

## **E) Zusammenfassung**

### **1. Ziel**

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Dosis-Wirkungs-Relationen, von Effekten kleinster Dosen und die wechselseitige Beeinflussung von toxischer Wirkung und hohen Dilutionen derselben Toxine auf zellulärer Ebene. Es wurden auch einfache Verdünnungen (Mischungen) mit homöopathisch aufbereiteten Potenzen verglichen. Es wird außerdem eine Literaturübersicht zum Thema Isopathie und in-vitro-Untersuchungen im Rahmen der homöopathischen Grundlagenforschung gegeben.

### **2. Methodik:**

Ein bereits etabliertes Testsystem, der MTT-Test, wurde den Fragestellungen entsprechend modifiziert.

Untersucht wurden wässrige, alkoholische und lactosehaltige Potenzierungen (und Verdünnungen) der Homöopathika *Arsenicum album*, *Cuprum sulfuricum*, *Mercurius sublimatus corrosivus* und *Thuja occidentalis*. Getestet wurden verschiedene Potenzstufen zwischen D2 und D30 (D200). Die Testlösungen wurden über Zeiträume von 2 -120 Stunden auf adhärenenten Säugerzelllinien inkubiert (EBL-, HeLa- und MDBK-Zellen). Es wurde der Einfluß der Testlösungen auf die Spaltungsaktivität der Zellen gegenüber MTT zu verschiedenen Meßzeitpunkten bestimmt. In weiteren Versuchsvarianten wurden die Zellen nach einer Vorbehandlung mit den Homöopathika einer toxischen Belastung durch die Applikation einer relativ stark konzentrierten Lösung des selben Stoffes (Arsen, Kupfer oder Quecksilber) ausgesetzt ("prophylaktischer" Versuchsansatz). Auch die Reaktion der Zellen nach einer Toxinbelastung und einer nachfolgenden Inkubation mit verschiedenen Potenzen des selben Toxins wurde untersucht ("therapeutischer" Versuchsansatz). Außerdem wurden auch einfache Verdünnungsreihen, bei denen die Homöopathika in ansteigenden Stufen jeweils 1:1 mit Zellmedium vermischt wurden, mit in die Untersuchungen einbezogen.

### **3. Ergebnisse**

Insgesamt war eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auch in teilweise blind durchgeführten Untersuchungsreihen gegeben. Es konnten sowohl inhibitorische als auch stimulierende Einflüsse auf die mitochondriale Aktivität der Zellen gemessen werden. Dabei konnten auch Umkehrwirkungen auf die Gabe eines Homöopathikums in Abhängigkeit von Inkubationszeit und der Höhe der Dilution belegt werden. Es war auch möglich, Wechselwirkungen zwischen einer Toxinbelastung und einer vorangehenden oder nachfolgenden Applikation von höheren Dilutionen desselben Toxins zu beobachten.

Nicht geklärt werden konnte die Frage eines Wirkungsnachweises über die Grenzen der pharmakologisch wirksamen Konzentration hinaus. Die meisten der beobachteten Effekte lassen sich einem Bereich zuordnen, in dem pharmakologische Eigenschaften der untersuchten Substanzen möglicherweise noch eine Rolle spielen könnten. Damit liegt die Relevanz der Ergebnisse in einem Zwischenbereich von Homöopathie und den Regulationstherapien (wie z.B. der Desensibilisierung und der Eigenbluttherapie), in denen mit Dosierungen gearbeitet wird, die deutlich unter denen der üblichen Wirkstoffkonzentrationen liegen.

Die wichtigsten Einzelergebnisse sind:

### 1. Arsenicum album

- Effekte von auf Zellen aufgetragenen (wässrigen) Arsenicum album Potenzen sind mit der beschriebenen Methode bis zur D7 (wässrig), teilweise auch bis zur D8 zu beobachten.
- Es wurde eine Supprimierung der Zellaktivität beobachtet, keine Stimulierung.
- Es war auch keine Stimulierung der Zellaktivität durch Potenzen nach einer vorhergehenden Intoxikation mit Arsen zu beobachten.
- Durch eine Vorbehandlung mit einer wässrigen D7 verringerte sich die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber einer nachfolgenden Intoxikation mit Arsen.
- Zwischen wässriger Verdünnung und Potenzierung konnten keine Unterschiede festgestellt werden.
- Zwischen Lactose-Mischungen und Lactose-Potenzen bestanden bei der D4 (M4) deutliche Unterschiede.

### 2. Cuprum sulfuricum

- Effekte von auf Zellen aufgetragenen Cuprum sulfuricum Potenzen sind mit der beschriebenen Methode bis zur D5, teilweise bis zur D6 (wässrige Potenzen) zu beobachten.
- Es wurde eine Supprimierung der Zellaktivität beobachtet, aber auch eine Stimulierung der Zellaktivität, die neben der Dosis und vor allem von der Zeitdauer der Einwirkung abhängig ist.
- Es war in einem Versuchsaufbau eine Stimulierung der Zellaktivität nach einer vorhergehenden Intoxikation mit Kupfer durch eine Cuprum sulfuricum Verdünnung zu beobachten, die etwa einer D6 (wässrig) entsprach.
- Durch eine Vorbehandlung mit einer wässrigen D5 (teilweise auch mit D4 und D6) und einer D4 aus einer Lactosezubereitung läßt sich eine Verringerung der Empfindlichkeit der Zellen gegenüber einer nachfolgenden Intoxikation mit Kupfer erreichen.
- Zwischen Verdünnung und Potenzierung konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

### 3. Mercurius sublimatus corrosivus

- Effekte von auf Zellen aufgetragenen Mercurius subl. corr. Potenzen sind mit der beschriebenen Methode bis zur D6, teilweise bis zur D7 (wässrige Potenzen) zu beobachten. Auch für die Lactose Potenz D12 konnte eine Beeinflussung der Zellaktivität nachgewiesen werden.
- Es wurde eine Supprimierung der Zellaktivität beobachtet, keine Stimulierung.
- Es war auch keine Stimulierung der Zellaktivität durch Mercurius subl. corr. Potenzen nach einer vorhergehenden Intoxikation mit Quecksilberchlorid zu beobachten.
- Durch eine Vorbehandlung mit Mercurius subl. corr. Potenzen ist die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber einer nachfolgenden Intoxikation mit Quecksilberchlorid nicht zu verringern.
- Zwischen wässriger Verdünnung und Potenzierung konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

- Zwischen Lactose-Mischungen und Lactose-Potenzen bestanden bei der D12 (M12) deutliche Unterschiede.

#### 4. Thuja occidentalis

- Effekte von auf Zellen aufgetragenen Thuja occid. Potenzen sind mit der beschriebenen Methode bis zur D5 (wässrig/alkoholische Potenzen) zu beobachten. In einer Versuchsreihe mit in Medium hergestellten Potenzen auf EBL-Zellmonolayer waren die Ergebnisse nach 48h, 72h und 96h auch für die D6 signifikant.
- Es wurde eine Stimulierung und eine Supprimierung der Zellaktivität beobachtet. Die beobachteten Effekte unterlagen dabei einer charakteristischen Dynamik, die stark von der Einwirkungsdauer der jeweiligen Probenlösung abhängig war.
- Eine nichtlineare Dosis - Wirkungsbeziehung zeigte sich sowohl (teilweise) bei den Potenzen als auch bei den Verdünnungsreihen. Diese Nicht-linearität konnte auch im morphologischen Erscheinungsbild der Zellen beobachtet werden.
- Zwischen Verdünnung und Potenzierung konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

## Summary

Then, C.: **In-vitro investigation on effects of very low doses of Arsenicum album, Cuprum sulfuricum, Mercurius sublimatus corrosivus and Thuja occidentalis by use of the MTT-assay.**

### 1. Purpose:

The purpose of this study was to investigate dose-effect-relations, effects of very low doses and the influence of high dilutions of a toxin on the toxic effect of the same substance in a cell culture system. Special investigations on the difference between homeopathic potencies and their corresponding conventional dilutions were carried out. In addition, a review of literature on isopathy and in-vitro investigations in basic homeopathic research is presented.

