

12

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **94110949.8**

51 Int. Cl.<sup>6</sup>: **A61N 1/16, A61N 2/00**

22 Anmeldetag: **14.07.94**

30 Priorität: **06.09.93 DE 4329884**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**15.03.95 Patentblatt 95/11**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**CH FR GB IT LI**

71 Anmelder: **Ruhenstroth-Bauer, Gerhard, Prof. Dr. Spietzelbergerstrasse 11 D-82166 Gräfeling (DE)**

72 Erfinder: **Ruhenstroth-Bauer, Gerhard, Prof. Dr. Spietzelbergerstrasse 11 D-82166 Gräfeling (DE)**

74 Vertreter: **Dreiss, Hosenthien, Fuhlendorf & Partner Gerokstrasse 6 D-70188 Stuttgart (DE)**

54 **Verfahren und Vorrichtung zur Beeinflussung derjenigen Eigenschaften biologischen Materials, die mit dem Auftreten bestimmter atmosphärischer Impulsstrahlung (Atmospherics) korrelieren.**

57 Beschrieben wird ein Verfahren zur Beeinflussung biologischen Materials. Beeinflusst werden sollen solche Eigenschaften, die mit dem Auftreten natürlicher Impulsstrahlung (Atmospherics) korrelieren, nämlich die Poliferationsrate von C6-Glioma-Zellen sowie die Überlebenszeit von Yoshida-Ascites-Hepatom-Ratten. Dazu werden Signale gespeichert, die den zeitlichen Verlauf des Magnetfeldes bestimmter natürlicher Impulsstrahlung darstellen, die anhand ausgeprägter Frequenzanteile, z.B. 10 kHz identifiziert werden. Aus diesen Signalen werden als artifizielle Impulsstrahlung entsprechende Magnetfeldverläufe reproduziert. Die Reproduktion erfolgt z.B. in einer Helmholtz-Spule. Das biologische Material wird diesem Magnetfeld ausgesetzt.

- Bestrahlung von C6-Glioma-Zellen;
- Fig. 3 die Darstellung von Meßergebnissen bei der Beeinflussung der Proliferationsrate von C6-Glioma-Zellen durch Bestrahlung mit artifizierter Impulsstrahlung mit einem überwiegendem Frequenzanteil von 10 kHz(nB);
- 5 Fig. 4(a) die Überlebenszeit von Yoshida-Tumor-Ratten nach/ohne Bestrahlung mit einer 10 kHz artifizierten Impulsstrahlung bei einer maximalen Feldstärke von 25 mA/m;
- Fig. 4(b) wie Fig. 4(a), jedoch bei einer maximalen Feldstärke von 100 mA/m;
- Fig. 5 die Verschiebung des Elektroenzephalogramms (EEG) bei Testpersonen bei Beeinflussung durch artifizierter Impulsstrahlung.
- 10 Die Beeinflussung biologischen Materials durch artifizierter Impulsstrahlung wird im folgenden für drei Fälle beschrieben, nämlich für (1) die Proliferationsrate von C6-Glioma-Zellen, (2) die Überlebenszeit von Yoshida-Ascites-Hepatom-Ratten und (3) die Verschiebung des EEGs von menschlichen Probanden.

### ALLGEMEINES

15

Zu Zeitpunkten, an denen eine natürliche Impulsstrahlung mit besonders ausgeprägtem Frequenzanteil von 10 kHz festgestellt wurden, wurde diese Impulsstrahlung mit einem dafür besonders ausgelegten breitbandigen Meßsystem nach Fig. 2(a) aufgenommen.

