untersuchungen erforderlich um fest zustellen, a) in welchem Maße und wie weit die Kleinsche Felder Magnetstreifen die Mitochondrien funktionsfähiger machen, b) bei welchem Patientenkontext die besten kurzfristigen Erfolge zu erzielen sind; c) ob durch begleitende Gabe von Therapeutika ein synergistischer Effekt erzielt werden kann.

Es ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass z. B. Reparaturvorgänge und mitochondriale Neusynthese dynamische Prozesse sind und daher zeitlichen Schwankungen unterliegen.

ERGEBNISSE

Im Folgenden sind die Ergebnisse aller 5 Probanden zusammengestellt.

KLASSISCHE KLINISCH-CHEMISCHE PARAMETER

Alle gemessenen klinisch-chemischen Parameter ohne signifikante Veränderungen am Ende der Testphase im Vergleich zum Beginn der Testphase sind in der Tabelle 3 zusammen gestellt. Zur Verdeutlichung der Ergebnisse sind exemplarisch einige Parameter vor und nach der Testphase für jeden Probanden in den

Tabellen 5-9 aufgeführt. Diejenigen klinisch-chemischen Parameter, die sich klinisch bzw. therapeutisch relevant verändert haben (nur Probandin E.K.), sind mittels Pfeil markiert.

In den Abbildungen 1 bis 4 sind die Werte für anti-ox-LDL-Antikörper und den Thiolstatus für die Probanden zusammen gefasst.

Die Ergebnisse untermauern, dass die Probanden insbesondere ihre Essgewohnheiten nicht verändert haben und demnach nicht mit einer Verbesserung der klassischen klinisch-chemischen Parameter gerechnet wurde. Bei der Probandin E.K. mit bekannter Nierenarterienstenose hat sich der Kreatininwert signifikant verbessert. Dies ist sicherlich auf eine bessere Durchblutung durch die Kleinsche Felder begründet. Bei dem Probanden H.T. hat sich nach Aussage des Hausarztes zudem der Nüchtern-glukosespiegel normalisiert und der Blutdruck ließ sich stabil einstellen.

Die Verläufe für anti-ox-LDL-AK, ox LDL, und den Thiolstatus erklären die positiven Verläufe bei den Probanden nicht, scheinen diesen sogar teilweise zu widersprechen. Die anti-ox-LDL-Antikörper, ein früher Marker für oxidativen Stress, sind sogar bei 4 Probanden angestiegen, oxidiertes LDL bei 2 von 5, parallel dazu hat sich der Thiolstatus (antioxidativer Kapazitätsparameter) bei 3 von 5 Patienten verbessert.

Tabelle 3: Alle gemessenen klinisch-chemische Parameter ohne signifikanten Veränderungen / Verbesserungen

• Parameter
• Hämatologischer Status
• Differenzialblutbild
• Anämiediagnostik
• Vitamin D3
• Mineralien
• Nierenstoffwechsel
• (außer Patientin E.K.)
• Herz/Leber/Galle/Pankreas
• Fettstoffwechsel
• Schilddrüse
• Melatonin
• Serotonin
• Anti-ox-LDL-Antikörper
• ox-LDL
• Sulfhydrylstatus

PROBANDIN E.K.

Tabelle 4: Proband E. K.; 23.06.1932, weiblich

vor Therapie				Nach Therapie			
Anämiediagnostik				Anämiediagnostik			
Eisen	18,9	µmol/l	5,0 - 30,0	Eisen	22,4		
Ferritin	27,6	µg/l	11,0-307,0	Ferritin	42,7		
Vitamine				Vitamine			
25-OH-Cholecalciferol (Vit.D3)	↓ 16,6	ng/ml		25-OH-Cholecalciferol (Vit.D3)	24,8		
Vitamin-D-Mangel: <20 ng/ml insuffiziente Versorgung: 20 - 30 ng/ml ausreichende Versorgung: 30 - 100 ng/ml (Quelle: Evaluation, Treatment and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline; J clin endocrinol metab,july 2011, 96(7), 1911-30)				Vitamin-D insuffizient ausreichend (Quelle: E Deficiency an Endocr J clin endocr			
Mineralien				Mineralien			
Kalium aus Vollblut	1826	mg/l	1750-1850	Kalium aus Vollblut	↓ 1518		
Magnesium aus Vollblut	↓ 32,82	mg/l	34,0-36,0	Magnesium aus Vollblut	↓ 32,27		
Zink aus Vollblut	7,34	mg/l	7,30-7,70	Zink aus Vollblut	↓ 6,03		
Selen aus Vollblut	115,48		100-140	Selen aus Vollblut	↓ 88,62		
Calcium	↓ 1,91	mmol/l	2,23 - 2,58	Calcium	2,52		
Nierenstoffwechsel				Nierenstoffwechsel			
Gesamt Eiweiß	↓ 60,6	g/l	65,0 - 81,0	Gesamt Eiweiß	79,9		
Kreatinin	↑ 92,2	µmol/l	39,0-89,0	Kreatinin	78,9		
Herz / Leber / Galle / Pankreas				Herz / Leber / Galle / Pankreas			
Gamma-GT	12,0	U/l	< 38,0	Gamma-GT	20,0		
Fettstoffwechsel				Fettstoffwechsel			
Cholesterin	↑ 6,44	mmol/l	<5,20	Cholesterin	↑ 8,79		
HDL-Cholesterin	1,52	mmol/l	>1,67	HDL-Cholesterin	2,24		
Risiko niedrig: >1,67 Risiko hoch : <1,11				Risiko nie Risiko ho			
LDL-Cholesterin	4,1	mmol/l	< 4,9	LDL-Cholesterin	↑ 5,8		
Triglyceride	1,83	mmol/l	<1,95	Triglyceride	1,62		
LDL/HDL-Quotient	2,7		<3	LDL/HDL-Quotient	2,6		
Schilddrüsendiagnostik				Schilddrüsendiagnostik			
TSH	1,03	mU/l	0,34-4,20	TSH	1,39		
Tumormarker				Tumormarker			
M2-PK	↑ 21,3	U/ml	< 15,0	M2-PK	↑ 29,6		
Graubereich 15 - 25 U/ml				Grauberei			

PROBAND H.T.

Tabelle 5: Proband H. T.; 21.06.1942, männlich

Fettstoffwechsel				vor Therapie
Cholesterin	↑ 7,41	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	1,09	mmol/l	>1,67	
Risiko niedrig: >1,67 Risiko hoch : <1,11				
LDL-Cholesterin	3,8	mmol/l	< 5,4	
Triglyceride	↑ 5,58	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	↑ 3,5		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	1,01	mU/l	0,34-4,20	
Tumormarker				
M2-PK	↑ 41,7	U/ml	< 15,0	
Graubereich 15 - 25 U/ml				

Fettstoffwechsel				nach Therapie
Cholesterin	↑ 7,25	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	0,85	mmol/l	>1,67	
Risiko niedrig: >1,67 Risiko hoch : <1,11				
LDL-Cholesterin	3,2	mmol/l	< 5,4	
Triglyceride	↑ 6,97	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	↑ 3,8		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	1,09	mU/l	0,34-4,20	
Tumormarker				
M2-PK	↑ 35,0	U/ml	< 15,0	
Graubereich 15 - 25 U/ml				

PROBAND R.B.

Tabelle 6: Proband R. B.; 24.01.1958, männlich

PROBAND B.K.

Tabelle 7: Proband B. K.; 01.11.1959, weiblich

Fettstoffwechsel				vor Therapie
Cholesterin	↑ 6,01	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	2,41	mmol/l	>1,67	
	Risiko niedrig: >1,67			
	Risiko hoch : <1,11			
LDL-Cholesterin	3,0	mmol/l	< 4,9	
Triglyceride	1,23	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	1,3		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	1,69	mU/l	0,34-4,20	
Tumormarker				
M2-PK	14,4	U/ml	< 15,0	
	Graubereich 15 - 25 U/ml			

Fettstoffwechsel				nach Therapie
Cholesterin	↑ 6,18	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	2,28	mmol/l	>1,67	
	Risiko niedrig: >1,67			
	Risiko hoch : <1,11			
LDL-Cholesterin	3,2	mmol/l	< 4,9	
Triglyceride	1,53	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	1,4		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	3,96	mU/l	0,34-4,20	
Tumormarker				
M2-PK	14,3	U/ml	< 15,0	
	Graubereich 15 - 25 U/ml			

PROBANDIN P.T.

