

## **Lichttherapie: Studie an gesunden Probanden zur Reduktion von Inflammation (RANTES) und Steigerung von chemischer Energie (ATP) im Vergleich zu einer Kontrollgruppe**

Greilberger Joachim, Schriebl Wolfgang

### Einleitung

Eine Überproduktion von Sauerstoffradikalen oder unzureichende antioxidative Abwehrmechanismen führen im Organismus zu einem gefährlichen Ungleichgewicht. Durch dieses Ungleichgewicht werden Pathomechanismen in Gang gesetzt, die mittel- oder unmittelbar Verursacher für eine Vielzahl von Krankheiten sind. Zu nennen wären hier an erster Stelle die kardiovaskulären Erkrankungen und die Arteriosklerose. Aber auch die Beteiligung an Entzündungsvorgängen, Sepsis, Karzinogenese und neurodegenerativen Prozessen ist augenscheinlich und kausativ. Diese Befunde sind mit ein Grund, weshalb die Bestimmung des oxidativen Status/oxidativen Stress für die heutige medizinische Diagnostik und Forschung von grundlegender Bedeutung ist. Die bisher eingesetzten Methoden, um die radikalvermittelten Effekte wie z.B. Lipidperoxidation zu erfassen, sind zum Teil sehr aufwändig (HPLC) oder weisen nur Abbauprodukte mehrfach ungesättigter Fettsäuren nach (z.B. TBARS). Der PerOx-Assay hingegen ist schnell und einfach abzuarbeiten und erfasst die gesamten Lipidperoxide. Da eine direkte Korrelation zwischen freien Radikalen und Lipidperoxiden besteht, kann damit der oxidative Status/oxidative Stress in biologischen Proben festgelegt und charakterisiert werden.

Adenosintriphosphat, abgekürzt ATP, ist der Hauptenergiespeicher der Zellen. Es besteht aus der Bindung von Adenosin und drei Phosphatgruppen. Jede einzelne Zelle im menschlichen Körper bezieht ihre Energie aus ATP.

Ist kein ATP vorhanden, stirbt die Zelle ab. Andersrum geht's jedoch auch: Ist viel ATP vorhanden, ist die Zelle besonders aktiv. Vor allem die Muskeln, die im menschlichen Körper ja reichlich vorhanden sind und dich nicht nur mobil, sondern überhaupt erst funktionsfähig machen, brauchen ATP als Antrieb. Stoffwechsel, Zellerneuerung, Verdauung, Konzentration – alles wäre nicht ohne ATP möglich.

Ohne ATP könntest du nicht laufen, nicht denken, nicht atmen, du wärst schlichtweg nicht lebensfähig. Damit die sich nie Batterie entleert, produzieren die Zellen ständig neues ATP. Und zwar so: Bei der Zellatmung werden Glukose, Sauerstoff und Wasser in den Mitochondrien, den kleinen Kraftwerken der Zelle, zu Wasser und Kohlenstoffdioxid abgebaut. Durch diesen Abbau entsteht Energie in Form von Adenosintriphosphat. Enzyme spalten dieses ATP in den Mitochondrien in ein Adenosindiphosphat (ADP) und ein freies Phosphat auf. Die dabei freigesetzte Energie wird in Form von Wärme abgegeben, überwiegend jedoch für die Muskelfunktion verwendet.

Anschließend muss das ADP jedoch wieder in ATP umgewandelt werden. So entsteht ein ewiger Kreislauf, der nur bei einer optimalen Versorgung mit Nährstoffen einwandfrei funktioniert.

Der Körper hat dafür ein ausgeklügeltes System: den Energiestoffwechsel. Die Energie, die du über die Nahrung zu dir nimmst, also aus Kohlehydraten, Proteinen und Fetten, wird innerhalb der ATP-Moleküle gespeichert, bis sie von den Zellen abgerufen wird.

Die meisten akut-allergischen Erscheinungen der Haut werden durch Mastzellen ausgelöst. Aber auch bei chronischen Hauterkrankungen spielen sie eine wichtige Rolle: Mastzellen sind überwiegend in den Geweben entlang der Körperoberflächen lokalisiert. Die Entzündungs-Botenstoffe der Mastzelle sind entweder schon vorgebildet und dort gespeichert oder sie werden von der Mastzelle auf Aktivierungssignale hin neu produziert. Zu den Substanzen, die von aktivierten Mastzellen freigesetzt werden gehört Histamin, das den Juckreiz bei Hauterkrankungen auslöst.

