

Dartsch Scientific GmbH - Na Vosshardt 25 - D-49419 Wagenfeld

Centropix Global AG
c/o Pan Nik Gleim
Industriering 10

FL-9491 Ruggell

Pod adresem Vosshardt 25
D-49419 Wagenfeld, Niemcy

Telefon: +49 5444 980 1322 Komórka: +49
151 2272 1294 E-mail: info@dartsch-
scientific.com Strona internetowa:
www.dartsch-scientific.com

19 maja 2021 r

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ

Regeneracja komórek/gojenie się ran w hodowanych fibroblastach tkanki łącznej pod wpływem urządzenia KLOUD.

Tło

W tym badaniu in vitro zbadano możliwe korzystne działanie urządzenia KLOUD z Centropix Global AG, FL-9491 Ruggell, w sprawie regeneracji komórek hodowanych fibroblastów tkanki łącznej. In vivo proces regeneracji komórek/gojenia się ran można podzielić na trzy określone etapy: fazę oczyszczania, fazę granulacji i fazę różnicowania. W niniejszej pracy zbadano wpływ urządzenia KLOUD na fazę ziarninowania, która charakteryzuje się zwiększonym podziałem i migracją komórek tkanki łącznej w celu kolonizacji przestrzeni wolnej od komórek.

Krótki opis testowanego produktu

Według Centropix Global AG urządzenie KLOUD nie jest wyrobem medycznym, lecz należy do obszaru produktów wellness i fitness i służy do „fizycznej aktywacji procesów fizjologicznych za pomocą określonych, pulsujących pól elektromagnetycznych o niskiej częstotliwości”. Według producenta użytkownicy zgłaszają liczne pozytywne efekty, w tym poprawę sprawności fizycznej i umysłowej oraz przyspieszoną regenerację po wysiłku. Efekty te podnoszą jakość życia i radość życia użytkowników. Urządzenie KLOUD zostało udostępnione dzięki uprzejmości firmy Centropix Global AG na czas trwania badań.

Używane programy urządzenia KLOUD

W tym badaniu in vitro zastosowano dwa różne programy urządzenia:

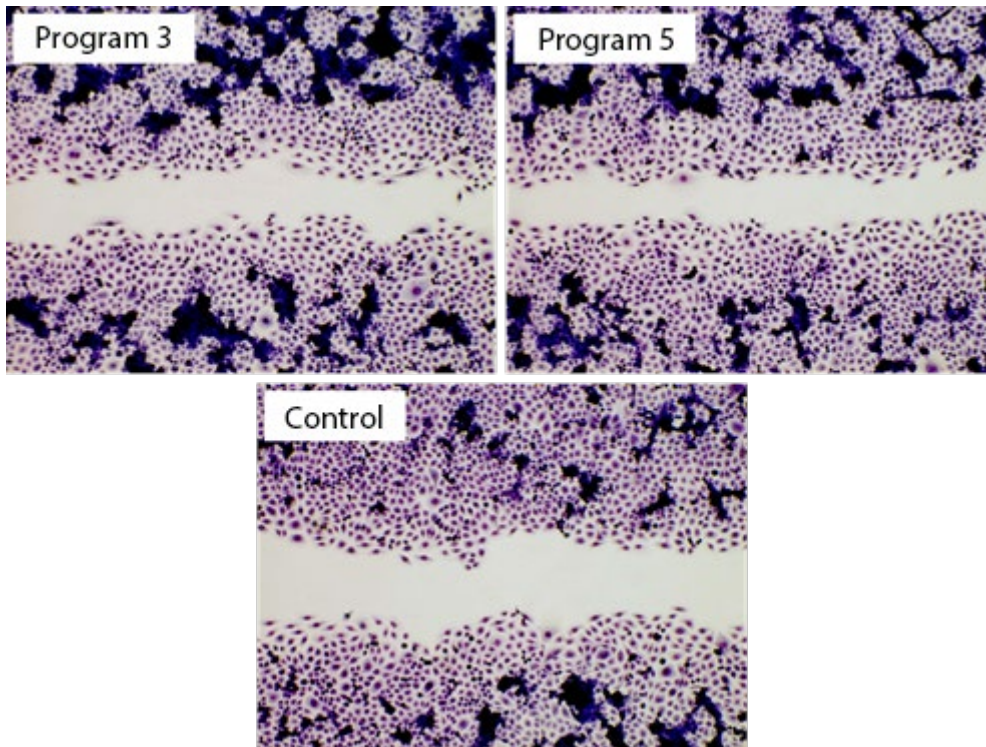
- **Program 3 (energetyzatory):** Sygnały, które zasadniczo zmieniają się z wolnej na szybszą sekwencję impulsów i ich intensywność.
- **Program 5 (Transformatory):** Sygnały zaprojektowane w celu wspierania samoleczenia i odczuwania odświeżającego poczucia regeneracji