Tabelle 8: Probandin P. T.; 16.06.1974, weiblich

Fettstoffwechsel				vor Therapie
Cholesterin	↑ 6,52	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	1,74	mmol/l	>1,67	
	Risiko niedrig: >1,67			
	Risiko hoch : <1,11			
LDL-Cholesterin	3,8	mmol/l	< 4,9	
Triglyceride	↑ 2,08	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	2,2		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	0,83	mU/l	0,34-4,20	

Fettstoffwechsel				nach Therapie
Cholesterin	↑ 6,46	mmol/l	<5,20	
HDL-Cholesterin	1,38	mmol/l	>1,67	
	Risiko niedrig: >1,67			
	Risiko hoch : <1,11			
LDL-Cholesterin	4,0	mmol/l	< 4,9	
Triglyceride	↑ 2,33	mmol/l	<1,95	
LDL/HDL-Quotient	2,9		<3	
Schilddrüsendiagnostik				
TSH	1,67	mU/l	0,34-4,20	

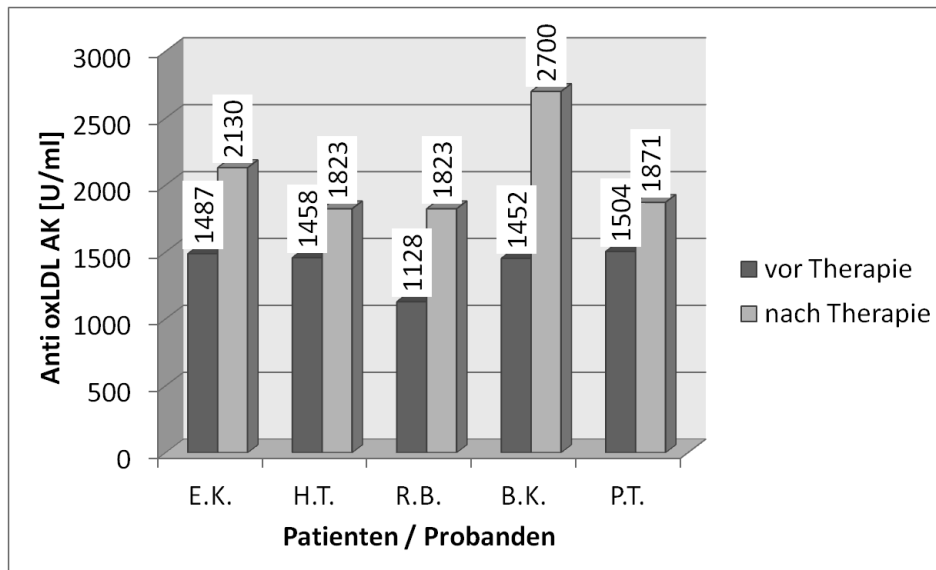


Abbildung 1: anti-ox-LDL Antikörper im Serum vor und nach der Therapie.

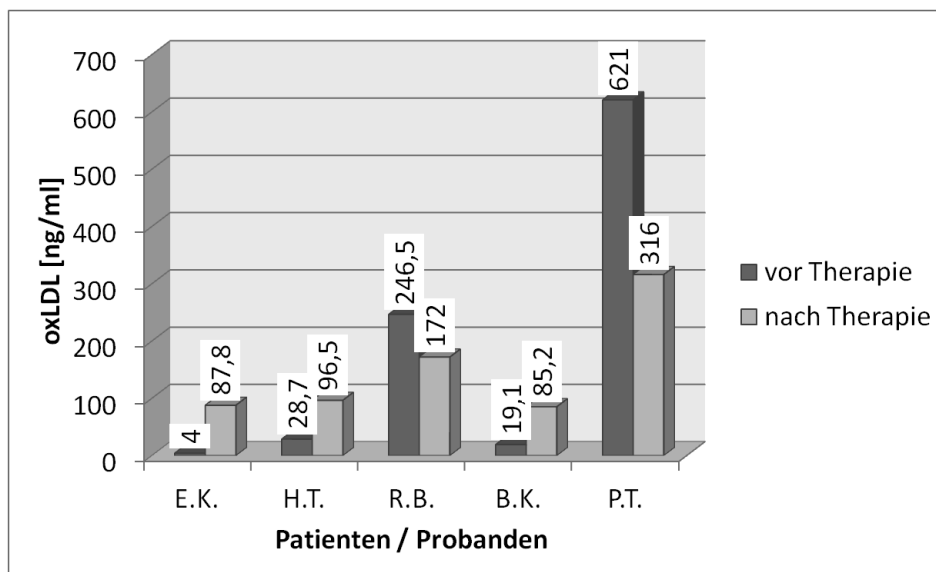


Abbildung 2: ox-LDL im Serum vor und nach der Therapie. Referenzwert 95,3+/- 37,9 ng/ml

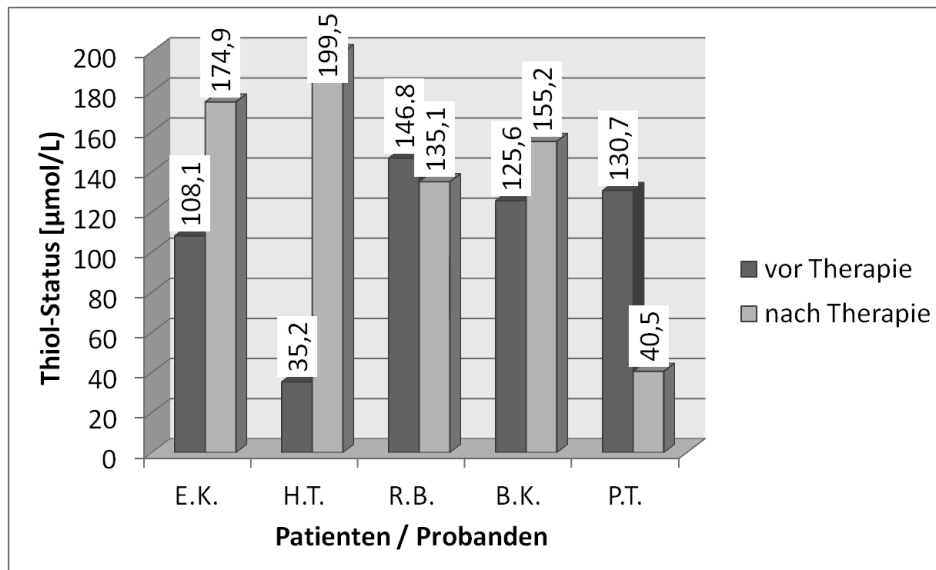


Abbildung 3: Thiolstatus im Serum vor und nach der Therapie.

KLINISCHE PARAMETER

Bei der Probandin P.T. wurden nach der Therapie ihre dicken und verhärteten Venen weicher tastbar.



**Vorher
(dick und
hart)**



**Nachher
(weich)**



Abbildung 4: Dokumentation der Oberflächenvenen vor und nach der Therapie bei der Probandin P.T.

INDIREKTE MITOCHONDRIENPARAMETER

Im folgenden Schritt wurde analysiert, ob sich die indirekten Mitochondrienparameter, insbesondere die LDH-Isoenzyme und die M2PK als Entzündungsmarker und Marker der Mitochondrienumstrukturierung ändern.

Die Serum-M2PK hat sich bei den Probanden teilweise erhöht, teilweise erniedrigt und erklärt somit nicht den positiven Verlauf der Probanden. Möglicherweise sind der Anstieg im Rahmen aktivierter und noch notwendiger Zellteilungs – und Reparaturprozesse zu diskutieren. So ist z. B. bei Patient E.K. ein M2PK-Anstieg bei parallel stattgefundenener Verbesserung der Nierenfunktion bei Nierenarteriosklerose mit Normalisierung des Kreatininwertes erkennbar.

Der prozentuale Anteil des LDH-Isoenzymes 5 am Gesamt-LDH gemessen hat sich bei 3 von 5 Probanden reduziert. Dies deutet auf einen Einfluss der Kleinsche Felder auf die Mitochondrien hin. Auffallend sind die signifikanten Verbesserungen von M2PK und LDH 4 – und – 5 des Probanden H.T. Er war der einzige Proband, welcher nachts auf der Schlafaufgabe schlief und tagsüber auf der Sitzauflage saß.

Im Gegensatz dazu hat sich bei Patientin E.K. das LDH-Isozym 5 nicht verbessert und somit ist die Reduktion des Kreatininwertes und die Nierenfunktionserbesserung der Patientin E.K. nicht durch diesen Parameter zu erklären.

