

Проф. д-р Паоло Беллавите¹, д-р Анита Конфорти², д-р Франческо Понтаролло¹,
д-р Риккардо Ортолани³ (все — Италия)

Иммунология и гомеопатия

2. Клетки иммунной системы и воспаление

Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2006; 3(1):13–24

Перевод Ирины Соколовой (Новосибирск)

Оригинал [здесь](#)

¹Кафедра морфологии и биомедицины, Университет Вероны; ²Кафедра здравоохранения, Университет Вероны; ³Ассоциация интегративной медицины "Джованни Сколяро"

Корреспонденция: Prof. Paolo Bellavite, Department of Scienze Morfologico-Biomediche, University of Verona, Piazza L. A. Scuro, 37134 Verona, Italy. Tel: +39 045 8202978; Fax: +39 045 8202978. E-mail: paolo.bellavite@univr.it

Автор ©. Опубликовано Oxford University Press.

Все права защищены. Онлайн-версия этой статьи была опубликована в открытом доступе. Пользователи имеют право на использование, воспроизведение, распространение, или размещение в открытом доступе этой статьи в некоммерческих целях при соблюдении следующих условий: оригинальное авторство указано правильно и в полной мере; данный журнал и Oxford University Press указываются как первоначальное место публикации с надлежащим цитированием; если эта статья впоследствии воспроизводится или распространяется не в полном объеме, но только частично или в качестве производной работы, это должно быть ясно указано. По поводу коммерческого использования обращайтесь journals.permissions@oxfordjournals.org

АБСТРАКТ

Ниже мы описываем результаты некоторых экспериментальных лабораторных исследований, направленных на проверку эффективности высоких разведений веществ и гомеопатических лекарств на моделях воспаления и иммунитета. Рассматриваются исследования, проведенные на базофилах, лимфоцитах, гранулоцитах и фибробластах. Этот подход может помочь в проверке в контролируемых условиях основных принципов гомеопатии, таких как "подобие" действия препарата на клеточном уровне и воздействие разведения/динамизации на активность лекарственного средства. Нынешняя ситуация такова, что лишь немногие и небольшие группы работают с лабораторными моделями гомеопатии. Что касается интерпретации данных с учетом принципа подобия, заметим, что существуют различные уровни подобия и лабораторные данные подтверждают этот принцип, но пока не дают окончательного ответа о механизме действия гомеопатии. Постепенно накапливаются подтверждения биологической активности *in vitro* растворов высоких разведений/динамизированных растворов, при этом имеются некоторые противоречивые

сообщения. Мы надеемся, что данный обзор литературы, неизвестной большинству читателей, даст оригинальное и полезное понимание современного состояния гомеопатии без окончательных выводов "за" или "против" этого метода. Такую неопределенность, вероятно, трудно принять, но сегодня она может быть наиболее непредвзятой позицией.

Ключевые слова: испытания *in vitro* — лабораторные модели — гомеопатия — высокие разведения — иммунная система — базофилы — гранулоциты — лимфоциты — принцип *подобия*

ВВЕДЕНИЕ

Надежность гомеопатических принципов (*подобия*, глобальный характер лечения и использование высоких разведений "природных" лекарств) и их возможные научные основы можно оценить при помощи различных теоретических и экспериментальных подходов.

В данной статье мы проанализируем экспериментальные данные по клеткам и лабораторным системам. Наша цель — не обоснование клинического использования гомеопатических лекарственных средств, а представление доказательств того, что вещества, приготовленные в соответствии с гомеопатическим методом, оказывают определенное воздействие на иммунную систему и воспаление. Это может быть первым шагом в переоценке гомеопатии как реальной области фундаментальных и клинических исследований.

Мы прекрасно понимаем, что классический экспериментальный подход к иммунологии на основе лабораторных и клинических исследований и экспериментов с животными, типичный для академической медицины и современной международной научной литературы, может помочь нам понять лишь некоторые из аспектов гомеопатии. Даже принимая во внимание ограниченность этого "редукционистского" подхода, мы все же считаем, что он может навести определенные мосты в направлении создания единой медицины. Мы стремимся не столько продемонстрировать изолированный механизм действия, сколько понять общие правила физиологии, патологии и фармакологии, которые одинаковы в разных областях биологии и фармакологии и могут применяться также к гомеопатии.

Иммуноаллергология является связующим звеном между гомеопатией и современной медициной, поскольку она представляет собой область, в которой легче применить такие понятия как действие веществ, назначенных по принципу *подобия*, сходство и большая чувствительность живых систем к изменениям, вызванным сверхнизкими дозами или высокими разведениями природных или эндогенных веществ (1).

Ниже мы описываем основные результаты экспериментальных исследований, направленных на проверку эффективности гомеопатических лекарственных средств или, более узко, на проверку основных принципов гомеопатии (например, разведение, *подобие*) на моделях воспаления и иммунитета. Мы начнем с исследования *in vitro* клеток воспаления (базофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов, фибробластов), а в следующей статье рассмотрим исследования на животных, прежде чем перейдем к описаниям клинических испытаний на людях. Многие из этих экспериментов и наблюдений обычно игнорируются современной биомедицинской литературой.

