

Dartsch Scientific GmbH · Oskar-von-Miller-Str. 10 · D-86956 Schongau

Firma

Rayonex Biomedical GmbH  
c/o Prof. Dietmar Heimes  
Sauerland-Pyramiden 1

**D-57368 Lennestadt**

Oskar-von-Miller-Straße 10  
D-86956 Schongau, Germany

Fon Diessen: +49 8807 2759-650  
Fon Schongau: +49 8861 256-5250  
Fax: +49 8861 256-7162  
Email: [info@dartsch-scientific.com](mailto:info@dartsch-scientific.com)  
Web: [www.dartsch-scientific.com](http://www.dartsch-scientific.com)

16. März 2014

**– Testbericht und Fachinformation –**

---

## **Mini-Rayonex**

### ***In vitro*-Untersuchungen zur Aktivierung des Zellstoffwechsels bei organspezifischen Zellkulturen**

---

#### **Hintergrund**

Lt. Hersteller und Vertreiber des Mini-Rayonex-Gerätes, die Rayonex Biomedical GmbH aus D-57368 Lennestadt, liegt die am häufigsten gefundene Resonanzstelle bei körperlichen Belastungen und Problemen auf dem Frequenzgrundwert 12.5. Innerhalb der Bioresonanz nach Paul Schmidt steht dieser Frequenzgrundwert für „Energie“, und dies ist genau das, was der Organismus zu diesem Zeitpunkt benötigt. Der Mini-Rayonex besitzt im Inneren ein auf dem Frequenzgrundwert 12.5 abgestimmtes Dipolantennensystem mit einer universell positiven Resonanz, die gemäß der Bioresonanz nach Paul Schmidt in einem Wirkradius von 2 bis 3 m um den Mini-Rayonex herum ermittelt werden kann.

Tipps zur Anwendung: Die auf dem Mini-Rayonex aufgedruckte Schrift sollte immer nach oben bzw. vom Körper weg zeigen. Positioniert man den Mini-Rayonex stationär, hat er eine größere Intensität, wenn er gemäß der am Gerät befindlichen Kennzeichnung nach „West – Ost“ ausgerichtet wird. Die beste Wirkung zeigt sich immer dann, wenn der Mini-Rayonex für ca. 20 Sekunden unter fließendes Wasser gehalten wird.

#### **Fragestellung der vorliegenden *in vitro*-Untersuchungen**

Bei zahlreichen Anwendern weltweit hat der Mini-Rayonex seine Wertigkeit und Wirkung bisher unter Beweis stellen können. In dieser *in vitro*-Untersuchung sollte an zwei verschiedenen organspezifischen Zellkulturen untersucht werden, ob diese vom Gerät abgestrahlte positive Resonanz ebenfalls *in vitro* zu positiven Wirkeffekten führt, welche mit objektiven und etablierten Messverfahren quantifiziert werden können.

## Experimentelles Vorgehen

Für die hier dargestellten *in vitro*-Untersuchungen wurden zwei verschiedene Zelllinien verwendet: (1) Bindegewebsfibroblasten der Maus, welche auch für die Untersuchung der Biokompatibilität von Medizinprodukten nach EN ISO 10993-5 üblicherweise verwendet werden (Zelllinie L-929, ACC 173, Passage P128<sub>intern</sub>) und (2) zu Monozyten, also Zellen der unspezifischen primären Immunabwehr, spontan differenzierte und adhärent wachsende Promyelozyten der Zelllinie HL-60 (ACC 3, Passage P3<sub>intern</sub>). Beide Zelllinie stammten vom Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, D-38124 Braunschweig.

Die Zellen wurden in einem Begasungsbrutschrank in einer Atmosphäre mit 100 % Luftfeuchtigkeit bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> und 95 % Luft inkubiert. Als Kulturmedium wurde für beide Zelllinien RPMI 1640 verwendet, das mit 5 % fötalem Rinderserum, 100 Units/ml Penicillin & 100 µg/ml Streptomycin supplementiert war. Alle Zellkulturreagenzien stammten von GE Healthcare Life Sciences, D-35091 Cölbe.

