

Anwendungsbeobachtung

**zur Wirkung
von Hühner-Knochenbrühe
auf die Darmgesundheit**

Bone Brox GmbH, Berlin

**Abschlussbericht
2019**

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
1. Hühner-Knochenbrühe in der medizinischen Anwendung.....	7
1.1 Ziel der Anwendungsbeobachtung.....	7
1.2 Hintergrund.....	7
1.3 Auswahl der Laborparameter.....	8
1.4 Auswahl der Patienten	9
1.5 Ablauf der Anwendungsbeobachtung.....	9
2. Ergebnisse.....	10
2.1 Patientendaten.....	10
2.1.1 Geschlecht der Patienten	10
2.1.2 Wohnort der Patienten.....	10
2.2 Verlauf der Biomarker.....	11
2.2.1 Zonulin	12
2.2.2 Alpha-1-Antitrypsin	17
2.2.3 Calprotectin	23
2.2.4 Zusammenfassung über alle 3 Laborwerte.....	25
3. Fragebogenauswertung und Patientenbeispiele.....	26
4. Referenzen.....	27
5. Anhang.....	28
5.1 AWB-Design.....	28
Ablauf der Anwendungsbeobachtung	28
Begleit-Behandlung der Magen-Darm-Beschwerden	30
Compliance: Ernährungstagebücher.....	30
Ethik, Aufkündigung der Teilnahme, Abbruch der AWB.....	30
5.2 Auswahl der Patienten	31
Einschlusskriterien (EK)	31
Ausschlusskriterien (AK)	31
Abbruchkriterien (ABK).....	32
5.3 Ernährungsintervention: Daten zur verwendeten Brühe	32
5.4 Labor.....	33
5.5 Konzeption, Auswertung, Abschlussbericht.....	33
5.6 Datenmanagement und Verwahrung der Aufzeichnungen.....	33
Ausfüllen der Beobachtungsunterlagen.....	33
Umgang mit Studienmaterialien	34
Archivierung.....	34
5.6 Finanzierung.....	34
5.7 Dokumente und Fragebögen.....	34
5.8 Ausgewertete Fragebögen.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Zusammenfassung

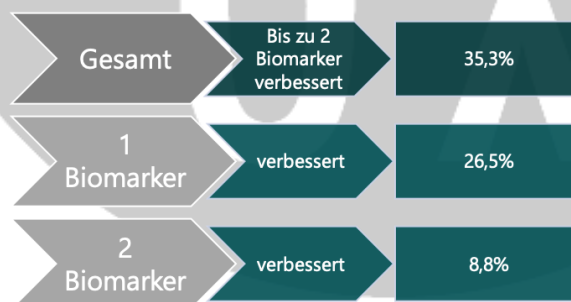
Ziel dieser Anwendungsbeobachtung (AWB) war es zu dokumentieren, wie sich der tägliche Verzehr von Hühner-Knochenbrühe auf Entzündungsreaktionen an der Darmschleimhaut und/oder eine Darmpermeabilität sowie damit verbundener Symptome auswirkt und wie sich das subjektive Gesundheitsempfinden von Patienten verändert.

Die Bewertung erfolgte mittels Biomarkern, die aus Stuhlproben bestimmt wurden und für den Nachweis und die Ausprägung von Darmentzündungen sowie eines „Leaky Gut“ geeignet sind: Zonulin (Darmpermeabilitäts-Marker), Alpha-1-Antitrypsin (Entzündungs- und Permeabilitäts-Marker) und Calprotectin (Marker für invasive Entzündungen der Darmschleimhaut). Die Biomarker wurden vor Beginn und nach acht Wochen des täglichen Verzehrs von Hühner-Knochenbrühe aus Stuhlproben der Patienten bestimmt.

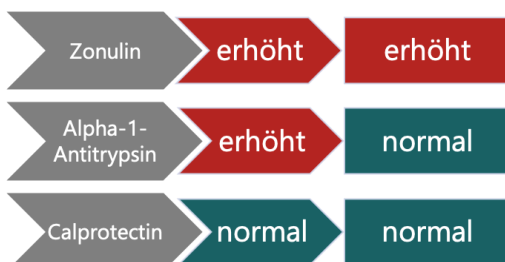
Während der Laufzeit der AWB führten die Patienten ein Ernährungstagebuch, welches die Ernährungsgewohnheiten, den Grad der Einhaltung der Ernährungsintervention und die Einschätzung zum subjektiven Befinden dokumentierte.

Graphische Zusammenfassung der labormedizinischen Ergebnisse

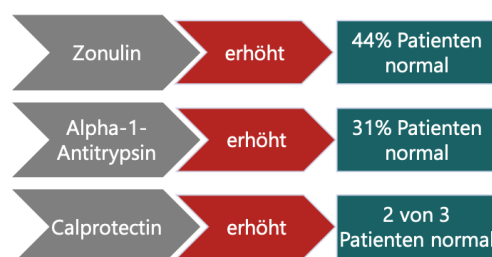
Patientenkollektiv:
Veränderung der labormedizinischen Bewertungsklassen



Patientenkollektiv



Patienten mit erhöhten Werten vor Anwendung



Zusammenfassung der Ergebnisse

Patientenkollektiv

- Die Labor-Daten von **34 Patienten** liegen vollständig für die Ausgangs- und Endwerte aller drei Biomarker vor.
- Gut **70%** der untersuchten Patienten sind **weiblichen Geschlechts**, knapp 30% männlichen Geschlechts.
- Die Wohnorte der 34 in die Anwendungsbeobachtung einbezogenen Patienten sind **bundesweit verteilt**.

Gesamt-Ergebnis

- **Insgesamt verbesserte sich bei 35,3% der untersuchten Patienten einer oder sogar zwei der drei untersuchten Marker** um mindestens eine labormedizinische Bewertungsklasse.

Zonulin

- Von denjenigen **Patienten, die vor der Anwendung einen erhöhten Zonulinwert aufwiesen, erreichten 44% nach der Anwendung** der Hühner-Knochenbrühe **einen normalen Zonulinwert** und gelten damit labormedizinisch als unauffällig.
- Der Durchschnittwert im Patientenkollektiv **bleibt für Zonulin nahezu unverändert mit leichter Tendenz zur Absenkung** (nach Bereinigung um einen extremen Ausreißerwert). Die labormedizinische Bewertung bleibt vor und nach der Anwendung im Patientenkollektiv im Bereich „erhöht“.

Alpha-1-Antitrypsin

- Der Durchschnittwert im Patientenkollektiv für Alpha-1-Antitrypsin **sinkt nach Anwendung der Hühner-Knochenbrühe um 9,27 mg/dl (Reduktion um 12%)** und verändert sich in der labormedizinischen Bewertung von durchschnittlich „leicht erhöht“ in durchschnittlich „normal“.
- Von Patienten, die **vor der Anwendung einen leicht erhöhten, deutlich erhöhten oder sogar stark erhöhten Alpha-1-Antitrypsin-Wert aufwiesen, hatten 31% nach der Anwendung** der Hühner-Knochenbrühe **einen normalen Alpha-1-Antitrypsin-Wert erreicht** (labormedizinisch unauffällig).

Calprotectin

- Der **Durchschnittwert** im Patientenkollektiv für Calprotectin **bleibt vor und nach der Anwendung innerhalb des Referenzbereichs**.
- Von drei Patienten, die vor der Anwendung einen leicht erhöhten Calprotectinwert aufwiesen, hatten zwei Patienten nach der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Calprotectinwert erreicht.

Fragebögen zur subjektiven Einschätzung der Patienten

- Die Dokumentation von Aufnahmebefund, Abschlussbefund, Fragebögen und Ernährungstagebuch war häufig unvollständig: Befunde, Fragebögen und/oder Ernährungstagebuch fehlten oder waren nicht komplett ausgefüllt.
- In den Dokumenten ist Folgendes besonders bemerkenswert, da deutliche Verbesserungen in den Skalen nach der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe vermerkt oder als Freitext formuliert wurden:
 - starker Bezug auf die deutliche Verringerung von Blähungen
 - verbesserte Verdauung
 - Verbesserung von Konzentrationsstörungen
 - Verbesserung von Schmerzen im unteren Rücken
 - verringerte Müdigkeit
- Obwohl viele Patienten angeben, sich glutenreduziert oder glutenfrei zu ernähren, weisen die Ernährungstagebücher bekannte und versteckte Glutenquellen aus. Die Aufnahme von Gluten kann Zonulinwerte verschlechtern.

Bewertung der Ergebnisse

Bei über 35% der untersuchten Patienten führt die achtwöchige Anwendung von Hühner-Knochenbrühe zu einer messbaren Verbesserung der Darmpermeabilität und der Entzündungsreaktionen im Darm um mindestens eine labormedizinische Bewertungsklasse. Knapp zehn Prozent der Patienten erreichen sogar eine Verbesserung der Werte über zwei Bewertungsklassen hinweg. Die Anwendung kann somit als erfolgreich bewertet werden.

Besonders deutlich ist der Effekt der Hühner-Knochenbrühe auf die Verringerung der Entzündung der Darmschleimhaut, gemessen mit Alpha-1-Antitrypsin. Hier wird im Patientenkollektiv durchschnittlich eine Verringerung um 12% des absoluten Ausgangswertes erreicht und führt zu einer labormedizinischen Bewertung von durchschnittlich „leicht erhöhter Alpha-1-Antitrypsinwert“ zu einem durchschnittlich „normalen Alpha-1-Antitrypsinwert“.

Innerhalb der Patienten mit erhöhtem Alpha-1-Antitrypsinwert erreichen sogar 31% der Patienten einen Normalwert nach Anwendung der Hühner-Knochenbrühe und werden durch die Anwendung der Brühe labormedizinisch unauffällig. Die Hühner-Knochenbrühe hat somit bei Patienten mit auffälligen Laborwerten für Entzündungen der Darmschleimhaut einen antientzündlichen Effekt. Die Hühner-Knochenbrühe kann bei knapp einem Drittel der Patienten mit einem erhöhten Alpha-1-Antitrypsinwert zu einer Normalisierung der Entzündung der Darmschleimhaut beitragen.