Мы провели эксперименты в нашей лаборатории и изучили литературу по предмету настоящей статьи за последние 15 лет. Здесь мы сообщаем о лучших, насколько нам это

известно, опубликованных экспериментальных работах, независимо от их результатов (положительных или отрицательных, в пользу или против гомеопатии). Была изучена вся литература, доступная в Medline, трудах конференций и книгах. Из-за относительного дефицита литературы в этой области и неоднородности экспериментов мы не проводили объединение и мета-анализ данных. Там, где это требовалось, было сделано несколько замечаний о надежности выводов и о проблемах воспроизведения конкретных исследований.

БАЗОФИЛЫ/ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ

Одной из лабораторных моделей, в которых явления подобия и эффекты высокого разведения были исследованы наиболее широко, является воздействие на базофилы и тучные клетки, служащими основными клетками при остром воспалении. В самом деле, одним из первых биологических событий при остром воспалении, а также и немедленной гиперчувствительности при патологии, является активация базофилов/тучных клеток, запускаемая как результат сенсибилизации их связью с антителами IgE, в свою очередь связанными с рецепторами высокой аффинности. Поскольку это наиболее изученная модель эффекта высокого разведения, некоторые технические детали могут способствовать пониманию результатов.

БИОЛОГИЯ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ

В этих клетках внутренняя активация запускается не только специфическими посторонними веществами, такими как аллергены, но и связыванием антител (анти-IgE) против тяжелых цепей IgE, которые являются рецепторами антигенов в этих клетках. Активация клетки сопровождается изменениями в потоках мембранных ионов (в частности, ионов кальция), изменениями в электрической полярности клеточной мембраны, а также другими механизмами, которые в конечном итоге ведут к экзоцитозу и освобождению медиаторов (рис. 1). Известно, что одним из главных медиаторов является гистамин, продукт декарбоксилирования гистидина, содержащегося в гранулах базофилов и тучных клеток и высвобождающегося через несколько секунд после активации. Гистамин в тканях оказывает сосудорасширяющее и нарушающее мембрану действие (и, следовательно, приводит к образованию волдырей и отеков).

