

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

Firma

Symbioceuticals-Harmonizer GmbH

Gangsteig 2

A-5082 Grödig

Auf der Voßhardt 25

D-49419 Wagenfeld, Germany

Fon: +49 5444 980 1322

Fax: +49 5444 980 1332

Mobil: +49 151 2272 1294

Email: info@dartsch-scientific.com

Web: www.dartsch-scientific.com

29. Juli 2016

TESTBERICHT & FACHINFORMATION

Tierversuchsfreie Untersuchungen zu den wundheilungsfördernden Wirkeffekten des Harmonizer M.E.D.

1 Hintergrund

Beim Wundheilungsprozess kann zwischen der Reinigungsphase (Exsudation und Resorption), der Granulationsphase (Proliferation und Festigung) und der Differenzierungsphase (Epithelialisierung und Narbenbildung) unterschieden werden. Speziell die Granulationsphase wird in dem hier verwendeten Testsystem simuliert. Diese Phase zeichnet sich durch das Auftreten von Zellwanderung und Zellproliferation zur Defektauffüllung aus. Vorherrschender Zelltyp sind hier Fibroblasten sowohl aus dem umgebenden als auch aus dem darunter liegenden intakten Gewebe.

2 Fragestellung

Die Fragestellung der vorliegenden Untersuchung war, ob der Harmonizer M.E.D. der Firma Symbioceuticals-Harmonizer GmbH aus A-5082 Grödig, Österreich, den Wundheilungsprozess günstig beeinflussen und so zu einer schnelleren Defektauffüllung beitragen kann. Zur Anwendung kamen dabei gleichzeitig die Module Nr. 3 (ATP-Verbesserungs-Modul) und Nr. 4 (Narben-Modul). Im Vordergrund der Untersuchungen stand dabei die kontinuierliche Aufzeichnung der simulierten Wundheilung in einem speziellen Zeitraffer-Video-System, welches die Aufzeichnung der zellulären Prozesse über einen mehrtägigen Zeitraum erlaubt. Gleichzeitig konnten durch diese Versuche auch konkrete Zahlenwerte ermittelt werden, welche den Zeitpunkt des Wundschlusses mit und ohne Einwirkung des Harmonizer M.E.D. charakterisieren und somit mögliche stimulierende Effekte erfasst werden.

3 Experimentelles Design & Versuchsdurchführung

Bindegewebsfibroblasten der Zelllinie L-929 (Zellen der Passagen 27 und 28) wurden in einer Dichte von 500.000 Zellen/ml in die beiden Vertiefungen eines Zellkultureinsatzes aus Silikon für eine definierte Lücke in der Zellschicht (Culture insert 2-Well; ibidi) ausgesät und im Brutschrank bei 5 % CO₂-Begasung in einer feuchten Atmosphäre bei 37 °C inkubiert. Als Kulturmedium diente RPMI 1640 mit 10 % fetalem Kälberserum und den üblichen Mengen an Penicillin und Streptomycin. Die Zellkultureinsätze waren vorher auf den optisch besonders homogenen Boden eines μ -Dish 35 mm mit hohem Rand und einem # 1,5 Polymer-Deckglas (ibidi, München) aufgesetzt worden. Sobald die Zellschicht der ausgesäten Fibroblasten (i.d. R. innerhalb von 2 Tagen) konfluent war, wurde der Zellkultureinsatz mit einer Pinzette vorsichtig entfernt und so in der Mitte ein scharf abgegrenzter, zellfreier Raum (= Wunde) mit einer Breite von 500 μ m geschaffen. Nach mehrmaligem Spülen mit frischem Kulturmedium wurden schließlich 2 ml Leibowitz L-15 Kulturmedium mit 5 % fetalem Kälberserum und den üblichen Mengen an Penicillin und Streptomycin eingefüllt. Dieses Kulturmedium bleibt auch ohne Begasung mit CO₂ über mehrere Tage pH-stabil. Das μ -Dish wurde dann in die Temperatur-geregelte Inkubationskammer (ibidi Heating System) eingelegt und die beiden Handelektroden des Harmonizer M.E.D. über und unter der Inkubationskammer angebracht. Die rote Handelektrode (Plus-Elektrode) befand sich dabei über der Inkubationskammer und die schwarze Handelektrode (Minus-Elektrode) unter der Inkubationskammer. Für ein besseres Verständnis des Versuchsaufbaus, siehe Abbildung 1.