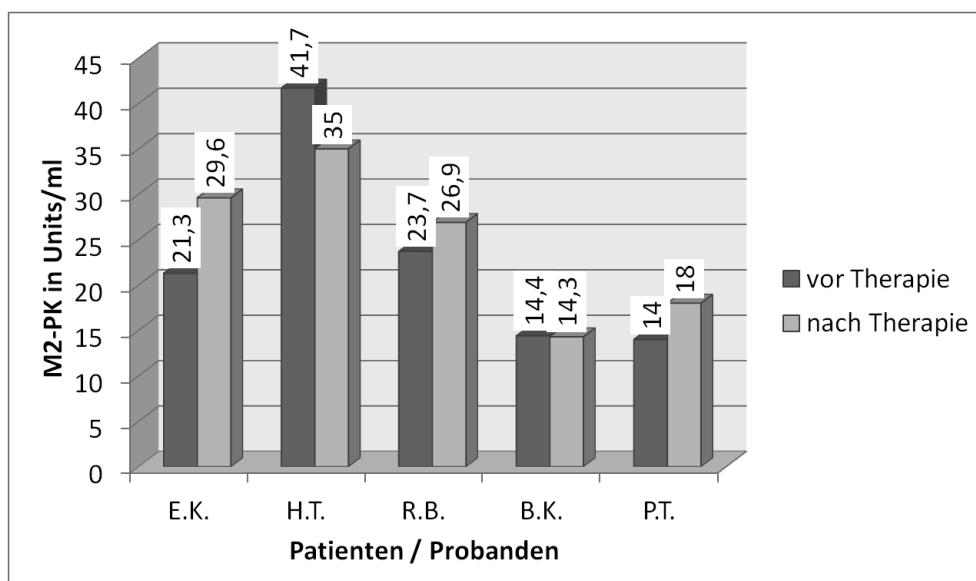


Abbildung 5: M2-PK im Serum vor und nach der Therapie. Referenzbereich <15 U/ml; Graubereich 15-25 U/ml

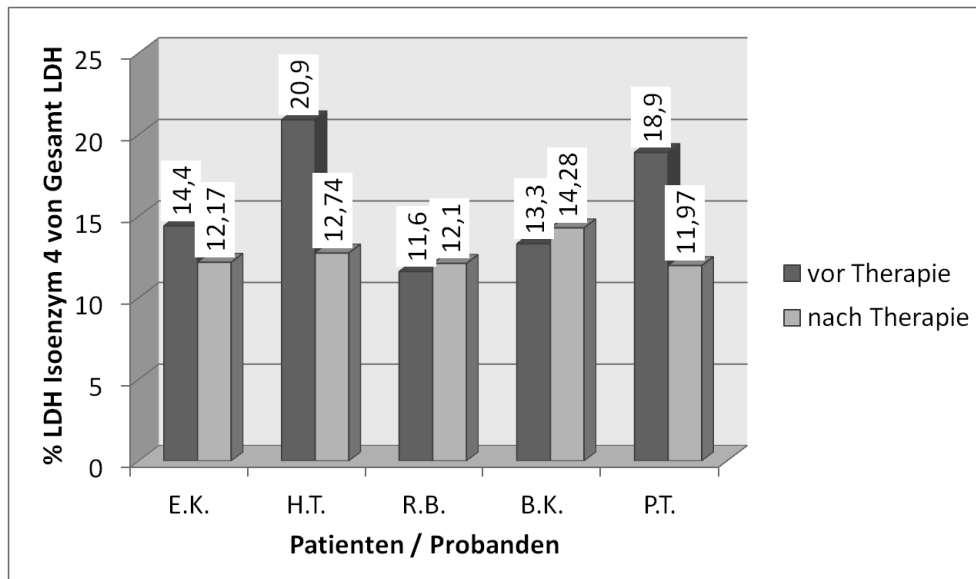


Abbildung 6: % LDH Isoenzym 4 vom Gesamt-LDH Wert.

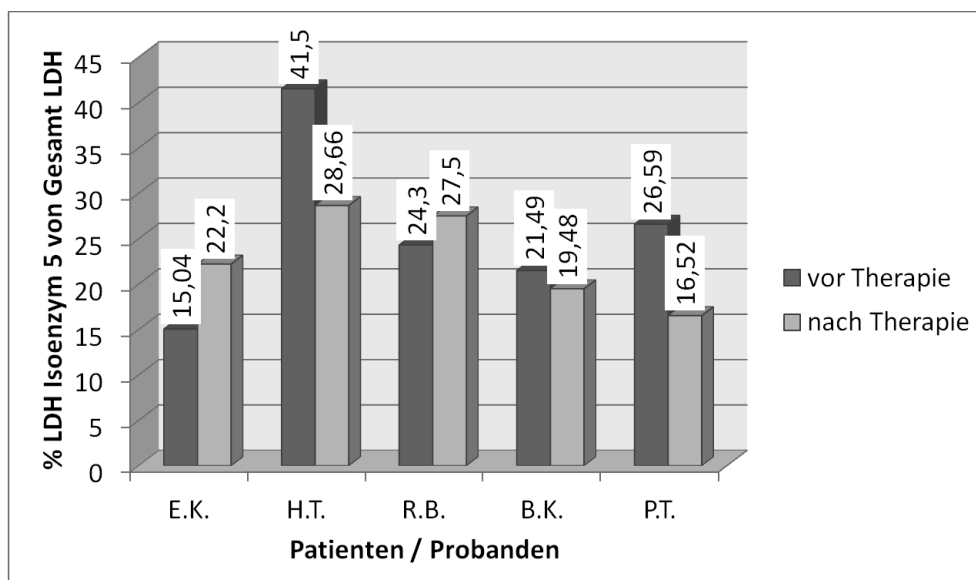


Abbildung 7: % LDH Isoenzym 5 vom Gesamt-LDH Wert.

DIREKTE MITOCHONDRIENPARAMETER

Im Folgenden wurden aus dem Vollblut periphere Blutleukozyten (PBMC) isoliert. Diese wurden direkt auf folgende Parameter hin analysiert: 1) Bestimmung des Verhältnisses mtDNA:ntDNA (Anzahl mitochondriale DNA im Verhältnis zu Anzahl Zellkern DNA ; 2) Bestimmung der mitochondrialen Mutation delta-mtDNA4977 (hot spot).

Des Weiteren wurden die peripheren Blutleukozyten (PBMC) für weitere 24h in der Abwesenheit (Kontrolle) oder Anwesenheit von unterschiedlichen Konzentrationen an H_2O_2 (Wasserstoffperoxid) als Stressor inkubiert. Danach wurde das mitochondrial generierte ATP, die PGC-1-alpha, Nrf-2 und Rhodanase Expression analysiert.

VERHÄLTNIS MITOCHONDRIALER DNA:NUKLEÄRER DNA / MITOCHONDRIENMASSE

Im Folgenden sind die Ergebnisse dargestellt, die direkt nach Isolierung der peripheren Blutleukozyten (PBMC) gewonnen wurden. Die Ergebnisse für das Verhältnis der Anzahl mitochondrialer DNA zu nukleärer DNA sind in Abbildung 9 dargestellt. In Abbildung 8 ist der Einfluss der Therapie als Steigerung der Mitochondrienmasse ausgedrückt.

Da sich das Verhältnis mitochondrialer zu nukleärer DNA (mtDNA:ntDNA) immer auf dieselbe Anzahl an PBMC bezieht, ist ein Anstieg des Verhältnisses mtDNA:ntDNA nur mit einer Neusynthese von Mitochondrien zu erklären. Daher zeigen die Ergebnisse (Abbildungen 9 und 10), dass durch Kleinsche Felder Magnetstreifen es zu einer signifikanten Neusynthese von Mitochondrien und somit Massenzunahme der Mitochondrien kommt, auch wenn diese bei den Probanden individuell unterschiedlich ausfällt. Im Mittel kamen vor der Therapie 222,03 Kopien mitochondrialer DNA auf 1 Kopie Zellkern DNA, nach der Therapie mit Kleinsche Felder Magnetstreifen ist die Anzahl mitochondrialer DNA auf 1 Kopie Zellkern DNA im Mittelwert auf 2212,08 und somit den Faktor 9,96 gestiegen.

