

Dartsch Scientific GmbH · Auf der Voßhardt 25 · D-49419 Wagenfeld

CellGenius GmbH

Bundesstrasse 41

A- 6063 Rum, Österreich

Auf der Voßhardt 25
D-49419 Wagenfeld, Germany

Fon: +49 5444 980 1322

Mobil: +49 151 2272 1294

Email: info@dartsch-scientific.com

Web: www.dartsch-scientific.com

6. Mai 2021

TESTBERICHT

Förderliche Wirkeffekte des CellActivators auf zellulärer Ebene

Hintergrund und Fragestellung

Der CellActivator der Firma CellGenius GmbH aus A-6063 Rum in Österreich wird auf der Homepage (www.cellgenius.at) so beschrieben, dass er die Raumluft energetisiert und so den Anwender mit energiereichem Sauerstoff versorgt. Zudem werden lt. Hersteller die "Verklebungen und sogenannten „Geldrollenbildungen“ der roten Blutkörperchen, die für den Sauerstofftransport und Versorgung der Körperzellen zuständig sind, ... innerhalb einer 15-minütigen Anwendung mit dem CellActivator weitestgehend aufgelöst. Die Blutbahnen sind wieder frei und die Sauerstoffzufuhr zu den Zellen wird damit wieder erheblich gesteigert." Durch die gleichzeitige Anwendung des CellTrainers soll neben der Steigerung der körperlichen Fitness u.a. auch die Immunabwehr verbessert und somit insgesamt Lebensfreude und Wohlbefinden gesteigert werden.

In der vorliegenden Studie wurde mit aktuellen zellbiologischen Testverfahren untersucht, ob der CellActivator in der Lage ist, die angeborene (nicht erworbene) primäre Immunabwehr zu verbessern, indem der Stoffwechsel sowie die endogene Bildung von Radikalen zum Abtöten der ins Blut eingedrungenen Fremdkeime gefördert wird. Weiterhin wurde untersucht, ob die Anwendung des CellActivators einen direkten förderlichen Einfluss auf die Zellregeneration hat.

Grundsätzlicher Versuchsaufbau

Der CellActivator wurde in der Sterilwerkbank außerhalb des Brutschrankes so aufgebaut, dass er aus einer Entfernung von 50 cm in einem Winkel von etwa 45° auf die Zellen einwirken konnte. Die Einwirkungszeit auf die Zellen betrug immer 2 x 15 min in einem zeitlichen Abstand von 12 Stunden. Die Kontrollen wurden unter den gleichen äußeren Bedingungen gleichzeitig in der Sterilwerkbank etwa 40 cm hinter dem CellActivator aufgestellt.

Stoffwechsel & Radikalbildung bei funktionalen Neutrophilen

Die Untersuchungen wurden mit Promyelozyten der Zelllinie HL-60 (ACC-3; ECACC 98070106; Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig) durchgeführt. Die Zellen wurden routinemäßig in RPMI 1640 mit 10 % Wachstumsgemisch und 0,5 % Gentamycin kultiviert und in einem Brutschrank bei 37 °C und einer Atmosphäre aus 5 % CO₂ und 95 % Luft sowie nahezu 100%iger Luftfeuchtigkeit inkubiert.

Routinemäßig wurden diese nicht adhärent wachsenden Zellen in Suspensionskulturen kultiviert. Unter speziellen Kulturbedingungen mit 1,5 Vol% Dimethylsulfoxid wurden die Zellen innerhalb eines sechstägigen Zeitraumes zu sog. funktionalen Neutrophilen differenziert. Dies sind Zellen, welche für die Abwehr von eingedrungenen Fremdkeimen im Blut (sog. mikrobielle Pathogene) zuständig sind und diese Keime durch die Produktion von Superoxidanion-Radikalen zunächst abtöten und dann absorbieren. Daher werden sie auch Freßzellen oder Phagozyten genannt.