Für die Untersuchungen wurden die Zellen wurden in drei (2 h Exposition) bzw. vier (24 h Exposition) unabhängigen Versuchen aus ca. 80 bis 90 % konfluenten Massenkulturen in jeweils fünffachem Parallelansatz in 96 Loch-Kulturplatten in Reihen ausgesät (200 µl Kulturmedium/Vertiefung). Die Zelldichte variierte in den einzelnen Versuchen von 5.000 bis 20.00 Zellen/Vertiefung. Die ausgesäten Zellen wurden für 48 h zum Absetzen, Ausbreiten und Normalisierung ihres Stoffwechsels im Brutschrank inkubiert. Danach wurde das Medium abgesaugt und 180 µl/Vertiefung des frisch angesetzten pH-stabilen Expositionsmediums zugegeben. Dieses Medium bestand aus 1 Teil RPMI 1640, 1 Teil Phosphatpuffer mit Kalzium und Magnesium und 5 mM Glukose, 5 % fötalem Rinderserum, 100 Units/ml Penicillin & 100 µg/ml Streptomycin und 15 mM HEPES-Puffer.

Die Kulturplatten wurden in spezielle temperaturkonstante externe Inkubatoren überführt, welche zur Vermeidung einer ungewollten Beeinflussung mehr als 3 m voneinander getrennt in zwei verschiedenen Räumen aufgestellt waren. Diese externen Inkubatoren lieferten über die gesamte Expositionszeit eine Temperaturkonstanz von 37,2 °C ± 0,2 °C. Im Inkubator mit den Kontrollzellen wurden die Kulturplatten einfach auf den Boden des Inkubators übereinander aufgestellt. Bei den Zellen, die der Resonanz des Mini-Rayonex ausgesetzt wurden, wurden die Geräte zunächst für 30 Sekunden in lauwarmes fließendes Wasser gehalten, abgetrocknet und danach im Inkubator "West – Ost" und mit der Schrift nach oben und nach vorne ausgerichtet. Die Kulturplatten wurden sowohl unter dem Mini-Rayonex als auch auf dem Mini-Rayonex plaziert (Abbildung 1).

Nach 2 h und 24 h kontinuierlicher Exposition wurden die Kulturplatten kurzzeitig aus den Inkubatoren entnommen, in jede Vertiefung 20 µl XTT zum quantitativen Nachweis der Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen pipettiert und die Kulturplatten für eine weitere Stunde wieder in die Inkubatoren zurück gestellt. Danach wurde die optische Dichte jeder Vertiefung als Differenzmessung bei 450 – 690 nm am Elisareader (BioTEK Elx 808) ge-

messen und mit den entsprechenden Kontrollen verglichen. XTT ist das Natriumsalz von 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxyanilid und hat eine leicht gelbliche Farbe. Die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen lebender Zellen spaltet den Tetrazoliumring von XTT und es entstehen orange gefärbte und wasserlösliche Formazankristalle. Die Intensität der orangenen Farbe der Reaktionslösung ist direkt proportional zur Enzymaktivität. Die Ergebnisse wurden als Absolut- und Relativwerte im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen berechnet und nachfolgend tabellarisch dargestellt.

### Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Wie in den Tabellen 1 und 2 im Detail dargestellt, hatten die Resonanzen aus dem Mini-Rayonex nach nur zwei Stunden Einwirkungszeit eine deutlich stimulierende Wirkung auf den Zellstoffwechsel beider organspezifischer Zelltypen. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied in der stimulierenden Wirkung zwischen den Zellen auf der Ober- und Unterseite des Mini-Rayonex (Student's *t*-Test). Die prozentuale Stimulation im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle lag in einem Bereich zwischen 32 % und 38 %. Durch die 24stündige Einwirkung des Mini-Rayonex-Gerätes auf die Zellen konnte die prozentuale Stimulation auf bis zu 45 % gesteigert werden (Tabelle 3 und 4). Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Zelltypen oder der Unter- und Oberseite des Mini-Rayonex wurde auch hier nicht beobachtet.

Zusammengefasst konnten in den hier durchgeführten *in vitro*-Untersuchungen die schon von Anwendern beobachtenden stimulierenden Wirkeffekte des Mini-Rayonex bestätigt werden. Bemerkenswert ist dabei das Ausmaß der Zellstoffwechselstimulation um 30 % bis 45 %, welches offenbar unabhängig von der Anwendungsdauer zu sein scheint, aber mindestens mehrere Stunden betragen sollte. Somit kann die Anwendung des Mini-Rayonex in bestimmten Lebenssituationen (z.B. körperliche oder seelische Belastung, Heilungsprozesse etc.) bestens empfohlen werden.