Mediziner wissen, dass Mastzellen durch den Botenstoff RANTES/CL5 provoziert werden, Histamin auszuschütten. Die Verbindung von Psoriasis und dem Botenstoff RANTES ist wissenschaftlich belegt: Überschießende Expression des entzündungsfördernden Botenstoffes RANTES wurde bei psoriatischen Hauterkrankungen beobachtet.

Untersuchung von Haut-Proben (Biopsien) zeigen, dass RANTES in den voll entwickelten Hauterscheinungen vorliegt. Die Einbeziehung dieses Entzündungs-Botenstoffes RANTES in die Behandlung entzündlicher Hauterkrankungen liegt daher nahe.

Quelle: Ogino F, Ohta S, Katayama N. RANTES expression in psoriatic skin, and regulation of RANTES and IL-8 production in cultured epidermal keratinocytes by active vitamin D3 (tacalcitol). British Journal of Dermatology, Volume 138, Issue 1, pages 63–70, January 1998

Die Frage, welche hier wissenschaftlich betrachtet wird ist, ob eine Lichttherapie an gesunden Probanden gegenüber einer Kontrollgruppe entzündungshemmende Wirkung zeigt als auch zu einer ATP Steigerung über die Haut kommt und somit einen wichtigen gesundheitlichen Beitrag bei Menschen zeigt.

Methoden:

Die Bestimmung der Peroxide erfolgt über eine Reaktion von Peroxidase mit Peroxid und einer anschließenden Substratumsetzung mit TMB. Nach Zugabe der Stopplösung wird die chromogene Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 450nm photometrisch gemessen. Die Quantifizierung erfolgt über einen mitgeführten Kalibrator.

Das ATP-Assay-Kit (kolorimetrisch/fluorometrisch) (ab83355) verwendet eine robuste, einfache Methode; Das ATP-Assay-Protokoll beruht auf der Phosphorylierung von Glycerol, um ein Produkt zu erzeugen, das leicht durch kolorimetrische (ODmax = 570 nm) oder fluorometrische (Ex/Em = 535/587 nm) Methoden quantifiziert werden kann.

Der humane RANTES Festphasen-Sandwich-ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) wurde entwickelt, um die Menge des Ziels zu messen, das zwischen einem

übereinstimmenden Antikörperpaar gebunden ist. Ein zielspezifischer Antikörper wurde in den Vertiefungen der zugeführten Mikrotiterplatte vorbeschichtet. Proben, Standards oder Kontrollen werden dann in diese Vertiefungen gegeben und an den immobilisierten (Capture-) Antikörper gebunden. Das Sandwich wird durch die Zugabe des zweiten (Detektor-) Antikörpers gebildet, eine Substratlösung wird hinzugefügt, die mit dem Enzym-Antikörper-Ziel-Komplex reagiert, um ein messbares Signal zu erzeugen. Die Intensität dieses Signals ist direkt proportional zur Konzentration des Ziels, das in der Originalprobe vorhanden ist.

#### Protokoll:

Kontrollgruppe: 10 Personen (6 männlich, 4 weiblich; 53.2 +/- 14.8 a); Lichttherapiegruppe: 11 Personen (7 männlich, 4 weiblich; 49.7 +/- 16.2 a). Beide Gruppen zeigen keinen signifikanten Unterschied m Alter als auch im Geschlecht, somit kann man ausgehen, dass beide Gruppen adäquat sind in Alter und Geschlecht.