Der Verlauf der Wundheilung, d.h. die Neubesiedlung des zellfreien Raumes durch die Einwanderung und verstärkte Teilungsaktivität der Bindegewebsfibroblasten wurde über einen zweitägigen Zeitraum kontinuierlich aufgezeichnet. Dazu wurde eine Basler acA 1920-150uc Videokamera am seitlichen Mikroskopansatz adaptiert und über ein USB-3-Kabel mit einem Hochleistungs-Computer (Optiplex 7100; Dell) und hoher Festplattenkapazität verbunden. Durch die Software (Pylon Viewer 4.2.0.4240; Basler) wurden die Aufnahmeparameter der Kamera eingestellt und optimiert. Es wurde alle zwei Minuten eine Aufnahme im Format 1920 x 1200 Pixel angefertigt, welche im TIFF-Format auf der Festplatte abgespeichert wurde. Nach spätestens 1400 Einzelaufnahmen pro Videosequenz (= 10 Gigabyte Speicherplatz) war auch in den unbehandelten Kontrolle der zellfreie Raum geschlossen. Es wurde jede zweite Aufnahme ins JPEG-Format konvertiert und mit der Software Video Deluxe 2015 (Version 14.0.0.172; Magic) nach Schärfe- und Kontrastoptimierung ein MPEG4-Video mit einer Länge von 28 Sekunden bei 25 fps erstellt. Durch die bildgenaue Visualisierung des Wundschlusses konnte exakt die Zeit für die Wiederbesiedlung des zellfreien Raumes mit und ohne Harmonizer M.E.D. ermittelt werden.

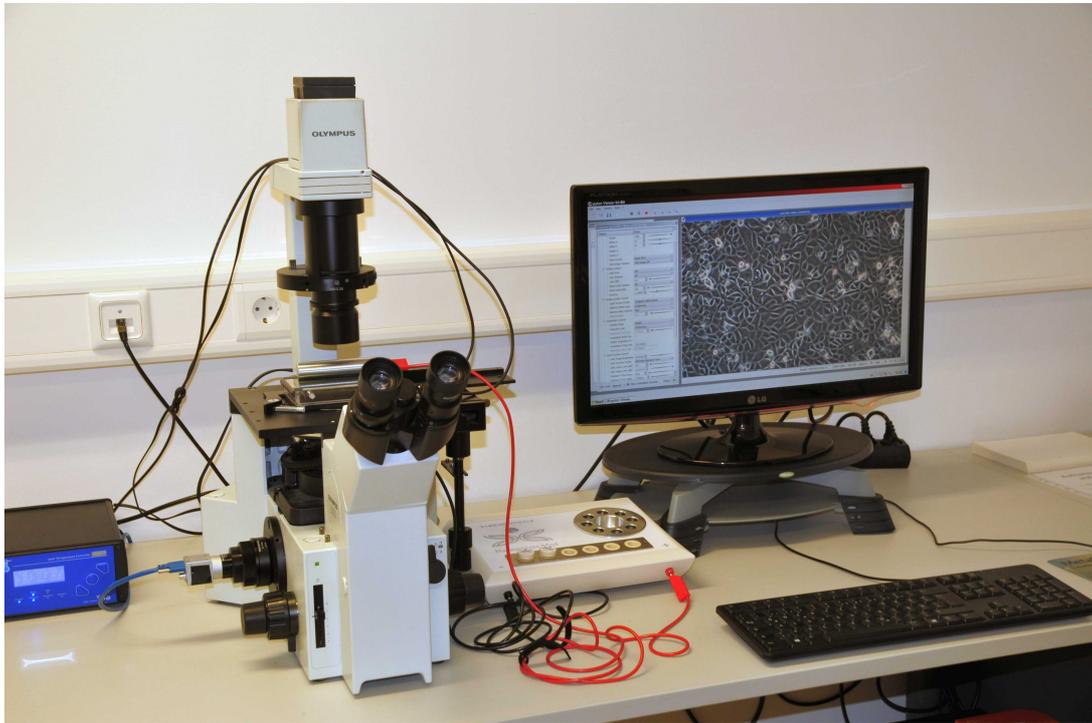


Abbildung 1: Darstellung des Versuchsaufbaus für die kontinuierliche Aufzeichnung des simulierten Wundheilungsprozesses mittels Zeitraffer-Video-System unter dem Einfluss des Harmonizer M.E.D. Geräte von links nach rechts: ibidi Heating System, Basler acA 1920-150uc Kamera am seitlichen Mikroskopansatz, Inversmikroskop mit Inkubationskammer zur Temperaturkonstanthaltung und den beiden Handelektroden des Harmonizer M.E.D., Harmonizer M.E.D. mit den beiden Modulen Nr. 3 und Nr. 4, Hochleistungs-Computer mit der entsprechenden Steuerungssoftware und einer schnellen USB 3-Verbindung zur Videokamera.

4 Ergebnisse

Die Ergebnisse der durchgeführten drei unabhängigen Versuche ergaben eine statistisch signifikante Stimulation des Wundheilungsprozesses um $24,7 \pm 8,3$ % (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$) durch den Harmonizer M.E.D. ($p < 0,01$; Wilcoxon-Mann-Whitney-Test). Die Untersuchungen haben somit gezeigt, dass der Harmonizer M.E.D. mit den Modulen Nr. 3 und Nr. 4 in der Lage ist, Wundheilungsprozesse auf zellulärer Ebene positiv zu beeinflussen. Möglicherweise kann die Wirkeffizienz durch die gleichzeitige Einnahme von Symbio-Complete gesteigert werden. Die erhaltenen Zeitraffer-Videos werden separat vorgestellt.




Prof. Dr. Peter C. Dartsch
Diplom-Biochemiker