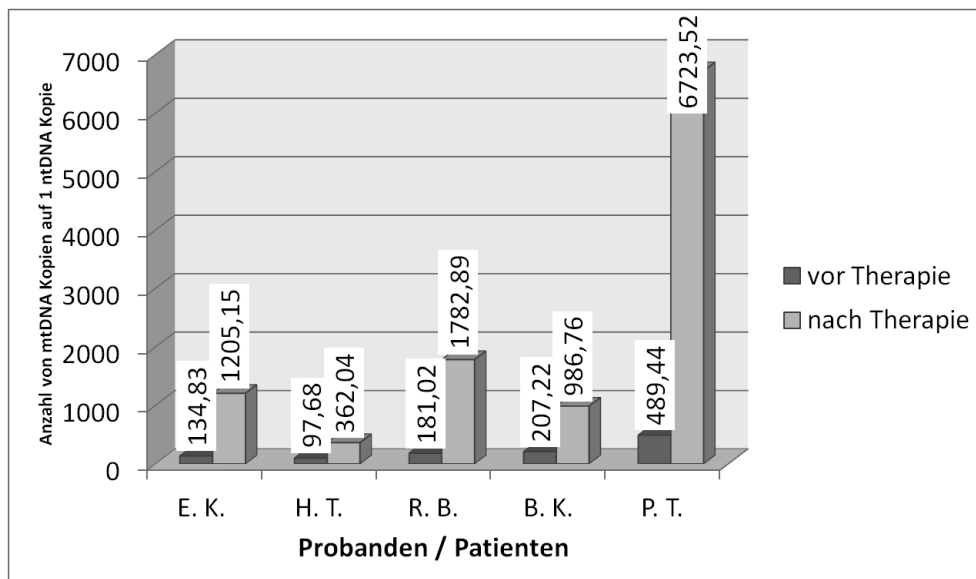


Abbildung 8: Einfluss der Therapie auf das Verhältnis mitochondrialer DNA : nukleärer DNA

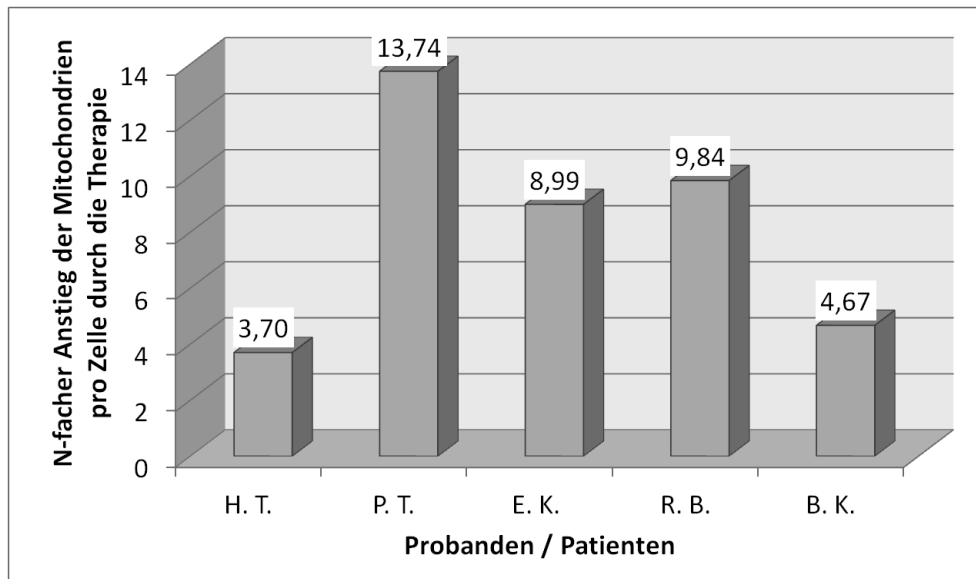


Abbildung 9: Einfluss der Therapie auf die Mitochondrienzahl (gemessen an 50000 PBMC) dargestellt als n-facher Anstieg der Mitochondrien pro Zelle durch die Therapie.

RATE MUTIERTER MITOCHONDRIALER DNA (MTDNA, DELTA4766)

Im Folgenden sind ebenfalls die Ergebnisse dargestellt, die direkt nach Isolierung der peripheren Blutleukozyten (PBMC) gewonnen wurden. Die Ergebnisse für den Anteil mutierter DNA (delta4766) gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten vor und nach der Therapie sind in der Abbildung 11 dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen eine signifikante Reduktion der mitochondrialen delta4977 Mutation durch die Therapie mit Kleinsche Felder Magnetstreifen. Eine Erklärung dafür könnte die Eliminierung mutierter Mitochondrien mit nachfolgender Neusynthese von Mitochondrien sein.

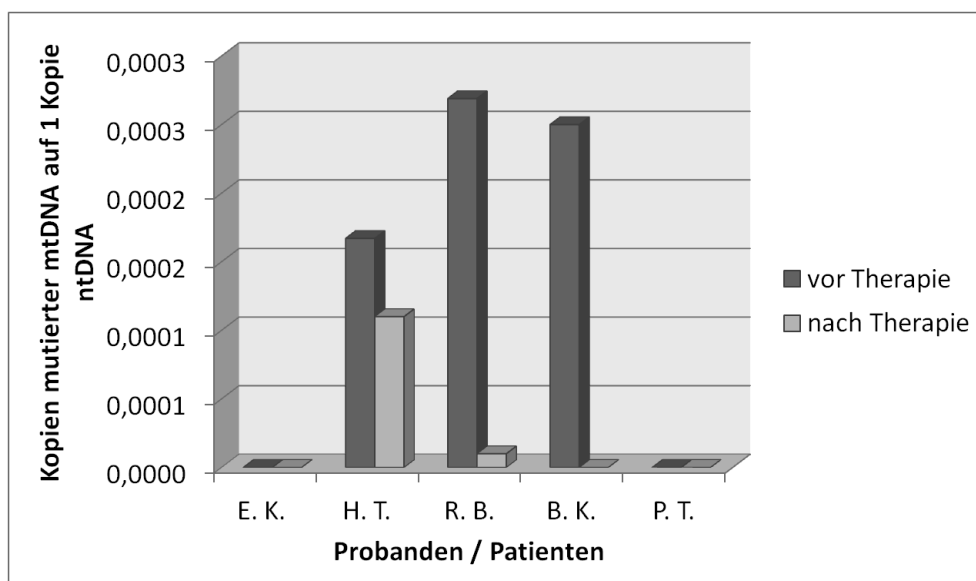


Abbildung 10: Einfluss der Therapie auf Bildung/Eradikation der mitochondrialen Mutation delta4977 dargestellt als das Verhältnis mutierter mitochondrialer DNA (mtDNA) auf eine Kopie nukleärer DNA.

PGC-1-ALPHA EXPRESSION IN PBMC VOR UND NACH THERAPIE

Es wurde analysiert ob sich die Basis PGC-1-alpha Expression in aus dem Blut isolierten PBMC vor und nach der Therapie unterscheiden. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 11 dargestellt.

Man erkennt individuell eine veränderte Basis PGC-1-alpha Expression der peripheren Blutleukozyten nach der Therapie. Die Absolutwerte an PGC-1-alpha Expression schwanken zwischen den individuellen Probanden. Die gesteigerte PGC-1-alpha Expression ist vor allem bei denjenigen Probanden auffällig, die einen starken Rückgang ihrer mutierten mitochondrialen DNA aufweisen.