Auch die Effekte auf den Zonulinmarker bei Patienten mit erhöhten Zonulinwerten sind als beachtenswert hervorzuheben: 44% von ihnen erreichen nach Anwendung der Hühnerknochenbrühe einen labormedizinisch unauffälligen Wert. Das bedeutet, dass ein substanzieller Patientenanteil mit erhöhter Darmpermeabilität (Leaky Gut) wieder eine normale Durchlässigkeit des Darmepithels erlangt. Dies ist ein wesentlicher Faktor, um Entzündungsreaktionen zu verringern und zu vermeiden.

Die Werte des Markers für chronisch-entzündliche Erkrankungen (Calprotectin) bleiben vor und nach der Anwendung bezüglich der Durchschnittswerte des Patientenkollektivs innerhalb des Referenzbereichs, d.h. labormedizinisch unauffällig. Eine Bewertung des Effekts von Hühner-Knochenbrühe auf chronisch-entzündliche Prozesse ist aufgrund der geringen Patientenzahl mit einem messbar auffälligen Wert nicht möglich.

Anhand der vorliegenden Daten dieser Anwendungsbeobachtung erreicht somit die achtwöchige tägliche Aufnahme von Hühner-Knochenbrühe bei einem substanziellen Anteil des Patientenkollektivs eine messbare Reduktion der Darmpermeabilität sowie anti-entzündliche Effekte an der Darmschleimhaut. Es werden Verbesserungen von labormedizinisch auffälligen Entzündungswerten zu Normalwerten erreicht.

In der Patientenwahrnehmung bessern sich durch die Hühner-Knochenbrühe insbesondere Blähungen sehr deutlich. Es werden auch Verbesserungen auf die Verdauung (Normalisierung des Stuhlgangs), von Konzentrationsstörungen und Schmerzen im unteren Rücken, sowie verringert Müdigkeit genannt. Dies sind wertvolle Steigerungen der Lebensqualität und Leistungsfähigkeit. Die Ernährungstagebücher geben deutliche Hinweise darauf, dass der tägliche Gluteneintrag bei den Patienten oft erheblich ist, sowohl durch bekannte als auch wenig bekannte („versteckte“) Glutenquellen. Da Gluten die Zonulinwerte verschlechtern und somit entzündungsförderlich wirken kann, könnten die therapeutischen Effekte vermutlich mit einer entsprechenden Ernährungsberatung bei den Patienten noch weiter gesteigert werden.

Die Bone Brox Hühner-Knochenbrühe ist somit ein empfehlenswertes Lebensmittel, welches bei einem bestehenden Leaky-Gut-Syndrom und/oder entzündlicher Darmschleimhaut therapeutisch unterstützend eingesetzt werden kann, um eine erhöhte Darmpermeabilität, entzündliche Prozesse an der Darmschleimhaut und ihre Folgen zu reduzieren.

1. Hühner-Knochenbrühe in der medizinischen Anwendung

1.1 Ziel der Anwendungsbeobachtung

Ziel dieser Anwendungsbeobachtung (nachfolgend „AWB“) war es, die Effekte von Hühner-Knochenbrühe auf die Darmgesundheit zu prüfen.

Die Arbeitshypothese war, dass das in der Hühnerbrühe enthaltene Kollagen einen positiven Einfluss auf die Zusammensetzung der Darmschleimhaut haben könnte, welcher zu einer Besserung entzündlicher Darmerkrankungen, erhöhter Darmpermeabilität und damit verbundener Symptome führen kann.

1.2 Hintergrund

Verschiedene Lebensstilfaktoren (z.B. Stress, Rauchen, Extremsport), verschiedene Medikamente und Therapien (z.B. Antibiotika, Chemotherapie) oder Infektionen können zur Schädigung der Darmschleimhaut und einer erhöhten Durchlässigkeit der Darmwand führen. Diese ermöglicht bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS), Toxinen und unverdauten Nahrungsbestandteilen in die Blutbahn zu gelangen, die sonst von den Darm- und Immunzellen an der Darmbarriere zurückgehalten würden. Dieser Zustand wird als „leaky gut“ oder „durchlässiger Darm“ bezeichnet.

Die körperfremden Stoffe aktivieren in der Blutbahn das Immunsystem. Dies kann, vor allem, wenn sich der Zustand des durchlässigen Darms über eine längere Zeit hinzieht, zu einer subklinischen Entzündung in verschiedenen Körperregionen führen („silent inflammation“). Diese werden mit einer Vielzahl an chronisch-entzündlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht, da das Immunsystem der Darmschleimhaut, das enterische Nervensystem, der Blutkreislauf und die Körperorgane miteinander verbunden sind. Man spricht dann von einem „Leaky-Gut-Syndrom“.

Dabei können einzelne oder mehrere der folgenden Symptome auftreten (White 2003; Maes 2011; van Hemert 2014; Julio-Pieper 2016; Slyepchenko 2017):

- Neurodegenerative Erkrankungen: Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Chorea Huntington, Multiple Sklerose
- Depression
- einige Formen von Autismus
- Kopfschmerzen und Migräne
- Chronisches Müdigkeitssyndrom
- Hauterkrankungen: Psoriasis, Systemischer Lupus erythematodes
- Stoffwechselstörungen: Diabetes Typ 1 und Typ 2, Übergewicht, Metabolisches Syndrom
- Rheumatoide Arthritis
- Darmbeschwerden: Reizdarm-Syndrom, entzündliche Darmerkrankungen, Zöliakie

Die Behandlung eines durchlässigen Darms und von Darmentzündungen erfolgt häufig durch mehrmonatige Gabe von Pro- und Präbiotika. Wünschenswert wäre es, diesen Zeitraum verkürzen zu können und dafür ein Nahrungsmittel mit günstigen Nährwerten und positiver Wirkung auf die Darmsituation anwenden zu können.

In Einzelfällen wurde bereits von einer positiven Wirkung von Knochenbrühe auf die Darmgesundheit berichtet. Mit dieser Anwendungsbeobachtung sollten Biomarker untersucht werden, die eine Quantifizierung der Wirkung von Hühner-Knochenbrühe ermöglichen. Weitere subjektive Einschätzungen zu Gesundheit und Wohlbefinden der Patienten sollten einen Einblick in die Möglichkeit der Verbesserung der Lebensqualität der Patienten geben.

1.3 Auswahl der Laborparameter

Zur Prüfung der Wirkung von Hühner-Knochenbrühe auf die Darmgesundheit wurden drei Laborparameter ausgewählt:

- **Zonulin:** ein Protein, welches die Durchlässigkeit der tight junctions im Darmepithel reguliert. Liegt Zonulin erhöht vor, kommt es zum „durchlässigen Darm“. Zonulin ist ein Permeabilitätsmarker.
- **Alpha-1-Antitrypsin:** weist auf Entzündungen der Darmschleimhaut hin. Oft sind Alpha-1-Antitrypsin-Werte ein zusätzlicher Indikator für eine erhöhte Darmpermeabilität.
- **Calprotectin:** ist ein empfindlicher Marker für entzündliche Darmerkrankungen. Er weist auf invasive Schleimhautentzündungen hin. Er ist weniger sensitiv als Alpha-1-Antitrypsin, ist jedoch gut als Marker für den Verlauf chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen geeignet, wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa.

Diese Marker wurden ausgewählt um zu prüfen, ob der tägliche Verzehr von 250 ml der Brox Hühner-Knochenbrühe über einen Zeitraum von acht Wochen messbare Veränderungen

- bei Patienten mit einem durchlässigen Darm
- bei Patienten mit Entzündungen an der Darmschleimhaut
- bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

bewirken kann.

1.4 Auswahl der Patienten

Für diese Anwendungsbeobachtung wurden Patienten ausgewählt in einem Alter zwischen 18 und 70 Jahren, die eines oder mehrere Symptome aufwiesen, die mit einem Leaky-Gut-Syndrom verbunden sein können, wie:

- wiederkehrender Durchfall
- häufige Blähungen
- wiederkehrende Bauchschmerzen
- unspezifische Magen-Darm-Beschwerden, die nicht auf eine akute Infektion zurückzuführen sind
- Nahrungsmittelunverträglichkeiten/-allergien
- häufige Kopfschmerzen, Migräne
- häufige Müdigkeit und/oder Erschöpfung
- Hautprobleme
- Zöliakie
- Morbus Crohn
- Colitis ulcerosa
- Reizdarm-Syndrom

1.5 Ablauf der Anwendungsbeobachtung

Die ausgewählten Patienten erhielten im Anschluss an ihre Einwilligungserklärung und der Erstellung des Aufnahmebefundes für acht Wochen Hühner-Knochenbrühe für die tägliche Anwendung. Nach Abschluss der Anwendung wurde ein Abschlussbefund erhoben.

Die drei Laborparameter wurden jeweils vor Beginn der Anwendung und nach Abschluss der Anwendung aus Stuhlproben erhoben.

Zusätzlich führten die Patienten ein Ernährungstagebuch.

2. Ergebnisse

2.1 Patientendaten

2.1.1 Geschlecht der Patienten

Von den insgesamt 34 in die Anwendungsbeobachtung einbezogenen Patienten waren 71% weiblichen und 29% männlichen Geschlechts.

Geschlecht der Patienten	Anzahl	Prozent
Männlich	10	29%
Weiblich	24	71%
Gesamt	34	100%

2.1.2 Wohnort der Patienten

Die Anwendungsbeobachtung wurde in der Bundesrepublik Deutschland durchgeführt. Die Wohnorte der 34 in die Anwendungsbeobachtung einbezogenen Patienten sind bundesweit verteilt, mit Schwerpunkten im Postleitzahlgebiet 1 (38%), 6 (23%), 7 (12%) und 8 (12%). In den Postleitzahlgebieten 3 und 4 lag kein Wohnort.