Versuchsleiter und verantwortlich für die Richtigkeit der dargestellten Testverfahren und Ergebnisse.

Schongau, 16. März 2014




Prof. Dr. Peter C. Dartsch  
Diplom-Biochemiker



**Abbildung 1:** Anordnung der 96-Loch-Kulturplatten unter und über dem Mini-Rayonex-Gerät, dessen Schrift nach oben und vorne gerichtet ist. Diese Anordnung wurden dann in die externen Inkubatoren zur Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur von 37 °C gestellt. Im unteren Bild wurden zur Verdeutlichung und Dokumentation von Zellaussaat und Farbstoffspaltung durch die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen die Kulturplatten nach der enzymatischen Reaktion nochmals unter bzw. auf den Mini-Rayonex plziert.

**Tabelle 1:** Präsentation der einzelnen Messergebnisse aller drei unabhängigen Versuche mit Bindegewebszellen (Zelllinie L-929) nach 2stündiger Exposition mit dem Mini-Rayonex-Gerät. Ganz unten wurde die Zusammenfassung aller drei Versuche mit der mittleren Stimulation der Zellen  $\pm$  S.E.M. dargestellt. Der Unterschied in der Stimulation oberhalb und unterhalb des Mini-Rayonex ist statistisch nicht signifikant (Student's *t*-Test). S.E.M. = Standardfehler des Mittelwertes.

**Versuch 1 - L-929 für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	142	124	173	121	109	134	$\pm$	11	0	$\pm$	8,3
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	184	161	181	190	175	178	$\pm$	5	33,2	$\pm$	2,8
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	195	228	168	135	187	183	$\pm$	15	36,5	$\pm$	8,4

**Versuch 2 - L-929 für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	110	123	119	118	107	115	$\pm$	3	0	$\pm$	2,6
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	206	180	153	128	119	157	$\pm$	16	36,2	$\pm$	10,3
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	136	163	159	182	174	163	$\pm$	8	41,1	$\pm$	4,8

**Versuch 3 - L-929 für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	167	128	179	164	143	156	$\pm$	9	0	$\pm$	5,8
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	208	198	209	187	206	202	$\pm$	4	29,1	$\pm$	2,0
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	188	201	254	158	174	195	$\pm$	16	24,8	$\pm$	8,4

**Zusammenfassung**

Probe	Mittlere Stimulation in % für V1-V3	$\pm$	S.E.M. V1-V3
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	32,8	$\pm$	2,1
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	34,1	$\pm$	4,8

**Tabelle 2:** Präsentation der einzelnen Messergebnisse aller drei unabhängigen Versuche mit adhärent wachsenden und zu Monozyten differenzierten HL-60-Zellen nach 2stündiger Exposition mit dem Mini-Rayonex-Gerät. Ganz unten wurde die Zusammenfassung aller drei Versuche mit der mittleren Stimulation der Zellen  $\pm$  S.E.M. dargestellt. Der Unterschied in der Stimulation oberhalb und unterhalb des Mini-Rayonex ist statistisch nicht signifikant (Student's *t*-Test). S.E.M. = Standardfehler des Mittelwertes.

**Versuch 1 - HL-60 adh. für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	96	123	178	145	131	135	$\pm$	13	0	$\pm$	10,0
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	246	198	148	187	152	186	$\pm$	18	38,3	$\pm$	9,6
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	166	206	211	165	175	185	$\pm$	10	37,1	$\pm$	5,4

**Versuch 2 - HL-60 adh. für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	110	123	119	118	107	115	$\pm$	3	0	$\pm$	2,6
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	180	166	205	132	145	166	$\pm$	13	43,5	$\pm$	7,8
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	176	144	161	200	177	172	$\pm$	9	48,7	$\pm$	5,4

**Versuch 3 - HL-60 adh. für 2 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	136	147	159	133	154	146	$\pm$	5	0	$\pm$	3,4
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	181	177	189	203	206	191	$\pm$	6	31,1	$\pm$	3,0
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	166	213	223	169	175	189	$\pm$	12	29,8	$\pm$	6,3

**Zusammenfassung**

Probe	Mittlere Stimulation in % für V1-V3	$\pm$	S.E.M. V1-V3
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	37,7	$\pm$	3,6
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	38,5	$\pm$	5,5

**Tabelle 3:** Präsentation der einzelnen Messergebnisse aller vier unabhängigen Versuche mit Bindegewebszellen (Zelllinie L-929) nach 24stündiger Exposition mit dem Mini-Rayonex-Gerät. Ganz unten wurde die Zusammenfassung aller vier Versuche mit der mittleren Stimulation der Zellen  $\pm$  S.E.M. dargestellt. Der Unterschied in der Stimulation oberhalb und unterhalb des Mini-Rayonex ist statistisch nicht signifikant (Student's *t*-Test). S.E.M. = Standardfehler des Mittelwertes.

