

Über den Einfluß der *BICOM* Resonanz-Therapie auf die Regulation der zellulären Streßantwort im Tiermodell der Taufliege (*Drosophila melanogaster*)

D. Sakharov¹; A. Waiserman, N. Koshe²; P. Kreisl³;

Zusammenfassung: Für die Untersuchung wurde der Oregon-R-Wildtyp der Taufliege *Drosophila melanogaster* verwendet. Die Versuchsgruppen wurden 120 min einer erhöhten Temperatur von 40°C bzw. 37°C ausgesetzt. Um die Wirkung der Bioresonanz-Behandlung zu quantifizieren, wurden Mortalität der Chrysalide, Fruchtbarkeit, positive Phototaxis und Überlebenszeit ohne Futter gemessen.

Die Versuchsergebnisse belegen eindeutig, daß die biopositiven Effekte der induzierbaren konstitutionellen Streßproteine (chaperones) über ihre zugehörigen bioenergetischen Informationsfelder auf hitzegeschädigte Chrysalide der Taufliege übertragbar sind und, darüber hinaus, daß die Option Therapieart H⁴ des verwendeten *BICOM* Gerätes eine Selektion der rein physiologischen Anteile derartiger Informationsfelder gewährleistet.

Schlüsselwörter: Bioresonanz-Therapie, zelluläre Streßantwort, Hitzeschock-Behandlung, Taufliege (*Drosophila melanogaster*)

Einleitung: Die Fähigkeit lebender Organismen aller Entwicklungsstufen, auf Umweltfaktoren wie z. B. Schwermetalle, Temperaturveränderungen (Hitze- bzw. Kälteschock) oder elektromagnetischer Felder mit der vermehrten intrazellulären Produktion sogenannter Hitzeschock-Proteine (HSPs) zu reagieren, ist seit den sechziger Jahren bekannt. Da man diese Proteine erstmalig im Tiermodell der Taufliege nach Hitzebehandlungen nachweisen konnte, erhielten sie den Namen Hitzeschock-Proteine (1- 6).

In Säugerzellen umfaßt die Familie der HSPs hauptsächlich Proteine mit einem Molekulargewicht von 110, 90, 70, 60, 40 und 27 kDa.

¹R. E. Kavetzky Institut für Experimentelle Pathologie, Ökologie und Radiobiologie der Staatlichen Akademie der Wissenschaften der Ukraine;

²Institut für Gerontologie der Staatlichen Akademie der Wissenschaften der Ukraine;

³Institut für Regulative Medizin, Gräfelfing;

⁴Therapieart H bedeutet, daß nur die physiologischen Anteile der elektromagnetischen Schwingungen eines Organismus zur Therapie verwendet werden;

Die Primärstruktur (Aminosäuresequenz) der HSPs ist hoch konservativ. Daraus kann geschlossen werden, daß diese Proteine entwicklungsgeschichtlich sehr alt sind, und darüber hinaus während Millionen von Jahren kaum verändert wurden.

Es wird deshalb vermutet, daß Hitzeschock-Proteine ein rudimentäres Abwehr- und Schutzsystem darstellen, aus dem sich dann das komplexe Immunsystem der Säuger entwickelt hat.

Einige Mitglieder der HSP-Familie werden konstitutionell exprimiert und treten unter Streßbedingungen vermehrt auf. Andere wiederum werden ausschließlich durch Streß induziert. Die konstitutionell exprimierten HSPs fungieren als molekulare "Anstandsdamen" (chaperones) für andere zelluläre Proteine, indem sie z. B. an neu synthetisierte Polypeptide andocken und dadurch die korrekte Faltung dieser Polypeptide in die funktionellen Proteine unterstützen (7).

Experimentell kann die Produktion konstitutioneller HSPs (chaperones) durch Anwendung moderater Temperaturerhöhung verstärkt werden. Dies führt zu Resistenzeffekten gegenüber einer nachfolgenden extremen Temperaturbehandlung im Sinne einer erworbenen Thermotoleranz.

Einige der induzierbaren HSPs, speziell das HSP72, binden an beschädigte bzw. denaturierte Proteine und bewirken dadurch entweder deren Rekonstitution oder leiten den Abbau irreversibel geschädigter Proteine über den Ubiquitin / Proteasom abhängigen Stoffwechselweg ein.