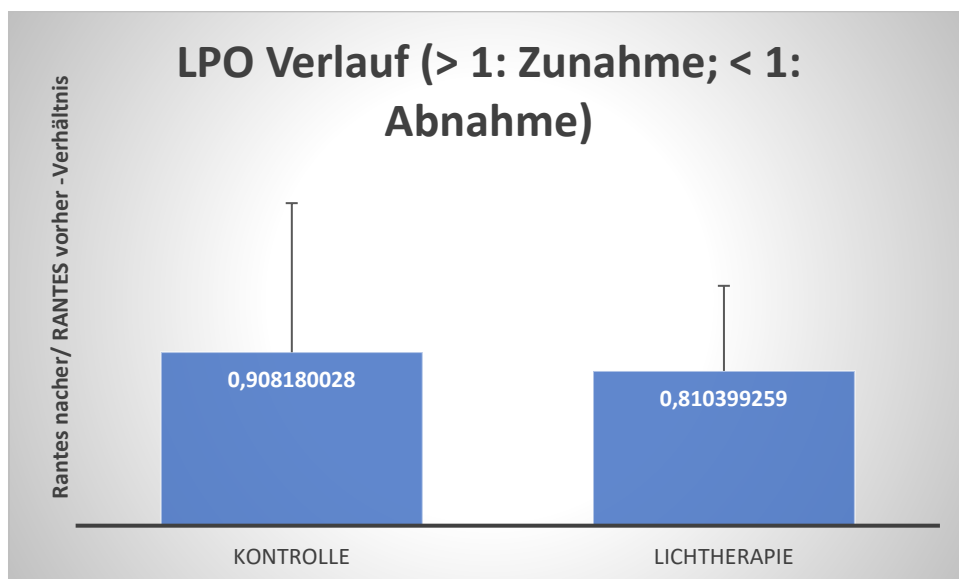
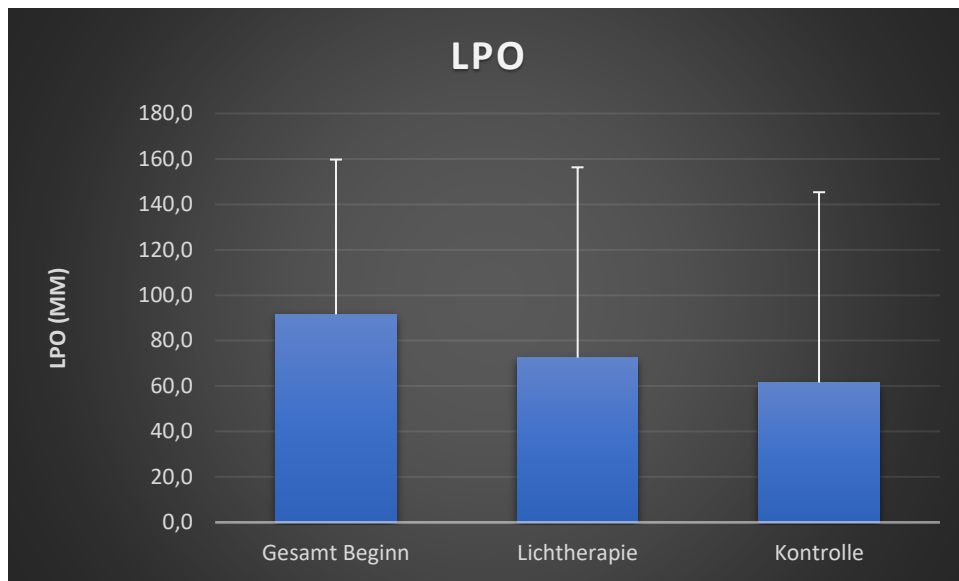
Lichttherapie (RP Group; 83339 Chieming, Deutschland): eingesetzte Lichtquelle mit den Farben Magenta 15min/Grün 15 min (= Gesamtzeit der Behandlung 30 min pro Person). Lichtquelle Magenta = 50 % Blau bei 448nm und 50 % Rot bei 634 nm. Lichtquelle Grün bei 530 nm. Lichtstärken: 18948 Lux bei Magenta, 34467 Lux bei Grün. Die Probanden erhielten 4 Einheiten zu 30 min.

Abnahme eines EDTA-Vollblut Röhrchens vor und nach der Lichttherapie, bei der Placebo-Gruppe an den gleichen Tagen ohne Lichttherapie.

Die Blutproben wurden bei 2500g für 8 min. zentrifugiert und das Blutplasma abgehoben und eingefroren bis zu den Messungen bei -20°C.