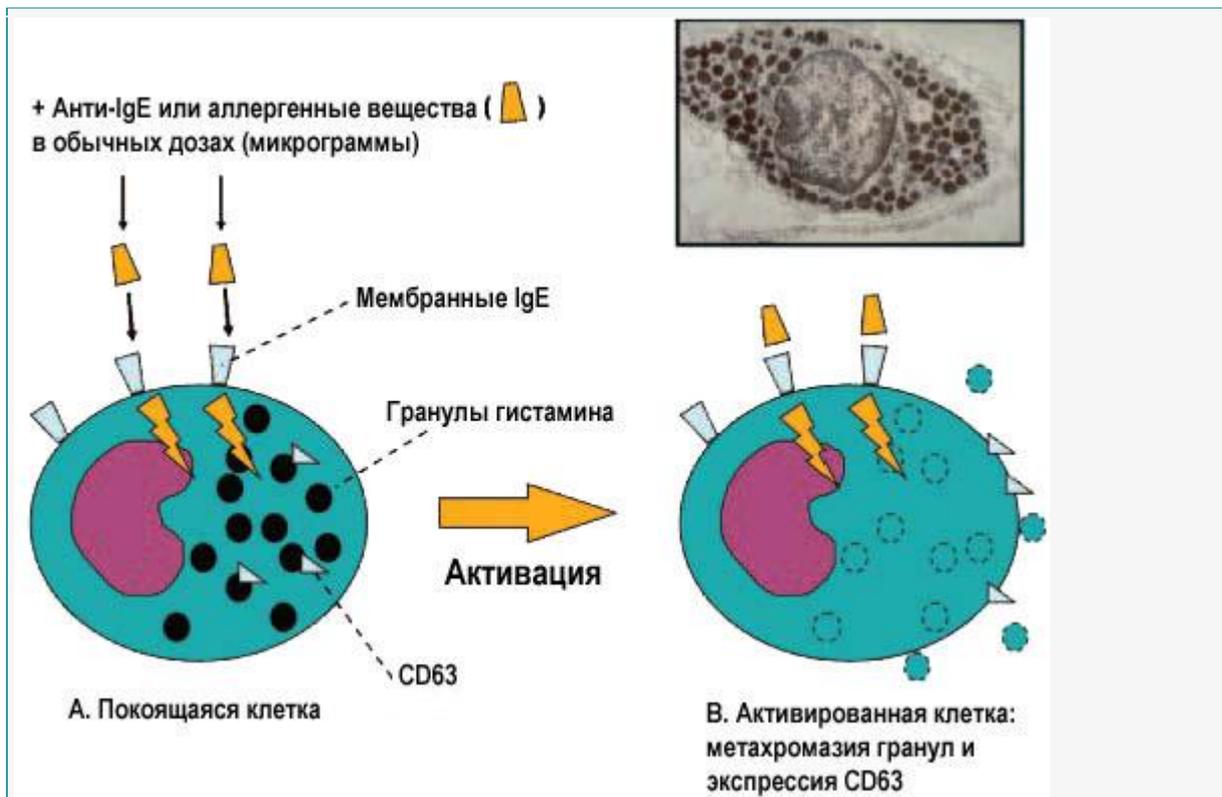


Рис. 1 Нормальная активация дегрануляции базофилов, вызванная анти-IgE антителами. Эта активация вызывается не только специфическими аллергенами, но и связыванием антител против тяжелых цепей IgE (анти-IgE), и влечет за собой изменения в потоках мембранных ионов (в частности, ионов кальция), изменения электрической полярности клеточной мембраны, а также другие механизмы, которые в конечном итоге ведут к экзоцитозу и освобождению медиаторов. Активация клетки оценивается при помощи оптической микроскопии как потеря свойств окрашивания. Точнее будет сказать, что потеря свойств окрашивания — не совсем то же биологическое явление, что дегрануляция клетки, но оно указывает на изменение проницаемости мембраны гранулы. Еще один типичный ответ на активацию — повышенная экспрессия белков CD63, которые перемещаются из внутренних пулов на поверхность клетки. Вставка: электронная микроскопия тучной клетки.

В конце 1980-х годов, когда первые опубликованные исследования вызвали серьезные международные споры (2,3), существовало два способа оценки реактивности базофилов: тест высвобождения гистамина, в котором измеряется гистамин, высвобожденный активированными базофилами во внеклеточную среду, и тест дегрануляции базофилов, в котором анализируются изменения окраски гранул в присутствии таких красителей как толуидиновый синий или альциановый синий (метахромазия). На практике под микроскопом считаются неокрашенные (дегранулированные) клетки в отношении к общему числу базофилов (4) (рис. 1). Называть это тестом дегрануляции ошибочно, поскольку метахромазия может произойти при дозах активатора, которые значительно ниже порога, необходимого для запуска дегрануляции (5). Метахромазия, вероятно, отражает биохимические изменения (обмен катионами), которые модифицируют взаимодействие основных красителей с гранулами протеогликанов. Легко найти корреляцию между этими двумя методами при использовании сильных раздражителей. Но это не так при применении слабых раздражителей или очень низких доз агонистов: при многих обстоятельствах наблюдается активация базофилов без истинной дегрануляции (т. е. без высвобождения гистамина) (6).

РАННИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования этого типа клеток были проведены двумя группами французских исследователей (Сен-Лоди и Белон, Пуату и Обен) с использованием гомеопатических разведений *Apis mellifica* и *Lung Histamine*. Выбор этих веществ, вероятно, объясняется их частым применением в лечении аллергических синдромов (7) и, отчасти, известной способностью некоторых из их молекулярных компонентов (меллитина и гистамина соответственно) активировать базофилы или оказывать на них воздействие по принципу обратной связи. Эти исследования были основаны на предположении, что даже в гомеопатических разведениях эти вещества могут влиять на базофилы, активированные материальными дозами активного агента. Первые публикации, описывающие влияние этих гомеопатических разведений на базофилы (8,9), сообщали, что дегрануляция *in vitro*, вызванная различными аллергенами (домашняя пыль, бытовые клещи) была стимулирована (+20%) низкими разведениями (5C) (сотенные и десятичные гомеопатические разведения, или "потенции" в гомеопатической терминологии, обозначаются "С" и "Х" соответственно) пчелиного яда (*Apis mellifica*), тогда как более высокие разведения (9C и 15C) имели противоположный эффект (> 50% торможения). Эти эффекты были получены при введении лекарственных средств в инкубационную смесь и были статистически значимыми. Торможение, вызываемое *Histamine* и *Apis*, особенно интересно, потому что при выделении в обычных дозах в ткань и гистамин, и пчелиный яд обладают провоспалительными и раздражающими свойствами. Таким образом, этот эксперимент иллюстрирует применение принципа подобия на экспериментальной модели: вещество, стимулирующее воспаление в обычных дозах, может в других дозах угнетать клетки, ответственные за многие явления воспалительного процесса.