Diese Aufnahmevorrichtung ist in der Literatur von H. L. König, R. Kulzer und H.-D. Betz in: "Aufbau einer Meßstation zur breitbandigen Untersuchung von VLF-Impulsstrahlung", **Kleinheubacher Berichte, Band 35, (1992), S. 387 bis 394** und in der **P 41 33 209.1 A1** beschrieben. Dabei wird der magnetische Feldvektor mit einem System aus drei orthogonal zueinander angeordneten Antennen 1, 2, 3 registriert, die mit den Komponenten X, Y, Z und der Kompassausrichtung (OW = Ost-West, NS = Nord-Süd, Z = vertikal) beschriftet sind. Um spektrale Überlappungen bei der nachfolgenden zeitdiskreten Signalverarbeitung zu vermeiden, wird jedes der Signale in einem zugeordneten Filter 4 bandbegrenzt. Die 3 db-Punkte der Filter liegen bei 1 kHz und 100 kHz. Von dort gelangen die Signale an einen A/D-Wandler 5. Der A/D-Wandler wird über eine vom Rechner 7 aus programmierbare Triggerlogik 8 gesteuert. Hat die Triggerlogik den Einfall einer Impulsstrahlung erkannt, so wird diese, d.h. genauer: die zugehörigen digitalisierten Meßwerte auf den Rechner 7 übertragen, dort weiter bearbeitet und dann im Rechner in einem weiteren Speicher, z.B. einer Diskette oder einer Wechselfestplatte gespeichert. Die Bearbeitung im Rechner umfaßt u.a. die rechnerische Ermittlung des Absolutbetrages des magnetischen Feldvektors aus den gemessenen Komponenten. Dieser Speicher ist in Fig. 2a mit der Bezugsziffer 10 angedeutet. Die Triggerlogik 8, der Speicher 6 und ein Timer 9 befinden sich üblicherweise auf einer Platine und sind daher als Einheit dargestellt. Die Erkennung der Impulsstrahlung durch die Triggerlogik basiert auf der Überschreitung bestimmter Schwellwerte und auf der Charakterisierung von Frequenzanteilen und Schwingungsformen nach Baumer (s.oben), wengleich die vorliegende Erfindung damit gerade weitere elektromagnetische Einflußgrößen erfaßt, nicht anders als durch eben diese Reproduktion.

Fig. 1(a) zeigt den zeitlichen Verlauf einer so gewonnenen und abgespeicherten Impulsstrahlung. Für einen Zeitraum von 820 Mikrosekunden ist der Verlauf der magnetischen Feldstärke in  $10^{-3}$  A/m aufgetragen.

Fig. 1(b) zeigt das zugehörige normierte Frequenzspektrum im Bereich von 0 bis 100 kHz. Es ist ersichtlich, daß der überwiegende Frequenzanteil im Bereich von 10 kHz liegt. Es ist dies eine typische Impulsstrahlung nB. Gleichzeitig zeigt jedoch die Frequenzanalyse nach Fig. 1(b), daß noch weitere Frequenz-Anteile enthalten sind. Diese zusätzlichen Anteile werden also mittels der beschriebenen Vorrichtung ebenfalls erfaßt, d. h. aufgenommen und gespeichert. Zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens wird die 10 kHz-Impulsstrahlung nB der in Fig. 1(a) und 1(b) gezeigten Art reproduziert.

Die erforderliche Wiedergabevorrichtung zeigt Fig. 2(b). Die zuvor im Rechner 7 auf z.B. einer Diskette abgespeicherten Signalverläufe werden von einem Rechner 11, in dem dieser vorerwähnte transportable Speicher 10 eingebracht oder in dessen Speicher zuvor die auf dem Speicher 10 abgespeicherten Impulsstrahlung übertragen werden, über den XT-Bus 12 auf einen programmierbaren Signalgenerator 20 übertragen. Der Rechner 11 kann im Prinzip ein Rechner wie der Rechner 7 sein. Aufnahme und Wiedergabe können jedoch zu verschiedenen Zeitpunkten und an verschiedenen Orten stattfinden. Der Rechner 11 veranlaßt den Signal-Generator 20 zufallsgesteuert in zeitlichen Abständen, die zwischen 50 und 150 Millisekunden variieren, den Signalverlauf der in Speicher 10 gespeicherten Impulsstrahlung auszulesen. Der magnetische Feldverlauf des Absolutbetrages der Impulsstrahlung wird mit einer Helmholtz-Spule 14 simuliert. Da hierbei der Strom durch die Helmholtz-Spule 14 die maßgebliche Größe ist (das erzeugte Magnetfeld ist diesem Strom proportional), muß dieser vorher mit Hilfe des Spannungs/Stromwandlers 13 auf das Ausgangssignal des Signalgenerators 20 eingepreßt werden. Damit wird

## EP 0 642 806 A2

bei 590 nm gemessen und der DNA-Gehalt berechnet.

Die spezifische Radioaktivität ergab sich dann als Quotient der Werte der Radioaktivität und der DNA, ausgedrückt in dpm/ $\mu$ g DNA.