**Versuch 1 - L-929 für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	92	155	173	98	112	126	$\pm$	16	0	$\pm$	12,8
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	219	136	153	192	132	166	$\pm$	17	32,1	$\pm$	10,2
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	143	219	275	182	144	193	$\pm$	25	52,9	$\pm$	12,9

**Versuch 2 - L-929 für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	89	90	120	139	98	107	$\pm$	10	0	$\pm$	9,1
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	137	171	203	184	127	164	$\pm$	14	53,4	$\pm$	8,7
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	208	198	125	130	98	152	$\pm$	22	41,6	$\pm$	14,3

**Versuch 3 - L-929 für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	160	133	148	161	165	153	$\pm$	6	0	$\pm$	3,8
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	202	197	198	189	241	205	$\pm$	9	33,9	$\pm$	4,5
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	211	248	203	171	314	229	$\pm$	24	49,5	$\pm$	10,7

**Versuch 4 - L-929 für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	244	177	235	322	244	244	$\pm$	23	0	$\pm$	9,4
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	324	338	298	294	303	311	$\pm$	8	27,4	$\pm$	2,7
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	316	246	336	369	435	340	$\pm$	31	39,3	$\pm$	9,1

**Zusammenfassung**

Probe	Mittlere Stimulation in % für V1-V4	$\pm$	S.E.M. V1-V4
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	36,7	$\pm$	5,7
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	45,8	$\pm$	3,2

**Tabelle 4:** Präsentation der einzelnen Messergebnisse aller vier unabhängigen Versuche mit adhären wachsenden und zu Monozyten differenzierten HL-60-Zellen nach 24stündiger Exposition mit dem Mini-Rayonex-Gerät. Ganz unten wurde die Zusammenfassung aller vier Versuche mit der mittleren Stimulation der Zellen  $\pm$  S.E.M. dargestellt. Der Unterschied in der Stimulation oberhalb und unterhalb des Mini-Rayonex ist statistisch nicht signifikant (Student's *t*-Test). S.E.M. = Standardfehler des Mittelwertes.

**Versuch 1 - HL-60 adh. für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	89	90	120	139	98	107	$\pm$	10	0	$\pm$	9,1
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	114	182	155	135	198	157	$\pm$	15	46,3	$\pm$	9,7
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	178	168	159	162	150	163	$\pm$	5	52,4	$\pm$	2,9

**Versuch 2 - HL-60 adh. für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	184	133	149	136	129	146	$\pm$	10	0	$\pm$	6,9
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	203	256	207	220	229	223	$\pm$	9	52,5	$\pm$	4,2
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	196	248	212	165	208	206	$\pm$	13	40,8	$\pm$	6,5

**Versuch 3 - HL-60 adh. für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	124	103	136	137	158	132	$\pm$	9	0	$\pm$	6,8
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	177	214	207	180	128	181	$\pm$	15	37,7	$\pm$	8,4
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	170	156	168	189	178	172	$\pm$	5	30,9	$\pm$	3,2

**Versuch 4 - HL-60 adh. für 24 h**

Probe	Einzelwerte für die gemessene optische Dichte					Mittelwert	$\pm$	S.E.M.	Stimulation in % vs. Kontrolle	$\pm$	S.E.M. in %
Unbehandelte Kontrolle	194	178	265	287	339	253	$\pm$	30	0	$\pm$	11,8
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	255	475	356	447	253	357	$\pm$	46	41,4	$\pm$	13,0
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	330	377	280	345	406	348	$\pm$	21	37,6	$\pm$	6,2

**Zusammenfassung**

Probe	Mittlere Stimulation in % für V1-V4	$\pm$	S.E.M. V1-V4
Multiplatte oberhalb des Mini Rayonex	44,5	$\pm$	3,2
Multiplatte unterhalb des Mini Rayonex	40,4	$\pm$	4,5