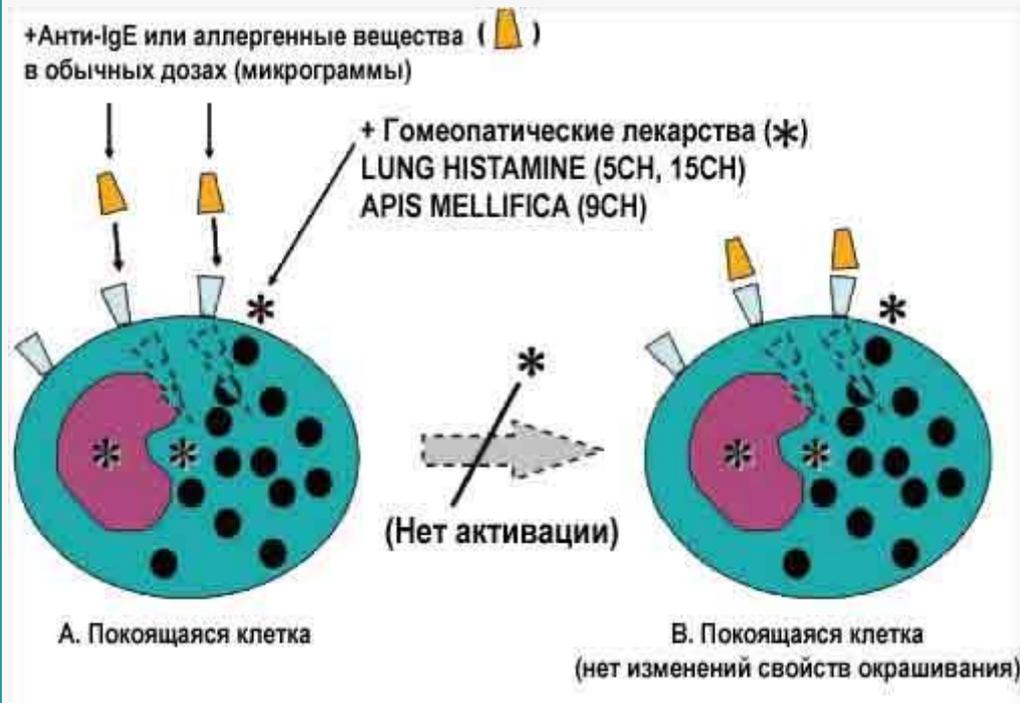


Рис. 2 Торможение дегрануляции базофилов гомеопатическими разведениями *Apis mellifica* и *Lung Histamine* (8,11,12).

Еще одна группа безуспешно пыталась повторить те же эксперименты (10), но авторы отчета первого исследования сообщают, что по запросу Французской медицинской академии тот же протокол был использован третьей независимой лабораторией, и в этом случае все три

разведения *Apis mellifica* (5C, 9C, 15C) оказывали статистически значимое тормозящее действие (11).

В целях изучения этого вопроса и при поддержке команды Бенвениста (который в то время еще работал в INSERM U200 в Париже), Пуату провел еще одну серию "слепых" экспериментов на базофилах, активированных анти-IgE антителами, с использованием разведений 1C–15C *Apis mellifica* и *Lung Histamine* (12) (рис. 2). *Lung Histamine* представляет собой вытяжку из легких лабораторных животных, у которых была экспериментально вызвана анафилактическая реакция. Поэтому он предположительно содержит, по крайней мере в исходном материале (материнской тинктуре), гистамин в качестве медиатора. Кривые разведение-результат для этих продуктов показали чередование угнетения, инертности и стимуляции с необычной и сложной тенденцией: *Apis* в разведении 8C, 9C и 10C существенно подавлял активацию базофилов, когда базофилы были активированы высокими и низкими дозами анти-IgE; он также вызвал значительное угнетение в разведениях 5C, 7C, 13C и 20C, когда базофилы были активированы низкими дозами анти-IgE. С *Lung Histamine* значительное угнетение наблюдалось при разведениях, близких к 5C и 15C (от 12C до 18C). У базофилов, активированных малыми дозами анти-IgE, *Apis* в разведении 10C и *Lung Histamine* в разведении 18C вызвали ~100% торможение.