### 2. Methods:

A well established testmodel, the MTT-assay, was modified according to the special purposes of this study. Potencies (and conventional dilutions), produced in water (aqua bidest.) alcohol, cell culture medium and lactose of the homeopathic remedies Arsenicum album, Cuprum sulfuricum, Mercurius sublimatus corrosivus and Thuja occidentalis were tested. Tests were performed on potency ranges between D2 and D30 (D200). The time of incubation varied from 2- 120 hours. The cell cultures being used were adherent EBL- HeLa and MDBK -cell lines. The influence of the different solutions on the mitochondrial activity was determined for varying times of incubation. Further the cells were exposed - after pretreatment with homeopathic remedies - to a toxic concentration of the same substance (arsenic, copper or mercury). The reaction of the cells according to the pretreatment was investigated ("prophylactic" treatment). In other test series the cells were exposed to a toxic concentration of arsenic, copper or mercury and after that incubated with different potencies of the same substance ("therapeutical" treatment). In addition to those experiments investigations on series of increasing dilutions were performed by 1:1 mixtures with cell medium.

### 3. Results:

All in all the results from the different experiments could be reproduced very well, even in blind trials. Inhibiting and stimulating influences on mitochondrial activity were observed as well as reverse effects, depending on time of incubation and the specific height of the dilution. It was also possible to proof effects related to pre- or posttreatment in connection with a toxic exposure.

There was no proof for effects of dilutions or potencies above pharmaceutical effective doses. Most of the effects being observed were in a range of low doses in which their pharmaceutical qualities possibly might be important. The results have primarily to be discussed in connection with the field of therapies in which lower doses than the normal pharmaceuticals concentrations are being used (eg. desensitization or auto-sanguis therapy).

The most important results are:

#### 1. Arsenicum album

- With the described methods effects of aqueous potencies can be observed up to D7, in some cases up to D8 as well.
- No stimulating, only inhibiting effects were measured.
- There was also no stimulating effect from potencies to cell activity after a exposure with a toxic concentration of arsenic.
- Cells pretreated with a aqueous D7 showed a diminished sensitivity to following exposure of toxic concentration of arsenic.
- There was no difference between conventional aqueous dilution and potentisation.
- There was a significant difference between the effects of a lactose potency D4 and the conventional lactose mixture M4.

#### 2. Cuprum sulfuricum

- With the described methods effects of aqueous potencies can be observed up to D5, in some cases up to D6 as well.
- Inhibiting effects as well as stimulating effects were measured. The stimulating effects were dependent on the dose and the duration of incubation.
- In one of the test series there was a stimulating effect of a copper dilution (corresponding to D6) on cell activity after the exposure to a toxic concentration of copper.
- Cells pretreated with a aqueous D5 showed a diminished sensitivity to following exposure to toxic concentration of copper.
- There was no difference between conventional dilution and potentisation.

#### 3. Mercurius sublimatus corrosivus

- With the described methods effects of aqueous potencies can be observed up to D6, in some cases up to D7 as well. For the lactose potency D12 there was a significant effect on cell activity as well.
- No stimulating, only inhibiting effects were measured.
- There was also no stimulating effect from potencies to cell activity after or before a exposure to a toxic concentration of mercury.
- There was no difference between conventional aqueous dilution and potentisation.
- There was a significant difference between the effects of a lactose potency D12 and the conventional lactose mixture M12.

#### 4. Thuja occidentalis

- With the described methods effects of aqueous potencies can be observed up to D5, in some cases up to D6 as well.
- Stimulating as well as inhibiting effects were measured. There was a characteristic dynamic reaction in relation to the time of incubation.
- There was a non-linear dose-effect-response in potencies as well as in conventional dilutions. This non-linear dose-effect-relation was observed in the morphological reaction of the cells as well.
- There was no difference between conventional aqueous dilution and potentisation.