Postleitzahlgebiet	Anzahl	Prozent (%)
0	1	2,9%
1	13	38,2%
2	1	2,9%
3	0	0%
4	0	0%
5	1	2,9%
6	8	23,5%
7	4	11,8%
8	4	11,8%
9	2	5,9%
Gesamt	34	100%

2.2 Verlauf der Biomarker

Die AWB analysierte die Veränderung von drei Laborwerten vor und nach dem Beobachtungszeitraum.

Als Biomarker zur Bestimmung des Status von Darmentzündungen und der Darmpermeabilität wurden Zonulin, Alpha-1-Antitrypsin und Calprotectin ausgewählt. Alle ausgewählten Bio-Marker können mittels einer Stuhlprobe erfasst werden. Dies erhöht durch die einfache Handhabung die Compliance der Patienten.

Für Zonulin und Alpha-1-Antitrypsin wurde in Studien gezeigt, dass durch Supplementation mit Rinder-Colostrum, Probiotika oder Zeolith zwischen 20 Tagen und 14 Wochen eine signifikante Verringerung der Werte erreicht werden konnte (Majamaa 1997, Fasano 2011, Lamprecht 2012, Lamprecht 2015, Halasa 2017).

Das medizinische Labor Ostsachsen empfiehlt Calprotectin zur Therapiekontrolle bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (z.B. Morbus Crohn und Colitis ulcerosa). Innerhalb von 5-18 Tagen ist in der Laborinformation eine signifikante Verringerung der Calprotectin-Werte erkennbar. In einer Studie zur Therapiekontrolle eines TNF-Alpha-Blockers wurde innerhalb von zwei Wochen eine signifikante Verringerung der Calprotectin-Werte erreicht (De Vos 2012).

Dies sind Hinweise darauf, dass eine Versuchsdauer von 8-12 Wochen für Knochenbrühe in der geplanten AWB ein angemessener Zeitraum ist, um die Wirkung auf die Darmgesundheit mit Hilfe der Parameter Zonulin, Alpha-1-Antitrypsin und Calprotectin zu überprüfen.

2.2.1 Zonulin

Eigenschaften	Permeabilitätsmarker für die Durchlässigkeit des Darmepithels
Funktionen	Zonulin ist ein Protein, welches die Durchlässigkeit der tight junctions im Darmepithel reguliert. Liegt Zonulin erhöht vor, kommt es zum „durchlässigen Darm“.
Klinische Indikationen	<ul style="list-style-type: none"> • Störungen der intestinalen Schleimhautpermeabilität (Leaky-Gut-Syndrom) • Autoimmunerkrankungen: z.B. <ul style="list-style-type: none"> ○ Multiple Sklerose ○ Rheumatoide Arthritis ○ Zöliakie ○ Diabetes mellitus Typ I • Erhöhte Infektanfälligkeit • Allergien • Tumorerkrankungen
Referenzbereich	<ul style="list-style-type: none"> • bis 78 ng/ml Stuhl: normal • über 78 ng/ml Stuhl: erhöht

Statistische Kennwerte Zonulin

Zonulin: Gesamtkollektiv

	Vor Anwendung	Nach Anwendung
Patientenzahl (n)	34	34
Mittelwert	88,48	108,31 = 22,4% Erhöhung
Median	75,3	71,15
Quartil 0,25	56,13	47,88
Quartil 0,75	116,78	113,3
Xmin	12,5	12,5
Xmax	290,2	800
Ausreißer-Werte	290,2	225,6; 374,6; 800

Zonulin: Patienten mit erhöhten Werten vor Anwendung

	Vor Anwendung	Nach Anwendung
Patientenzahl (n)	16	16
Mittelwert	131,23	99,83 = 23,93% Reduktion
Median	125,9	86,95
Quartil 0,25	92,6	50,28
Quartil 0,75	157,25	116,08
Xmin	81,5	12,5
Xmax	290,2	374,6
Ausreißer-Werte	290,2	374,6

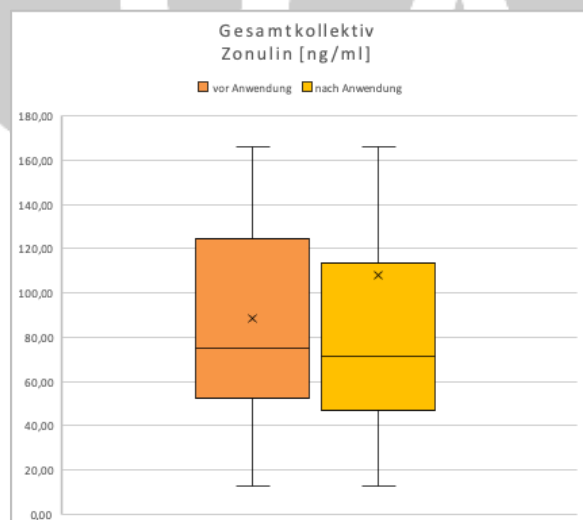
Veränderung des Durchschnittswerts im gesamten Patientenkollektiv im Vergleich vor und nach der Behandlung

Betrachtet man das gesamte Patientenkollektiv (n=34) vor und nach der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe, so steigt der Zonulinwert von durchschnittlich 88,48 ng/ml auf 108,31 ng/ml. Dies ist im Wesentlichen durch einen extremen Ausreißerwert bedingt. Beide Werte liegen in der labormedizinischen Bewertung im Bereich „erhöht“.

Betrachtet man das gesamte Patientenkollektiv ohne den Ausreißerwert (n=33), ergibt sich eine Senkung des Zonulinmittelwerts von 90,05 ng/ml auf 87,35 ng/ml. Das ist eine Reduktion im Mittelwert von 2,7 ng/ml bzw. 3%. Auch in diesem Kollektiv liegen beide Werte in der labormedizinischen Bewertung im Bereich „erhöht“.

- Der Durchschnittswert im Patientenkollektiv für Zonulin steigt nach Anwendung der Brühe um 19,83 ng/ml, das heißt um 22%. Der Anstieg ist durch einen extremen Ausreißerwert bestimmt. Ohne Ausreißerwert sinkt der Zonulinmittelwert im Patientenkollektiv leicht um 3%. Die Zonulin-Werte liegen in beiden Betrachtungen in der labormedizinischen Bewertung im Bereich „erhöht“.

Zonulin	Durchschnittlicher Messwert des Kollektivs	Labormedizinische Beurteilung
Zonulin vor der Behandlung (ohne Ausreißerwert)	88,48 ng/ml (90,05 ng/ml)	Erhöht
Zonulin nach der Behandlung (ohne Ausreißerwert)	108,31 ng/ml (87,35 ng/ml)	Erhöht
Differenz, absolut (ohne Ausreißerwert)	+19,83 ng/ml (-2,7 ng/ml)	
Differenz, in % (ohne Ausreißerwert)	+22% (-3%)	

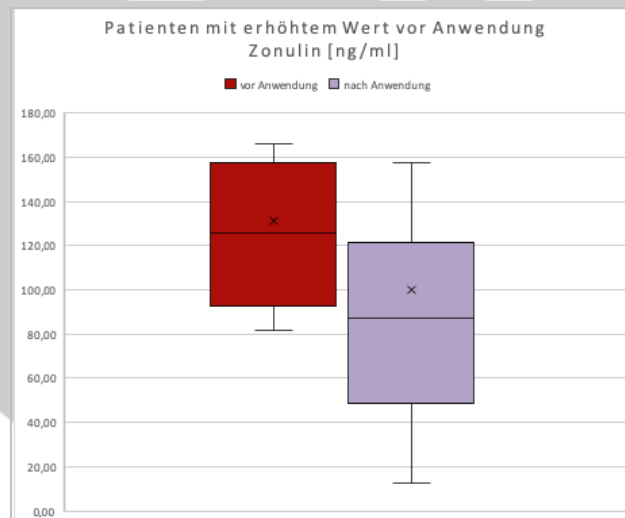


Veränderung der Zonulin-Werte abhängig vom Ausgangsstatus

Betrachtet man die Patienten, die vor der Anwendung einen erhöhten Zonulinwert aufwiesen (n=16) vor und nach der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe, so sinkt der Zonulinwert von durchschnittlich 131,23 ng/ml („erhöht“) auf 99,83 ng/ml („erhöht“).

- Der Durchschnittswert bei Patienten mit erhöhtem Zonulinwert sinkt nach Anwendung der Brühe um 31,4 ng/ml, das heißt um 24%.
- Der Zonulinwert bleibt innerhalb der Bewertung „erhöht“.