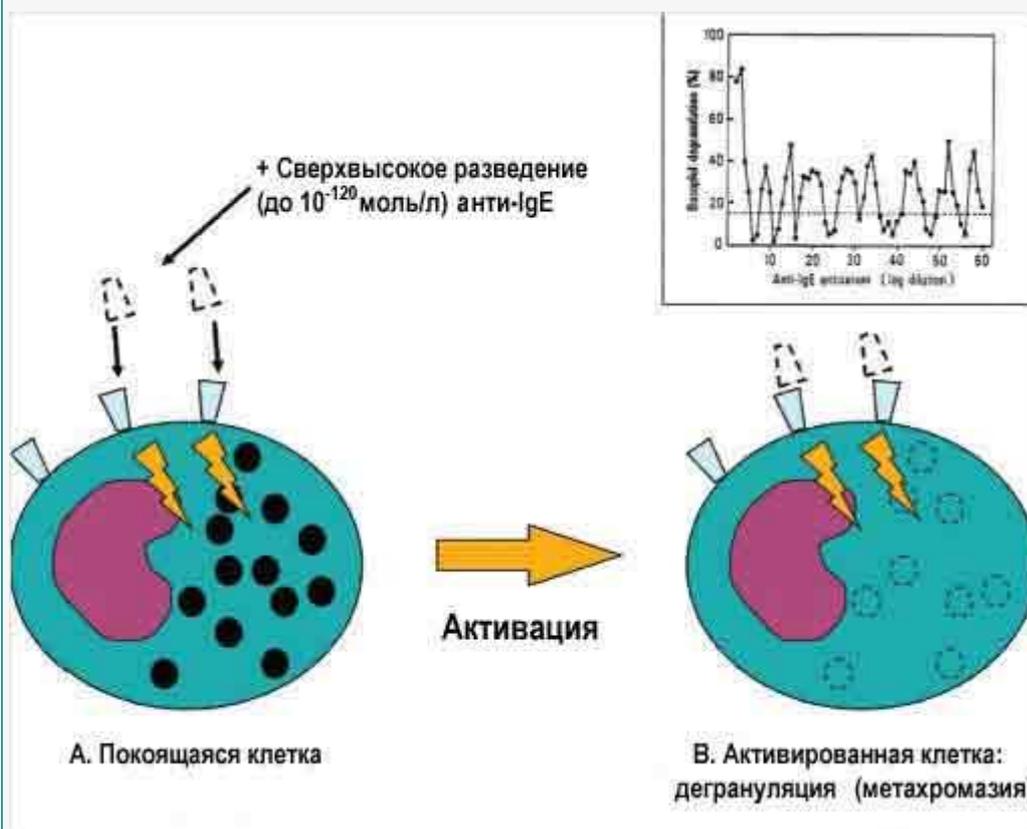


Рис. 3 Схема исследования, согласно которому базофилы претерпевают дегрануляцию (метахромазию) не только при обычных дозах анти-IgE антител (10^{-3} мг/мл), но и при предельно высоких разведениях (в 10^{60} или 10^{120} раз меньше концентраций, обычно ведущих к молекулярному взаимодействию) (2). Кривые доза-реакция анти-IgE (см. врезку) при увеличивающихся разведениях сначала показали исчезновение активности, а затем ее возобновление с последующими пиками чередующихся активности и пассивности вплоть до предельно высоких разведений.

ИССЛЕДОВАНИЯ БЕНВЕНИСТА

Известное мультицентровое исследование под руководством Ж. Бенвениста с участием еще четырех лабораторий сообщает, что базофилы человека претерпевают дегрануляцию (метахромазию) не только при обычных дозах анти-IgE антител (10^{-3} мг/мл), но также при крайне высоких разведениях (в 10^{60} или 10^{120} раз меньше концентраций, которые обычно приводят к межмолекулярному взаимодействию) (2) (рис. 3). Зависимости доза-реакция при уменьшении дозы сначала показали исчезновение активности, а затем ее возвращение с последующими различными пиками чередующихся активности и инертности вплоть до чрезвычайно высоких разведений, соответствующих практически нулевым концентрациям антител. Этот тип зависимости доза-реакция называется также "псевдосинусоидальным". Кроме анти-IgE антител, значительные результаты были получены с использованием высоких разведений таких веществ как кальциевые ионофоры и фосфолипаза A2, которые, как известно, оказывают стимулирующий эффект в материальных дозах. Специфичность действия была доказана отсутствием влияния других сильно разведенных веществ, таких как анти-IgG антител (базофилы активируются только анти-IgE антителами) и фосфолипазы C, имеющих различные биохимические специфичности на мембранах (2). Интересно отметить, что эффект высокого разведения наблюдался только в том случае, если за последовательными разведениями раствор подвергался встряхиванию ("динамизация" по гомеопатической терминологии).

Работа группы Бенвениста была опубликована в авторитетном научном журнале "Нэчур". Она произвела большой резонанс как предположительная демонстрация "памяти воды", но ее теоретические аспекты были раскритикованы ("неправдоподобие" данных), равно как и сложность воспроизведения и методологические недостатки (своеобразная проверка лаборатории Бенвениста, организованная "Нэчур") (3,13,14).

Впоследствии эта группа повторила тесты с использованием более надежных методов и более полных оценок, выполненных экспертами-статистиками, и многократно подтверждала существование эффекта высоких разведений, хотя он не был выражен так, как это было описано в первой статье (15–18). Эти дальнейшие эксперименты неизвестны широкой общественности и они не были благожелательно встречены научным сообществом — возможно, потому что они были опубликованы в менее известных журналах или трудах конференций.

Некая голландская группа сообщила о невозможности воспроизвести воздействие высоких разведений IgE (19). Это исследование не смогло продемонстрировать какое-либо воздействие высокого разведения анти-IgE антител на тучные клетки, и авторы (один из которых учился этой технике в лаборатории Бенвениста) пришли к выводу, что эту модель трудно воспроизвести. О подобных отрицательных результатах сообщила и другая группа (20). Однако, по мнению Бенвениста, эти опровергающие его результаты исследования были испорчены рядом методологических и статистических ошибок (21).

