

1. července 2020

ZPRÁVA O PROVEDENÍ TESTOVÁNÍ

Testování účinků energetického čipu „e.chi Kamarád na Imunitu“ s využitím orgánově specifických buněčných kultur

1 Kontext a zadání

Neutrofilny jsou u většiny savců nejběžnějším typem granulocytů, tj. specifickým typem bílých krvinek. Hrají dvojí roli – jako fagocyty a jako prozánětlivé buňky [1]. Tím, že plavou v cirkulující krvi, tvoří jakožto důležitá součást vrozeného imunitního systému první linii buněčné obrany proti vnikajícím mikrobiálním patogenům. Kromě toho neutrofilny migrují během zánětu z krve do tkáně [2,3].

Neutrofilny napadají mikrobiální patogeny pomocí tzv. oxidačního vzplanutí, tj. produkcí reaktivních kyslíkových radikálů, které patogeny ničí [4].

V tomto kontextu jsme zkoumali účinky nového imunitního čipu nazvaného „e.chi Kamarád na Imunitu“ na růstové vlastnosti a oxidační vzplanutí kultivovaných lidských promyelocytů, které byly v odpovídajících kulturách diferencovány na funkční neutrofilny s expozicí imunitnímu čipu a bez tohoto čipu.

1. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L (2000). Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. Lab Invest 80:617-653.
2. Ward PA (1999). The acute inflammatory response and its regulation. Arch Surg 134:666–669.
3. Nathan C (2002). Points of control in inflammation. Nature 420:846-852.
4. Lambeth JD. 2004. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. Nature Rev Immunol 4:181-189.

2 Popis imunitního čipu

Podle výrobce je čip e.chi Kamarád na Imunitu zásadně ovlivňován frekvenčními spektry, která jsou produkována speciálními frekvenčními generátory. Pomocí tzv. technologie vitálního pole jsou speciálními anténami generována elektromagnetická pole (do 120 GHz), mikroproudové frekvence (do 1 GHz) a různá magnetická pole. Čip se umístí na antény a po určitou dobu je vystaven těmto specifickým frekvencím. Díky své schopnosti fungovat jako úložiště může čip tyto informace zaznamenat a po dobu několika měsíců uvolňovat. U imunitního čipu byly použity uložené frekvence specifických imunitních buněk a čip byl vystaven tomuto vzoru, aby se dosáhlo požadovaného výsledku. Toto patentované úložiště se vyrábí speciálním postupem, který byl vyvíjen po několik let. Přesně definovaný podíl vysoce kvalitních paměťových médií se zalije do silikonové báze obzvláště šetrné k pokožce. To umožňuje

zachovat účinek těchto frekvenčních spekter po co nejdelší dobu. Zkušenosti s reálnými daty ukazují, že čip zůstane plně účinný nejméně po dobu 6 měsíců a poté by měl být vyměněn.

3 Design experimentu (stručná verze)

Výzkum byl prováděn s lidskými promyelocyty (buněčná linie HL-60, DSMZ, Braunschweig). Buňky byly kultivovány jako suspenzní kultury v živném roztoku v inkubátoru při teplotě 37 °C a speciální atmosféře s téměř 100% vlhkostí. Přidáním 1,5 % dimethylsulfoxidu po dobu 6 dnů byly diferencovány na funkční neutrofile, přičemž některé byly vystaveny působení imunitního čipu a některé ne. Poté byly buňky centrifugovány, několikrát promyty a vloženy do reakční směsi, která po přidání speciální chemické látky vyvolá u buněk oxidační vzplanutí [5,6]. Reakce buněk byla měřena pomocí změny barvy reakční směsi.

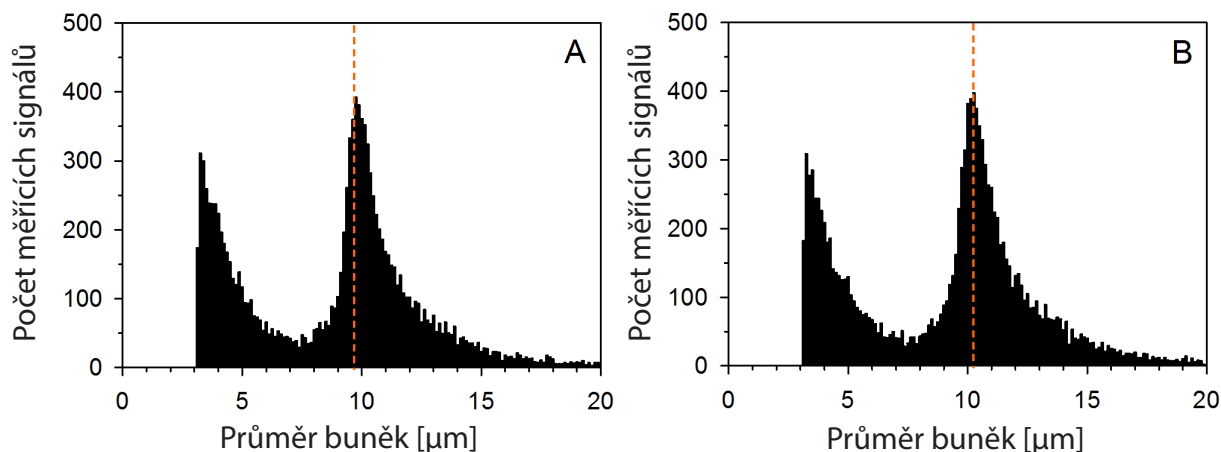
Kromě toho byl pomocí systému buněčné analýzy stanoven počet buněk a rozložení velikosti buněk jako měřítko homogenity buněčné populace. Celkem bylo provedeno 5 na sobě nezávislých experimentů v průběhu 4 týdnů.

5. Tan AS, Berridge MV. 2000. Superoxide produced by activated neutrophils efficiently reduces the tetrazolium salt WST-1 to produce a soluble formazan: a simple colorimetric assay for measuring respiratory burst activation and for screening anti-inflammatory agents. *J Immunol Meth* 238:59-68.
6. Dartsch PC. 2006. TIOS – a sensitive and cell-based test assay for the screening of biologically active substances for their antioxidant potential. *Innov Food Technol* 32:72-75.

4 Výsledky

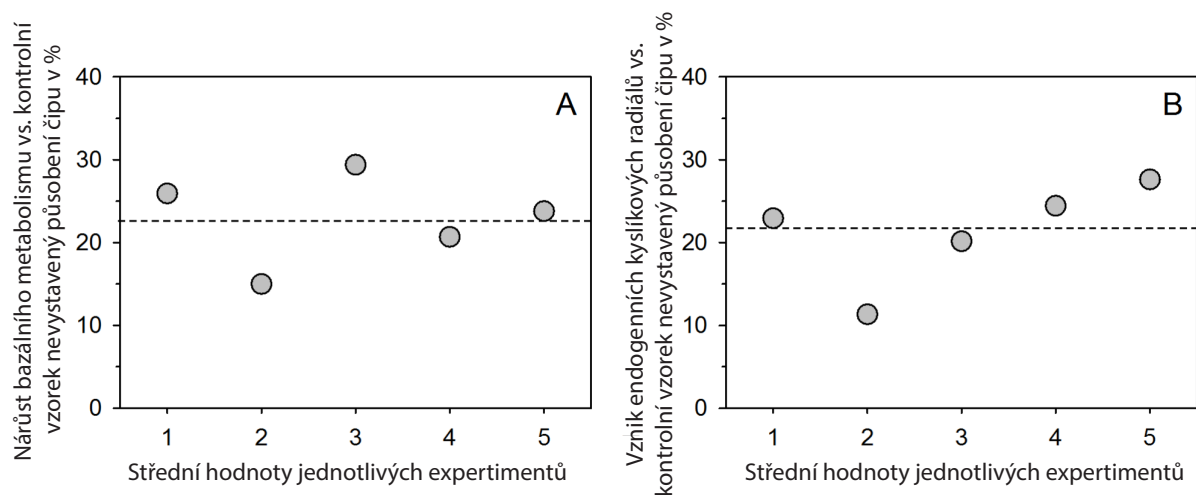
Ve všech provedených experimentech se počet buněk dosažený po diferenciaci zvýšil při použití imunitního čipu v porovnání s kontrolními vzorky, které nebyly působení čipu vystaveny, o $17,2 \pm 3,8$ % (střední hodnota \pm směrodatná odchylka). Tento nárůst byl statisticky významný ($p \leq 0,05$; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test). To svědčí o tom, že imunitní čip způsobuje zrychlení mitotického dělení těchto buněk.

Kromě toho se ve všech experimentech zvýšil také maximální průměr buněk z $9,5 \pm 0,2$ na $10,4 \pm 0,3$ (střední hodnota \pm směrodatná odchylka). To odpovídá relativnímu nárůstu o $9,5 \pm 0,2$ % a je rovněž statisticky významné ($p \leq 0,05$; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test). Rozložení velikosti buněk a změna maximálního průměru buněk je znázorněna na obrázku 1 pro jeden experiment.



Obr. 1: Příklad rozložení velikosti diferencovaných buněk bez imunitního čipu (A) a s imunitním čipem (B) během 6denní diferenciaci na funkční neutrofilie. Přerušovaná čára označuje maximální průměr buněk pro tento experiment. Buněčná populace vykazuje v obou případech velmi homogenní rozložení velikostí. Levý vrchol představuje malé částice (např. zbytky buněk, mrtvé buňky) a není zahrnut do měření.

Jak ukazuje obrázek 2A, vedlo použití imunitního čipu ve všech 5 nezávislých experimentech v porovnání s kontrolními vzorky, které nebyly vystaveny působení čipu, ke zvýšení buněčného metabolismu funkčních neutrofilů. Celkově činilo zvýšení bazálního buněčného metabolismu $23,0 \pm 5,5 \%$ (střední hodnota \pm směrodatná odchylka), což bylo statisticky významné ($p \leq 0,05$; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test). Ve shodě se zvýšeným buněčným metabolismem, který byl způsoben expozicí imunitnímu čipu, došlo ke zvýšení produkce superoxidových aniontových radikálů exponovaných buněk o $21,3 \pm 6,2 \%$ (střední hodnota \pm směrodatná odchylka; $p \leq 0,05$; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test; obrázek 2B). Ta byla řádově stejná jako zvýšení buněčného metabolismu.



Obr. 2: (A) Zvýšený buněčný metabolismus funkčních neutrofilů po 6denní expozici imunitnímu čipu během procesu diferenciaci. Údaje představují střední hodnoty každého nezávislého experimentu ($n = 5$). Přerušovaná čára označuje střední zvýšení pro všechny experimenty. (B) Zvýšená produkce superoxidových aniontových radikálů funkčními neutrofilie po 6denní expozici imunitnímu čipu během procesu diferenciaci. Údaje představují střední hodnoty každého nezávislého experimentu ($n = 5$). Přerušovaná čára označuje střední zvýšení pro všechny experimenty. V obou diagramech jsou kontrolní vzorky, které nebyly vystaveny působení čipu, nastaveny na 0 %.

5 Závěr

Souhrnně tyto výsledky ukazují, že čip „e.chi Kamarád na Imunitu“ je při vícedenním nepřetržitém používání schopen stimulovat u buněk, které se diferencují na funkční neutrofilie (= fagocytující buňky vrozené imunitní obrany), mitotické dělení a produkci reaktivních kyslíkových radikálů k likvidaci mikrobiálních patogenů. Výsledky naznačují, že používání čipu

„e.chi Kamarád na Imunitu“ může také vést ke zlepšení obrany proti mikrobiálním patogenům v celém organismu.



Prof. dr. Peter C. Dartsch
diplomovaný biochemik