Aus den Kontrollergebnissen ohne Bestrahlung ergab sich, daß die Ergebnisse sich je nach Anordnung im Inkubator um  $3,9 \pm 1,4\%$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) hinsichtlich der Inkorporation von ( $^3$ H)-Thymidin in die nukleare DNA unterschieden. D. h., es gab - auch ohne Bestrahlung - eine bestimmte Stelle im Inkubator (nämlich an der Grundfläche desselben), an der sich eine höhere Proliferationsrate der Zellen als an anderer Stelle ergab. Dieser Wert ( $3,9 \pm 1,4\%$ ) wurde daher anschließend von den Meßergebnissen bei Bestrahlung abgezogen, um evtl. Beeinflussungen durch magnetische Felder im Inkubator rechnerisch auszugleichen.

Für die Gruppe B (Bestrahlung mit artifiziiellen Impulsstrahlung mit überwiegendem Spektralanteil von 10 kHz) ergab sich bei einer Feldstärke von 100 mA/m eine Proliferationsrate von  $-4,5 \pm 3,7\%$  ( $p \ll 0,05$ ), bei einer magnetischen Feldstärke von 25 mA/m eine Proliferationsrate von  $6,1 \pm 1,8\%$ , bezogen auf A. Korrigiert man diese Werte um den oben angegebenen Wert, der zur Kompensation von Einflüssen des Inkubators berücksichtigt werden muß, so ergeben sich folgende Werte:

Feldstärke	Proliferationsrate
0	0
25 mA/m	$2,2 \pm 1,8\%$
100 mA/m	$-8,4 \pm 3,7\%$

Das Ergebnis ist in Fig. 3 dargestellt.

Es ergibt sich also, daß bei geringer Feldstärke (25 mA/m) zunächst ein kleiner Anstieg der Proliferationsrate erfolgt, während bei höherer Feldstärke (100 mA/m) eine signifikante Verringerung der Proliferationsrate der DNA erfolgt.

Das Ergebnis deutet daraufhin, daß bestimmte Spektren, die durch breitbandigen Empfang natürlicher Impulsstrahlung erhalten werden, die Proliferationsaktivität der C6-Glioma-Zellen beeinflussen. Ihre meßbare Wirkung bei künstlicher Erzeugung der artifiziiellen Impulsstrahlung deutet darauf hin, daß in der natürlichen Impulsstrahlung Strahlungsanteile enthalten sind, die nicht nur Indikatoren biologischer Wirkungen, sondern ihre Ursache sind.

## 2. Ascites-Hepatom-Ratten

Ein weiteres Beispiel der Beeinflussung von Eigenschaften biologischen Materials ist die Bestrahlung von Ratten, die mit einem Ascites Hepatom infiziert sind.

Als Testobjekt wurden Yoshida-Tumor-Ratten verwendet. Bei ihnen wurde durch Injektion der Yoshida Zellen ein Yoshida-Ascites-Ratten-Hepatom AH130 erzeugt. Nach intraperitonealer (i. p.) Injektion entwickelte sich das Hepatom in 11 bis 14 Tagen.

Mit artifiziieller Impulsstrahlung, deren Erzeugung oben beschrieben worden ist, und zwar mit einem überwiegenden Anteil von 10 kHz, wurden 10 bzw. 20 Ascites-Ratten bestrahlt. Sie wurden mit 10 nicht bestrahlten Tieren (Kontrolle) verglichen.

Dieser Vergleich wurde sechs Mal mit künstlicher Impulsstrahlung mit spektralem Schwerpunkt von 10 kHz mit einer maximalen Feldstärke von 25 mA/m durchgeführt. In allen sechs Fällen lebten die bestrahlten Gruppen im Mittel länger als die Kontrollen, und zwar im Durchschnitt vom ersten Todestag an etwa um 30%.

Dieser Vergleich wurde ferner drei Mal mit einer maximalen Feldstärke von 100 mA/m durchgeführt. In diesem Fall lebten alle drei Male die bestrahlten Tiere um durchschnittlich etwa 30% kürzer als die Kontrolle. Die Ergebnisse sind in Abbildungen 4(a) und 4(b) dargestellt.

Fig. 4(a) zeigt die Überlebenszeit von 20 Yoshida-Ascites-Hepatom-Ratten nach einer Bestrahlung mit 10 kHz Impulsstrahlung bei einer Feldstärke von 25 mA/m. Fig. 4(b) zeigt das Ergebnis bei mit einer Feldstärke von 100 mA/m. Die Ergebnisse für die nicht bestrahlte Kontrolle sind in strichpunktiierten Linien, die Ergebnisse für die bestrahlten Versuchstiere in durchgezogenen Linien dargestellt.