Как отметил Веччи (22), в данных табл. 2 от Херста и др. (20) вероятность того, что последовательное высокое разведение ведет себя подобно контрольному раствору, равна 0,0027 (величина P Фишера). Это означает вероятность получения таких экспериментальных данных случайным образом при условии отсутствия разницы между последовательными высокими разведениями и контрольным лечением. Иными словами, экспериментальные данные подтверждают с уровнем достоверности 99,7%, что есть разница между последовательными высокими разведениями и контрольным лечением. Авторы, по-видимому, признают, что их данные несовместимы с нулевой гипотезой, т. е. с

предположением, что нет никакой разницы между гомеопатическими растворами и плацебо (стр. 527, правая колонка): "Согласно общепринятой научной теории, в рамках сессии не должно быть никаких различий между контрольным лечением и лечением восемью высокими разведениями... Это не так...", но они приписывают этот эффект неизвестным причинам. Трудно определить разницу между "неизвестной причиной изменения" у Херста и др. и озадачивающей перемежаемостью, которая появлялась в оригинальной статье Бенвениста и была истолкована в терминах "волн разведений". То, что, как представляется, происходит, в значительной степени согласуется с выводами Давенаса и др. (2): последовательные анти-IgE значительно усиливают изменения в количестве базофилов, но незначительно затрагивают средние подсчитанные значения. История с высокими разведениями и базофилами, таким образом, остается открытой на эмпирическом уровне, как это показано у других авторов, работающих над этим типом исследований (23,24), и другими результатами, представленными ниже.

ТОРМОЖЕНИЕ ЧИСТЫМ ГИСТАМИНОМ

Группа Белона и Сен-Лоди получила торможение базофильной дегрануляции (согласно метакромазии) при использовании высоких разведений чистого гистамина (рис. 4). Если известна исходная концентрация, использование чистых веществ в качестве исходного материала позволяет определить теоретические молярные концентрации в последующих разведениях, которые в данном случае выражаются в виде отрицательных степеней 10. Первая серия экспериментов привела к двум пикам торможения при разведениях с теоретическими концентрациями гистамина между 10^{-10} и 10^{-17} М, а также между 10^{-30} и 10^{-38} М (25). Все эксперименты проводились вслепую, т. е. исследователь не знал, с каким разведением работает.

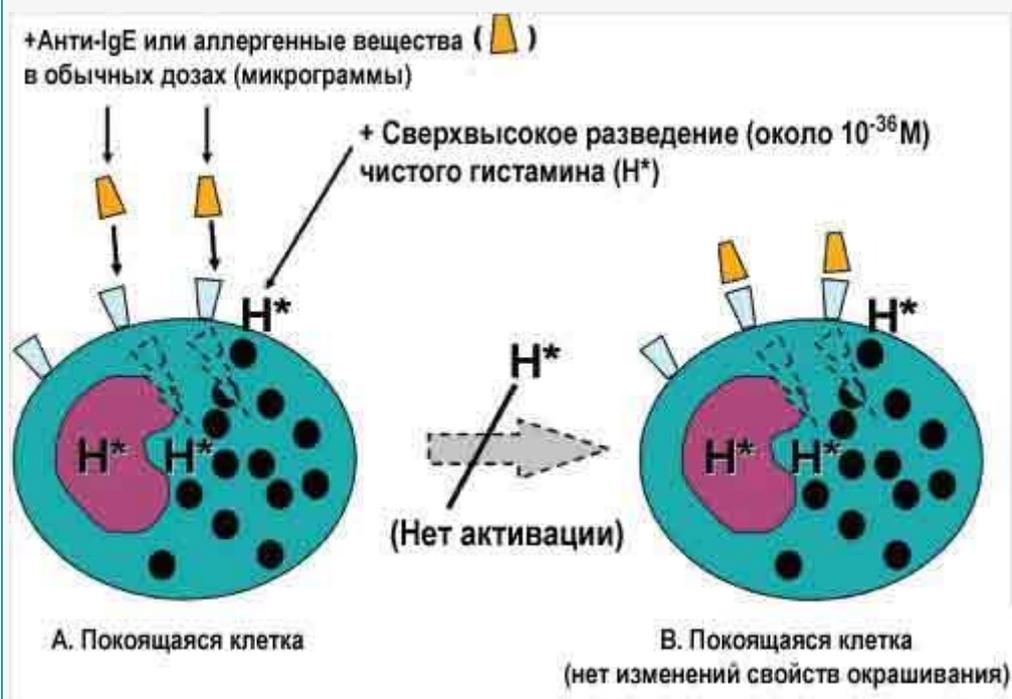


Рис. 4 Действие ультравысокого разведения чистого гистамина на активацию базофилов по оптической оценке окраски гранул (25–27).

Контрольный эксперимент показал, что разведения гистидина (карбоксилированный прекурсор гистамина) были неэффективны, подтверждая тем самым специфику молекулярной информации и снижая вероятность лабораторных артефактов.