Konfiguracja eksperymentu i wykonanie testów

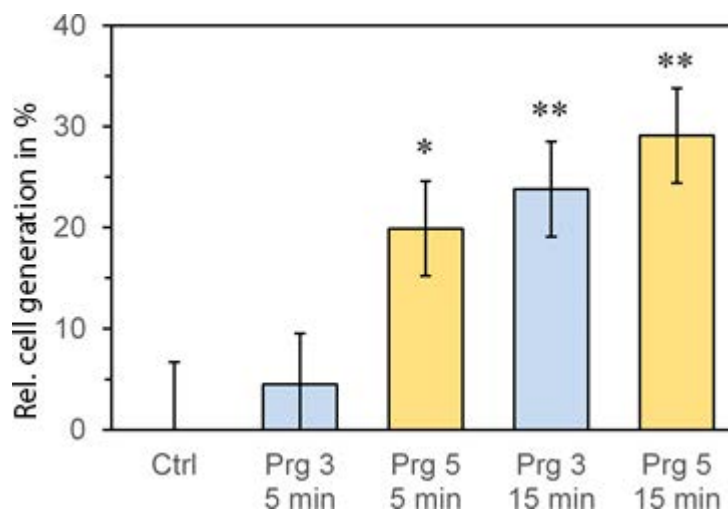
Badania przeprowadzono na fibroblastach tkanki łącznej (linia komórkowa L-929, ACC-2, Leibniz Institute DSMZ, Brunszwik, Niemcy). Komórki rutynowo hodowano w RPMI 1640 z 10% mieszaniną wzrostową i 0,5% gentamycyną w inkubatorze gazowym w 37°C w atmosferze 5% CO₂ i 95% powietrza przy około 100% wilgotności. Fibroblasty tkanki łącznej wysiano z gęstością 100 000 komórek/ml do czterech przedziałów silikonowej ramki (4 dołkowe wkładki do hodowli; ibidi, Gräfelfing, Niemcy). Poszczególne przedziały są oddzielone od siebie silikonową listwą o grubości 500 µm. Ze względu na specjalny obszar przylegania silikonowej ramki mocno przylega ona do dna szalki hodowlanej, tworząc wolną od komórek przestrzeń, którą komórki mogą ponownie zaludnić poprzez podział i migrację po usunięciu ramki. Po osiągnięciu konfluencji (= komórki leżą blisko siebie) w ciągu 48 godzin po wysianiu komórek, silikonowe ramki ostrożnie usunięto pęsetą. W ten sposób uzyskano ostrą krawędź komórki pomiędzy czterema przedziałami ramy. Natychmiast po zdjęciu silikonowej ramki szalki umieszczono na aplikatorze urządzenia KLOUD. Komórki poddano działaniu sygnałów z urządzenia KLOUD przez 5 i 15 minut przy poziomie intensywności 5, a następnie inkubowano bez zakłóceń w inkubatorze przez kolejne 20 godzin. Komórki traktowane w ten sam sposób, ale bez ekspozycji na urządzenie KLOUD, służyły jako kontrole. Po 20 godzinach komórki przemyto buforem fosforanowym, utrwalono metanolem Pa, wybarwiono roztworem błękitu metylenowego Giemsy, wysuszone na powietrzu i zmierzono pod mikroskopem szerokość pozostałego obszaru wolnego od komórek. W sumie wykonano 12 pomiarów pozostałej przestrzeni wolnej od komórek na szalkę hodowlaną dla każdego zestawu eksperymentalnego w sumie w trzech niezależnych zestawach eksperymentalnych (n = 3). Regenerację komórek obliczono w porównaniu z nietraktowaną kontrolą. Analizę statystyczną wyników eksperymentu przeprowadzono za pomocą bezparametrowego dwustronnego testu Wilcozona-Manna-Whitneya.