Es ergibt sich also, daß die Bestrahlung mit der geringeren Intensität (25 mA/m) die Überlebenszeit der infizierten Ratten verlängert.

### 3. Verschiebung des EEG

Ein Bestrahlungsgerät aus zwei Helmholtz-Spulen wurde ferner so ausgestaltet, daß man bei menschlichen Probanden eine Ganzkörperbestrahlung durchführen konnte. Hierzu wurde bei einem Bett die eine Helmholtz-Spule in die Höhe der Matratze gelegt; die andere wurde ca. 1 m höher angeordnet. Auf das Bett wurden die Probanden gelegt und damit dem einigermaßen gleichartigen magnetischen Feld künstlicher Impulsstrahlung ausgesetzt. Es wurden etwa 20 gesunde Jugendliche auf diese Weise bestrahlt und dabei deutliche Verschiebungen im EEG festgestellt. Ein typisches Ergebnis ist in Fig. 5 dargestellt. Es zeigt in gestrichelten Linien das Frequenzspektrum EEG ohne Beeinflussung durch Impulsbestrahlung, in durchgezogenen Linien das EEG unter Beeinflussung durch künstliche Impulsstrahlung bei einer magnetischen Feldstärke von 25 mA/m und einem überwiegenderem Frequenzanteil von 8 kHz.

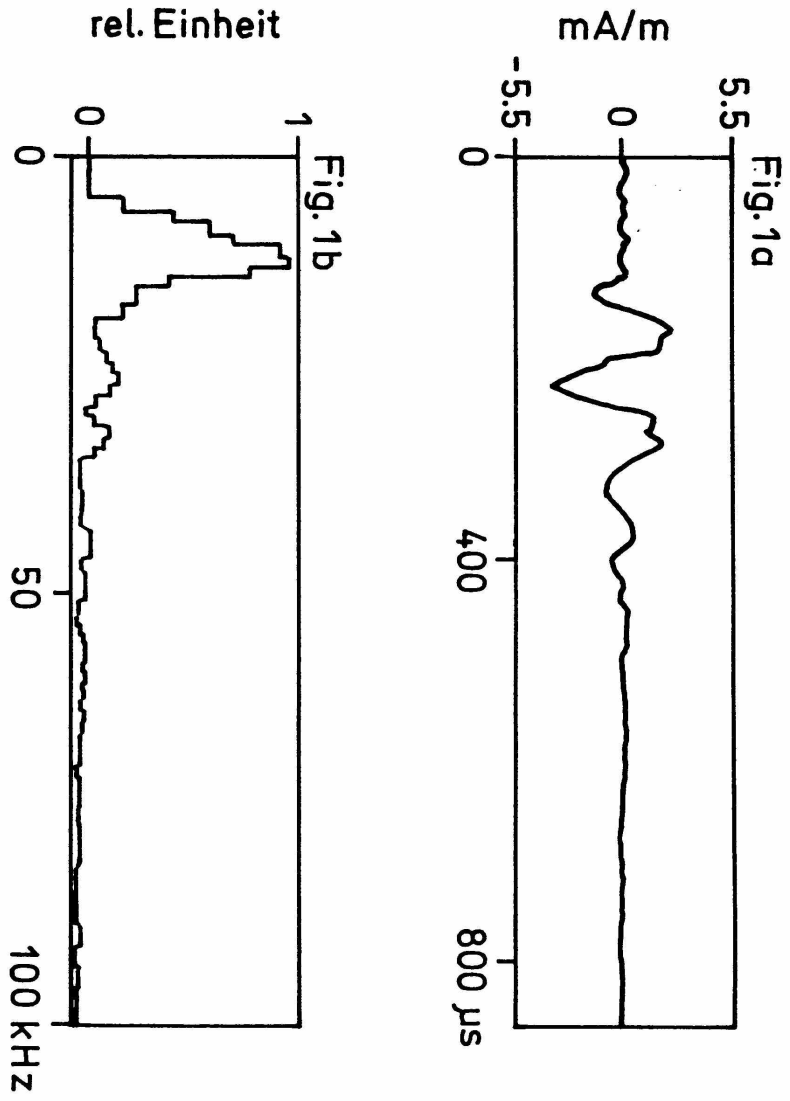
Im einzelnen zeigt Fig. 5 Ausdrücke von Autospektren, gewonnen aus der okzipitalen EEG-Ableitung des Probanden. Die gestrichelte Linie stellen einen 4-Minuten-Abschnitt aus einer 10-Minuten-Ableitung bei einem Patienten dar, unterteilt in 4 konsekutive übereinander (1., 2., 3., 4.) dargestellte 4-Minuten-Abschnitte etwa aus der Mitte der 10-Minuten-Epoche. Die durchgezogenen Linien stellen das Autospektrum desselben Probanden unter Magnetfeldbestrahlung mit 8 kHz und 25 mA/m dar. Gegenüber der Null-Ableitung ist eine deutliche Verschiebung in dem schnelleren Anteil des dominierenden Gipfels zu ersehen. Die Gipfel in den sehr langsamen Frequenzen sind vorwiegend Artefacte. Bemerkenswert ist die fehlende Verschiebung bei 22 Hz.