In jüngster Zeit hat das wissenschaftliche Interesse am Phänomen der streßinduzierten HSPs stark zugenommen. Ursache hierfür sind experimentelle Arbeiten, die eine Beteiligung der HSPs an der Regulation der Apoptose (programmierter Zelltod) als auch der Nekrose nachweisen (8). Darüberhinaus gibt es experimentelle Befunde, die darauf hindeuten, daß HSPs und hier speziell durch das HSP90 die Evolution zu sprunghaften Entwicklungsschüben veranlaßt werden kann (9).

Dies würde bedeuten, daß die Evolution nicht wie es Darwin angenommen hat, nur auf einem Wechselspiel von zufälliger Mutation und nachfolgender Selektion basiert, sondern die Summe aller Erfahrungen eines Individuums sich im Genom dieses Individuums widerspiegelt, und damit auf die folgende Generation übertragen werden kann.

Da die Bioresonanz davon ausgeht, daß den oben genannten biochemischen Signalketten ein entsprechendes bioenergetisches Regulationssystem übergeordnet ist, und dadurch die biochemischen Abläufe steuert (10), sollte in der vorliegenden Arbeit der Einfluß der bioenergetischen Informationsfelder in konditionierten Verpuppungsstadien (Chrysalide) der Taufliege auf die Entwicklung hitzebehandelter Chrysalide nachgewiesen werden. Das bedeutet, die Übertragung der bioenergetischen Information von thermotoleranten Organismen auf nichtkonditionierte Organismen sollte die Schäden einer Hitzebehandlung signifikant reduzieren.

Material und Methoden: Für die Untersuchungen wurde der Oregon-R-Wildtyp der Taufliege *Drosophila melanogaster* verwendet. Die Larven wurden in 1-Liter Glasgefäßen bei 25°C auf standardisierten Nährmedien gehalten.

Die relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 40 und 60 %. Es herrschte ein Tag / Nacht-Zyklus von 12 zu 12 Stunden. Die Verpuppungsstadien (Chrysalide) wurden in drei Hauptgruppen unterteilt. Die Gruppe mit der Bezeichnung N erhielt keinerlei Temperaturbehandlung und repräsentiert somit die Kontrollgruppe.

Die Gruppe mit der Bezeichnung S wurde für 120 Minuten einer erhöhten Temperatur von 40°C ausgesetzt. Die Gruppe mit der Bezeichnung A wurde für 120 Minuten einer moderat erhöhten Temperatur von 37°C ausgesetzt, und stellt die Gruppe der konditionierten Chrysalide dar.

Für den experimentellen Test verschiedener Parameter der Bioresonanzbehandlung wurden Untergruppen gebildet, die jeweils etwa 1000 Chrysalide umfaßten. Ein Bioresonanzgerät (*BICOM* der Fa. Regumed, BRD) wurde verwendet, um die elektromagnetischen Informationsfelder zwischen den Untergruppen zu übertragen.

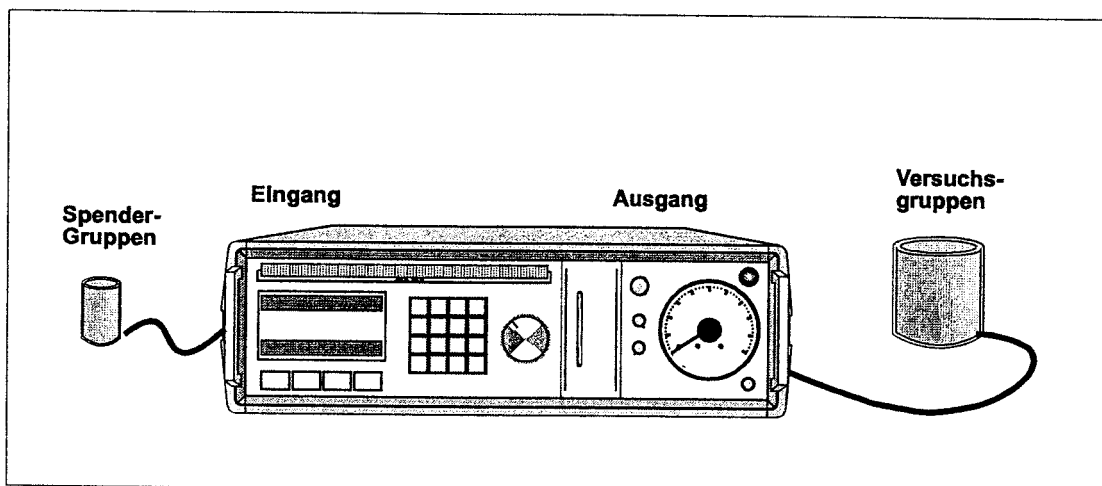


Abb. 1: Versuchsanordnung

Hierzu wurde die jeweilige Gruppe, die in einem Versuchsansatz als Spender der Informationsfelder fungierte, in die Eingangsbecher-Elektrode des *BICOM* Gerätes plaziert. Die Testgruppe, die auf ihre Reaktion auf diese Informationsfelder überprüft werden sollte, wurde in die Ausgangsbecher-Elektrode gegeben.

Es wurden folgende Geräteparameter verwendet:
Behandlungsart H⁵; Verstärkung 0,9; Frequenzdurchlauf 15 sec;

Es wurden Behandlungszeiten von 20 sec, 60 sec und 30 Minuten angewendet.

Die 20-Sekunden- und 60-Sekunden-Behandlungen wurden über den Zeitraum von zwei Tagen viermal täglich wiederholt. Die 30 Minuten-Behandlung erfolgte über einen Zeitraum von zwei Tagen einmal täglich.

Aufgrund von Vorversuchen wurde für Behandlungszeiten von 20 sec und 60 sec der größte Effekt erwartet. Die Behandlung über 30 Min. wurde durchgeführt, um die Hypothese einer Dosisabhängigkeit bzw. der Existenz eines "Dosisfensters" bezüglich der Wirksamkeit bioenergetischer Informationsübertragung zu überprüfen (11, 12).

Um die Wirkung der Bioresonanz-Behandlung zu quantifizieren wurden folgende Parameter bestimmt:

1. **Mortalität** der Chrysalide - Auszählung der Chrysalide jeder Untersuchungsgruppe, die die Metamorphose nicht beenden konnten.
2. **Fruchtbarkeit** - Als halbquantitatives Maß für die Fruchtbarkeit der geschlüpften weiblichen Tiere diente die Zahl der innerhalb von 24 Stunden produzierten Eier von 100 zufällig ausgewählten Exemplaren jeder Untersuchungsgruppe. Hierzu wurden die weiblichen Tiere am dritten Tag nach Emergenz von den männlichen Tieren durch Überführung in 200 ml Glasgefäße getrennt. Die Fruchtbarkeit der Tiere wurde als normal (mit einem "+" Zeichen in den Tabellen gekennzeichnet) bewertet, wenn sich aus allen Eiern einer Gruppe die nächste Generation von Vollinsekten entwickeln konnte. Erreichten nur etwa 50% das Stadium des Vollinsektes, wurde die Fruchtbarkeit als stark eingeschränkt bewertet (durch ein "+/-" Zeichen gekennzeichnet). Entwickelten sich nur wenige Insekten wurde die Gruppe als unfruchtbar gewertet (durch ein "-" Zeichen in den Tabellen gekennzeichnet).
3. **Positive Phototaxis** - Die Zeitspanne (in Sekunden), die die Fliegen benötigen, um sich einer Lichtquelle zu nähern (pos. Phototaxis) wurde als allgemeiner Marker für die Lebensfähigkeit der Versuchstiere herangezogen. Die Tiere jeder Versuchsgruppe wurden hierzu in einer Glasröhre (ø 10 mm; Länge 500 mm) positioniert, an deren entgegengesetzten Ende eine Glühbirne (100 Watt) angebracht war. Es wurde die Zeit (in Sekunden) gemessen, die 50 % der Testtiere benötigten, um eine Strecke von 100 mm in Richtung der Lichtquelle zurückzulegen.

⁵Der physiologische Anteil des Schwingungsspektrums eines Organismus wird mit H gekennzeichnet. Durch einen Molekular-Filter im Gerät werden die pathologischen und physiologischen Anteile getrennt.

4. **Überlebenszeit ohne Futter** - Um die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen Nahrungsmangel zu messen, wurden jeweils 100 Exemplare einer Testgruppe in 5 Glasgefäße ohne Nährmedium überführt und die Zeit (in Stunden) bestimmt, nach der eine 50 %-ige Mortalität zu beobachten war. Die Temperatur wurde konstant bei 22°C gehalten.

Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 1 sind die veränderten Werte der untersuchten Vitalitätsparameter Mortalitätsrate, positive Phototaxis, Fruchtbarkeit und Überlebenszeit ohne Futter in Abhängigkeit zur angewandten Temperaturbehandlung wiedergegeben.

Erwartungsgemäß führt die Hitzebehandlung der Chrysalide (40°C, 120 Min) zu drastischen Schädigungen. Die Mortalitätsrate steigt von 0,1% (unbehandelte Kontrolle) auf 25,5%. Sowohl die Beweglichkeit (pos. Phototaxis) der aus den Chrysaliden geschlüpften Insekten als auch die Überlebenszeit ohne Futter nehmen signifikant ab. Die weiblichen Tiere dieser Gruppe (S-Gruppe) sind unfruchtbar. Demgegenüber führt die moderate Temperaturbehandlung (37°C, 120 min) der A-Gruppe nur zu einer leicht erhöhten Mortalitätsrate von 0,2 % und einer signifikanten, aber, verglichen mit der S-Gruppe, geringen Abnahme der Beweglichkeit. Die weiblichen Tiere der A-Gruppe bleiben fruchtbar.

Bemerkenswert ist die Resistenz der A-Gruppe gegen Nahrungsmangel, die sich in der längeren Überlebenszeit ohne Futter (32 Stunden) gegenüber der unbehandelten Kontrolle (30 Stunden) widerspiegelt. Hier zeigt sich eindeutig das Phänomen der induzierbaren Streßtoleranz. Es ist daher anzunehmen, daß im Fall der A-Gruppe eine Aktivierung der zellulären Schutzmechanismen im Sinne einer verstärkten Expression konstitutioneller Hitzeschock-Proteine (chaperones) stattgefunden hat.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zum Versuch, die Informationsfelder temperaturbehandelter Chrysalide auf unbehandelte Chrysalide der Kontrollgruppe zu übertragen, zusammengestellt.

Gruppen	Sterblichkeitsrate (in %)	Fruchtbarkeit	positive Phototaxis (Zeit in sec)	Überlebenszeit ohne Futter (in Stunden)
N	0,10	+	13,89±0,42	30,8±0,52
A	0,20	+	16,89±0,42 ***	32,22±0,31 *
S	25,5	-	46,33±4,25 ***	26,05±0,23 ***

Tab. 1: Indizes der Gruppen A, S und N ohne Behandlung. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. Erklärung im Text.

Gruppen	Sterblichkeits- rate (in %)	Fruchtbarkeit	positive Phototaxis (Zeit in ses)	Überlebenszeit ohne Futter (in Stunden)
N	0,1	+	13,89±0,42	30,83±0,52
A>N20s	0,3	+	13,56±1,17 **	30,65±0,73
A>N60s	0,2	+	18,67±1,14 **	31,97±0,38
S>N20s	0,1	+	13,67±0,47	33,98±0,92 *
S>N60s	0,1	+	13,56±0,44	30,78±0,55
A>N30 min	0,1	+	20,11±1,16 ***	26,95±0,42 ***

Tab. 2: Indizes der Kontrollgruppe nach unterschiedlichen Behandlungen. Erklärung im Text.

Die Richtung der Informationsübertragung zwischen den Gruppen ist durch einen Pfeil gekennzeichnet (Tabelle 2+3). Im Fall der Übertragung der Information der A-Gruppe auf die Kontrolle nimmt im wesentlichen nur die Beweglichkeit der Kontrolltiere ab.

Die Übertragung der S-Gruppen Information (20 Sekunden Behandlung) auf die Kontrollgruppe resultierte in einer signifikanten Verlängerung der Überlebenszeit ohne Futter ohne die Werte der Beweglichkeit, Fruchtbarkeit und Mortalität zu beeinflussen.

Dieser Befund kann als Hinweis auf die Übertragbarkeit der Information streßinduzierbarer Hitzeschock-Proteine (HSPs) betrachtet werden. Daß die S-Gruppe eine Überlebenszeit ohne Futter von nur 26 Stunden aufweist, ist auf genetische Schäden in den hitzebehandelten Chrysaliden zurückzuführen. Die Information dieser mutierten Gene war offensichtlich nicht übertragbar oder wirkungslos.

Da die Behandlungsart H des verwendeten *BICOM* Gerätes laut Herstellerangaben eine spezielle Filterfunktion beinhaltet, die in der Selektion physiologischer Informationsfelder besteht, sollte in einer abschließenden Versuchsreihe die Wirkung rein physiologischer Informationsfelder aus der nativen Kontrollgruppe (Chrysalide ohne jede Behandlung) bzw. aus der A-Gruppe (Chrysalide 120 Min. einer erhöhten Temperatur von 37°C ausgesetzt) auf die hitzebehandelten Chrysalide der S- Gruppe (40°C, 120 min) überprüft werden.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Die Vitalitätsparameter: Beweglichkeit (positive Phototaxis) und Überlebenszeit ohne Futter der S-Gruppe konnte durch die Übertragung der physiologischer Informationsfelder in allen Fällen auf die entsprechenden Werte der Kontrollgruppe verbessert werden.