wyniki

Już morfologiczna prezentacja kultur w bezpośrednim porównaniu wykazała, że jedno i drugie Programy urządzenia KLOUD były w stanie znacznie poprawić kolonizację przestrzeni wolnej od komórek, a tym samym regenerację komórek/gojenie się ran, przy 15-minutowym czasie ekspozycji i poziomie intensywności 5 (ryc. 1). Ocena ilościowa pokazała to jeszcze bardziej imponująco, pokazując również różnice między skutecznością obu programów w zależności od czasu ekspozycji (ryc. 2). Program 3 spowodował znaczącą stymulację regeneracji komórek o $23,8 \pm 4,7\%$ (średnia $\pm$ SEM; $p \leq 0,01$) w porównaniu z kontrolą nietraktowaną wyłącznie po 15-minutowym czasie ekspozycji. Natomiast program 5 wykazał znaczącą stymulację $19,9 \pm 4,7\%$ już po 5 min, która dalej wzrosła do $29,1 \pm 4,9\%$ po 15 min (obie wartości średnie $\pm$ SEM; $p \leq 0,01$ w porównaniu z kontrolą).



Rysunek 1: Mikroskopijne przedstawienie wpływu dwóch programów zastosowanego urządzenia KLOUD (każdy po 15 minut, poziom intensywności 5) na następną 20-godziną regenerację hodowanych fibroblastów tkanki łącznej. Wyraźnie widać wyraźnie zmniejszoną przestrzeń wolną od komórek w dwóch traktowanych hodowlach z powodu stymulowanej migracji i podziału komórek w porównaniu z nietraktowaną kontrolą. Hodowle komórkowe po utrwaleniu i wybarwieniu. Odwrócony mikroskop Olympus IX-50 z 10-krotnym planachromatem i Olympus E-10 o rozdzielczości 4 megapikseli z wykorzystaniem techniki jasnego pola w świetle przechodzącym.



Rysunek 2: Graficzne przedstawienie stymulacji regeneracji komórek/gojenia się ran za pomocą dwóch programów urządzenia KLOUD zastosowanych na poziomie intensywności 5. Nietraktowaną kontrolę ustawiono jako równą „0”. Kolumny reprezentują wartości średnie $\pm$ SEM z 3 niezależnych eksperymentów. * $p \leq 0,05$ i ** $p \leq 0,01$ w porównaniu z nietraktowaną kontrolą (dwustronny test Wilcozona-Manna-Whitneya). Nie zaobserwowano znaczącej różnicy między dwoma programami przy 15-minutowym czasie ekspozycji na urządzenie KLOUD.

wnioski

Urządzenie KLOUD firmy Centropix Global AG, FL-9491 Ruggell, które zostało zbadane pod kątem korzystnych efektów w tym badaniu eksperymentalnym, spowodowało przyspieszoną regenerację komórek/ gojenie się ran in vitro przy użyciu obu programów (Energizer i Transformer). Przejawiało się to w stymulowanej migracji komórek i podziałach komórkowych w celu kolonizacji i zamknięcia wolnej od komórek przestrzeni. W ten sposób, również na poziomie biologii eksperymentalnej komórki, można potwierdzić wyniki praktycznego zastosowania i zalecać stosowanie urządzenia KLOUD z tymi programami.



Prof. Dr. Petera C. Dartscha
Biochemik