Die Hauptänderung nach Bestrahlung spielt sich also im Bereich der sogenannten Grundaktivität ab, die bei beiden Probanden im  $\alpha$ -Bereich (7,5-13,5 Hz) liegt. (Zur Meßmethode vgl. G. Ruhenstroth-Bauer, Intern. J. Neuroscience, im Druck).

Auch dieser Befund belegt - sogar beim Menschen - die Wirkung der mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens und Gerätes gezielt beherrschbar gemachten Impulsstrahlung.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Bereitstellung eines Gerätes zur Beeinflussung derjenigen Eigenschaften biologischen Materials, die mit dem Auftreten natürlicher Impulsstrahlung korrelieren, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:
  - (a) Empfang und Speicherung des zeitlichen Verlaufes des magnetischen Feldes natürlicher Impulsstrahlung;
  - (b) Erzeugung artifizierter Impulsstrahlung durch Reproduktion des gespeicherten magnetischen Feldes in einer Spulenanordnung (16);
  - (c) Einbringung des biologischen Materials in das nach (b) erzeugte magnetische Feld.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die zur Aufnahme und Speicherung bestimmten Impulse der natürlichen Impulsstrahlung einen ausgeprägten Frequenzanteil bei 8 oder 10 kHz haben.
3. Gerät zur Beeinflussung biologischer und pathologischer Parameter biologischen Materials, gekennzeichnet durch
  - (a) einen Speicher (10) zur Speicherung von Signalen, die den zeitlichen Verlauf von Teilen natürlicher Impulsstrahlung darstellen;
  - (b) Mittel (11,12,13,20) zum zufallsgesteuerten Auslesen der im Speicher (10) gespeicherten Signale;
  - (c) einen Magnetfeld-Generator (14), dessen Feldstärke in einem bestimmten, räumlichen Bereich weitgehend homogen ist, und der mit den aus dem Speicher (10) ausgelesenen Signalen als artifiziertere Impulsstrahlung ein Magnetfeld erzeugt;
  - (d) Mittel (16) im Bereich des homogenen Feldes zum Einbringen biologischen Materials.
4. Gerät nach Anspruch 3, gekennzeichnet durch seine Verwendung zur Behandlung von mit einem Ascites-Hepatom infizierten biologischen Material.
5. Gerät nach Anspruch 3, gekennzeichnet durch seine Verwendung zur Verminderung der Proliferationsrate von Tumorzellen.
6. Gerät nach Anspruch 3, gekennzeichnet durch die Verwendung von Impulsstrahlung mit einem ausgeprägten Frequenzanteil von 10 kHz.