Та же группа сообщила новые данные, подтверждающие, что высокие разведения гистамина (чистый хлорид гистамина) существенно тормозят дегрануляцию базофилов (сенсibilизированных антителами IgE против клещей домашней пыли), индуцированную *in vitro* экстрактами клещей домашней пыли (26). Используя серию из 16 последовательных сотенных разведений (от 5С до 20С), авторы наблюдали тормозящее действие при разведениях примерно 7С и 18С. Добавление фармакологических доз циметидина (антагонист рецепторов гистамина H₂) сняло последствия всех активных растворов. Добавление фермента гистаминазы (разрушающего гистамин) подавило влияние материальных доз (6С и 7С), но не высоких разведений (18С), что свидетельствует о том, что последний эффект был связан не с молекулами гистамина, а с другими механизмами. Поэтому авторы склонны считать, что действие высоких разведений включает в себя влияние растворителя (воды) на рецепторы H₂, хотя они и признают, что эта мысль парадоксальна в рамках молекулярной биологии, учитывая отсутствие в некоторых протестированных активных разведениях молекул эффектора. Еще одна статья подтвердила, что IgE-активация базофилов человека в значительной степени (P<0,001) подавляется разведениями гистамина (27). В этих опытах дегрануляция базофилов тормозилась при теоретических концентрациях гистамина 10⁻¹⁶, 10⁻¹⁸, 10⁻²⁰, 10⁻²², 10⁻³⁶М.

НОВЫЕ ТЕХНИКИ: РОЛЬ CD-МАРКЕРОВ

Так как результаты, полученные с тестом "дегрануляции", никогда не были воспроизведены с помощью тестового высвобождения гистамина *in vitro* (вероятно, из-за различной чувствительности двух методов в отношении различных этапов активации базофилов), важно было воспроизвести их с помощью другого теста — проточной цитометрии (28). Базофильные мембраны экспрессируют многие белки: адгезивные молекулы и рецепторы IgE высокой аффинности, агрегированные IgG, CD26, CD33, CD40, CD45 и CD63. Последний особенно интересен, поскольку после активации он экспрессируется на цитоплазматических гранулах и на внешней мембране и поэтому может использоваться в качестве маркера функционального состояния клетки, а также для аллергологических диагнозов *ex vivo* (29). Проточная цитометрия имеет дополнительное преимущество объективности, поскольку она не опирается на мнение наблюдателей, в то время как тест дегрануляции требует визуальной оценки относительно того, стали клетки светлыми или темными после окрашивания.

Этот метод был использован для демонстрации того, что активация базофилов анти-IgE антителами (рис. 5), наблюдаемая как повышенная экспрессия CD63, блокируется "обычными" дозами гистамина между 10⁻² и 10⁻⁴М, а также (теоретическими) сверхнизкими дозами 10⁻²² и 10⁻³⁴М (30). Эти же авторы показали, что торможение, индуцированное очень высокими разведениями гистамина (теоретические дозы от 10⁻³⁰ до 10⁻³⁴М), было снято циметидином, что подтвердило специфичность рецепторов, о которой уже сообщали их предыдущие данные (31).