	Durchschnittlicher Messwert der Patienten mit erhöhtem Zonulin-Wert	Labormedizinische Beurteilung
Zonulin vor der Behandlung	131,23 ng/ml	Erhöht
Zonulin nach der Behandlung	99,83 ng/ml	Erhöht
Differenz, absolut	-31,4 ng/ml	
Differenz, in %	-24%	

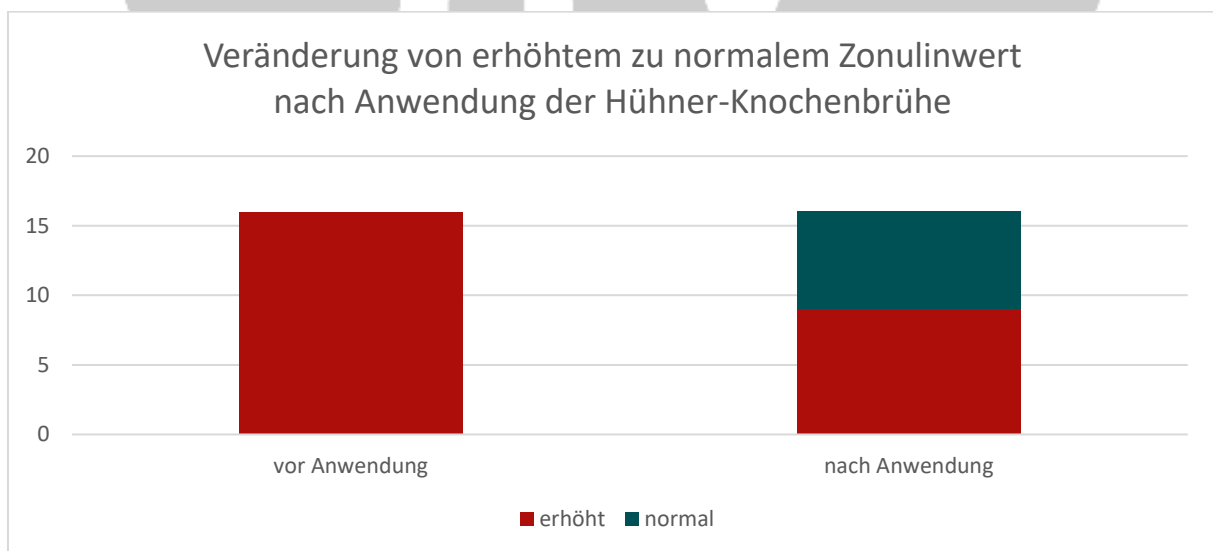


Von den Patienten, die vor der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen erhöhten Zonulinwert aufwiesen (n=16), hatten 44% (n=7) nach Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Zonulinwert.

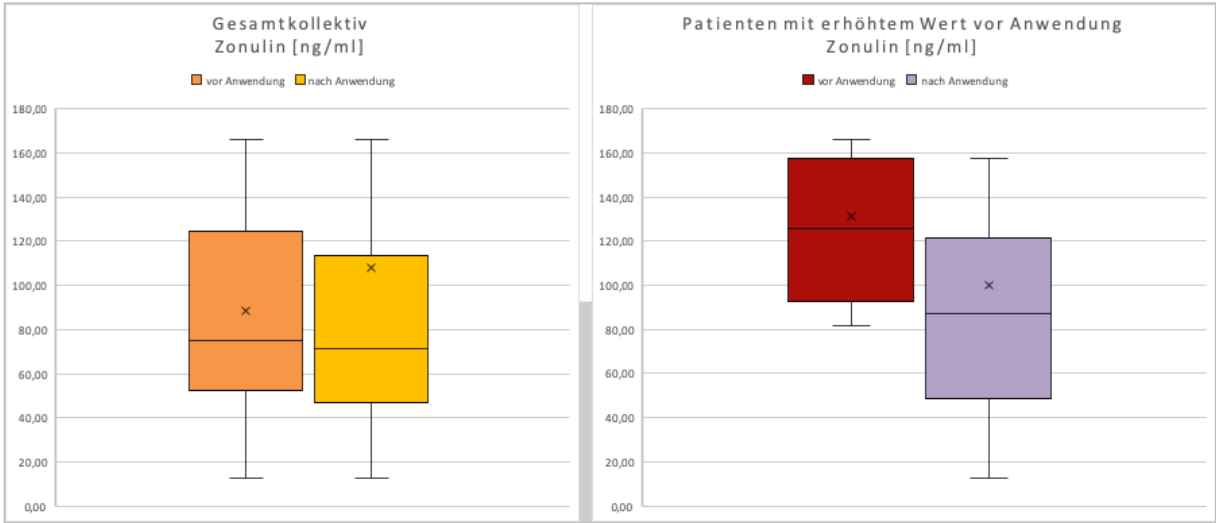
- Von Patienten, die vor der Anwendung einen erhöhten Zonulinwert aufwiesen, hatten 44% nach der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Zonulinwert erreicht, das heißt 44% erreichten den Übergang von labormedizinisch auffällig zu labormedizinisch unauffällig.

Von 18 Patienten, die vor Beginn der Anwendung einen normalen Zonulinwert aufwiesen, hatten 39% (n=7) nach der Anwendung einen erhöhten Zonulinwert. Drei dieser Patienten waren mit Morbus Crohn bzw. Reizdarm-Symptomatik diagnostiziert. Die Ernährungstagebücher wiesen eine Verwendung von glutenhaltiger Ernährung auf, welche zu einer Erhöhung von Zonulin-Werten führen kann.

Zonulin	Anzahl vor Anwendung	Erhöht nach Anwendung	Normal nach Anwendung
Patienten mit erhöhtem Zonulinwert	16	9	7 (44%)
Patienten mit normalem Zonulinwert	18	7 (39%)	11
Gesamt Patienten	34		



Gegenüberstellung der Box-Plots von Patientenkollektiv und Patienten mit Zonulinwerten vor der Anwendung



2.2.2 Alpha-1-Antitrypsin

Eigenschaften	Marker für Entzündungen der Darmschleimhaut, sowie Permeabilitätsmarker für die Durchlässigkeit des Darmepithels
Funktionen	Alpha-1-Antitrypsin hemmt Proteasen und schützt so das Körpergewebe vor Enzymen, die an Entzündungsprozessen beteiligt sind, z.B. PMN-Elastase, Trypsin, Serinproteasen. Liegt Alpha-1-Antitrypsin erhöht vor, deutet dies auf akute entzündliche Prozesse hin.
Klinische Indikationen	<ul style="list-style-type: none"> • Störungen der intestinalen Schleimhautpermeabilität (Leaky-Gut-Syndrom) • (Chronisch-)Entzündliche Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, verbunden mit Blutungen in das Darmlumen <ul style="list-style-type: none"> ○ Morbus Crohn • Nekrotisierende Enterokolitis, v.a. Eiweißverlustsyndrom • Nahrungsmittelallergien • Glutensensitive Enteropathie
Referenzbereich	<ul style="list-style-type: none"> • unter 56 mg/dl: normal • 56 bis unter 90 mg/dl: leicht erhöht • 90 bis unter 135 mg/dl: deutlich erhöht • ab 135 mg/dl: stark erhöht

Statistische Kennwerte Alpha-1-Antitrypsin

Alpha-1-Antitrypsin: Gesamtkollektiv

	Vor Anwendung	Nach Anwendung
Patientenzahl (n)	34	34
Mittelwert	61,71	52,44 = 11,8% Reduktion
Median	54,5	45
Quartil 0,25	42	32,5
Quartil 0,75	69,75	60,75
Xmin	13	13
Xmax	200	192
Ausreißer-Werte	171, 200	117, 192

Alpha-1-Antitrypsin: Patienten mit erhöhten Werten vor Anwendung

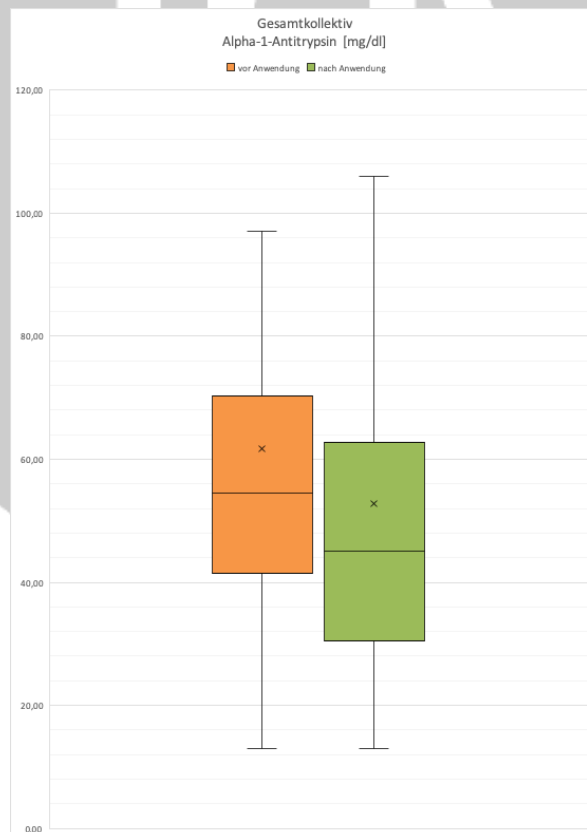
	Vor Anwendung	Nach Anwendung
Patientenzahl (n)	17	17
Mittelwert	86,06	71,94 = 16,41% Reduktion
Median	70,5	64
Quartil 0,25	64,5	51,5
Quartil 0,75	87,25	91,75
Xmin	56	16
Xmax	200	192
Ausreißer-Werte	171, 200	192

Veränderung des Durchschnittswerts im Patientenkollektiv im Vergleich vor und nach der Behandlung

Betrachtet man das gesamte Patientenkollektiv (n=34) vor und nach der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe, so sinkt der Alpha-1-Antitrypsin-Wert von durchschnittlich 61,71 mg/dl („leicht erhöht“) auf 52,44 mg/dl („normal“).

- Der Durchschnittswert im Patientenkollektiv für Alpha-1-Antitrypsin sinkt nach Anwendung der Brühe um 9,27 mg/dl, das heißt um 11,8%.
- Dies entspricht einer Senkung des Alpha-1-Antitrypsin-Werts des Patientenkollektivs in der Bewertung von „leicht erhöht“ auf „normal“.