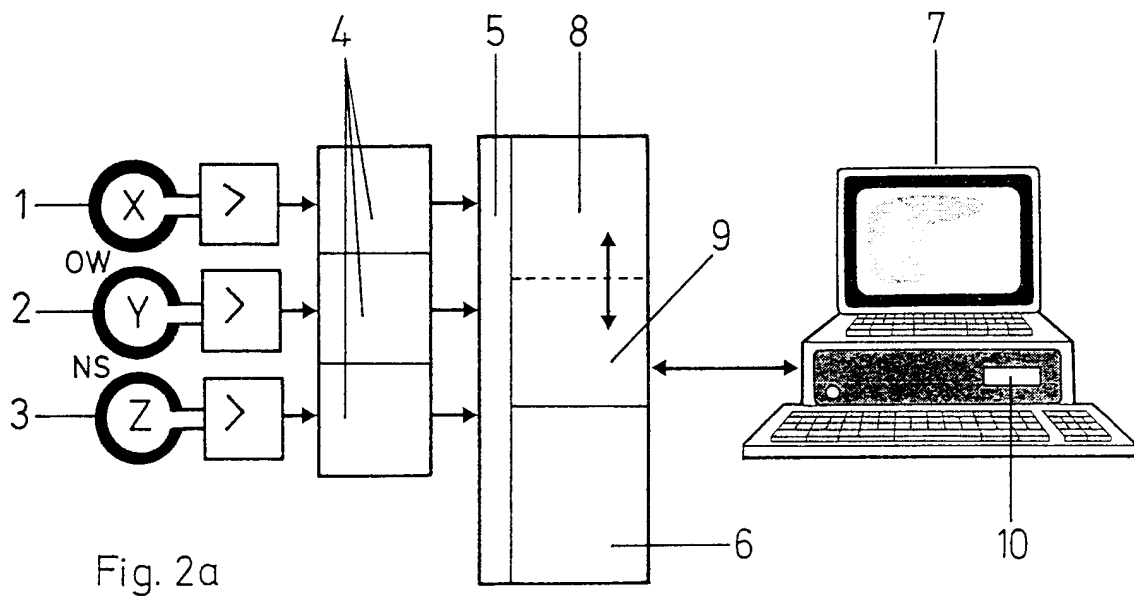


Fig. 2a

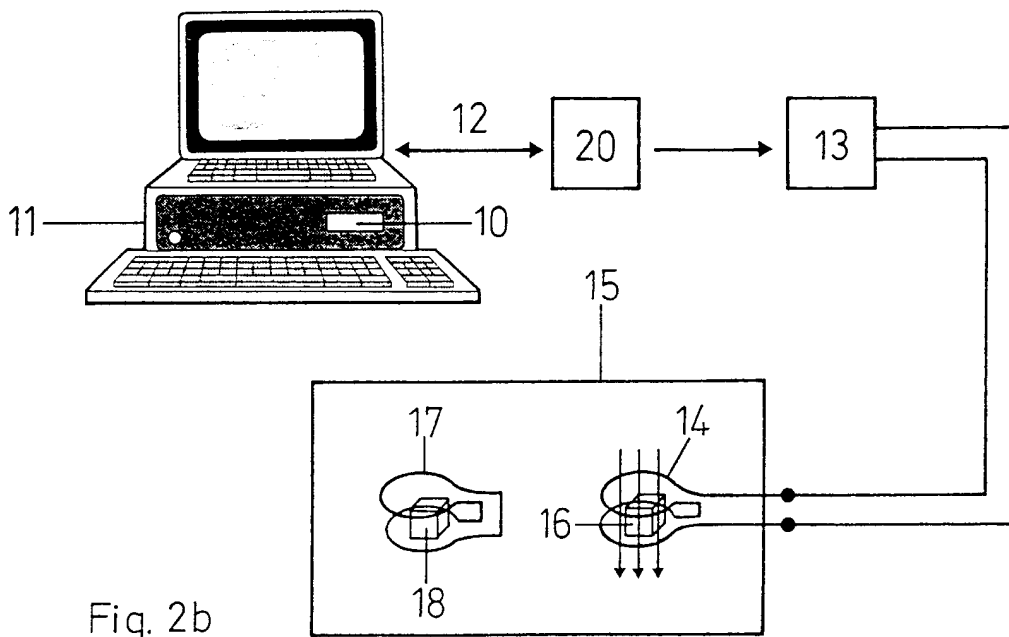


Fig. 2b

Fig. 3

