

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

Firma

EM Wassertechnologie GmbH

Johann-Karg-Str. 44

D-85540 Haar OT Salmdorf

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

12. Mai 2019

TESTBERICHT

Untersuchung der förderlichen Wirkeffekte des Wasserstoff-Wassers aus dem Lourdes Generator mit kultivierten Zellen

1 Fragestellung der durchgeführten in vitro-Studie

In der vorliegenden Studie sollte mit aktuellen zellbiologischen Testverfahren untersucht werden, ob das Leitungswasser nach 30minütiger Behandlung mit dem Lourdes Generator (= Wasserstoff-Wasser) im direkten Vergleich zu dem gleichen Leitungswasser ohne Behandlung auf Zellebene förderliche Wirkeffekte besitzt.

2 Lourdes Generator

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ein kommerziell erhältlicher Lourdes Generator der Firma EM Wassertechnologie GmbH mit dem lokalen Leitungswasser verwendet. Das Leitungswasser wurde für 30 min mit dem Generator behandelt und unmittelbar im Anschluss daran die Untersuchungen durchgeführt, da der generierte Wasserstoff nur sehr kurzlebig ist. Durch Abdichten der Zellkulturschalen wurden auch Vorkehrungen getroffen, um den Wasserstoff möglichst lange auf die Zellkulturen einwirken zu lassen. Als Kontrolle diente das gleiche Leitungswasser ohne Behandlung mit dem Generator.

3 Bindegewebszellen in Kultur

3.1 Beschreibung der Zellen und Routinekultivierung in Massenkulturen

Die Untersuchungen wurden mit Bindegewebsfibroblasten der Zelllinie L-929 (ACC-2; Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, 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 98%iger Luftfeuchtigkeit inkubiert.

3.2 Basaler Energiestoffwechsel von L-929 Zellen

Für die Versuche wurden die Zellen aus Massenkulturen in einer Zelldichte von 50.000 Zellen/Vertiefung in 96-Loch Kulturplatten (200 µl Kulturmedium/Vertiefung) ausgesät und für 24 Stunden bis zur vollständigen Adhäsion der Zellen inkubiert. Danach wurde zu den Zellen ein Reaktionsgemisch bestehend aus Phosphatpuffer mit Calcium und Magnesium mit 5 mM Glucose als Energiequelle, den entsprechenden Testkonzentrationen des Wasserstoff-Wassers sowie dem Tetrazoliumfarbstoff WST-1 (Roche Diagnostics, Mannheim) gegeben. Dabei ist die Farbstoffspaltung der Aktivität des zellulären Energiestoffwechsels direkt proportional. Es wurde die optische Dichte als Differenzmessung $\Delta OD = 450 - 690$ nm am Elisareader (BioTek SLx808 mit Software Gen 5 Version 3.00) zum Zeitpunkt $t = 0$ und $t = 120$ min aufgezeichnet und die Zunahme der optischen Dichte mit Microsoft Excel ausgewertet und graphisch gegen die Konzentration aufgetragen.

Wie in Abb. 1 dargestellt, bewirkte die Anwendung des Wasserstoff-Wassers aus dem Lourdes-Generator eine statistisch signifikante Stimulierung des Energiestoffwechsels der Bindegewebszellen um ca. 25 % im Konzentrationsbereich zwischen 20 und 50 Vol% ($p < 0,01$; parameterfreier Wilcoxon-Mann-Whitney-Test). Diese Wirkung kann bei regelmäßigem Trinken des Wassers zu einer höheren körperlichen Leistungsfähigkeit und einem verbesserten Wohlbefinden führen.