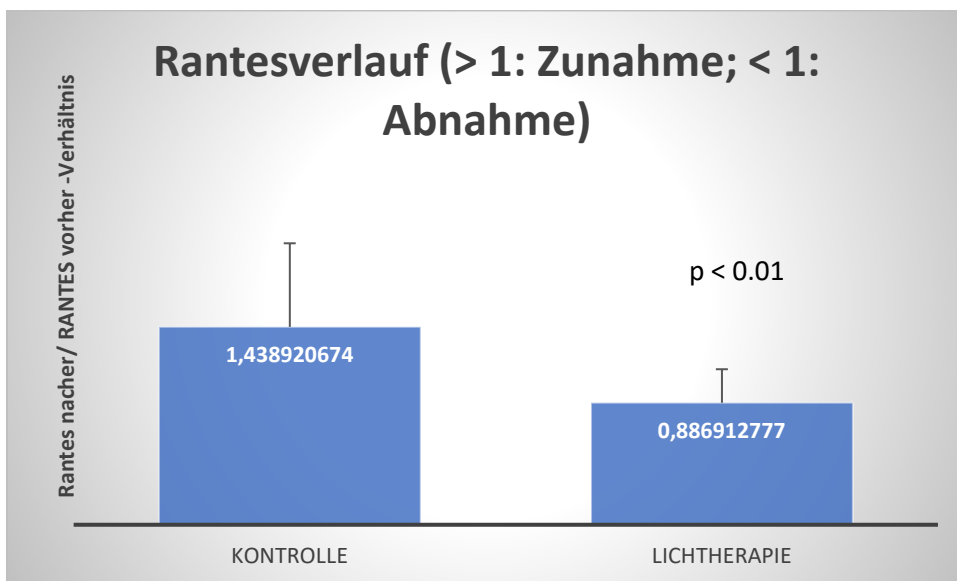
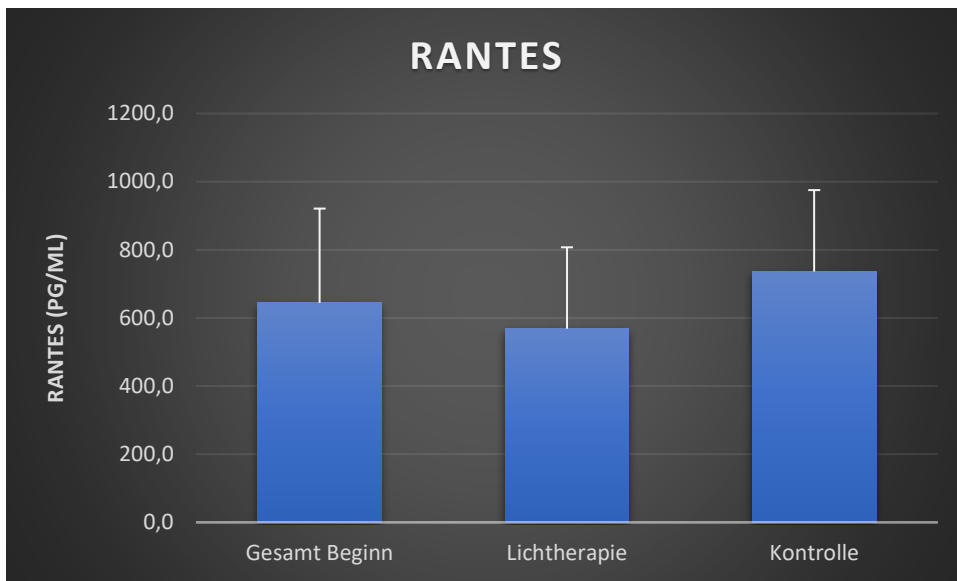
#### Ergebnisse:

Alle Teilnehmer hatten zu Beginn einen Mittelwert der Lipidperoxidwert von 91.6 µM. Danach gab es eine Tendenz einer Abnahme bei beiden Gruppen, also der Lichttherapie (72.5 µM) und Kontrollgruppe (61.6 µM), die aber nicht signifikant ist. Auch wurde das Verhältnis der vorher und nachher Werte im Verhältnis genommen. Hier zeigt sich zwar eine bessere Reduktion der LPO in der Lichttherapiegruppe (0.81) gegenüber der Kontrollgruppe (0.91), welche aber nicht signifikant ist.