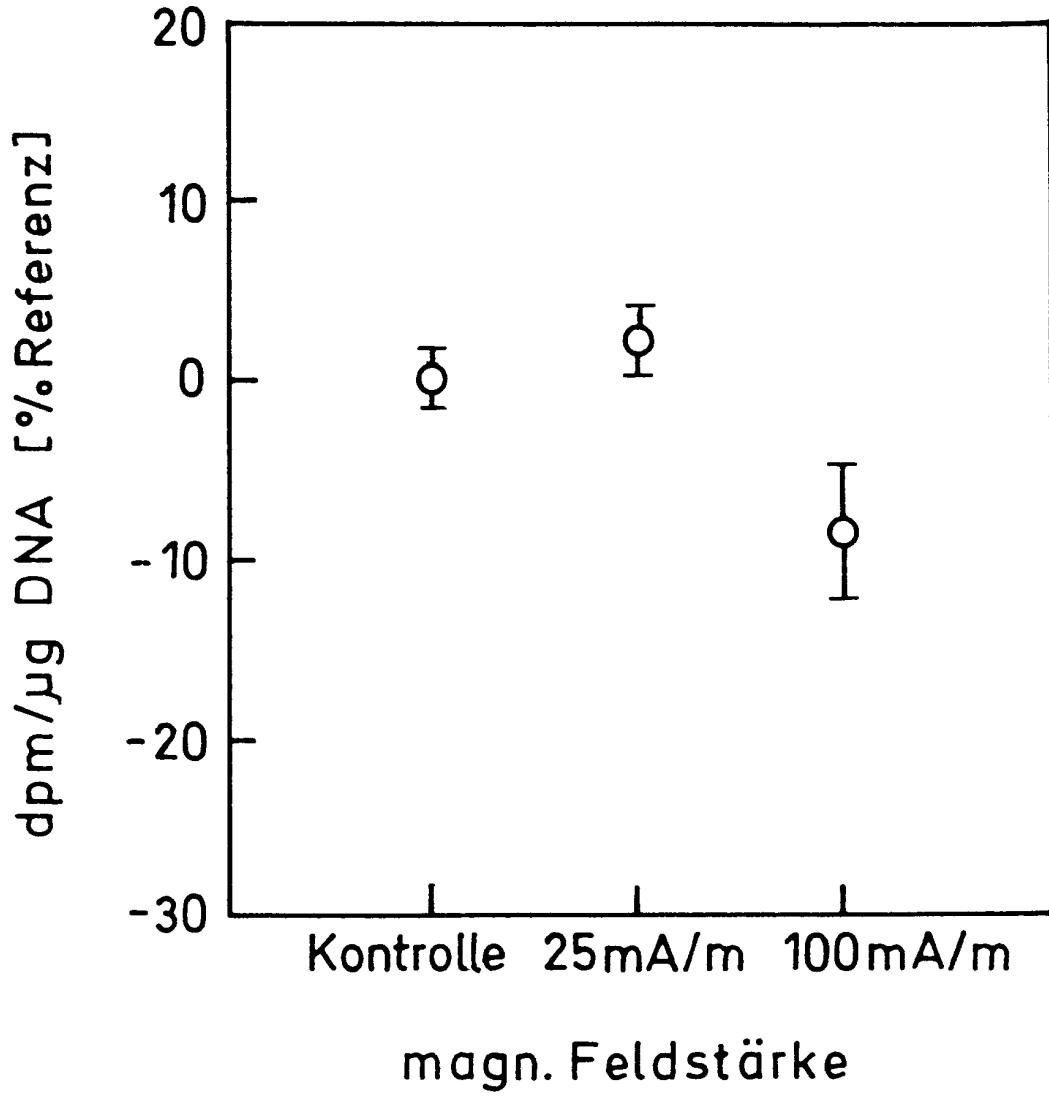


Fig. 4a

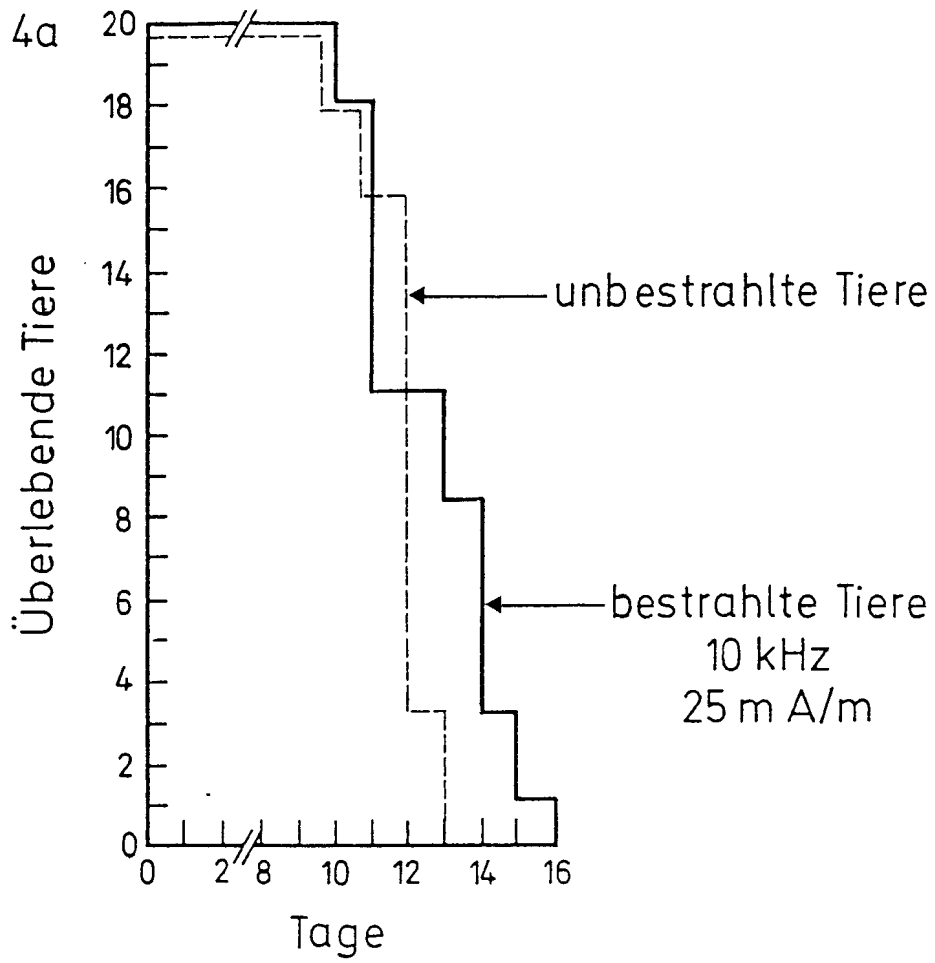


Fig. 4b