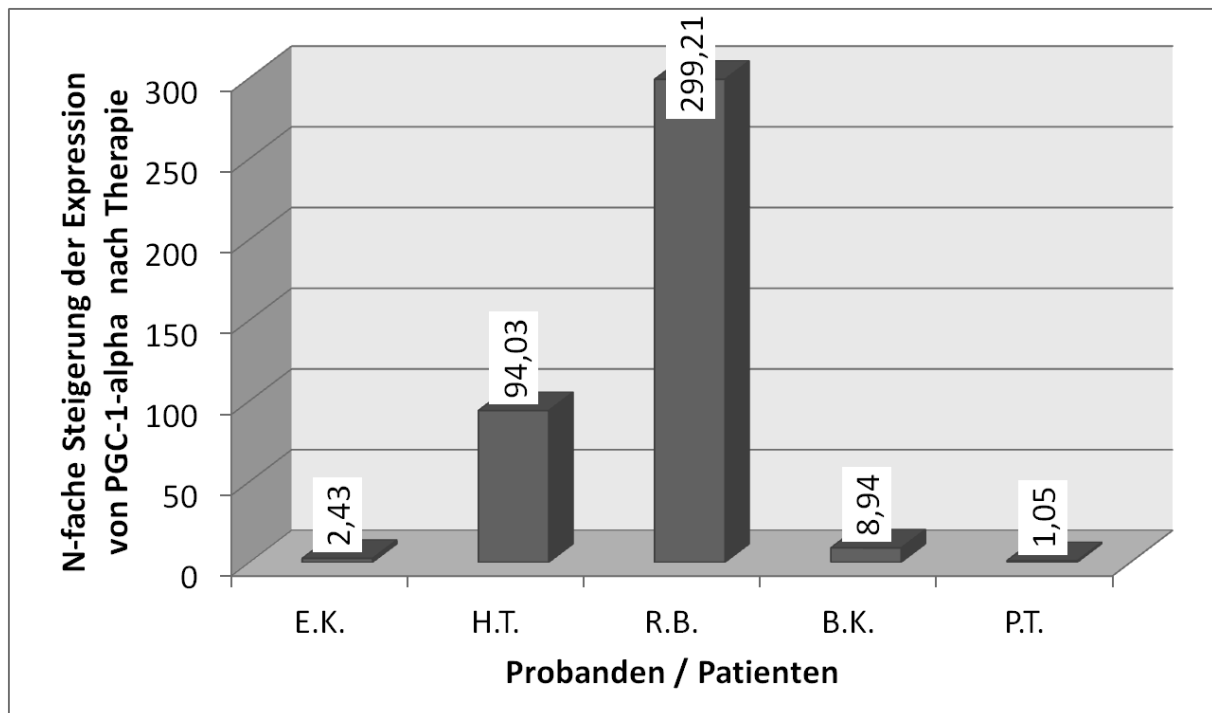


Abbildung 11: Einfluss der Therapie auf die Expression von PGC-1-alpha in PBMC (gemessen an 500000 peripheren Blutleukozyten). Die Werte sind dargestellt als N-fache Steigerung der Expression von PGC-1-alpha nach Therapie im Vergleich zu der PGC-1-alpha-Expression vor der Therapie.

NRF-2 EXPRESSION IN PBMC VOR UND NACH THERAPIE

Es wurde analysiert ob sich die Basis Nrf-2 Expression in aus dem Blut isolierten PBMC vor und nach der Therapie unterscheiden. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 12 dargestellt.

Im Gegensatz zur PGC-1-alpha Expression liegen bei 3 von 5 Probanden die Nrf-2 Expression nach der Therapie unterhalb derjenigen Expression vor der Therapie. 2 Probanden zeigen ein unveränderte Basisexpression von Nrf-2 vor und nach der Therapie.

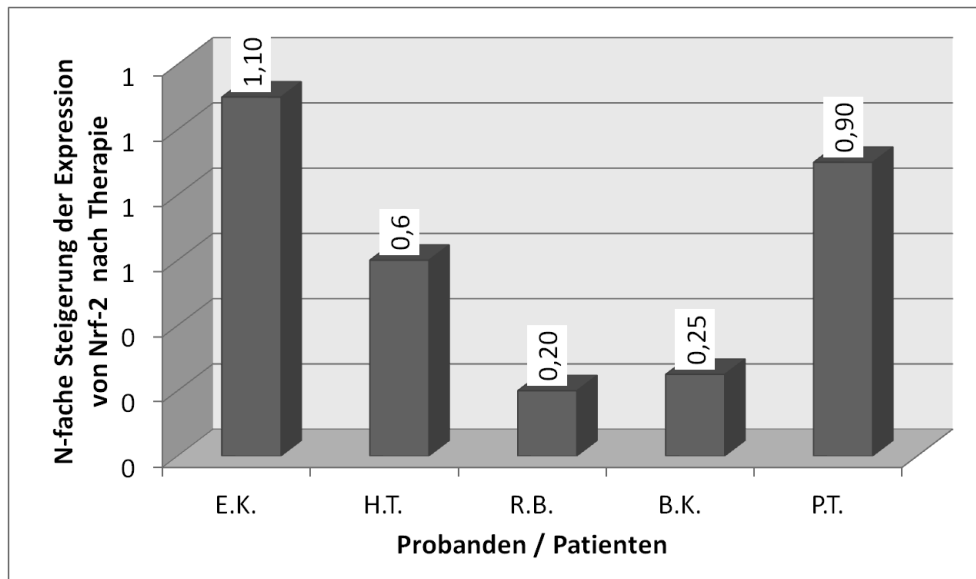


Abbildung 12: Einfluss der Therapie auf die Expression von Nrf-2 in PBMC (gemessen an 500000 peripheren Blutleukozyten). Die Werte sind dargestellt als N-fache Steigerung der Expression von Nrf-2 nach Therapie im Vergleich zu der Nrf-2-Expression vor der Therapie.

DIREKTE MITOCHONDRIENPARAMETER NACH STIMULATION MIT DEM STRESSOR H₂O₂

MITOCHONDRIALES ATP

Die Abbildungen 12 zeigen für alle Probanden zusammengefasst den Einfluss des Stressors H₂O₂ auf die mitochondriale ATP-Generierung vor und nach Therapie mit Kleinsche Felder Magnetstreifen

Nach der Therapie generieren die Mitochondrien der PBMC mehr ATP nach Zugabe des Radikalstressors Wasserstoffperoxid H₂O₂ (Konzentration 0,0005 %) im Vergleich zu vor der Therapie. Somit haben die Mitochondrien der PBMC nach der Therapie eine höhere Kapazität, mitochondriales ATP unter Stress zu generieren

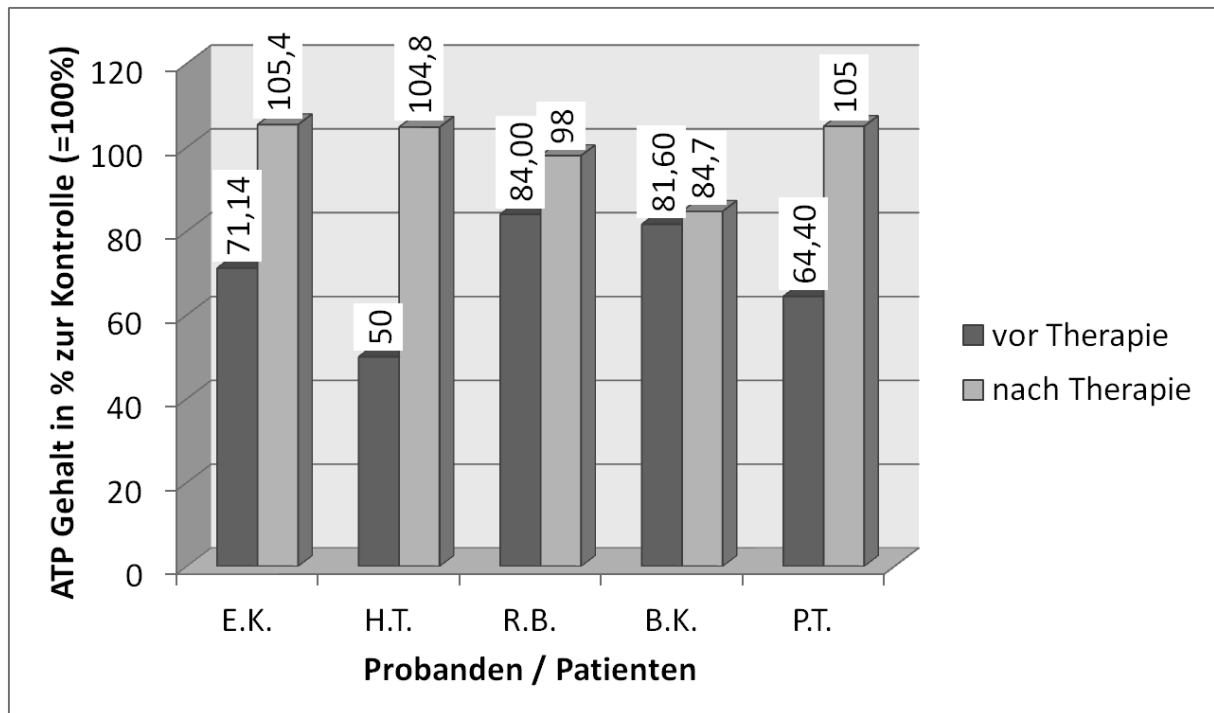


Abbildung 13: Einfluss der Therapie auf die Bildung von mitochondrialem ATP in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von 0,00005% H_2O_2 . Die Werte sind dargestellt als prozentualer Anteil des ATP Gehaltes zur Kontrolle (ohne H_2O_2 ; = 100%)

INDIVIDUELLE PGC-1-ALPHA, NRF-2, RHODANASE EXPRESSION UNTER ZUGABE DES STRESSORS H_2O_2 IN UNTERSCHIEDLICHEN KONZENTRATIONEN

Im Folgenden werden für jeden Probanden der Einfluss der Therapiedauer mit den Kleinsche Felder auf die PGC-1-alpha-, Nrf-2 und Rhodanase Expression dargelegt. Die Analyse wurde an PBMC nach Zugabe des Stressors H_2O_2 und Inkubation für weitere 24h bei 37°C unter 5% CO_2 durchgeführt.