Dartsch Scientific GmbH · Oskar-von-Miller-Str. 10 · D-86956 Schongau

Firma

Rayonex Biomedical GmbH  
c/o Prof. Dietmar Heimes  
Sauerland-Pyramiden 1

**D-57368 Lennestadt**

Oskar-von-Miller-Straße 10  
D-86956 Schongau, Germany

Fon Diessen: +49 8807 2759-650  
Fon Schongau: +49 8861 256-5250  
Fax: +49 8861 256-7162  
Email: [info@dartsch-scientific.com](mailto:info@dartsch-scientific.com)  
Web: [www.dartsch-scientific.com](http://www.dartsch-scientific.com)

27. März 2014

– Testbericht und Fachinformation –

---

## Mini-Rayonex

### *In vitro*-Untersuchungen zur Stimulation der Wundheilung bei kultivierten Bindegewebsfibroblasten

---

#### Hintergrund & Fragestellung

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.

Bei zahlreichen Anwendern weltweit hat der Mini-Rayonex seine Wertigkeit und Wirkung durch seine abgestrahlte positive Resonanz bisher unter Beweis stellen können. In dieser *in vitro*-Untersuchung sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Resonanz des Mini-Rayonex in der Lage ist, durch die bereits gezeigte Aktivierung des Zellstoffwechsels auch eine Förderung des Wundheilungsprozesses zu bewirken.

#### Versuchsdurchführung & Auswertung

Für die hier dargestellten *in vitro*-Untersuchungen zur Wundheilung wurden Bindegewebsfibroblasten der Maus verwendet. Diese werden auch für die Untersuchung der Biokompatibilität von Medizinprodukten nach EN ISO 10993-5 eingesetzt (Zelllinie L-929, ACC 173, Passage P132<sub>intern</sub>). Die Zelllinie stammte vom Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, D-38124 Braunschweig. Die Zellen wurden in einem CO<sub>2</sub>-Begasungsbrutschrank in einer Atmosphäre mit 100 % Luft-

feuchtigkeit bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> und 95 % Luft inkubiert. Als Kulturmedium wurde RPMI 1640 verwendet, das mit 5 % fötalem Rinderserum, 100 Units/ml Penicillin & 100 µg/ml Streptomycin supplementiert war. Alle Zellkulturreagenzien stammten von GE Healthcare Life Sciences, D-35091 Cölbe.

Die Bindegewebszellen wurden in einer Dichte von 50.000 Zellen/Vertiefung in 12-Loch-Platten ausgesät (2 ml Kulturmedium/Vertiefung) und für drei Tage bis zum Erreichen einer konfluenten Zellschicht im CO<sub>2</sub>-Brutschrank inkubiert. Dann wurde in einer Variation des Scratchtests mit einer Kunststoffspitze (Breite 1400 µm) der Zellrasen in jeder Vertiefung in Form eines kreuzförmigen Schnittes entfernt und so eine künstliche (= zellfreie) Wunde angelegt. Das Kulturmedium wurde abgesaugt, die Zellschicht einmal vorsichtig mit Phosphatpuffer mit Calcium und Magnesium gewaschen und danach 2 ml des frisch angesetzten pH-stabilen Expositionsmediums zugegeben. Dieses Medium bestand aus 1 Teil RPMI 1640, 1 Teil Phosphatpuffer mit Kalzium und Magnesium und 5 mM Glukose, 5 % fötalem Rinderserum, 100 Units/ml Penicillin & 100 µg/ml Streptomycin und 15 mM HEPES-Puffer.

Die Kulturplatten wurden wegen der relativ langen Inkubationszeit mit Klebeband abgedichtet, so dass keine Verdunstung des Mediums möglich war. Die Kulturplatten wurden dann in spezielle temperaturkonstante externe Inkubatoren überführt, welche zur Vermeidung einer ungewollten Beeinflussung durch die Resonanzen des Mini-Rayonex mehr als 3 m voneinander getrennt in zwei verschiedenen Räumen aufgestellt waren. Diese externen Inkubatoren lieferten über die gesamte Expositionszeit eine Temperaturkonstanz von 37,2 °C ± 0,2 °C. Im Inkubator mit den Kontrollzellen wurden die Kulturplatten einfach auf dem Boden des Inkubators übereinander aufgestellt. Bei den Zellen, die der Resonanz des Mini-Rayonex ausgesetzt wurden, wurden die Geräte zunächst für 30 Sekunden in lauwarms fließendes Wasser gehalten, abgetrocknet und danach im Inkubator "West – Ost" und mit der Schrift nach oben und nach vorne ausgerichtet. Die Kulturplatten wurden sowohl unterhalb dem Mini-Rayonex als auch direkt auf dem Mini-Rayonex plaziert.

An den Wundrändern kommt es durch die Verletzung der intakten Zellschicht zu einer Stimulation von Zellteilung und Zellwanderung und so zu einer Besiedlung des zellfreien Raumes unter Schließung der Wunde. Nach drei Tagen wurden die Zellen fixiert und nach Romanowski-Giemsa gefärbt. Dabei wird das Zytoplasma blauviolett und der Zellkern der Zellen rotviolett gefärbt. Die Breite der noch verbliebenen Wunde wurde nun in jeder Vertiefung an zwei verschiedenen Stellen anhand von Mikrofotografien bestimmt.

Die Auswertung erfolgte zunächst in tabellarischer Form und zur Veranschaulichung auch graphisch in der Auftragung der Wundbreite. Dargestellt wurde jeweils der Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (S.E.M.). Als statistisch signifikant im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle wurde ein p-Wert ≤ 0,01 im Student's *t*-Test angesehen.

## Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Wie in Abbildung 1 dargestellt, wanderten und proliferierten die Bindegewebszellen während der dreitägigen Inkubation in den zellfreien Raum der künstlichen Wunde. In den unbehandelten Kontrollen wurde die Wunde etwa zur Hälfte geschlossen (von 1.400 µm auf ca. 700 µm; Abbildung 2). Die Resonanzen des Mini-Rayonex-Gerätes stimulierten den Wundheilungsprozess bei den Kulturen, die sowohl oberhalb als auch unterhalb des Gerätes für die Dauer der dreitägigen Inkubation plaziert waren. Infolgedessen war in diesen Fällen die Wundbreite mit 490 resp. 549 µm deutlich geringer als für die unbehandelte Kontrolle (Abbildung 2). Berechnet man die prozentuale Stimulation, so erhält man eine annähernd 20 %ige Stimulation durch die Einwirkung des Mini-Rayonex. Diese Stimulation war statistisch signifikant im Vergleich zur Kontrolle ( $p \leq 0,01$ ; Student's *t*-Test). Ein signifikanter Unterschied zwischen der Plazierung der Kulturplatten oberhalb und unterhalb des Gerätes konnte nicht festgestellt werden.

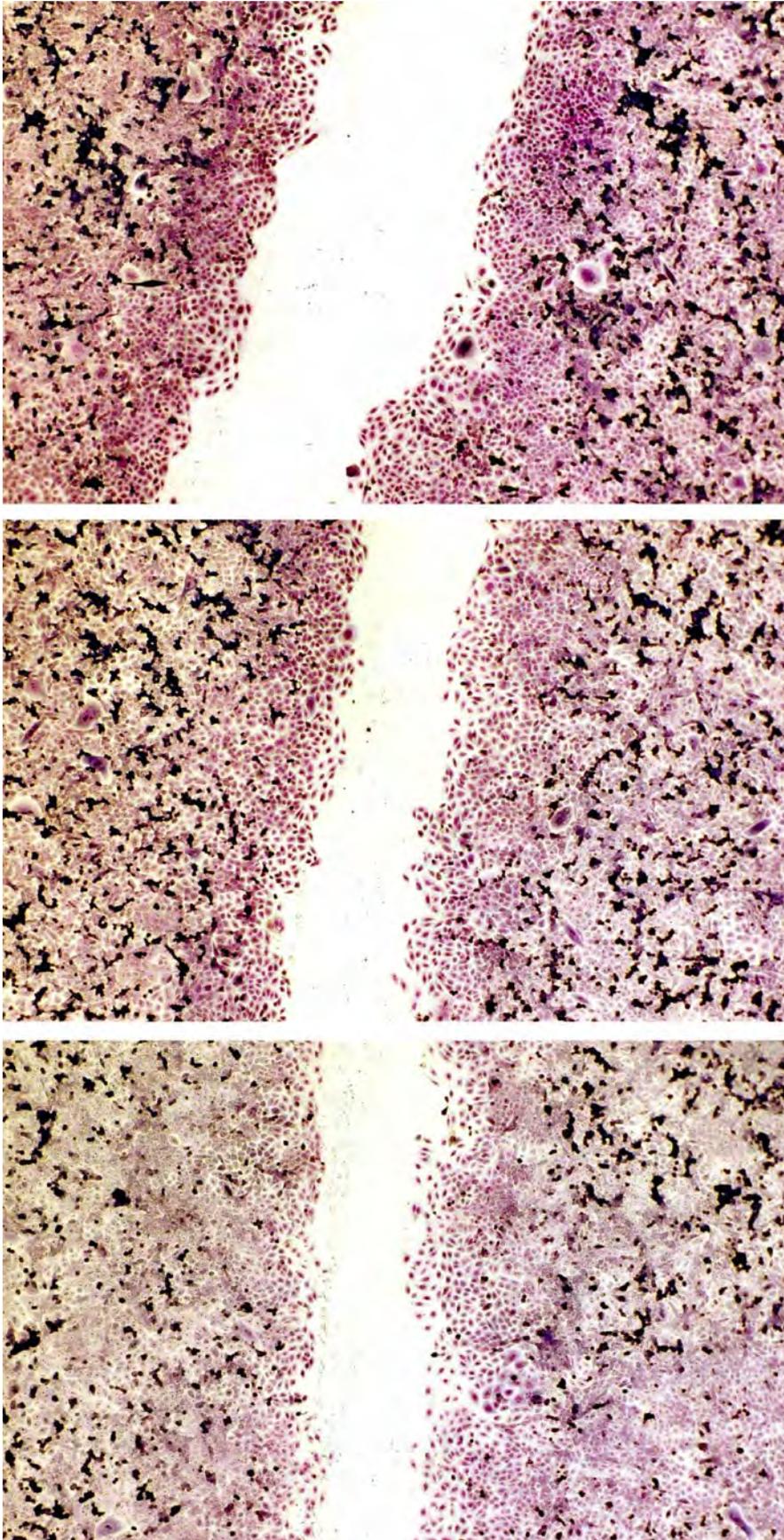
Zusammengefasst konnten in den hier durchgeführten *in vitro*-Untersuchungen die schon von Anwendern beobachtenden stimulierenden Wirkeffekte des Mini-Rayonex bei der Wundheilung bestätigt werden. Bemerkenswert ist dabei das Ausmaß der Stimulation um etwa 20 %. Somit kann die Anwendung des Mini-Rayonex in bestimmten Lebenssituationen wie beispielweise zur Beschleunigung von Wundheilungsprozessen bestens empfohlen werden.

Versuchsleiter und verantwortlich für die Richtigkeit der dargestellten Testverfahren und Ergebnisse.