Darüber hinaus konnte eine drastische Abnahme der Mortalitätsrate der S-Gruppe von 25,5 % auf 0.1 bis 5.4 % beobachtet werden.

Auch die Fruchtbarkeit der weiblichen Tiere der S-Gruppe konnte durch die Behandlung biopositiv beeinflusst werden (in der Testgruppe A > S erfolgte eine vollständige Wiederherstellung der Fruchtbarkeit).

Ganz allgemein erbrachte die Übertragung der physiologischen Information aus der A-Gruppe auf die Chrysalide der S-Gruppe die signifikantesten Ergebnisse bezüglich der Wiederherstellung der Vitalität der sich entwickelnden Vollinsekten aus der S-Gruppe.

Diese Versuchsergebnisse belegen eindeutig, daß die biopositiven Effekte der induzierbaren konstitutionellen Streßproteine (chaperones) über ihre zugehörigen bioenergetischen Informationsfelder auf hitzegeschädigte Chrysalide der Taufliege übertragbar sind, und darüber hinaus, daß die Option H des verwendeten *BICOM* Gerätes eine Selektion der rein physiologischen Anteile derartiger Informationsfelder gewährleistet.

Gruppen	Sterblichkeits-rate (in %)	Fruchtbarkeit	positive Phototaxis (Zeit in s)	Überlebenszeit ohne Futter (in Stunden)
S	25,5	-	46,33±4,25	26,05±0,23
N>S20s	5,4	-	17,67±1,28 ***	31,30±0,48 ***
N>S60s	0,5	±	14,78±0,52 ***	33,18±0,85 ***
A>S20s	0,2	+	13,33±0,37 ***	27,00±0,32 *
A>S60s	0,1	±	13,67±0,41 ***	31,35±0,62 ***
A>S30 min	2,0	-	26,89±2,36 **	28,47±0,93 *
N	0,1	+	13,89±0,42	30,83±0,52

Tab. 3: Indizes der geschädigten Gruppe nach unterschiedlichen Behandlungen.

Literatur:

- (1) Anderson, R. L., Stress proteins and apoptosis in prenatal development, cancer and medicine, *Cell Stress & Chaperones* 3,209 - 212 (1998);
- (2) Vayssier, M. and Polla, S. B., Heat shock proteins chaperoning life and death. *Cell Stress & Chaperones* 3, 221 - 227. (1998);
- (3) Edwards, M.J., Apoptosis, the heat shock response, hyperthermia, birth defects, disease and cancer. Where are the common links ?. *Cell Stress & Chaperones* 3,213 - 220 (1998);
- (4) Goodman, R. and Blank, M., Magnetic field stress induces expression of hsp70. *Cell Stress & Chaperones* 3, 79 - 88, (1998);
- (5) Craig, E.A., The heat shock response, *Crit. Rev. Biochem.* 18, 239 - 280, (1985);

- (6) Rubin, D.M., et al., Genomic structure and sequence analysis of *Drosophila melanogaster* hsp70 genes, *Gene* 128, 155 - 163, (1993);
- (7) Hartl, F-U, Molecular chaperones in protein folding, *Nature* 381,571 - 580, (1996);
- (8) Samali, A. and Orrenius, S., Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress & Chaperones* 3,228 - 236, (1998);
- (9) Groß, M., Hitzeschockprotein hilft der Evolution auf die Sprünge, *Spektrum der Wissenschaft*, Februar (1999),12- 16;
- (10) BICOM Bioresonanz-Therapie, Hrg. H. Brügemann, Haug-Verlag, Heidelberg,
- (11) Lawrence, A.F. and Adey, W.R., Nonlinear wave mechanisms in interactions between excitable tissue and electromagnetic fields. *Neurological Research* 4,115 - 153, (1982);
- (12) Webb, S.J., Nonlinear phenomena in bioenergetics and oncology as seen in 25 years of research with millimeter microwaves and Raman spectroscopy. In: Ed. Adey, W.R., Lawrence, A.F., *Nonlinear Electrodynamics in Biological Systems*. Plenum Press, London - New York (1984),549-567;