Entsprechend den Ergebnissen lassen sich die Probanden in 2 Gruppen einteilen:

- 1) Probanden mit einer gesteigerten PGC-1-alpha Expression am Therapieende nach Stimulation mit H_2O_2 (5×10^{-4}). Die relative Nrf-2 und Rhodanase Expressionen orientieren sich an die PGC-1-alpha Expression.
- 2) Probanden mit einer verminderten PGC-1-alpha Expression am Therapieende nach Stimulation mit H_2O_2 (5×10^{-4}). Die relative Nrf-2 und Rhodanase Expressionen orientieren sich an die PGC-1-alpha Expression.

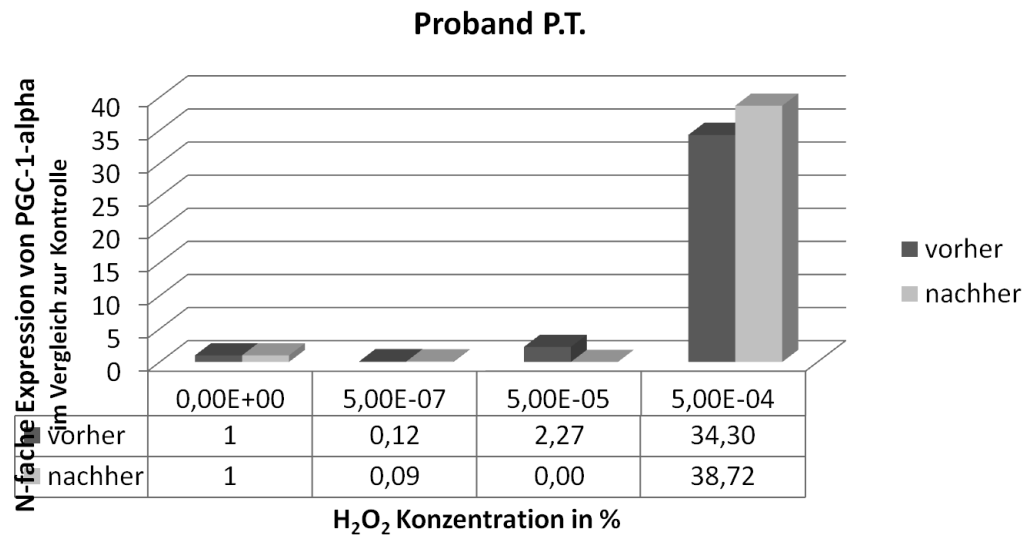


Abbildung 14: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

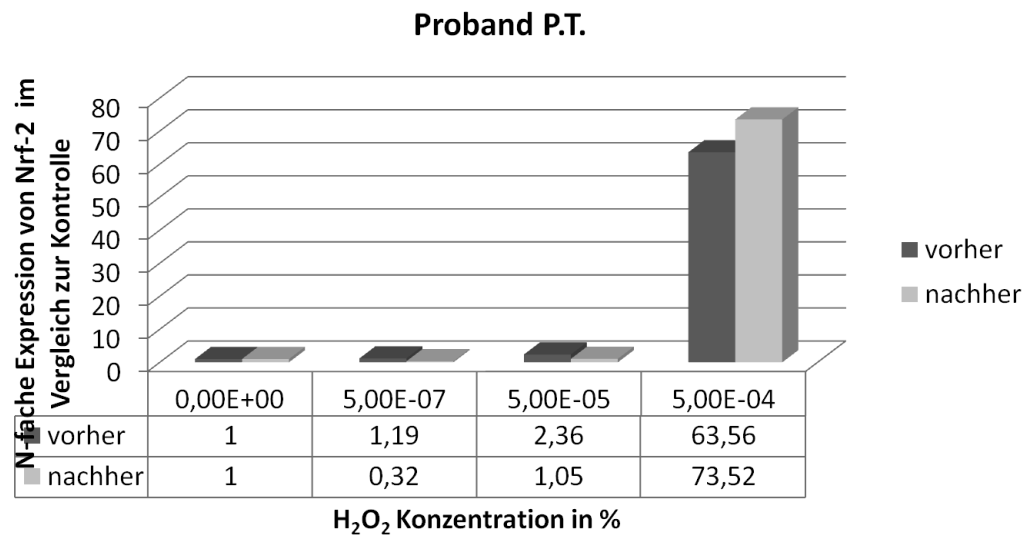


Abbildung 15: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

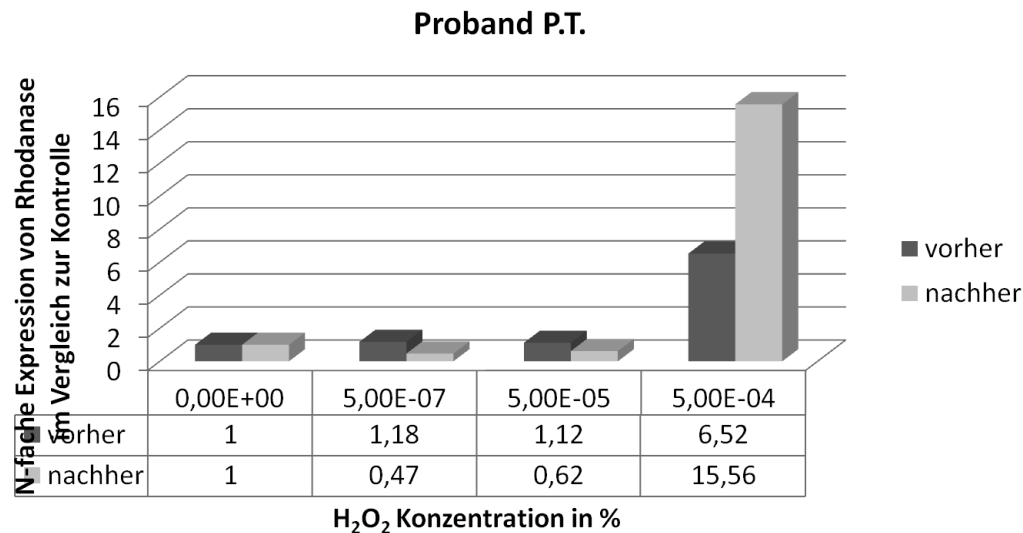


Abbildung 16: Einfluss der Therapie auf die Rhodanase Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin P.T.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Rhodanase im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

PROBAND E.K.

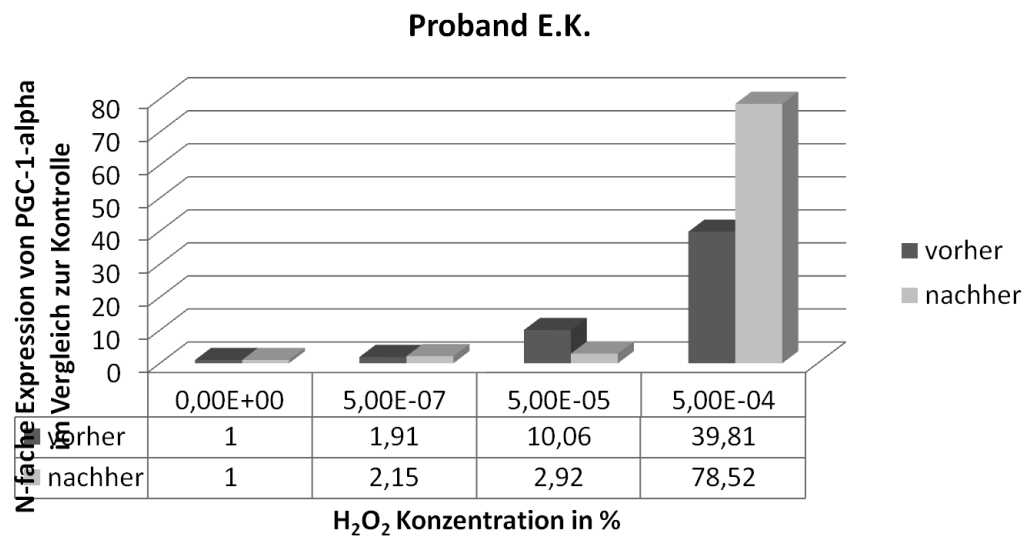


Abbildung 17: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin E.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