	Durchschnittlicher Messwert des Kollektivs	Labormedizinische Beurteilung
Alpha-1-Antitrypsin vor der Behandlung	61,71 mg/dl	Leicht erhöht
Alpha-1-Antitrypsin nach der Behandlung	52,44 mg/dl	Normal
Differenz, absolut	-9,27 mg/dl	
Differenz, in %	-12%	

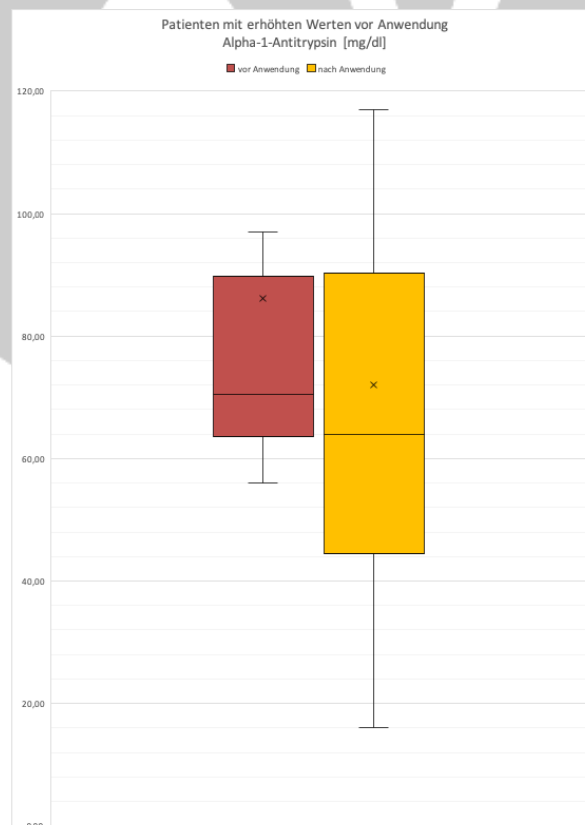


Veränderung der Alpha-1-Antitrypsin-Werte abhängig vom Ausgangsstatus

Betrachtet man die Patienten, die vor der Anwendung einen erhöhten Alpha-1-Antitrypsinwert aufwiesen (n=16) vor und nach der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe, so sinkt der Alpha-1-Antitrypsin-Wert von durchschnittlich 86,06 mg/dl („leicht erhöht“) auf 71,94 mg/dl („leicht erhöht“).

- Der Durchschnittswert bei Patienten mit erhöhtem Alpha-1-Antitrypsin-Wert sinkt nach Anwendung der Brühe um 14,12 mg/del, das heißt um 16,4%.
- Der Alpha-1-Antitrypsin-Wert bleibt innerhalb der Bewertung „leicht erhöht“.

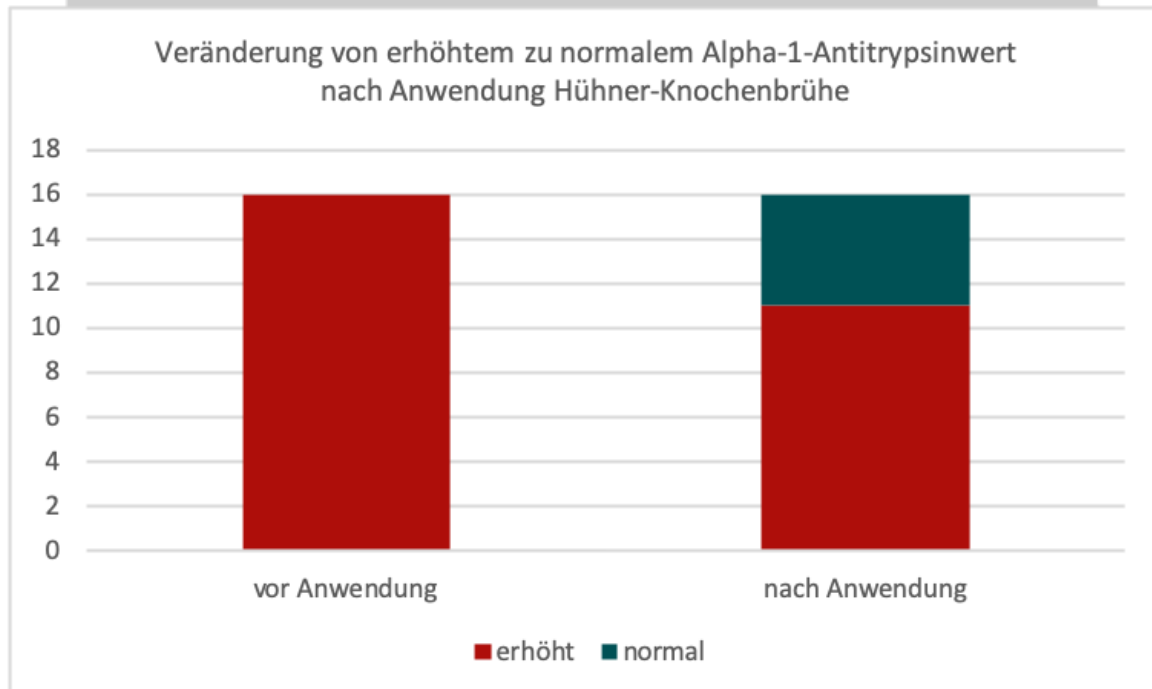
	Durchschnittlicher Messwert der Patienten mit erhöhtem Alpha-1-Antitrypsin-Wert	Labormedizinische Beurteilung
Alpha-1-Antitrypsin vor der Behandlung	86,06 mg/dl	Leicht erhöht
Alpha-1-Antitrypsin nach der Behandlung	71,94 mg/dl	Leicht erhöht
Differenz, absolut	-14,12 mg/dl	
Differenz, in %	-16,4%	



Von den Patienten, die vor der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen erhöhten Alpha-1-Antitrypsin-Wert aufwiesen (n=16), hatten 31% (n=5) nach Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Alpha-1-Antitrypsin-Wert.

- Von Patienten, die vor der Anwendung einen leicht erhöhten, deutlich erhöhten oder sogar stark erhöhten Alpha-1-Antitrypsin-Wert aufwiesen, hatten 31% nach der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Alpha-1-Antitrypsin-Wert erreicht, das heißt sie waren labormedizinisch unauffällig.

Alpha-1-Antitrypsin	Anzahl vor Anwendung	Erhöht nach Anwendung	Normal nach Anwendung
Patienten mit erhöhtem Alpha-1-Antitrypsinwert	16	11	5 (31%)
Patienten mit normalem Alpha-1-Antitrypsinwert	18	2	16
Gesamt Patienten	34		

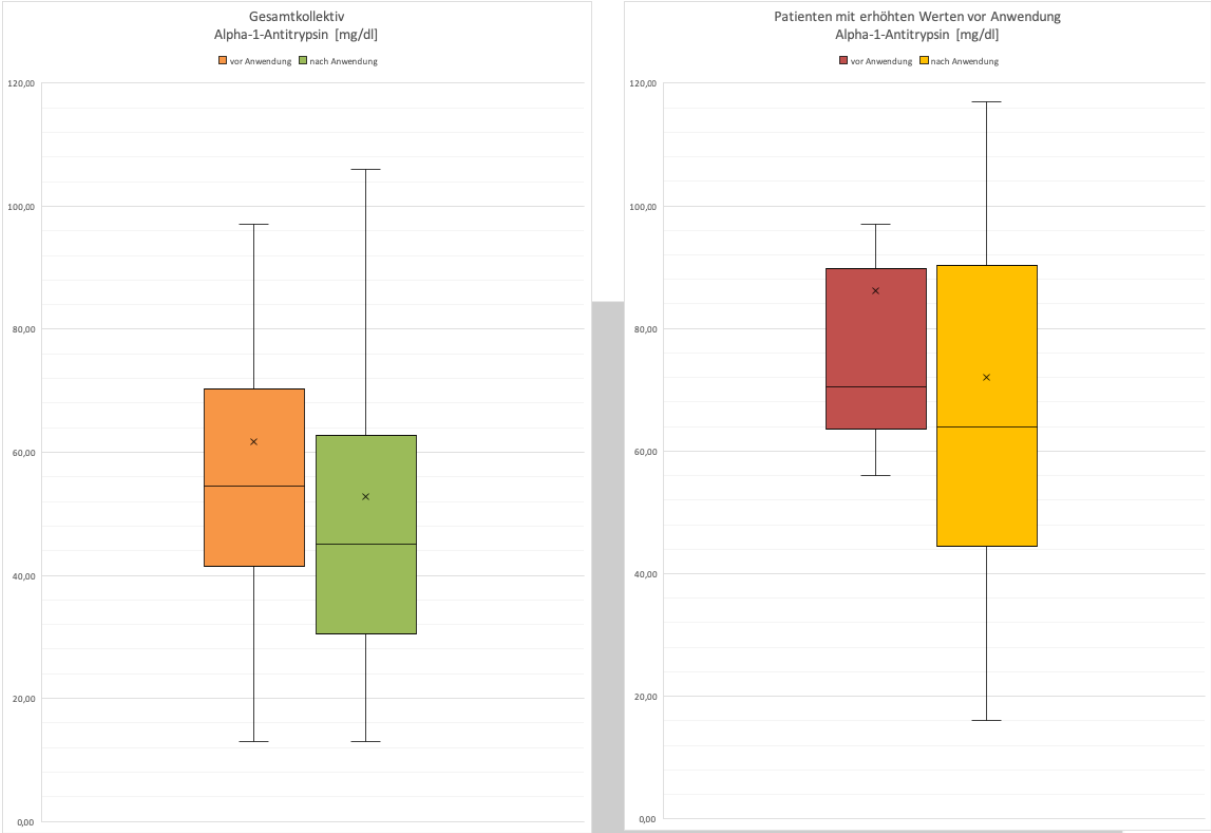


Alpha-1-Antitrypsin	Anzahl vor Anwendung		normal nach Anwendung	Leicht erhöht nach Anwendung	Deutlich erhöht nach Anwendung	Stark erhöht nach Anwendung	
Patienten mit normalem Alpha-1-Antitrypsin-Wert	18		16	2	0	0	
Patienten mit leicht erhöhtem Alpha-1-Antitrypsin-Wert	12	16	3	6	2	1	5
Patienten mit deutlich erhöhtem Alpha-1-Antitrypsin-Wert	2		1	0	0	1	
Patienten mit stark erhöhtem Alpha-1-Antitrypsin-Wert	2		1	1	0	0	
Gesamt Patienten	34		21	9	2	2	

Von 18 Patienten, die vor Beginn der Anwendung einen normalen Alpha-1-Antitrypsin-Wert aufwiesen, hatten 11% (n=2) nach der Anwendung einen erhöhten Alpha-1-Antitrypsin-Wert.