Die Untersuchung der Radikalbildung nach Stimulation wurde bei den funktionalen Neutrophilen nach einer zweimaligen Behandlung für jeweils 15 min mit dem CellActivator einen Tag und unmittelbar vor dem eigentlichen Test durchgeführt. Die funktionalen Neutrophilen wurden nach Zentrifugation und mehrmaligem Waschen in Phosphatpuffer durch Zugabe eines Phorbolesters in das Reaktionsgemisch dazu angeregt, Superoxidanion-Radikale zu bilden. Die Radikale führten dabei zu einer Spaltung eines ebenfalls dem Versuchsansatz zugesetzten Tetrazoliumfarbstoffes WST-1 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen). Dabei war die Menge der gebildeten Sauerstoffradikale direkt proportional zur Farbstoffspaltung, d. h. je mehr reaktive Radikale vorhanden waren, desto stärker war die Farbstoffspaltung und damit auch die Änderung der optischen Dichte (= Farbe). Wurden die von den Zellen gebildeten Radikale durch den Wirkstoff inaktiviert, so veränderte sich die optische Dichte weniger stark. Die Änderung der optischen Dichte wurde als Differenzmessung bei definierten Wellenlängen und zu definierten Zeitpunkten bis 30 min mit einem Elisareader (BioTEK Elx 808 mit Software Gen 5 Version 3.00) gemessen und mit Microsoft Excel ausgewertet. Zusätzlich wurde auch der basale Zellstoffwechsel der funktionalen Neutrophilen ohne Aktivierung des oxidativen Burst bis zu 180 min nach Testbeginn gemessen.

Es wurden drei unabhängige Versuche mit Doppelmessungen durchgeführt. Die statistische Analyse der Versuchsergebnisse wurde mit dem parameterfreien zweiseitigen Wilcoxon-Mann-Whitney-Test vorgenommen.

Ergebnis: Wie in Abb. 1 graphisch dargestellt, bewirkte die Behandlung der funktionalen Neutrophilen für 2 x 15 min mit dem CellActivator im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle eine Stimulation des basalen Zellstoffwechsels um $19,9 \pm 3,7$ % (Mittelwert \pm Standardabweichung) sowie simultan dazu auch eine verstärkte Bildung reaktiver Sauerstoffradikale um $17,6 \pm 4,9$ % (Mittelwert \pm Standardabweichung). Beide Werte sind im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle statistisch signifikant verbessert ($p \leq 0,01$).