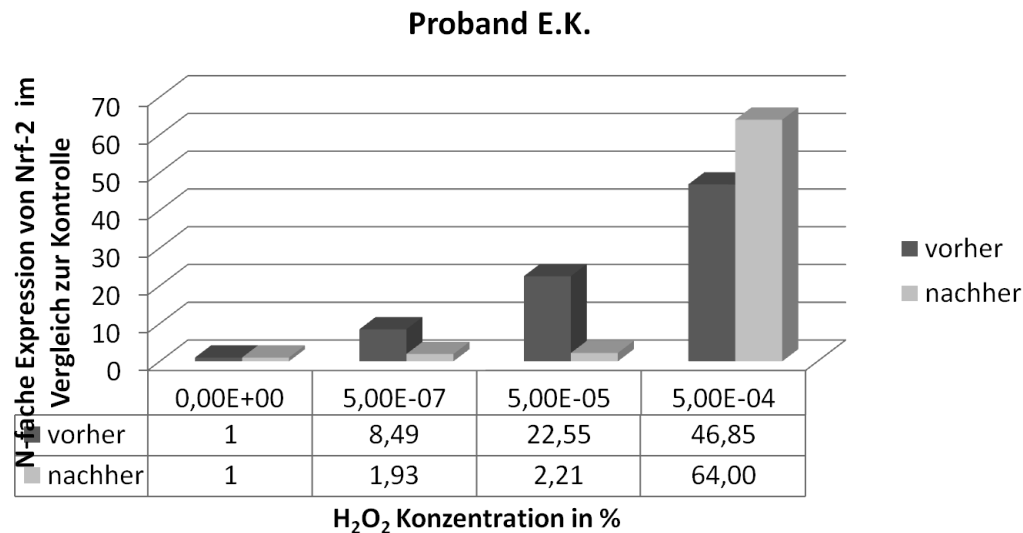


Abbildung 18: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin E.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

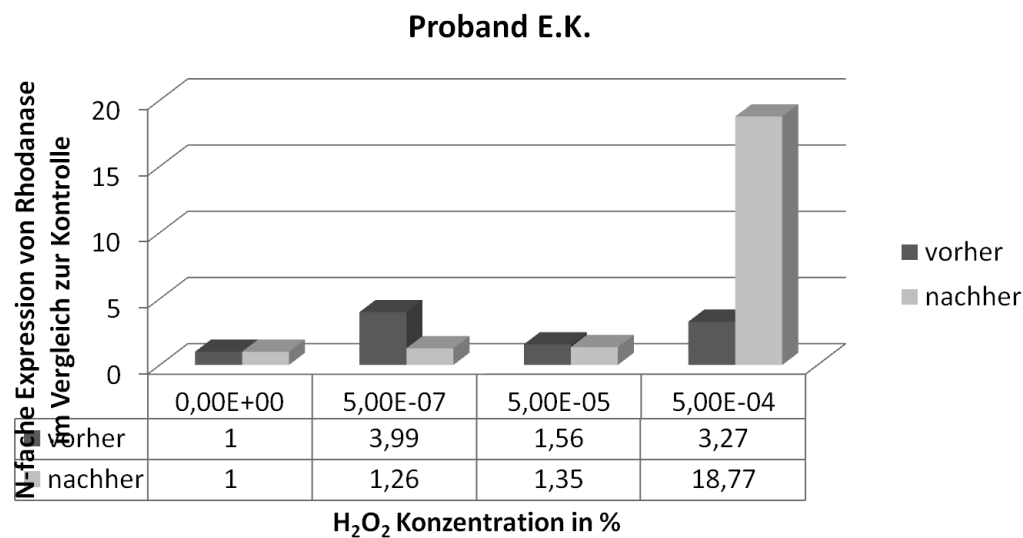


Abbildung 19: Einfluss der Therapie auf die Rhodanase Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin E.K.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Rhodanase im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

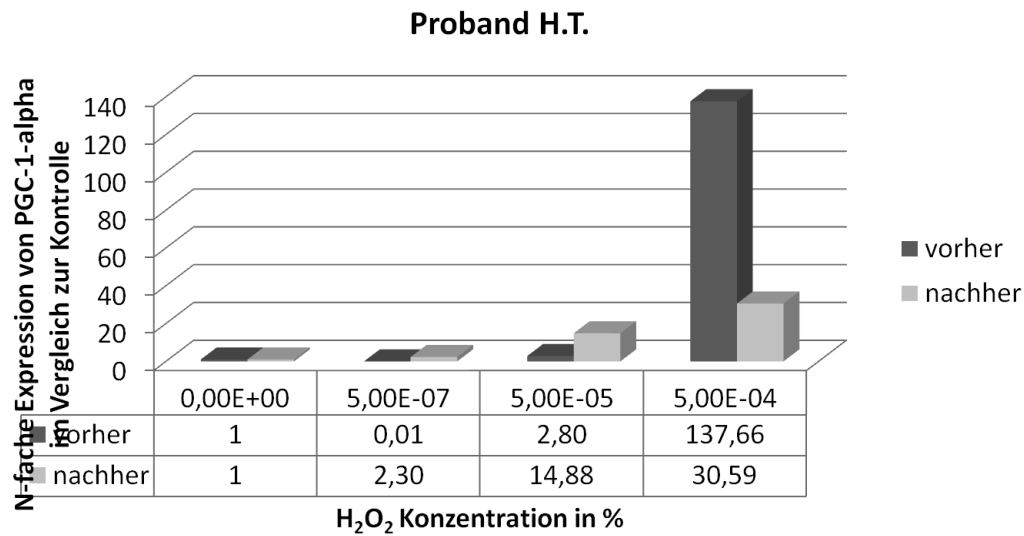


Abbildung 20: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei dem Probanden H.T. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

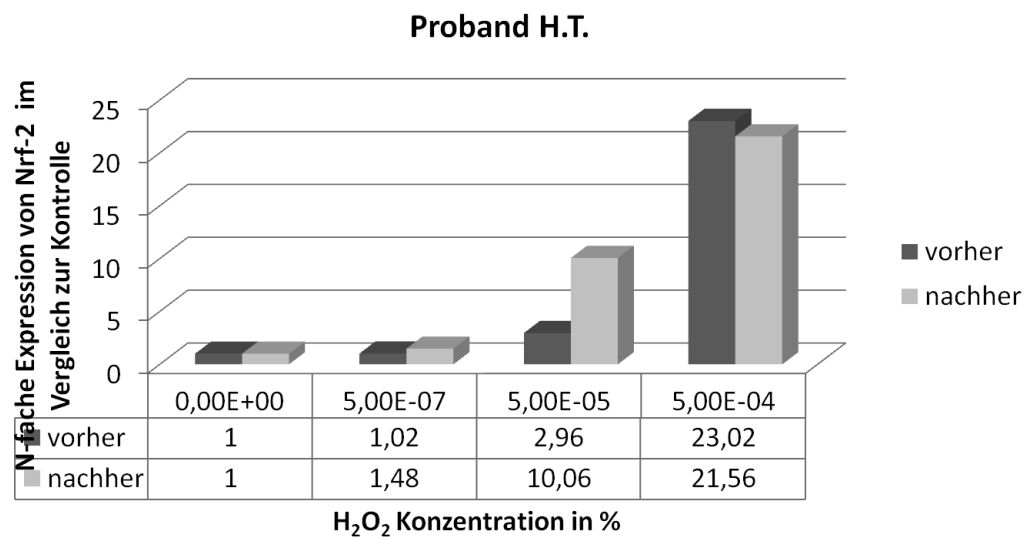


Abbildung 21: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin H.T. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

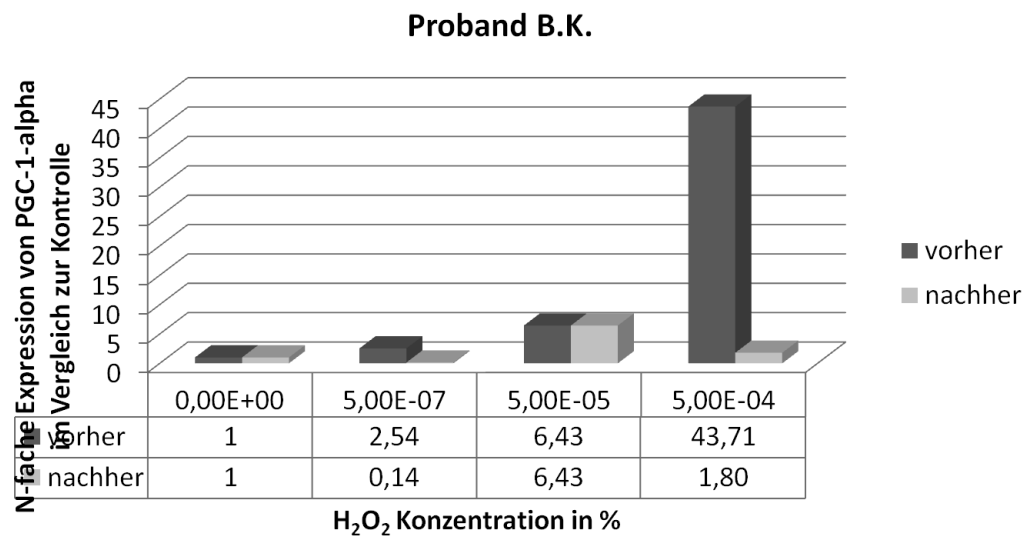


Abbildung 22: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin B.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