Einer dieser Patienten hatte nach der Anwendung einen deutlich erhöhten Calprotectinwert (517 µg/g), welcher vermutlich auf einen akuten Schub einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung zurückzuführen ist.

Gegenüberstellung der Box-Plots von Patientenkollektiv und Patienten mit erhöhten Alpha-1-Antitrypsinwerten vor der Anwendung



2.2.3 Calprotectin

Eigenschaften	Marker für entzündliche Darmerkrankungen mit Hinweis auf invasive Schleimhautentzündungen. Verlaufsmarker bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa.
Funktionen	Calprotectin ist ein calciumbindender Proteinkomplex, der einen hohen Anteil des löslichen Proteins in neutrophilen Granulocyten ausmacht. Aufgrund seiner Bindung von Mangan und Zink wirkt Calprotectin bakteriostatisch und fungistatisch. Liegt Calprotectin mit erhöhten Werten im Stuhl vor, so ist dies ein Hinweis darauf, dass aufgrund von Entzündungsprozessen neutrophile Granulocyten in die Darmmukosa eingewandert sind.
Klinische Indikationen	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostik chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen • Ausschlussdiagnostik bei Reizdarmsyndrom, Zöliakie, Laktoseintoleranz
Referenzbereich	<ul style="list-style-type: none"> • bis 50 µg/g: normal • 51 bis 350 µg/g: leicht erhöht • ab 351 µg/g: deutlich erhöht

Veränderung des Durchschnittswerts im Patientenkollektiv im Vergleich vor und nach der Behandlung

Betrachtet man das gesamte Patientenkollektiv (n=34) vor und nach der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe, so steigt der Calprotectin-Wert von durchschnittlich 30,73 µg/g auf 40,71 µg/g.

- Der Durchschnittswert im Patientenkollektiv für Calprotectin bleibt vor und nach der Anwendung innerhalb des Referenzbereichs und steigt nach Anwendung der Brühe um 9,98 µg/g, das heißt um 32%. Dieser Anstieg ist durch einen Patienten mit deutlich erhöhten Werten nach der Anwendung bedingt, der vermutlich mit einem akuten Schub einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung zusammenhängt.

Calprotectin	Durchschnittlicher Messwert des Kollektivs	Labormedizinische Beurteilung
Calprotectin vor der Behandlung	30,73 µg/g	Normal
Calprotectin nach der Behandlung	40,71 µg/g	Normal
Differenz, absolut	+9,98 µg/g	
Differenz, in %	+32,47%	

Veränderung der Calprotectin-Werte abhängig vom Ausgangsstatus

Von den Patienten, die vor der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen erhöhten Calprotectinwert aufwiesen (n=3), hatten 67% (n=2) nach Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Zonulinwert erreicht.

- Von drei Patienten, die vor der Anwendung einen leicht erhöhten Calprotectinwert aufwiesen, hatten zwei Patienten nach der Anwendung der Hühner-Knochenbrühe einen normalen Calprotectinwert erreicht.

Von 31 Patienten, die vor Beginn der Anwendung einen normalen Calprotectinwert aufwiesen, hatten 6% (n=2) nach der Anwendung einen erhöhten Calprotectinwert.

Von 3 Patienten, die vor Beginn der Anwendung einen leicht erhöhten Calprotectinwert aufwiesen, hatte 1 Patient nach der Anwendung einen deutlich erhöhten Calprotectinwert (517 µg/g), welcher vermutlich auf einen akuten Schub einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung zurückzuführen ist.

Calprotectin	Anzahl vor Anwendung	normal nach Anwendung	Leicht erhöht nach Anwendung	Deutlich erhöht nach Anwendung
Patienten mit normalem Calprotectin-Wert	31	29	2	0
Patienten mit leicht erhöhtem Calprotectin-Wert	3	2	0	1
Patienten mit deutlich erhöhtem Calprotectin-Wert	0	0	0	0
Gesamt Patienten	34	31	2	1

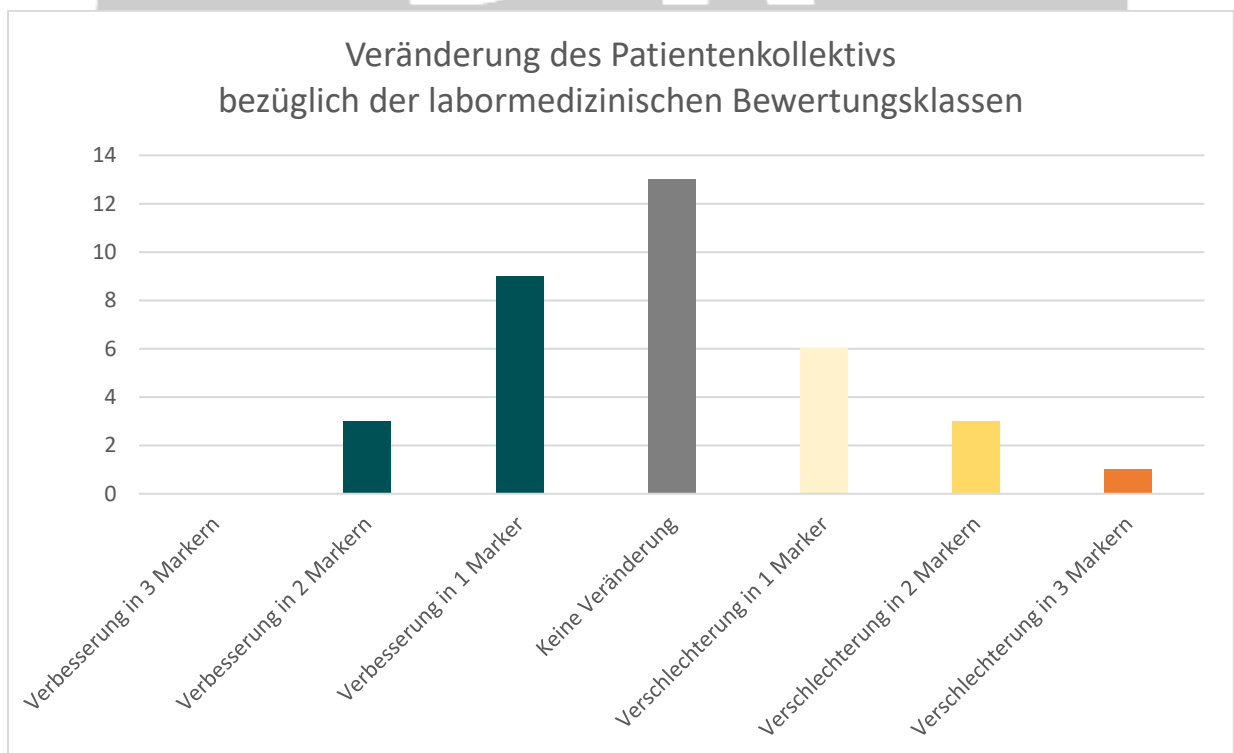
2.2.4 Zusammenfassung über alle 3 Laborwerte

Veränderung der klinischen Bewertungsklassen im Patientenkollektiv im Vergleich vor und nach der Behandlung

- Insgesamt verbesserten sich bei 35,3% der untersuchten Patienten (n=34) nach achtwöchiger Anwendung der Hühner-Knochenbrühe bis zu zwei Marker.
- Bei über einem Viertel der Patienten (26,5%) ergab sich eine Verbesserung in einem Marker, bei knapp 9% verbesserten sich sogar zwei Marker.

Alle 3 Marker	Absolut	Prozent	Kumuliert
Verbesserung in 3 Markern	0	0%	35,3%
Verbesserung in 2 Markern	3	8,8%	
Verbesserung in 1 Marker	9	26,5%	
Keine Veränderung	13	38,2%	38,2%
Verschlechterung in 1 Marker	6	17,6%	29,3%
Verschlechterung in 2 Markern	3	8,8%	
Verschlechterung in 3 Markern	1	2,9%	

Summe: 102,8%, da 1 Patient sowohl mit 1 Verbesserung als auch 1 Verschlechterung



3. Fragebogenauswertung

Von 34 Patienten lagen die Laborwerte vollständig vor. Die Dokumentation von Aufnahmebefund, Abschlussbefund, Fragebögen und Ernährungstagebuch war jedoch häufig unvollständig.

- Patienten mit vollständigen Laborwerten: 34
- **Unvollständige Dokumentation** oder nicht repräsentativ wegen Krankheitsschub etc.: 25
- **Vollständige Dokumentation, aber ohne subjektiv feststellbaren Effekt:** 4
Symptomatiken:
 - Colitis ulcerosa und Neurodermitis
 - Reizdarm und Hashimoto
 - 2x ohne Angabe der Diagnose
- **Vollständige Dokumentation und als Patientenbeispiele erfasst:** 5

In den fünf erfassten Patientenbeispielen fallen folgende Besonderheiten auf:

- Alle Patienten hatten vor der Anwendung mit Hühner-Knochenbrühe auffallend **starke Blähungen**, welche sich anhand der subjektiven Einschätzung auf einer Skala von 0-5 um 20-40% nach Anwendung der Brühe besserten.
- Bei zwei Patienten verbesserten sich die anfangs **mittelstarken Konzentrationsstörungen**.
- Bei zwei Patienten verbesserten sich die **mittelstarken oder oft wahrgenommenen Schmerzen im unteren Rücken**.