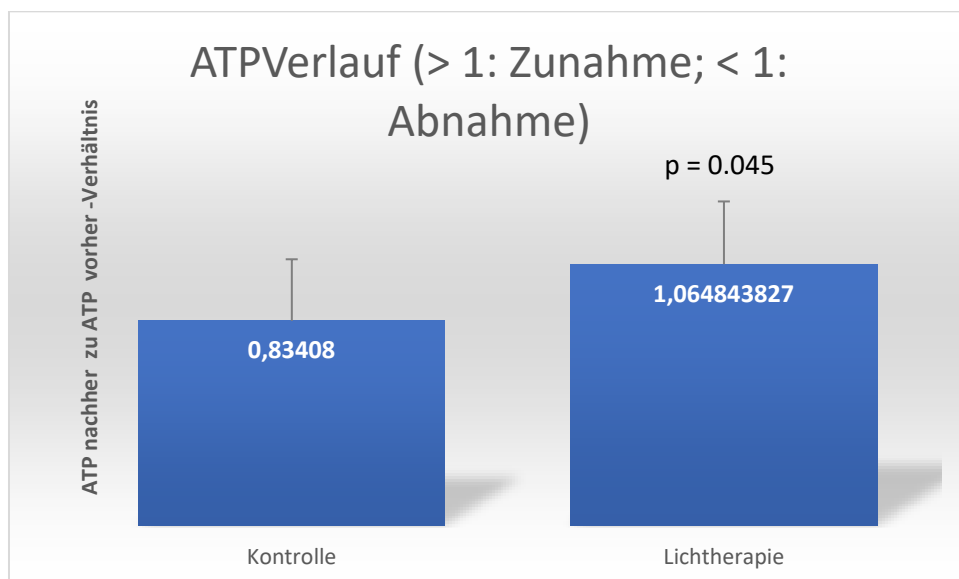
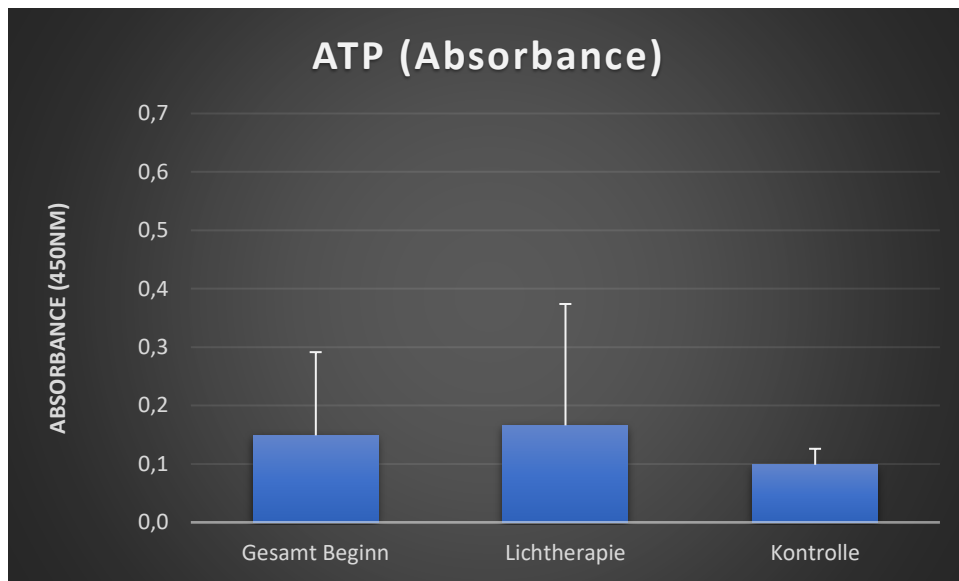


Alle Teilnehmer hatten zu Beginn einen RANTES Mittelwert der Lipidperoxidwert von 643,8 pmol/mL.

Danach gab es eine Abnahme des RANTES in der Lichttherapie Gruppe (568.2 pmol/mL) und einer Zunahme der Kontrollgruppe (736.1 pmol/mL), die fast signifikant ist. Auch hier wurde das Verhältnis der vorher und nachher Werte im Verhältnis genommen. Hier zeigt sich eindeutig eine **signifikante Verbesserung des RANTES** nach der Lichttherapie (0.89) gegenüber der Kontrollgruppe (1.44) mit einem  $p < 0.01$  (hochsignifikant).



Alle Teilnehmer hatten zu Beginn einen ATP Absorbance Mittelwert OD = 0.15. Danach gab es ebenfalls einen ATP Anstieg nach der Lichttherapie (0.18) und einer Abnahme in der Kontrollgruppe (0.98), der fast signifikant ist. Auch hier wurde das Verhältnis der vorher und nachher Werte im Verhältnis genommen. Hier zeigt sich eindeutig eine **signifikante Verbesserung** (Anstieg) des ATPs nach der Lichttherapie (1.07) gegenüber der Kontrollgruppe (0.83) mit einem  $p < 0.05$  (signifikant).



#### Zusammenfassung:

Es zeigt sich, dass es nach der Lichttherapie zu einer signifikanten und damit eindeutigen Zunahme an ATP (= chemische zelluläre Energiewert) im Vergleich zur Kontrollgruppe kommt und der Entzündungsmarker RANTES nach der Lichttherapie sich eindeutig signifikant reduziert, was zu einem besseren Wohlbefinden führt. Der Lipidperoxidmarker LPO zeigte eine Tendenz einer Verbesserung der Lichttherapiegruppe gegenüber der Kontrollgruppe, der daher herrührt, dass der Wert insgesamt in beiden Gruppen im Referenzwert lag.