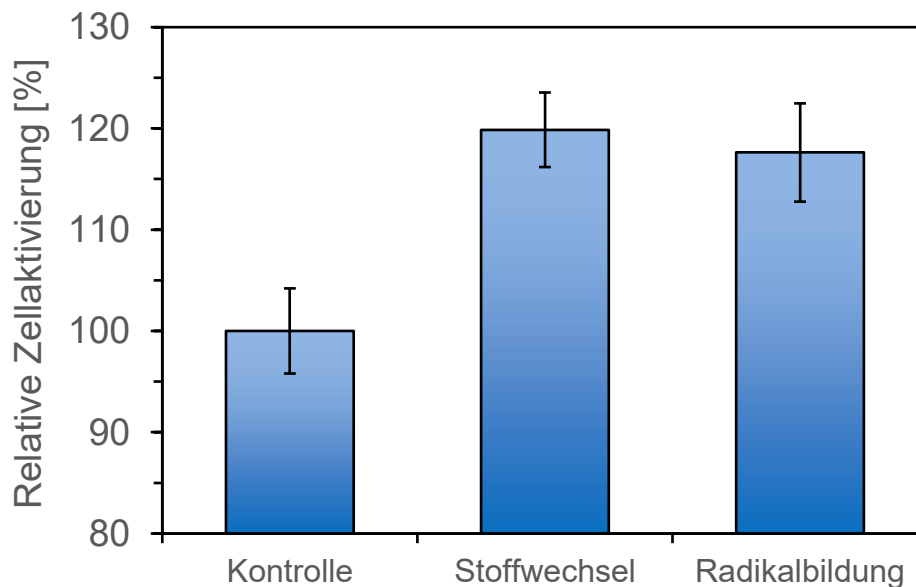


Abb. 1: Darstellung des basalen Zellstoffwechsels und der Radikalbildung der funktionalen Neutrophilen nach 2 x 15 min Behandlung mit dem CellActivator. Die Stimulation des Zellstoffwechsels und die damit einhergehende Produktion von mehr reaktiven Sauerstoffradikalen zur verbesserten Abwehr von mikrobiellen Pathogenen ist deutlich erkennbar. Die unbehandelte Kontrolle wurde gleich „100 %“ gesetzt. Beide Messparameter sind nach der Behandlung statistisch signifikant unterschiedlich von der unbehandelten Kontrolle ($p \leq 0,01$; Wilcoxon-Mann-Whitney-Test). Angegeben ist der Mittelwert \pm Standardabweichung von drei unabhängigen Versuchen mit Doppelproben.

Zellregeneration bei Bindegewebsfibroblasten

Die Untersuchungen wurden mit Bindegewebsfibroblasten (Zelllinie L-929, ACC-2, Leibniz Institut DSMZ, Braunschweig) durchgeführt. Die Zellen wurden in RPMI 1640 mit 10 % Wachstumsgemisch und 0,5 % Gentamycin in einem Begasungsbrutschrank bei 37 °C in einer Atmosphäre aus 5 % CO₂ und 95 % Luft bei annähernd 100%iger Luftfeuchtigkeit kultiviert.

Die Bindegewebsfibroblasten wurden in einer Dichte von 100.000 Zellen/ml in die vier Kompartimente eines Silikonrahmens (4 well-culture inserts; ibidi, Gräfelfing) ausgesät. Die einzelnen Kompartimente sind durch einen 500 µm dicken Silikonsteg voneinander getrennt. Wegen des speziellen Adhäsionsbereiches des Silikonrahmens haftet dieser fest auf dem Boden einer Kulturschale und bildet so einen zellfreien Raum, den die Zellen nach dem Entfernen des Rahmens durch Teilung und Wanderung besiedeln können. Nach Erreichen der Konfluenz (= Zellen liegen dicht and dicht) innerhalb von 48 Stunden nach der Zellaussaat wurden die Silikonrahmen mit einer Pinzette vorsichtig entfernt. So wurde ein scharfer Zellrand zwischen den vier Kompartimenten des Rahmens erhalten.

Direkt nach dem Entfernen des Silikonrahmens wurden die Zellkulturen für 15 min mit dem CellActivator behandelt, im Brutschrank für 12 h inkubiert und dann nochmals für 15 min mit dem CellActivator behandelt.

Nach der Inkubation im Brutschrank für weitere 8 Stunden wurden die Zellen mit Phosphatpuffer gewaschen, mit Methanol p.a. fixiert, mit Giemsa-Methylenblau-Lösung gefärbt, luftgetrocknet und die Breite des noch verbliebenen zellfreien Bereiches am Mikroskop an mindestens 12 Stellen ausgemessen. Insgesamt wurden drei unabhängige Versuchsreihen ($n = 3$) durchgeführt. Es wurde die relative Zellregeneration im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle berechnet. Die statistische Analyse der Versuchsergebnisse wurde mit dem parameterfreien zweiseitigen Wilcoxon-Mann-Whitney-Test vorgenommen.

Ergebnis: Bereits die morphologische Auswertung der Zellregeneration zeigte eine deutliche Verbesserung der Besiedlung des zellfreien Raumes im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle durch die Behandlung mit dem CellActivator für nur 2×15 min (Abb. 2). Die quantitative Auswertung der Förderung der Zellregeneration durch die Behandlung mit dem CellActivator im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle betrug $21,9 \pm 10,5$ % (Mittelwert \pm Standardabweichung) und war statistisch signifikant ($p \leq 0,05$).

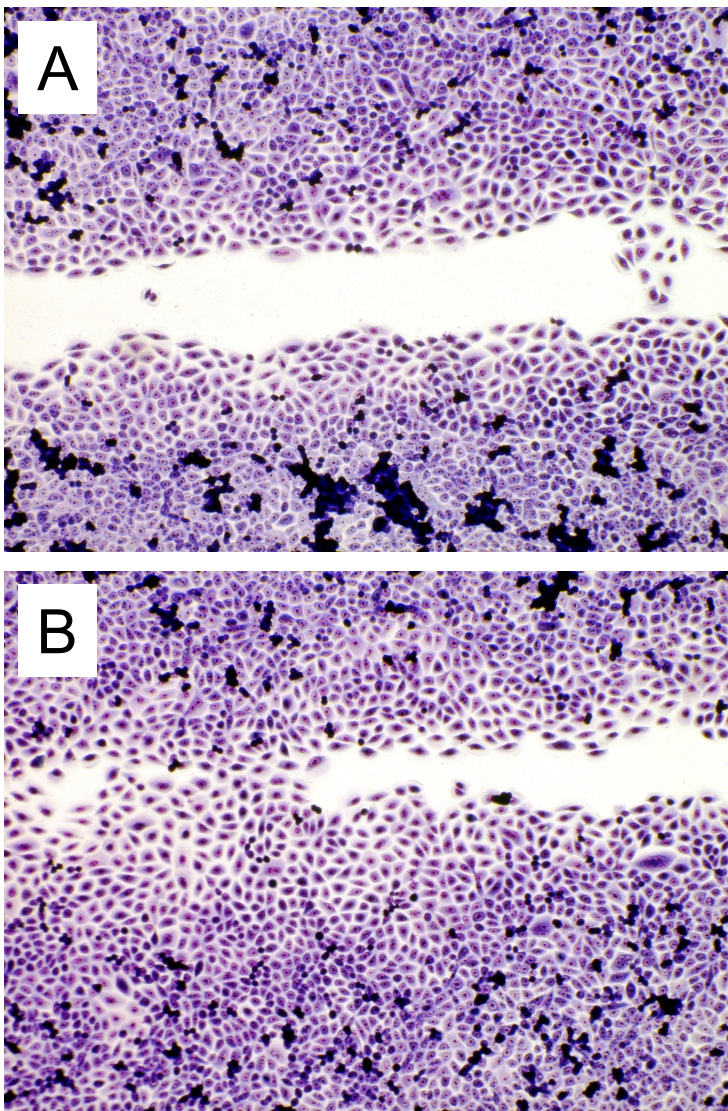


Abb. 2: Mikroskopische Darstellung der förderlichen Wirkung des CellActivators nach 2×15 min Einwirkungszeit auf die Zellregeneration kultivierter Bindegewebsfibroblasten. (A) Unbehandelte Kontrolle. (B) Effekt nach Behandlung mit dem CellActivator. Fixierte und angefärbte Präparate im Olympus IX-50 Inversmikroskop mit 10x Planachromat und Olympus E-10 bei 4 Megapixeln Auflösung im Durchlicht-Hellfeld-Verfahren.

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

In den hier durchgeführten tierversuchsfreien Untersuchungen mit kultivierten organspezifischen Zellen hat der CellActivator der Firma CellGenius GmbH seine förderlichen Eigenschaften auf Zellebene bei nur einer zweimaliger Anwendung für jeweils 15 min zeigen können. In den durchgeführten Untersuchungen war er in der Lage, den Stoffwechsel und die Radikalbildung von Abwehrzellen im Blut zu verbessern sowie die Regeneration von Bindegewebszellen zu stimulieren. Die Verwendung des Produktes kann daher zur Förderung der angeborenen Immunabwehr im Blut und des Wohlbefindens durch eine Verbesserung von Zellvitalität und Regeneration bestens empfohlen werden.



Prof. Dr. Peter C. Dartsch
Diplom-Biochemiker