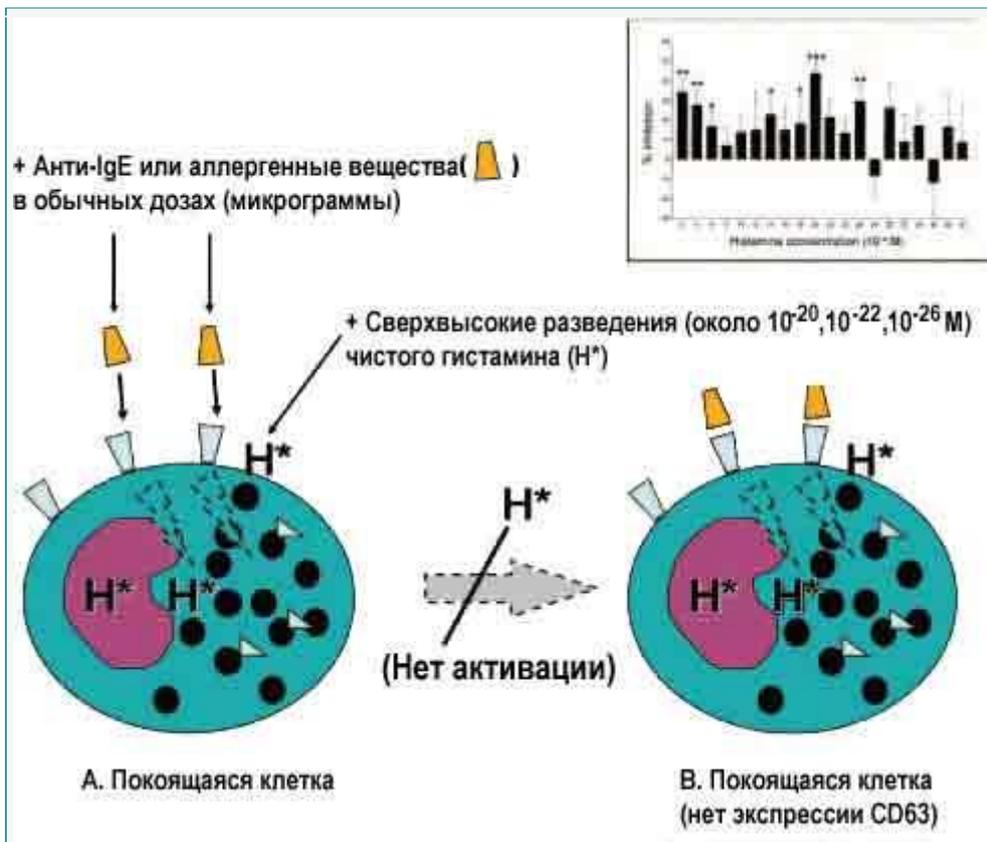


Рис. 5 Действие сверхвысоких разведений чистого гистамина на активацию базофилов, оцениваемое измерением поточной цитометрии экспрессии CD63 (24,30–34). Данные во врезке — от Брауна и Энниса (32).

ВОСПРОИЗВОДИМ ЛИ ЭТО ФЕНОМЕН?

Кроме того, аналогичные результаты были получены в трех из четырех лабораторий, участвующих в мультицентровом сотрудничестве (24), и воспроизведены независимо (32–34). Только одна группа не смогла подтвердить ранее сообщавшиеся воздействия высоких разведений гистамина на функцию базофилов (35). В семи независимых экспериментах базофилы одного и того же человека-донора выдерживали с разбавленным гистамином (до 10^{-34} М) или водой (контроль) и активировали анти-IgE антителами. Активацию базофилов определяли с помощью двухцветной проточной цитометрии. Эксперименты были слепыми и проводились с рандомизированным размещением растворов на микротитровальных пластинах. Гистамин в разведениях 10^{-2} М и 10^{-22} М был связан со значительным торможением дегрануляции базофилов ($P = 0,018$) величиной 23,1 и 5,7% соответственно, по сравнению с контролем (те же действия проделывались с "разбавленной" очищенной водой). Но если объединить все контрольные результаты, только гистамин в разведении 10^{-2} М оказал значительное влияние. Авторы предполагают, что незначительные вариации в постановке эксперимента, например, положение образцов в разных рядах одного и того же лабораторного микропланшета, без надлежащего контроля могут привести к существенным различиям в результатах.

В заключение: эта экспериментальная модель с использованием высокочувствительных базофилов была весьма продуктивной и может рассматриваться как особенно надежная и заслуживающая доверия. Данные сведены в табл. 1. Тем не менее исследования в этой области до сих пор не в состоянии дать четкие технические объяснения наблюдаемого

расхождения между различными лабораториями. Можно надеяться, что в будущем использование строго контролируемых экспериментальных условий и мультицентрового сотрудничества поможет определить и свести к минимуму смущающие факторы.

Табл. 1 Сводка результатов лабораторных исследований по базофилам/тучным клеткам

- Высокие разведения (до 10^{-120}) анти-IgE антител стимулируют дегрануляцию базофилов (2). Две независимые группы не подтвердили этот результат (19,20).
- Гомеопатические разведения *Apis Mellifica* и *Lung Histamine* препятствуют дегрануляции базофилов (8,11,12).
- Высокие разведения гистамина (от 10^{-20} до 10^{-38} М) влияют на активацию базофилов человека, измеряемую окрашиванием альциановым синим (25–27). Одно мультицентровое исследование подтвердило этот вывод в разных лабораториях с использованием разных методов (24,30,32).
- Анти- H_2 обращает торможение активации базофилов высокими разведениями гистамина; это торможение не наблюдается с гистидином; эти результаты говорят в пользу специфичности этого эффекта (31).
- Одна независимая группа подтвердила тормозящее действие высоких разведений гистамина (от 10^{-22} до 10^{-25} М) (33,34).
- Согласно одному сообщению (35), не удалось повторить эти результаты: гистамин единообразно препятствует дегрануляции базофилов лишь при использовании в низких разведениях.

ЛИМФОЦИТЫ

В исследованиях, проведенных несколько лет назад, тестировалось действие *in vitro* средних разведений растений, используемых в гомеопатических лекарственных средствах, на лимфоциты. Два особенно интересных исследования сообщают о влиянии *Phytolacca* на пролиферацию лимфоцитов, измеренную с помощью включения 3Н-тимидина (36,37). *Phytolacca* содержит гликопротеин (митогенная фитолакка американская), который, как известно, вызывает лимфобластные преобразования в культивируемых В-лимфоцитах. В течение длительного времени *Phytolacca* эмпирически использовалась в гомеопатии (задолго до того, как было обнаружено ее иммунологическое действие *in vitro*) для лечения множества болезней, связанных с лимфаденопатиями, таких как инфекционный мононуклеоз и вирусные заболевания уха, горла и носа (38). