

WERYFIKACJA WYSOKICH ROZCIEŃCZEŃ METODAMI BIOLOGICZNYMI

prof. dr hab. Elżbieta Dernałowicz-Malarczyk

Zakład Biochemii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej, Lublin

Streszczenie: Właściwe proporcje między różnymi gatunkami mikroorganizmów, endogennie współistniejących w organizmie zwierzęcym, są warunkiem zdrowia. Niekorzystne zmiany w środowisku bytowym człowieka, dotyczące pH, ciśnienia, temperatury, wilgotności, promieniowania i innych fizyko-chemicznych parametrów, wywołane na przykład poprzez błędy dietetyczne, nadużywanie leków, nadmierny stres itp., prowadzą do zanikania niektórych i nadmiernego rozwoju innych mikroorganizmów, stając się przyczyną grzybic, drożdżyc, i związanych z nimi różnych infekcji wirusowych, bakteryjnych i pasożytniczych.

Bardzo pomocne w zwalczaniu tych schorzeń jest stosowanie leków izopatycznych i homeopatycznych. Jednak bezpośrednie oddziaływanie pomiędzy obiektem biologicznym a lekiem, stosowanym w silnym rozcieńczeniu, nie jest łatwe do zdefiniowania, użytecznym jest zatem stworzenie modelu do badania takich interakcji. Dzięki łatwej dostępności materiału bakteryjnego i grzybowego gatunków saprofitycznych można w warunkach laboratoryjnych badać w sposób profesjonalny reakcje wybranych mikroorganizmów na obecność silnie rozcieńczonych substancji, hamujących lub stymulujących reakcje biologiczne poprzez zmiany w aktywności ważnych dla życia enzymów.

Przedstawione modelowe doświadczenia przeprowadzono w odniesieniu do enzymów grzybowych (podstawczaki, Basidiomycetes) i promieniowców glebowych (Actinomycetes), rozkładających naturalne substancje fenolowe, często występujące też w środowisku naturalnym flory ludzkiej. Badania ujawniły wyraźny wpływ rozcieńczeń wybranych aromatycznych efektorów takich jak fenol, kwas wanilinowy i izowanilinowy (oraz 15 innych) na zmiany aktywności produkowanych przez nie enzymów, peroksydazy, lakazy i demetylazy.

Istotnym wnioskiem z przeprowadzonych badań jest wykazanie regularnych zmian w aktywności badanych enzymów, oscylujących pod wpływem stopniowo rozcieńczonego fenolowego efektora, w amplitudzie od aktywacji enzymu do jego inhibicji. Rozcieńczany efektor przyjmuje więc funkcje trygera biologicznego, działającego na zasadzie przełącznika kierunku katalizy enzymatycznej. Dla peroksydaz i demetylaz okres między wzmocnieniami powtarzał się regularnie dla rozcieńczeń oddalonych od siebie 20 zerami po przecinku (dla fenolu rozcieńczonego homeopatycznych od zera do C30 uzyskano minimum aktywności peroksydazy roślinnej dla rozcieńczeń C1-C11-C21-C31, a maksimum aktywności przy C6-C16-C26).

Abstract: The state of health is the result of an appropriate proportion of different species of microorganisms coexisting in animal organism. Unfavorable changes in human environment considering pH, pressure, temperature, humidity, radiation and other physic-chemical factors which are evoked by dietetic mistakes, drugs misuse, extreme stress etc. lead to disappearing of some microorganisms and to excessive development of others. Such situation is the source of mycosis, blastomycosis and connected with them virus, bacterial and parasitic infections.

Medicines used by isopathy and homeopathy can cure mentioned diseases. However, direct interaction between biological subject and medicine used in strong dilution is not easy to define. The best solution is to create a model to test such interaction. Professional lab research is possible because of an easy access to bacterial and fungus saprophytic species. The target of the research is to find out the response of chosen microorganisms in the presence of highly diluted substances, which can stimulate or delay the biological action by changing the activity of important enzymes.

Model experiments were conducted in reference to fungus enzymes (Basidiomycetes) and Actinomycetes, which dissolve natural phenol substances frequently occurred in natural human flora. Research has revealed clear influence of dilutions of chosen aromatic effectors such as

phenol, vanilic and isovanilic acid (and 15 others) on changes of activity of enzymes, (peroxide, demethylase, laccase)

The finding of regular changes in activity of tested enzymes under influence of gradually diluted phenol effectors (amplitude from activation to inhibition) seems to be the significant conclusion of undertaken research. Diluted effectors take the function of biological trigger, acting as a switch of the direction of enzymatic catalyze. For peroxide and demethylase the period between increasing repeated regularly for dilutions varied every 20 decimal places (homeopathic dilution of phenol from 0 to C30 minimum activity of peroxide was reached for dilutions C1-C11-C21-C31 and maximum for C6-C16-C26).

Zarodniki grzybów nitkowatych i różnych mikroorganizmów typu pleśni kielkują i rozwijają się wszędzie tam, gdzie natrafiają na sprzyjające warunki. Ułatwiają to zasoby łatwo dostępnych źródeł węgla i azotu, odpowiednie zasolenie środowiska oraz właściwa jego kwasowość. (*Bio-Electronic Terrain Analysis According to Prof. Vincent, Erich Rasche, Med-Tronik GmbH* <http://www.oirf.com/recinstr/beta-ana.html>)

W wyższych organizmach zasiedleniu grzybowemu sprzyja zaleganie niestrawionego pożywienia w jelitach, obniżenie bariery immunologicznej i skażenie wolnymi rodnikami.

Wyróżnia się cztery typy schorzeń wywołanych przez grzyby:

1. **Nadwrażliwość** – alergiczna reakcja na pleśń, ich zarodniki i spory.
2. **Mykotoksykozy** – zatrucia u ludzi i zwierząt, do których dochodzi drogą pokarmową poprzez spożywanie skażonych produktów.
3. **Mycetyzmus** – zatrucie w wyniku spożycia trujących grzybów.
4. **Infekcja pasożytnicza.**

Codziennie mimo woli wdychamy i spożywamy wiele różnych zarodników, które poszukują odpowiednich warunków rozwoju.

Świat wewnątrz i na zewnątrz nas jest areną stałej walki i współzawodnictwa pomiędzy jedno- i wielokomórkowymi mikro- i makroorganizmami. To współzawodnictwo może przybierać charakter pozytywny lub negatywny. Zaawansowane przypadki aspergilozy i mukoryzy, spowodowanych masywnym atakiem grzybów z rodzaju *Aspergillus* czy *Mucor* na osłabioną tkankę, niejednokrotnie zostały zdiagnozowane jako guzy mózgu lub niewyleczalne zmiany skórne.

Oba wymienione rodzaje grzybów występują powszechnie w wielu środowiskach. Jako saprofity bytują one w glebach, ściółce, sianie, gnijących owocach i psujących się produktach spożywczych. Stanowią jednak tylko drobny

żywczych. Stanowią jednak tylko drobny ułamek ogólnej liczby mikroorganizmów, współbytujących w środowisku człowieka. Niestety, starając się o zapewnienie sobie dominacji, wyrzucają wielką liczbę zarodników, które osiedlając się w osłabionym chorobą organizmie produkują dodatkowo szereg toksyn (tabela poniżej).

W środowisku, w którym żyje człowiek, wyróżniono ok. 62 gatunki pleśni, w tym aż 34 zidentyfikowano jako toksyczne (*Piontek M., 1998, Zesz. Nauk. Pol. Zielonogórskiej, Inż., Środowiska, 116; 7*).

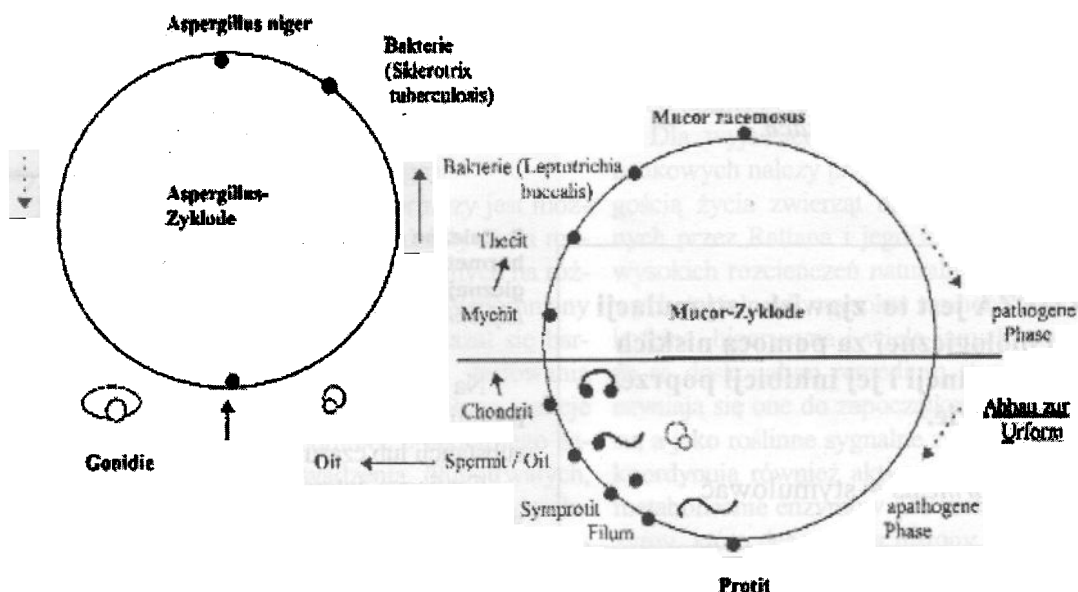
Mikotoksyny grzybów i pleśni

(na podstawie monografii M. Piontek, 1999, Wyd. Politechniki Zielonogórskiej)

- *Aspergillus*: aflatoksyny (16 rodzajów), sterigmatocystyny (8 rodzajów), wersikoloryny (12 rodzajów) oraz ochratoksyny (6 rodzajów).
- *Fusarium, Trichoderma, Chaetomium, Penicillium*: trichoteceny, cytochalazyny, rubratoksyny.
- *Alternaria, Aspergillus, Fusarium i Penicillium*: alternariol, kwas kojowy, moniliformina, zearalenon, cytrynina, patulina i wiele innych.
- niektóre gatunki *Fusarium* (*solani, sporotrichoides*) wytwarzają słynne toksyny T-2 i HT-2, stanowiące m.in. przedmiot wojny bakteriologicznej.

Poważny udział grzybów *Aspergillus niger* oraz *Mucor racemosus* i *Mucor mucedo* w kształtowaniu się patologii został zauważony i opisany przez prof. Enderlaina jeszcze w pierwszej połowie poprzedniego wieku. Zarówno proponowany przez Enderlaina polimorfizm bakterii, drożdży i grzybów, jak i jego opis *Cyklogynii*, nie zostały jednak zaakceptowane w środowisku akademickim, chociaż wiele ich elementów jest opisanych w czasopiśmie naukowych.

**Propozycja cyklogonii (polimorfizmu) wg teorii prof. Enderlaina:
Aspergillus niger oraz *Mucor racemosus* grają istotną rolę w tych przemianach**



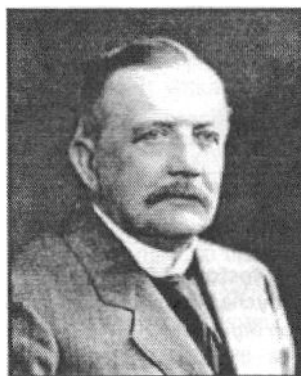
Konsekwencją infekcji pasożytniczej jest intensywna toksemia organizmu. Dotyka ona często kilku osobników w rodzinie ponieważ – o czym należy pamiętać – wiele chorób, które biorą początek z tej infekcji, przenosi się na potomstwo w przekazie cytoplazmatycznym. Jeśli infekcja nie zostanie w porę całkowicie opanowana, wtedy okresowo we krwi nosicieli pojawiają się toksyny pasożyta, a także produkty rozpadu jego komórek, często o silnych własnościach alergizujących (uwalniają się wolne lipopolisacharydy) – przy czym najczęściej bardzo jest trudno zidentyfikować poszczególne źródła infekcji. Sprzyjające warunki dla bytowania pasożytniczych generacji są przyczyną utrzymywania się określonych gatunków mikroorganizmów często przez całe życie gospodarza, doprowadzając do okresowego po-

garszania zdrowia, co może nawet przyjmować charakter skazy. Do schorzeń grzybiczych, bakteryjnych i drożdżakowych dołączają się często robaczyce, zwiększając liczbę toksyn, wyrzucanych do krwi nosiciela.

Pocieszające w tym jest to, że wiele schorzeń mija samoistnie, jeśli nastąpi zmiana warunków wegetacji: rodzaju pożywienia, warunków mieszkaniowych, uwarunkowań psychofizycznych itp. – w czym bardzo pomaga także stosowanie preparatów izopatycznych lub homeopatycznych.

W zrozumieniu strategii obronnej organizmu bardzo przydatne okazało się prawo ogólnobiologiczne określane mianem **hormezy**. Oto kilka historycznych faktów dotyczących tego pojęcia.

Rys. 1



Hugo Schulz (1853-1932)

1884 – Hugo Schulz – Uniwersytet w Greifswaldzie: „*rozcieńczone roztwory weratryny (alkaloidu z Sabadilla) są bardzo pożyteczne przy leczeniu salmonellozy*”. W wysokich dawkach weratryna wywołuje symptomy zakażenia jelitowego u ludzi.

1887 – Hugo Schulz – Uniwersytet w Greifswaldzie: *liczne toksyny intensyfikują metabolizm grzybowy w niskim stężeniu, ale hamują go w wysokim*.

1888 – Hugo Schulz i Rudolf Arndt ogłosili fundamentalne prawo, wskazujące dwufazowość działania każdej substancji biologicznie czynnej, w zależności od dawki.

1943 – CM Southam i J Ehrlich – Uniwersytet w Idaho: ekstrakt z drewna czerwonego cedru podwyższa metabolizm grzybów w niskich, ale hamuje go w wysokich dawkach.

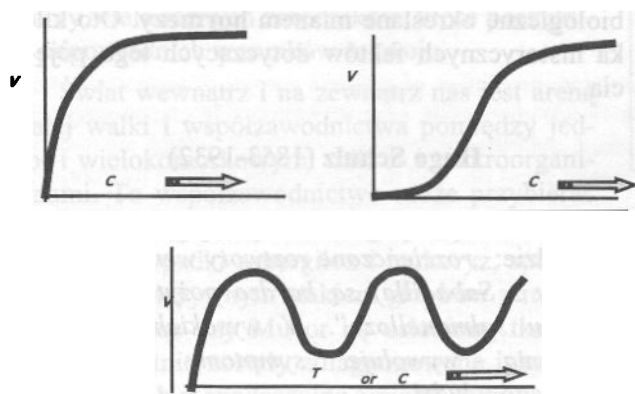
Tak więc

HORMEZA jest to zjawisko stymulacji reakcji biologicznej za pomocą niskich dawek substancji i jej inhibicji poprzez dawki wysokie.

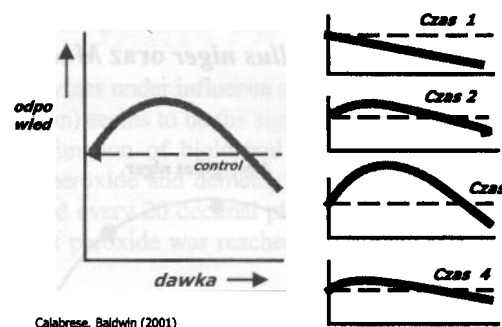
Po grecku *hormesis* = stymulować

Hormeza jako zjawisko przyrodnicze towarzyszy organizmom żywym od zarania dziejów. Jest przyczyną wykształcenia się tolerancji, bez której byłoby niemożliwym przystosowanie się organizmów do trudniejszych warunków bytowych. Jej graficzna forma wskazuje na odstępstwo od liniowości. Poniżej na dwu kolejnych rysinach zamieszczono ilustrację nieliniowych zależności, stale spotykanych w procesach biologicznych oraz kształtowanie się odpowiedzi hormetycznej zależnej zarówno od dawki jak i czasu trwania reakcji.

Rys. 2



A. Zależne od czasu ilościowe zmiany w kinetyce enzymatycznej



Calabrese, Baldwin (2001)

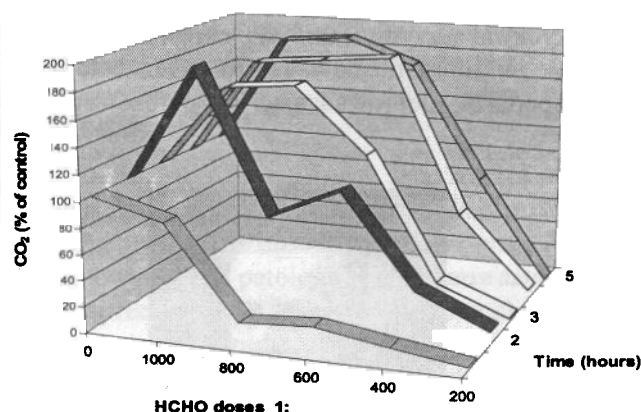
B. Zależne od czasu i stężenia efektoru zmiany typu hormetycznego w kształtowaniu się odpowiedzi biologicznej (Calabrese E.J.; Baldwin L.A. 1998, *Human & Experimental Toxicology*, 17(7), 353-364)

Na powyższych schematach V ilustruje szybkość reakcji, a C odpowiada zmianom stężenia testowanej substancji lub czasu (T) prowadzenia obserwacji.

Graficzna interpretacja zjawiska hormezy wprowadza informację o okresowym zwiększaniu się szybkości reakcji biologicznej, zależnej od dawki efektoru, wyrażonej przez pojawienie się obszaru dodatkowej aktywności biologicznej. Na poniższym wykresie jest ona widoczna jako kształtujące się w czasie nowe maksimum aktywności, które zmienia przebieg reakcji z liniowej na nieliniową.

Profesor Edward Calabrese z Uniwersytetu Massachusetts w Amherst, któremu zawdzięczamy aktualny renesans badań nad hormezą, nazywa to zjawisko nadkompensacją. Na razie nauka nie potrafi wyjaśnić tego fenomenu, chociaż zjawisko jest powszechne i całkowicie powtarzalne.

Przedstawione graficznie hormetyczne zależności opisano eksperymentalnie po raz pierwszy jeszcze w 1929 roku. Te same dane współcześnie wykreślone, ułatwiają zrozumienie działania prawa hormezy.



Rys. 3 Wpływ fosfonu i formaldehydu na produkcję CO₂ w czasie oddychania drożdży (Wg. Calabrese, 1998, *Ecotoxicol Environ Safety*).

Znajomość prawa hormezy, cytowanego często jako prawo rozcieńczeń Arndt-Schulza, dostarcza poważnych powodów dla wykorzystania go w praktyce. Stosując je można bowiem usuwać z organizmu toksyczne substancje. Można też w ten sam sposób osłabić rozwój pasożytów, drożdży, bakterii. Wskazuje na to praktyczne stosowanie leków sporządzonych na bazie izopatii (na przykład leki firmy SANUM, czy preparaty firmy HEEL, pochodzenia bakterieryjnego, grzybowego, pasożytniczego).

Innym wykorzystaniem prawa hormezy jest możliwość testowania z jego pomocą oddziaływania rozcieńczanych substancji biologicznie czynnych na różnorodne reakcje żywego organizmu. Wspomniany wcześniej materiał mikrobiologiczny okazał się bardzo wygodny do eksperymentalnego testowania wpływu bardzo niskich dawek na określone reakcje metaboliczne. Warto tu wspomnieć o takich jego zaletach jak możliwość prowadzenia długotrwałych, systematycznych obserwacji na materiale hodowlanym lub kulturach *in vitro*, z możliwością wielokrotnych powtórzeń i weryfikacji prowadzonych obserwacji. Dodatkową zaletą stosowania materiału grzybowego jest obserwowanie oddziaływania wysokich i niskich dawek niskocząsteczkowych efektorów, jakimi mogą zostać z wyboru proste substancje fenolowe, flawonoidowe, steroidowe i tym podobne związki, spełniające często rolę ochronną w stosunku do organizmów wyższych na zasadzie detoksykatorów i zmiataczy wolnych rodników. Są one powszechnie produkowane przez te mikroorganizmy jako metabolity wtórne, ochraniając komórkę przed toksycznym działaniem wolnych rodników oraz egzo- i endotruć.

Stymulujące oddziaływanie substancji fenolowych na organizm jest ściśle połączone z pojęciem **slabego stresu**, będącego przeciwwagą dla **stresu silnego**, wywołanego na przykład przez nadmiar wolnych rodników w środowisku. Hormetyczne oddziaływanie substancji fenolowych i innych pokrewnych o charakterze zmiataczy wolnych rodników będzie polegało na ich przeciwnym ilościowym działaniu w porównaniu z wysokim stężeniem czynnika sprawczego.

Na wyraźną rolę naturalnych fenoli jako regulatorów metabolicznych wskazały prace Sinclaira i wsp. (2000-2005) w badaniach nad resweratolem i podobnymi substancjami. Złóżczy resweratrol, znany sterol roślinny, obecny w dużych ilościach w czerwonym winie, stanowi ostatnio przedmiot licznych badań ze względu na jego udział w ułatwianiu procesu deacetylacji histonów, wpływając tą drogą na regulację transkrypcji. Ponieważ produkowane przez grzyby substancje fenolowe są pochodzenia egzogenego w stosunku do organizmu ludzkiego, auto-

rzy tych prac (D. W. Lamming, J. G. Wood and D. A. Sinclair; 2004; *Molecular Microbiology*, 10,1365-2958) postawili hipotezę kseno-hormezy jako leczniczego procesu, związanego z detoksykacją organizmu. W tych samych kategoriach łagodnego stresu można rozpatrywać ograniczenie liczby kalorii w pożywieniu jako działania, przyczyniającego się do przedłużenia życia.

Dla wyjaśnienia tego fenomenu w kategoriach naukowych należy przytoczyć wyniki badań nad długością życia zwierząt doświadczalnych, prowadzonych przez Rattana i jego zespół z wykorzystaniem wysokich rozcieńczeń naturalnych substancji fenolowych takich jak wysoko rozcieńczony resweratrol, kofeina, hiperycyna i wiele innych, znanych z tego, że są doskonałym remedium stymulacyjnym. Przyczyniają się one do zapoczątkowania łagodnego stresu, a jako roślinne sygnały związki przeciwstresowe koordynują również aktywność niektórych ważnych metabolicznie enzymów. Do nich można zaliczyć enzymy, które deacetyluje histony i inne białka, wpływając przez to na stopień transkrypcji określonych genów. Bardzo ważną grupą enzymów okazały się hydrolazy z grupy **sirtuin**, o własnościach deacetylacyjnych względem histonów. To właśnie sirtuiny usuwając grupy acetylowe z reszt lizynowych w N-terminalnych domenach histonów H3 i H4, blokują w sposób naturalny proces transkrypcji.

Należy pamiętać, że w **bogatym kalorycznie pożywieniu występuje wysoki poziom NADH, który hamuje aktywność sirtuin**. Jego ograniczenie jest najprostszym czynnikiem uaktywniającym te ważne życiowo enzymy. Dla praktycznego wykorzystania informacji o kseno-hormezie do procesu przedłużenia biologicznego życia istotnym jest używanie silnie rozcieńczonych dawek naturalnych biostymulatorów i stosowanie niskokalorycznego pożywienia.

Wg Rattana (Rattan, S.I.S. *Aging intervention, prevention and therapy through hormesis. Journals of Gerontology Biological Sciences*, 59A: 705-709, 2004.) korzyści, płynące ze stosowania łagodnego stresu poprzez ograniczenie kalorii w pożywieniu oraz spożywanie odpowiednio rozcieńczonych naturalnych antyoksydantów w celu aktywacji deacetylaz, można przedstawić następująco:

- stymulacja obrotu białkowego do 90%
- aż 40% redukcja białek, ulegających karbonylacji
- 2-3 x wyższy poziom glutationu zredukowanego w komórkach
- 2 x niższy poziom glutationu utlenionego
- wzrost aktywności katalazy od 50 do 140%,
- wyższa produkcja białek szoku, zwłaszcza z grupy HSP 27, 70 i 90,
- wyższa tolerancja innych rodzajów stresu

Po tych wyjaśnieniach łatwiej będzie Czytelnikowi zrozumieć celowość wykorzystania mikroorganizmów grzybowych do badań nad wpływem wysokich rozcieńczeń fenoli na przebieg procesów metabolicznych. Należy przy tym pamiętać, że mikroorganizmy wydzielają podczas wzrostu liczne niskocząsteczkowe substancje efektorowe oraz enzymy, biorące udział w procesach regulacyjnych. Charakter działania efektorów zależy od ich stężenia. Pracując z mikroorganizmami w warunkach laboratoryjnych otrzymuje się materiał biologiczny o określonych, powtarzalnych parametrach wzrostu. Badania takie dostarczają cennych informacji o ogólnym charakterze oddziaływań dwufazowych. Wyniki można przynajmniej częściowo interpolować do materiału zwierzęcego, który jest często miejscem bytowania organizmów pasożytniczych.

GRZYBY jako obiekt badań

Przedmiotem prac własnych były liczne gatunki grzybów leśnych, które wydzielają do podłoża duże ilości enzymów (m.in. lakazy i peroksydazy, ułatwiające rozkład drewna oraz ściółki). Enzymy te mają odpowiedniki w organizmach wyższych i są znane jako ceruloplazmina i peroksydaza.

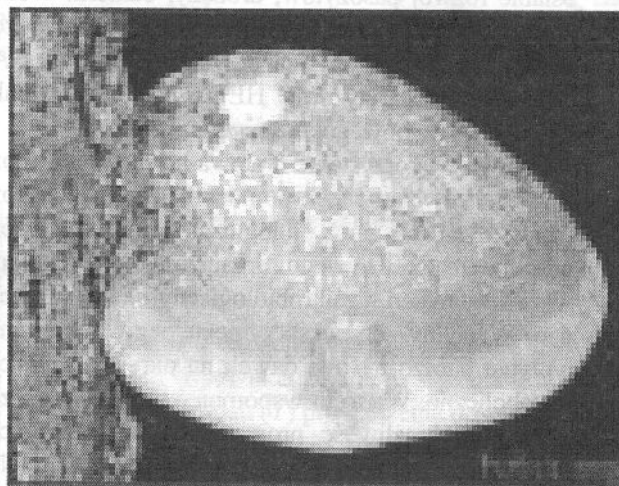
Grzyby są łatwe w hodowli zarówno na podłożu płynnym, jak i stałym, wykazują dużą tolerancję różnych źródeł węgla i azotu. Choć w Europie wykorzystuje się je głównie do celów przemysłowych, w Japonii i krajach azjatyckich znalazły zastosowanie również w lecznictwie (np. *Inonotus radiatus*, *Ganoderma lucidum* itp.).

W Polsce i krajach sąsiadujących niektóre gatunki grzybów kapeluszowych są wykorzystywane w medycynie ludowej. Mowa tu zwłaszcza o gatunkach należących do podstawczaków, hubach i niektórych grzybach jadalnych, które oprócz polisacharydów o charakterze przeciwnowotworowym są również producentami licznych substancji polifenolowych o właściwościach antyoksydantów.

Poniżej zdjęcia kilku gatunków grzybów o właściwościach leczniczych, wykorzystanych do badań nad wysokimi rozcieńczeniami.

GALERIA PODSTAWCZAKÓW (BASIDIOMYCETES)

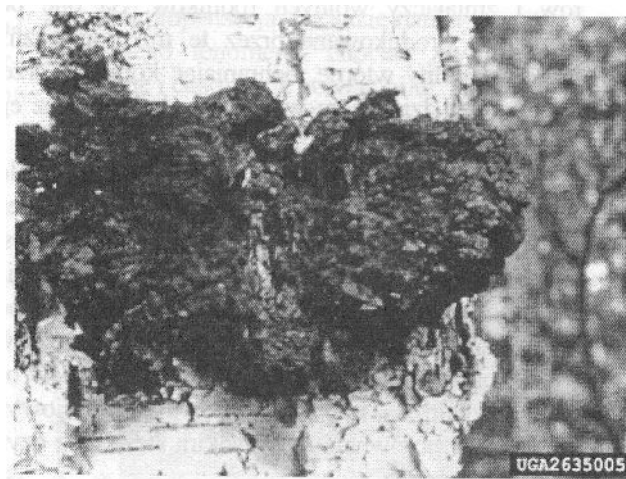
Porek brzozowy (*Piptoporus betulinus*)



www.qavilanes.com/fotos/setas/set55.jpg

Gatunek ten wykazuje wyraźne właściwości przeciwnowotworowe i bywa stosowany w medycynie ludowej.

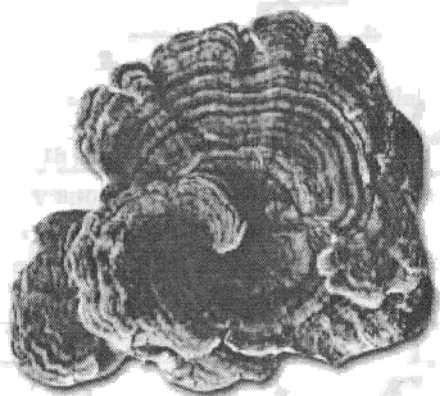
Inonotus obliquus



www.forestryimages.org/imges/384x256/2635005.jpg

Jest to popularny grzyb leczniczy, znany jako huba brzozowa lub „czaga”. Wykazuje wyraźne właściwości przeciwnowotworowe (preparat o nazwie BEFUNGIN sprzedawany na terenach byłego Związku Radzieckiego).

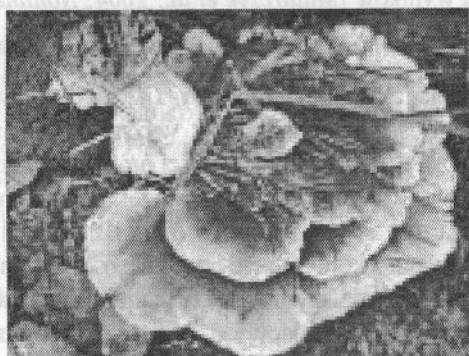
Włóknośzek wielobarwny
(*Coriolus versicolor* lub *Trametes versicolor*)



Bywa potocznie nazywany „indycznym ognem”. Popularny w Europie oraz w Północnej Ameryce, jest unikalnym grzybem leczniczym, znanym medycynie ludowej i wykorzystywanym do sporządzania preparatów leczniczych.

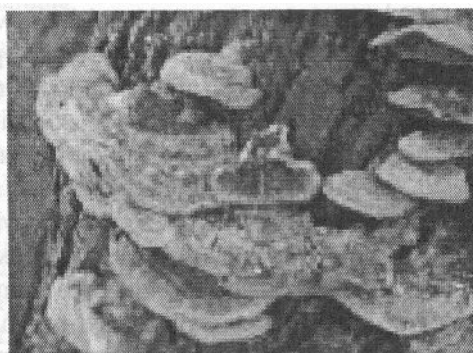
Pozostałe wymienione gatunki mają mniejsze znaczenie lecznicze chociaż są dobrymi producentami enzymów ligninolitycznych. Często stanowią cenny dodatek kulinarny.

Abortiporus biennis



www.funqocheva.it/tav_abortiporus_biennis.htm

Cerrena unicolor



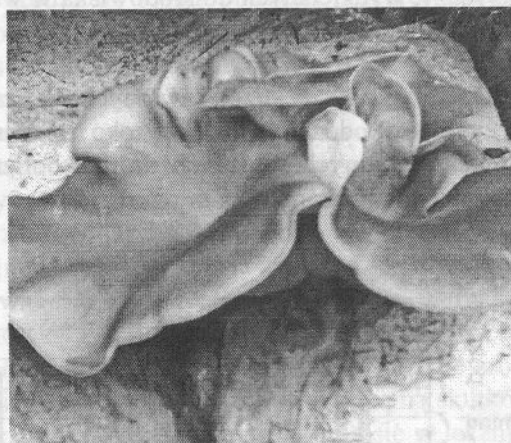
pilzbestimmung.de/datenbank/GrossBild.php4?Pi...

BOCZNIAKI

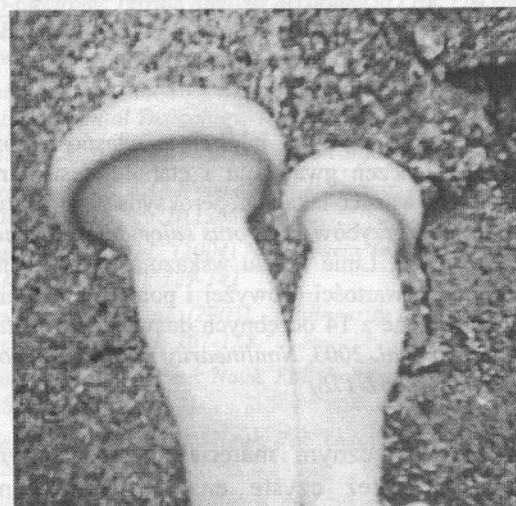
Pleurotus ostreatus



Pleurotus sajor-caju



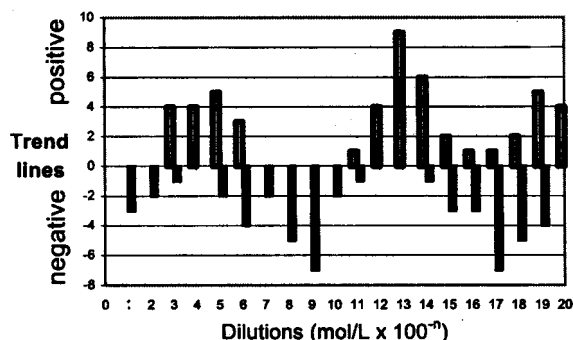
Pleurotus eryngii



Wielką zaletą badania przyżyciowego, prowadzonego na hodowlach grzybów w obecności efektorów, jest to, że pozwalają one na równoległe śledzenie oddziaływania wszystkich badanych rozcieńczeń, które przygotowuje się z zastosowaniem dynamizacji w postaci szeregu od 100^{-1} do 100^{-n} , gdzie n jest numerem iteracji w wyrażeniu $n = -\log_{100} \text{mol/L}$ (odpowiada to pojęciu rozcieńczenia homeopatycznego znanego jako C lub CH). Przebieg prowadzonych równoległe analiz upoważnia do porównywania obserwowanych zależności w odniesieniu zarówno do jakości efektoru, jak i jego poszczególnych potencji.

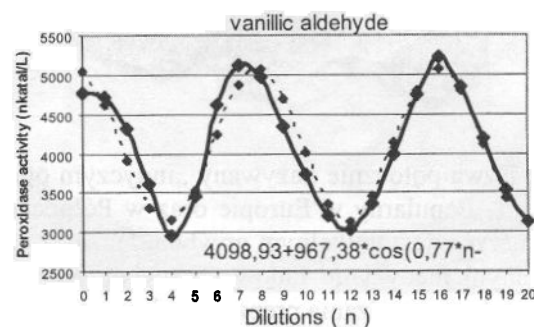
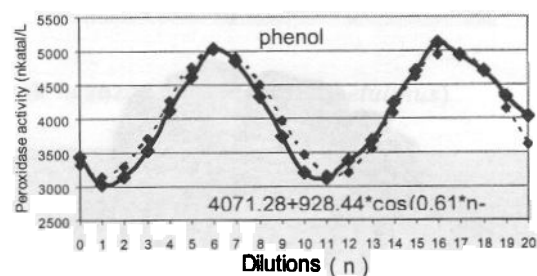
Przedmiotem przedstawionych oznaczeń laboratoryjnych był wpływ rozcieńczeń potencjonowanych fenoli, wybranych zgodnie z metabolizmem grzyba, na kształtowanie się aktywności obu ważnych enzymów, lakazy i peroksydazy, wydzielanych do środowiska w warunkach laboratoryjnych.

Poniżej przykłady przedstawionych graficznie wyników oddziaływania wysoko rozcieńczonych wybranych substancji na metabolizm grzyba.



Rys. 4 Aktywujące lub inhibujące własności różnych rozcieńczeń gwaszaku i etanolu, testowane wobec aktywności lakazy i peroksydazy w kulturach *in vitro* grzybów *Pleurotus sajor-caju* i *Trametes versicolor*. Linie trendu wskazują maksymalne i minimalne wartości (powyżej i poniżej linii trendu) zestawione z 14 odrębnych doświadczeń. (Malarczyk E., et al. 2003, *Nonlinearity in Biol, Toxicol, Medicine*, 1, 167-178)

Bardzo wdzięcznym materiałem badawczym okazały się też czyste enzymy, izolowane z grzybów lub roślin. Poniżej przykład oscylacyjnych zmian aktywności peroksydazy chrzanowej (HRP) pod wpływem rozcieńczeń substancji fenolowych (fenolu i waniliny).



Rys. 5 Zmiany w aktywności peroksydazy HRP inkubowanej przez 3 godziny z różnymi rozcieńczeniami fenolu lub aldehydu wanilinowego (waniliny) gdzie $n = -\log_{100} \text{mol/L}$. Linie przerywane odpowiadają graficznej ilustracji analizy funkcji cosinus, obliczonej teoretycznie na podstawie otrzymanych wyników (Malarczyk et al., 2004; *Nonlinearity in Biol., Toxicol., Medicine.*, 2/2, 129-141).

Tak jak i poprzednio (rys. 4) zwraca uwagę regularność pojawiania się wyższej (maksima) i niższej (minima) aktywności w porównaniu z kontrolą. Ciągłość obserwacji przekroczyła znacznie wartość stałej Avogadro ($n = 12$) i nadal obserwowano kontynuację zmian oscylacyjnych, wywołanych dalszym rozcieńczaniem fenolowych efektorów. Interesujący jest fakt, że dla fenolu odległość między poszczególnymi maksimami lub minimami jest opisana zmianą rozcieńczenia, równą 20 zer po przecinku. Tak więc dla peroksydazy HRP traktowanej rozcieńczonym fenolem od $n=1$ (100^{-1} mg/mL) do $n=30$ obserwowano wzmocnienia aktywności dla $n=6, 16, 26$, przy minimum odpowiadającym rozcieńczeniom $n=1, 11, 21$. Dla waniliny odpowiednio wzmocnienia obserwowano dla $n = 1, 8, 16$, a osłabienia dla $n = 4, 12, 20$. Łącznie przebadano aż 19 różnych substancji fenolowych i wykazano że wzór oscylacji był inny dla poszczególnych substancji i niejako je charakteryzował. Czytelników zainteresowanych dokładnym opisem przeprowadzonych badań zapraszam do literatury oryginalnej, wg wskazanego piśmiennictwa w języku angielskim.

Podobne własności regulacyjne wykazują również rozcieńczenia efektorów (np. formaldehydu) w odniesieniu do aktywności wybranych enzymów (demetylaz) w hodowlach komórek promieniowców z rodzaju *Nocardia* i *Rhodococcus*

Wykazano, że aktywność enzymu zmieniała się nie tylko pod wpływem rozcieńczania efektora, lecz także jako funkcja czasu, zgodnie z teorią nadkompensacji (patrz rys. 2). Zmiany te charakteryzowały się również interwałem 20 zer po przecinku.

Zmiany w aktywności demetylacyjnej okazały się także widoczne w obrazie morfologicznym badanych komórek *Rhodococcus erythropolis*, gdzie wyraźnym zmianom podlegała liczba wakuoli w zależności od rozcieńczenia formaldehydu, który okazał się zdolny do alternatywnej (dwufazowej) modyfikacji testowanej aktywności

WNIOSKI

Na podstawie przedstawionych wyników, które stanowią jedynie zarys obserwowanych zmian w odniesieniu do kilku wybranych białek enzymatycznych, można podać sugestie pewnych prawidłowości, działających w świecie wysokich rozcieńczeń. Stanowią one na razie kanwę dla dalszych badań, które powinny objąć większy i bardziej zróżnicowany materiał eksperymentalny. Niemniej wykazane rezultaty pozwalają na sprecyzowanie kilku wniosków ogólniejszej natury:

- Różnice w rozcieńczeniu efektorów stanowią realną przyczyną występowania oscylacyjnych zmian w aktywności biologicznej.
- Istnieją zakresy rozcieńczeń, które aktywują aktywność biologiczną, oraz takie, które ją hamują.
- Bazując na enzymatycznych danych kinetycznych ten sam efektor w zależności od rozcieńczenia wykazuje charakter przeciwny, oddziałując alternatywnie jako aktywator lub jako inhibitor.
- Zmiany wywołane różnicą stężeń efektorów są widoczne również w obrazie morfologicznym komórek, co stanowi dowód głębokiego działania rozcieńczonych nawet ponad wartość stałej Avogadro substancji biologicznie czynnych na procesy fizjologiczne.

- Tylko niektóre z przebadanych rozcieńczeń wykazują działanie aktywacyjne (w domyśle – lecznicze), jednak regularność obserwowanych przemian pozwala na przewidzenie rodzaju reakcji w zależności od zastosowanego rozcieńczenia i wykluczenie stężeń o działaniu ujemnym.
- Pojawia się praktyczna przestroga przed stosowaniem efektorów w rozcieńczeniach wywołujących działanie ujemne, ponieważ może to prowadzić do poważnego zakłócenia funkcji komórek. Należy jednak pamiętać, że reakcje mikro- i makroorganizmów mogą charakteryzować się odmiennymi wartościami rozcieńczeń aktywujących i inhibujących w odniesieniu do tych samych substancji. Ten punkt wymaga zgromadzenia dalszych danych eksperymentalnych.

Rodzi się realna potrzeba przeprowadzenia podobnych do opisanych w tym artykule testów dla substancji stosowanych w niskich stężeniach, dodawanych jako uzupełnienia przy produkcji leków oraz szczepionek, ponieważ – mimo że występują w niewielkich ilościach – substancje te w żywym organizmie są rozpoznawane zarówno przez biorcę jak i współlobną w nim florę bakteryjno-grzybową i pasożytniczą. Można spodziewać się zaistnienia niezgodności w reakcji komórek współbytuujących organizmów oraz komórek biorcy na to samo niskie stężenie środka biobójczego. Może to być przyczyną skutków ubocznych, jakie często obserwuje się w lecznictwie.

Bibliografia

- Bio-Electronic Terrain Analysis According to Prof. Vincent, Erich Rasche, Med-Tronik GmbH*
www.oirf.com/recinstr/beta-ana
- Calabrese E.J.; Baldwin L.A. 1998, *Human & Experimental Toxicology*, 17(7), 353-364
- Calabrese, 1998, *Ecotoxicol Environ Safety*
- Lamming D. W., J. G. Wood and D. A. Sinclair; 2004 *Molecular Microbiology*, 10, 1365-2958
- Malarczyk E. et al., (2004) *Nonlinearity in Biol., Toxicol., Medicine*, 2(2), 129-141
- Malarczyk E., et al. (2003), *Nonlinearity in Biol., Toxicol., Medicine*, 1, 167-178
- Piontek M., 1998, *Zesz. Nauk. Pol. Zielonogórskiej, Inż., Środowiska*, 116 (7).
- Piontek M., 1999, *Zesz. Nauk. Pol. Zielonogórskiej, Inż., Środowiska*
- Rattan, S.I.S. *Aging intervention, prevention and therapy through hormesis. Journals of Gerontology Biological Sciences*, 59A: 705-709, 2004.