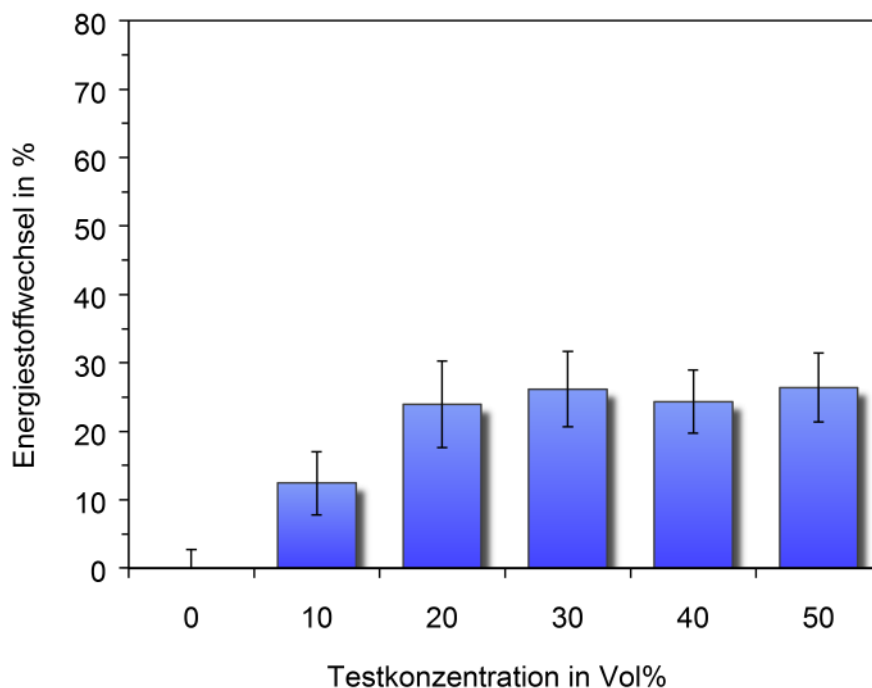


Abb. 1: Relativer Energiestoffwechsel der kultivierten Bindegewebsfibroblasten durch das Wasserstoff-Wasser aus dem Lourdes Generator im Vergleich zu unbehandeltem Leitungswasser. Die Kontrolle ohne Wasserzusatz wurde gleich 0 gesetzt. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte \pm Standardabweichung aus 2 unabhängigen Versuchen an unterschiedlichen Versuchstagen mit jeweils Doppelbestimmungen.

4 Zellkultur mit humanen Promyelozyten

4.1 Beschreibung der Zellen und Routinekultivierung

Die hier dargestellten Untersuchungen wurden mit Promyelozyten der Zelllinie HL-60 (ACC-3; ECACC 98070106; Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, 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 98%iger Luftfeuchtigkeit inkubiert. Routinemäßig wurden die nicht adhärennten Zellen in Suspensions-Massenkulturen vermehrt und regelmäßig in frischem Kulturmedium subkultiviert.

Unter speziellen Bedingungen wie beispielsweise der Kultivierung in Kulturmedium mit 1,5 % Dimethylsulfoxid für 5 bis 7 Tage differenzieren die HL-60 Zellen zu sog. funktionalen Neutrophilen. Dies sind Zellen, welche die Eigenschaften von phagozytierenden Zellen (neutrophile Granulozyten; PMN) im Blut besitzen.

4.2 Basaler Energiestoffwechsel von HL-60 Zellen

Die HL-60 Zellen wurden durch sechstägige Behandlung mit 1,5 % Dimethylsulfoxid zu funktionalen Neutrophilen differenziert. Experimentell und von der Auswertung her war die weitere Vorgehensweise für diesen Test wie für die Bindegewebsfibroblasten in Abschnitt 3 beschrieben. Da die HL-60 Zellen nicht adhärennt, sondern als Suspensionskultur wachsen, wurde eine Suspension der Zellen ins Reaktionsgemisch pipettiert. Die Ergebnisse dieses Tests erlauben Rückschlüsse auf das Potenzial des Wasserstoff-Wassers zur Abwehr von Fremdkeimen (mikrobielle Pathogene) im Blut.

Wie in Abb. 2 dargestellt, war die Wirkung des Wasserstoff-Wassers aus dem Lourdes Generator auf den Energiestoffwechsel der funktionalen Neutrophilen deutlich ausgeprägter als bei den Bindegewebszellen. Bereits ab einer Testkonzentration von nur 10 % kam es zu einer ausgeprägten Stimulation um annähernd 45 % im Vergleich zum unbehandelten Leitungswasser. Dies wurde sogar auf ca. 70 % bei 30 Vol% Wasserstoff-Wasser gesteigert und nahm danach langsam ab; war aber immer noch deutlich über der Kontrolle. Alle Testkonzentrationen ergaben statistisch signifikante Stimulationen ($p < 0,01$; Wilcoxon-Mann-Whitney-Test).

5 Schlussfolgerungen

In den durchgeführten tierversuchsfreien Untersuchungen mit organspezifischen Zellkulturen hat das Wasserstoff-Wasser des Lourdes-Generators seine förderlichen Wirkeffekte unter Beweis gestellt. Obwohl es nur eine kurze Halbwertszeit besitzt, konnte es den Energiestoffwechsel von Bindegewebsfibroblasten und funktionalen Neutrophilen deutlich sti-

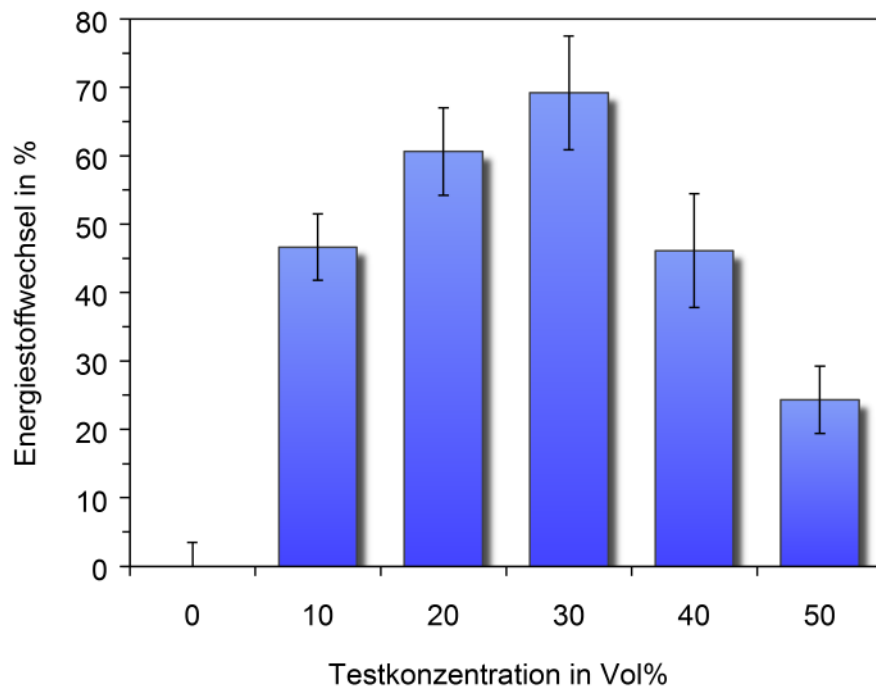


Abb. 2: Relativer Energiestoffwechsel der funktionalen Neutrophilen durch das Wasserstoff-Wasser aus dem Lourdes Generator im Vergleich zu unbehandeltem Leitungswasser. Die Kontrolle ohne Wasserzusatz wurde gleich 0 gesetzt. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte \pm Standardabweichung aus 2 unabhängigen Versuchen an unterschiedlichen Versuchstagen mit jeweils Doppelbestimmungen.

mulieren. Bei regelmäßigem Trinken des Wasserstoff-Wassers kann es so zu einer höheren körperlichen Leistungsfähigkeit und größerem Wohlbefinden sowie einer verbesserten Abwehr von Fremdkeimen (mikrobielle Pathogene) im Blut führen.

Versuchsleiter und verantwortlich für die fachgerechte Durchführung und Auswertung der Untersuchungen.




Prof. Dr. Peter C. Dartsch
Diplom-Biochemiker