In den Kommentaren zur Veränderung der Magen-Darm-Beschwerden im Lauf der achtwöchigen Anwendung und zu Auswirkungen der Brühe auf den Gesundheitszustand und das Wohlbefinden sind folgende Aussagen typisch:

- **Blähungen haben sich verringert**
- **Verringerte Müdigkeit**
- **Verdauung ist „stabiler“, Stuhlgang besser geformt**

Bezogen auf die Einträge in die **Ernährungstagebücher** ist festzuhalten, dass viele Patienten, welche eine glutenreduzierte oder glutenfreie Ernährungsweise angeben, häufig täglich Gluten über meist nur **schwer wahrnehmbare Glutenquellen** aufnehmen (z.B. nicht glutenfreie Haferflocken, Gnocchi und andere Kartoffel-Fertigprodukte, welche häufig Weizenmehl enthalten, etc.).

4. Referenzen

- De Vos, M. et al. 2012. Fast and sharp decrease in calprotectin predicts remission by infliximab in anti-TNF naïve patients with ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis* 6:557–562
- Fasano, A. 2011. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev.* 2011 91(1):151-75
- Ganzimmun Diagnostics AG. 2017. Leaky-Gut-Syndrome: Testverfahren zum Nachweis einer gestörten intestinalen Permeabilität. Fachinformation 0090; Stand: 08.08.2017
- Halasa, M. et al. 2017. Oral Supplementation with Bovine Colostrum Decreases Intestinal Permeability and Stool Concentrations of Zonulin in Athletes. *Nutrients.* 9(4). pii: E370. doi: 10.3390/nu9040370.
- Julio-Pieper, M., et al. 2016. Intestinal Barrier and Behavior. *Int Rev Neurobiol.*131:127-141. doi: 10.1016/bs.irn.2016.08.006. Epub 2016 Sep 15
- Lamprecht, M. et al. 2012. Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr.* 20;9(1):45. doi: 10.1186/1550-2783-9-45.
- Lamprecht, M. et al. 2015. Effects of zeolite supplementation on parameters of intestinal barrier integrity, inflammation, redoxbiology and performance in aerobically trained subjects. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015 Oct
- Maes, M. et al. 2011. Depression's multiple comorbidities explained by (neuro)inflammatory and oxidative & nitrosative stress pathways. *Neuro Endocrinol Lett.* 32(1):7-24
- Majamaa, H., et al. 1997. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 99(2):179-185
- Medizinisches Labor Ostsachsen. 2012. Calprotectin – Marker zur Differenzierung zwischen CED und Reizdarmsyndrom. Laborinformation 03-2012
- Slyepchenko, A., et al. 2017. Gut Microbiota, Bacterial Translocation, and Interactions with Diet: Pathophysiological Links between Major Depressive Disorder and Non-Communicable Medical Comorbidities. *Psychother Psychosom.* 86(1):31-46. Epub 2016 Nov 25
- Van Hemert, S., et al. 2014. Migraine associated with gastrointestinal disorders: review of the literature and clinical implications. *Front Neurol.* 5:241. doi: 10.3389/fneur.2014.00241. eCollection 2014.
- White, J.F. 2003. Intestinal pathophysiology in autism. *Exp Biol Med (Maywood).* 228(6):639-49

5. Anhang

5.1 AWB-Design

Ablauf der Anwendungsbeobachtung

Screening-Phase

- Zusendung Material:
 - Der Arzt/Therapeut erhält von Bone Brox 3 Testkits für die Stuhlproben, 6 Probe-Gläser Brox Freilandhuhn, 20 Informationsflyer, 3 Patienteninformationen inkl. Einverständniserklärungen
 - Benötigt der Arzt/Therapeut mehr Material, lässt Bone Brox der Praxis nach einer kurzen Meldung mehr Testkits / Proben / Dokumente zukommen
- Die Praxis versieht die Testkits mit ihrem Praxisstempel
- Patienten, die dem Profil entsprechen, werden von dem Arzt/Therapeuten über die AWB informiert
- Falls starkes Interesse bei dem Patienten besteht und der Patient die Kriterien erfüllt, erhält der Patient von dem Arzt/Therapeuten ein Glas der Brühe und einen Informationsflyer
- Innerhalb von 5 Werktagen gibt der Patient seiner Praxis eine Rückmeldung, ob er verbindlich an der AWB teilnehmen möchte
- Der Patient vereinbart einen Termin (innerhalb der nächsten 5 Werktage)

Erster Termin für die AWB

- Patienteninformation inkl. Einverständniserklärung und die vier Fragebögen (Anamnesebogen, Fragenbogen Darmgesundheit, Fragebogen Haut, SF 36) werden von der Praxis mit der Patientenidentifikationsnummer versehen und danach dem Patienten zur Sichtung und zum Ausfüllen ausgehändigt
- Diese liest der Patient im Wartebereich durch und gibt diese unterschrieben und ausgefüllt ab
- Der Arzt/Therapeut unterschreibt die Einverständniserklärung ebenfalls
- Die Fragebögen werden in einer Mappe aufbewahrt und nach Abschluss der Studie mit allen weiteren Unterlagen an Bonebrox GmbH geschickt
- Der Patient erhält eine Übersicht über den weiteren Ablauf der AWB. Dazu ein Testkit für die erste Stuhlprobe mit kurzer Erläuterung.
 - Die Erläuterung beinhaltet, dass die Stuhlprobe vom Patienten entnommen werden sollte, wenn der Stuhl eine relativ feste Konsistenz hat (nicht flüssig!)
 - 24h vor der Entnahme sollten möglichst keine Antiphlogistika; Mittel gegen Entzündungen genommen werden und wenn dies doch nötig sein sollte, sollte dies an die Praxis weitergegeben und notiert werden
 - Wichtig ist, dass die Stuhlprobe vom Patienten montags bis mittwochs entnommen und direkt an das Labor geschickt wird
- Die Ergebnisse der Stuhlprobe werden von dem Labor an den behandelnden Arzt/Therapeuten weitergeleitet

- Sobald die Praxis das Ergebnis der Stuhlprobe erhalten hat und mindestens einer der Werte oberhalb des Normbereichs ist (Werte siehe oben in „Einschlusskriterien“) kontaktiert die Praxis das Logistikzentrum, sodass die Zusendung der 5-Liter-Beutel (Bag in Box) und des Ernährungstagebuchs an den Patienten erfolgen kann (der Patient erhält direkt alle 3 Beutel für den gesamten Verlauf der Studie)
 - Per E-Mail an studie@bonebrox.de

Beobachtungsphase 8 Wochen

- Bei Erhalt der Brühe beginnt der Patient mit dem täglichen Verzehr von 250 ml Brühe und vereinbart mit der Praxis einen Termin nach zwei Wochen
- Zeitgleich beginnt der Patient das Ernährungstagebuch zu führen

Zweiter Termin für die AWB

- 2 Wochen nach Start mit dem Verzehr der Brühe: Monitoring Ernährungstagebuch durch die Praxis
- Wenn der Patient der weiteren Teilnahme der AWB nichts entgegenzusetzen hat, erhält er das zweite Testkit inkl. dem Datum der Durchführung der Stuhlprobe (auf der Verpackung des Testkits notiert)
 - Bei der Auswahl des Datums ist von der Praxis zu beachten, dass ein Montag, Dienstag oder Mittwoch gewählt wird (mindestens 8 Wochen nach der Ersteinnahme der Brühe)
- Der Patient erhält des Weiteren vier weitere Fragebögen, die er am gleichen Datum, wie die Stuhlprobe ausfüllt und gemeinsam mit dem Ernährungstagebuch an die Praxis schickt

Fortsetzung Beobachtungsphase

- Fortsetzung des täglichen Verzehrs der Knochenbrühe und Führen des Ernährungstagebuchs bis zum Ende der 8-wöchigen Ernährungsphase

Abschluss- und Auswertungsphase

- An dem vereinbarten Datum entnimmt der Patient die zweite Stuhlprobe, schickt diese an das Labor und füllt die vier Fragebögen aus
- Sobald die Praxis die Laborergebnisse erhalten hat vereinbart sie mit dem Patienten einen Termin für ein abschließendes Gespräch
- Alle Unterlagen (Fragebögen, Patienteninformation inkl. Einverständniserklärung, Ernährungstagebuch) schickt die Praxis an BoneBrox GmbH
 - Die Laborergebnisse werden direkt vom Labor an ein unabhängiges Statistikinstitut zur Auswertung gesendet
- Die Ernährungstagebücher und Fragebögen werden von einem unabhängigen Studienmitarbeiter von Bonebrox gesichtet und nach Relevanz ausgewertet

Dritter Termin für die AWB

- Besprechung der Laborergebnisse und weiterführende Therapiemöglichkeiten (u.a. Probiotika) zwischen Arzt/Therapeuten und Patient

Begleit-Behandlung der Magen-Darm-Beschwerden

Begleitbehandlungen werden im Anamnesebogen und im Feedbackbogen nach Abschluss der 8-wöchigen Verzehrsphase dokumentiert und festgehalten.

Begleit-Behandlungen dürfen nicht mit den Ausschlusskriterien korrelieren.

In Bezug auf die Behandlung der Magen-Darm-Beschwerden ist es wichtig, dass in den 4 Wochen vor Aufnahme in die AWB und/oder während der AWB keine Antibiotika genommen wurden und in den 3 Monate vor der Aufnahme keine Kollagenpräparate genommen wurden. Außerdem erfolgt während der AWB keine NEUE Medikation für die Magen-Darm-Beschwerden.

Compliance: Ernährungstagebücher

Um das Einhalten der Ernährungsintervention zu überprüfen, werden Ernährungstagebücher geführt und nach den ersten beiden Wochen des Beobachtungszeitraums durch die Praxen kontrolliert.

Wurde die tägliche Einnahme der Knochenbrühe mehr als 1x in den ersten beiden Anwendungswochen ausgesetzt, wird dies dokumentiert. Sollte die Einnahme mehr als 2x vergessen worden sein, kann der Patient die Teilnahme an der AWB nicht fortsetzen.

Hat der Patient das Ernährungstagebuch nicht täglich ausgefüllt, kann er die Teilnahme an der AWB nicht fortsetzen.