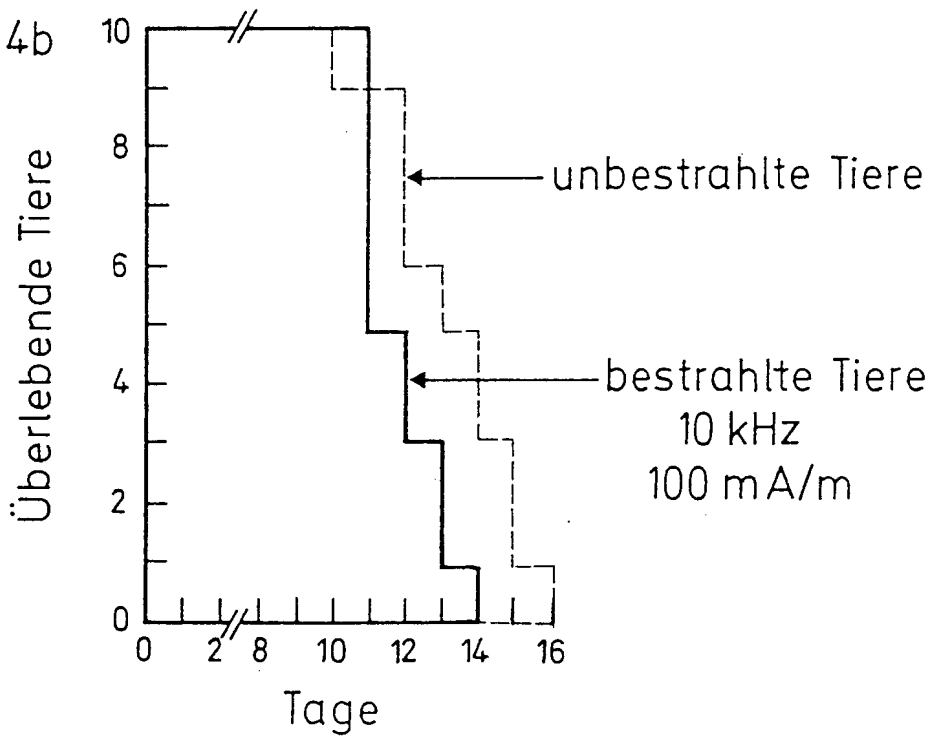






Fig. 5 PATNR 162 — AUTOSPEKT: KANAL 3  
161 - - - - - KANAL 3