Schongau, 27. März 2014

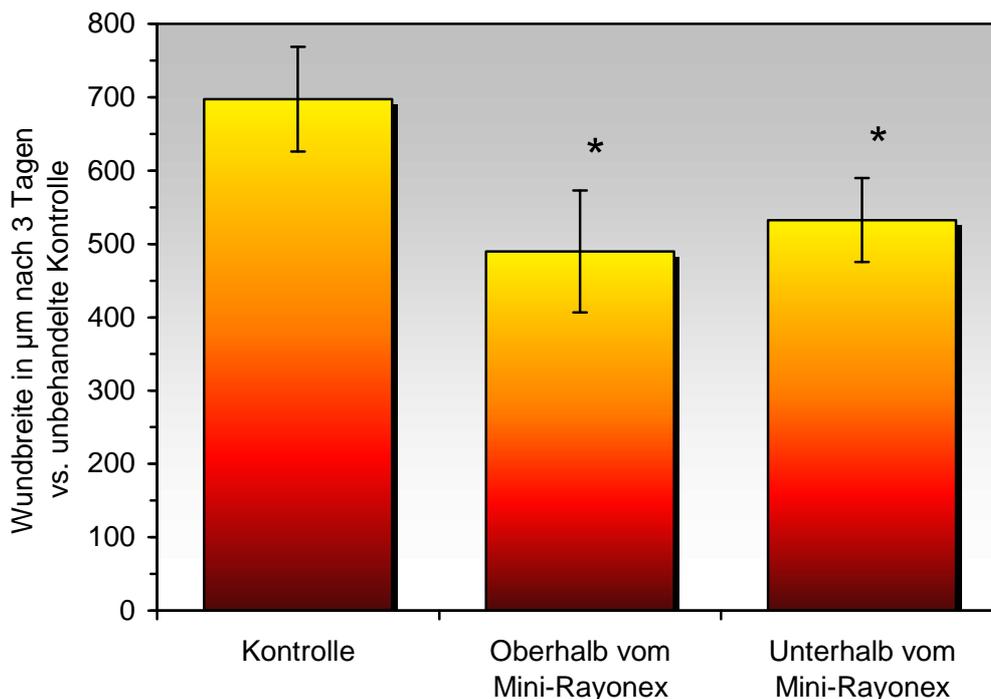


Prof. Dr. Peter C. Dartsch  
Diplom-Biochemiker



**Abbildung 1:** Mikrofotografien der gefärbten Zellkulturen im Hellfeld-Verfahren nach 3 Tagen. Die zellfreie Zone, in welche die Zellen einwandern und proliferieren konnten, ist in allen drei Aufnahmen gut erkennbar. Allerdings ist die Breite der Wunde in den unteren beiden Aufnahmen sichtbar geringer. Sehr schön erkennbar ist auch der aufgelockerte Wundrand, welcher wegen der vielen eingewanderten Zellen rötlicher erscheint als die viel dichter gepackten und zudem mit extrazellulärer Matrix überzogenen konfluenten Zellschichten am Rand. Oberes Bild: Unbehandelte Kontrolle. Mittleres Bild: Wundheilung oberhalb des Mini-Rayonex-Gerätes. Unteres Bild: Wundheilung unterhalb des Mini-Rayonex-Gerätes. Die Aufnahmen wurden nur beispielhaft herausgesucht und dienen der Veranschaulichung.

Probe	Wundbreite nach 3 Tagen (Einzelwerte in $\mu\text{m}$ )				Mittelwert (n = 3)	S.E.M. (n = 3)
Unbehandelte Kontrolle	591	682	819	573	697	71
	591	727	764	682		
	545	672	736	986		
Oberhalb vom Mini-Rayonex	709	682	467	610	490	83
	473	564	362	228		
	482	364	364	571		
Unterhalb vom Mini-Rayonex	410	500	672	546	532	57
	400	510	474	624		
	476	541	506	729		



**Abbildung 2:** Darstellung der Messergebnisse zur Wundheilung in tabellarischer und graphischer Form. Die Daten zeigen die Ergebnisse nach 3 Tagen kontinuierlicher Inkubation der unbehandelten Kontrollen im Vergleich zu den Kulturplatten, die oberhalb und unterhalb des Mini-Rayonex-Gerätes aufgestellt waren. Angegeben ist der Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes (S.E.M.). Eine statistisch signifikante Förderung des Wundheilungsprozesses (= geringere Wundbreite) wurde in der graphischen Darstellung mit einem Stern markiert ( $p \leq 0,01$ ; Student's *t*-Test).

# ZERTIFIKAT · CERTIFICATE



## **DARTSCH SCIENTIFIC GMBH** Institut für zellbiologische Testsysteme

bescheinigt hiermit, dass das Produkt

### **Mini-Rayonex**

der Firma

### **Rayonex Biomedical GmbH aus D-57368 Lennestadt**

mit tierversuchsfreien zellbiologischen Testmethoden auf  
förderliche Wirkungen *in vitro* untersucht wurde.

#### **Testergebnis:**

Bei den von uns durchgeführten Untersuchungen mit kultivierten Bindegewebsfibroblasten und zu Makrophagen differenzierten Promyelozyten konnten wir unter dem Einfluss des Mini-Rayonex-Gerätes nach nur 24 Stunden eine Stimulation des Zellstoffwechsels um bis zu 45 % gegenüber der unbehandelten Kontrolle beobachten. Ebenfalls von uns simulierte Wundheilungsprozesse wurden um annähernd 20 % im Vergleich zur Kontrolle gefördert und damit der Verlauf der Wundheilung durch die Anwendung des Gerätes günstig beeinflusst.

Aufgrund der Testergebnisse kann daher die Anwendung eines Mini-Rayonex-Gerätes in bestimmten Lebenssituationen (beispielsweise bei körperlichen oder seelischen Belastungen, Heilungsprozessen etc.) empfohlen werden.

Schongau, der 27. März 2014

Prof. Dr. rer. nat. Peter C. Dartsch  
Diplom-Biochemiker