Sollte der Patient über den gesamten Beobachtungszeitraum die Einnahme der Brühe mehr als 3x pro Monat ausgesetzt haben, wird der Datensatz nicht in die Auswertung aufgenommen.

Sollte der Patient über den gesamten Beobachtungszeitraum das Ernährungstagebuch mehr als 3x pro Monat nicht ausgefüllt haben, wird der Datensatz nicht in die Auswertung aufgenommen.

Ethik, Aufkündigung der Teilnahme, Abbruch der AWB

Die AWB berücksichtigt die ethischen und rechtlichen Vorschriften in der jeweils gültigen Form. Dies sind in erster Linie die ärztliche Schweigepflicht und das Bundesdatenschutzgesetz bzw. die DSGVO. Das Arzneimittelgesetz findet in dieser AWB keine Anwendung.

Jeder Patient hat das Recht, jederzeit und ohne Begründung eine weitere Teilnahme an der AWB abzulehnen. Wird ein Grund angegeben, so soll er im Beobachtungsbogen vermerkt werden.

Auf Wunsch des Patienten muss die Beobachtung sofort abgebrochen werden. Darüber hinaus sollte bei erheblicher Verschlechterung des Zustands des Patienten immer überlegt werden, die individuell notwendigen Maßnahmen anzupassen.

Nach Ermessen des prüfenden Therapeuten kann der Patient jederzeit aus der AWB genommen werden. Zeigt der Patient im Verlauf der AWB Reaktionen, die seine Aufnahme in die AWB gemäß den Ausschlusskriterien nicht erlaubt hätten, muss er sofort aus der AWB genommen werden. Die Gründe hierfür müssen jeweils vollständig dokumentiert werden.

Die Bone Brox GmbH kann die Entscheidung treffen, die gesamte AWB aus medizinischen Gründen einzustellen.

Darüber hinaus behält sich die Bone Brox GmbH das Recht vor, die AWB jederzeit zu beenden, wenn sie nicht, wie im Beobachtungsplan festgelegt, durchgeführt werden kann.

5.2 Auswahl der Patienten

Einschlusskriterien (EK)

- EK1: Alter: 18-70 Jahre
- EK2: eines oder mehrere der folgenden Symptome, die auf ein Leaky-Gut-Syndrom oder Darmentzündungen hinweisen:
 - Wiederkehrender Durchfall
 - Häufige Blähungen
 - Wiederkehrende Bauchschmerzen
 - Nahrungsmittelunverträglichkeiten/-allergien
 - Häufige Kopfschmerzen, Migräne
 - Häufige Müdigkeit und/oder Erschöpfung
 - Hautprobleme
 - Zöliakie
 - Morbus Crohn
 - Colitis ulcerosa
 - Reizdarm-Syndrom
 - unspezifische Magen-Darm-Beschwerden, die nicht auf eine akute Infektion zurückzuführen sind
- EK3: Mündliche und schriftliche Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der AWB
- EK4: mindestens ein Ergebnis, der zu testenden Biomarker ist in der ersten Stuhlprobe oberhalb des Normbereichs
 - Zonulin > 61 ng/g
 - Alpha-1-Antitrypsin \geq 0,27 mg/g
 - Calprotectin \geq 50 μ g/g

Ausschlusskriterien (AK)

- AK1: Erhöhter Alkoholkonsum (als Frau: mehr als 5x pro Woche 0,1 Liter Wein oder Sekt, mehr als 0,25 Liter Bier oder 4 Zentiliter Schnaps pro Tag. Bei Männern gilt: die doppelte der oben angegebenen Menge)
- AK2: Raucher/in
- AK3: für Frauen: Schwangerschaft oder Stillzeit
- AK4: bereits in Vergangenheit diagnostizierte karzinogene Vorgänge im Darm (ehemalige Darmkrebspatienten)
- AK5: akuter Darmkrebspatient
- AK6: Kollagene Colitis (wässrige Durchfälle verhindern Probennahme für Biomarker)
- AK7: schwere internistische Erkrankung

- AK8: Anamnestisch bekannte allergische Reaktion oder Unverträglichkeit von Hühnerfleisch oder Pilzen
- AK9: Systematische Behandlung mit Immunsuppressive in den letzten 4 Wochen vor Aufnahme in die AWB und/oder während der AWB
- AK10: Laufende Immuntherapie (Hyposensibilisierung)
- AK11: Einnahme von Antibiotika in den letzten 4 Wochen vor Aufnahme in die AWB und/oder während der AWB
- AK12: Einnahme von Glukokortikoiden in den letzten 4 Wochen vor Aufnahme in die AWB und/oder während der AWB
- AK13: Einnahme von Kardiaka in den letzten 4 Wochen vor Aufnahme in die AWB und/oder während der AWB
- AK14: Keine NEUE Medikation für die Magen-Darm-Beschwerden während der AWB
- AK15: Einnahme von Kollagenpräparaten in den letzten 3 Monaten vor Aufnahme in die AWB
- AK16: Andere Gründe, die eine unvollständige Durchführung erwarten lassen oder mit sich bringen können (z.B. vorgesehener Umzug, erwartete Non-Compliance etc.)

Abbruchkriterien (ABK)

- ABK1: mehr als 2x pro Monat die tägliche Einnahme der Knochenbrühe ausgesetzt (bei einmaligem Vergessen: Therapeut anrufen, ab dem 3. Vergessen pro Monat: Abbruch)
- ABK2: Exazerbation der bestehenden Symptome nach Verzehr der Knochenbrühe
- ABK3: Andere schwerwiegende Symptome, auch wenn sie nicht mit der AWB in Verbindung stehen, jedoch eine Behandlung erfordern

5.3 Ernährungsintervention: Daten zur verwendeten Brühe

- **Inhaltsstoffe der Freilandhühnerbrühe** (alle aus kontrolliert biologischem Anbau): Grandewasser, Geflügelkarkassen (36%), Zwiebeln, Lauch, Karotten, Steinsalz, Fenchel, Petersilienwurzel, schwarzer Pfeffer, Piment, Kümmel, Wacholder, Ingwer, Lorbeer
- **Nährwerte der Freilandhühnerbrühe**

○ Brennwert	227,4 kJ / 54,4 kcal
○ Fett	3,1 g
▪ davon gesättigte Fettsäuren	900 mg
○ Kohlenhydrate	0,2 g
▪ davon Zucker	0,2 g
○ Eiweiß	6,4 g
○ Salz	0,6 g

5.4 Labor

Die labormedizinischen Analysen wurden durchgeführt von:

Medizinisches Versorgungszentrum
Institut für Mikroökologie GmbH
Auf den Lüppen 8
35745 Herborn

5.5 Konzeption, Auswertung, Abschlussbericht

Die Konzeption der Anwendungsbeobachtung wurde durchgeführt von:

Bone Brox GmbH, Berlin,

sowie

Institut für Evolutionäre Gesundheit
Dr. Sabine Paul
Skylineblick 14
60438 Frankfurt

Die Auswertung und der Abschlussbericht wurden erstellt von:

Institut für Evolutionäre Gesundheit
Dr. Sabine Paul
Skylineblick 14
60438 Frankfurt

5.6 Datenmanagement und Verwahrung der Aufzeichnungen

Ausfüllen der Beobachtungsunterlagen

Alle Daten, die gemäß Beobachtungsplan erhoben werden sollen, müssen auf den bereitgestellten Bögen eingetragen werden, immer mit Kugelschreiber in einer lesbaren Schrift. Bleistift und Korrekturflüssigkeit sind nicht gestattet.

Falls Korrekturen erforderlich sind, werden sie vom beobachtenden Therapeuten bzw. von einem autorisierten Mitarbeiter wie folgt durchgeführt: Die falsche Eintragung wird durchgestrichen, muss aber noch lesbar bleiben. Die Korrektur wird daneben eingetragen, der Therapeut zeichnet sie ab und datiert sie.

Bei Änderungen von Daten, die unerwünschte Ereignisse oder die Hauptzielvariablen betreffen, muss in der Nähe der Eintragung von der korrigierenden Person eine Begründung für die Änderung angegeben werden.

Umgang mit Studienmaterialien

Der behandelnde Therapeut bestätigt schriftlich den Empfang von Studienmaterialien und wird diese nur im Rahmen dieser Anwendungsbeobachtung und nur in Übereinstimmung mit dem vorliegenden Beobachtungsplan verwenden. Nicht eingesetztes Studienmaterial ist zurückzugeben.

Archivierung

Nach Abschluss der AWB müssen alle angefallenen Dokumente einem Therapeutenordner aufbewahrt werden. Die Bone Brox GmbH wird die beobachtenden Therapeuten informieren, wenn die Unterlagen nicht mehr länger aufbewahrt werden müssen.

Essentielle Dokumente sind insbesondere die Listen, anhand derer die Teilnehmer an der AWB identifiziert werden können. Diese Liste und die von den Patienten und dem aufklärenden Therapeuten unterschriebenen Einverständniserklärungen stellen die Schlüsseldokumente dar, die vom beobachtenden Therapeuten aufbewahrt werden müssen. Krankenberichte müssen gemäß den örtlichen Vorschriften archiviert werden.

5.6 Finanzierung

Die Finanzierung der AWB übernimmt die Bone Brox GmbH. Mit den einzelnen Dienstleistern werden darüber entsprechende schriftliche Vereinbarungen getroffen.

5.7 Dokumente und Fragebögen

Folgende Dokumente und Fragebögen wurden verwendet:

- Infoblatt AWB für Patienten
- Infodokument für Arzt oder Heilpraktiker nach Zusage
- Patienteninformation und Einwilligungserklärung
- Info Patient Ablauf Anwendungsbeobachtung, wichtigste Eckdaten
- Anamnesebogen/Aufnahmebefund
- Fragebogen Darmgesundheit
- Fragebogen Haut
- Fragebogen SF 36
- Fragebogen nach 8-wöchiger-Verzehrphase/Abschlussbefund
- Ernährungstagebuch