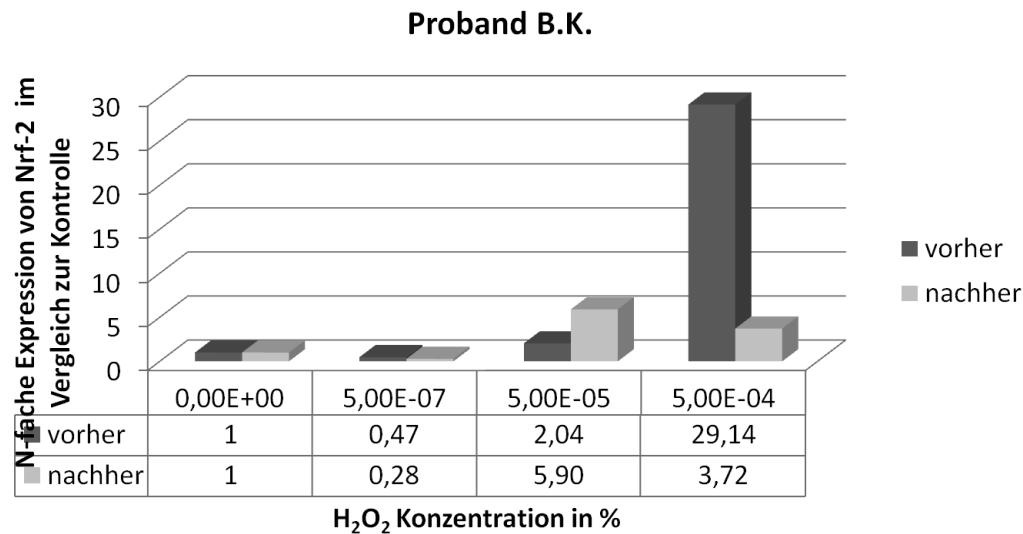


Abbildung 23: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin B.K. . Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

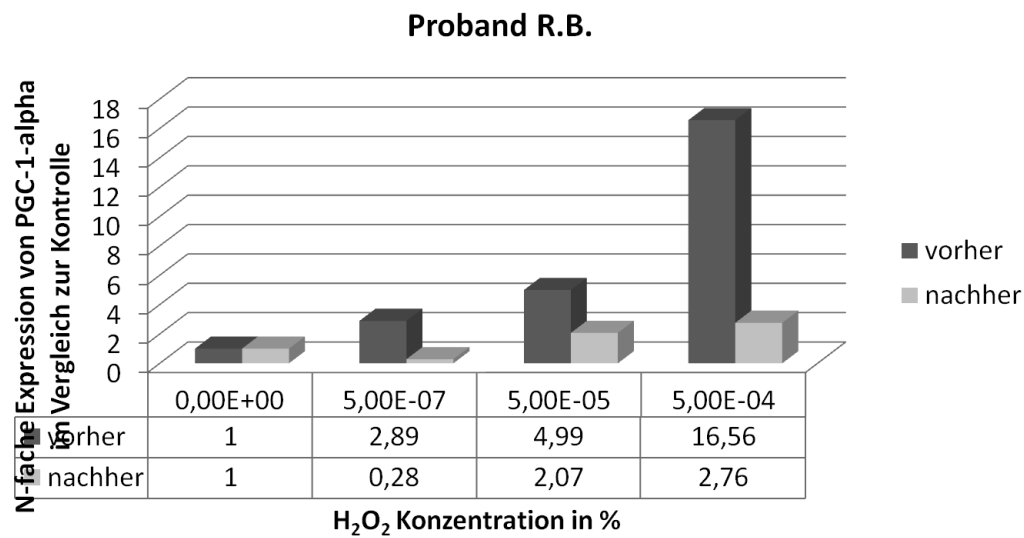


Abbildung 24: Einfluss der Therapie auf die PGC-1-alpha Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin R.B.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von PGC-1-alpha im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

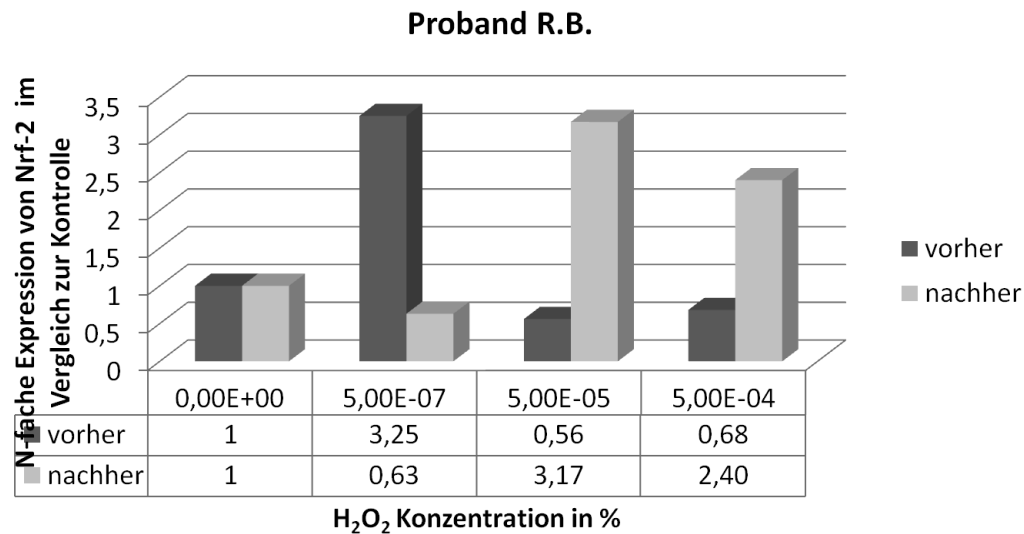


Abbildung 25: Einfluss der Therapie auf die Nrf-2 Expression in PBMC (gemessen an 50000 peripheren Blutleukozyten) in der Anwesenheit von verschiedenen H₂O₂ Konzentrationen bei der Probandin R.B.. Die Werte sind dargestellt als n-fache Expression von Nrf-2 im Vergleich zur Kontrolle (ohne H₂O₂; = 100%)

SCHLUSSFOLGERUNG

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass sich im Laufe der Therapie Mitochondrienparameter verändert haben, die auf eine Regeneration von Mitochondrien und deren Funktionssteigerung schließen lassen. Der Abbau von schadhafte Mitochondrien, die Neusynthese von Mitochondrien sowie eine Optimierung ihrer Funktionen sind ein komplexer Prozess. Entscheidende mitochondriale Parameter in diesem komplexen Prozess sind u. a. PGC-1, Nrf-2, die Rhodanase und die mitochondriale ATP-Bildung. Diese Parameter sind durch Signaltransduktionsketten miteinander verbunden und werden sowohl aktiviert wie auch deaktiviert. Die in dieser Studie durchgeführten Analysen sind nur eine Momentaufnahme von Prozessen, die bei jedem Individuum zudem unterschiedlich stark und zeitlich verschoben ablaufen können. Daher ist eine Wertung über den Erfolg einer Therapie durch das Herausgreifen eines einzelnen Parameters nicht möglich.

AKTUALISIERUNG DER BERICHTERSTATTUNG AM 21.12.2014

Die Probandin P.T. wendet seit Abschluss und abschließender Berichterstattung der Studie neben der Schlafauflage nun auch die Sitzauflage an und berichtet über ein zunehmendes Verschwinden der Krampfadern.

Die Probandin E.K. (Nierenarterienstenose mit ursprünglicher post-Chemo Neuropathie) hat überhaupt keine Beschwerden mehr.

Auch wenn bei dem Probanden R.B. noch keine subjektiven Verbesserungen eingetreten sind, zeigen dessen Werte gemäß Studie eine Verbesserung der zellulären Funktionen. Es ist erwiesen, dass zelluläre Funktionen zeitlich bereits Fehlfunktionen anzeigen bevor das persönliche Empfinden ein gesundheitliches Missempfinden signalisiert.

Bei Patientin B.K. hat nach ca. 5 Monaten das Haarwachstum im Schläfenbereich deutlich zugenommen. Sie schläft hauptsächlich direkt mit dem Kopf auf der Schlafauflage ohne Kopfkissen oder nur auf einem "Zipfel" davon.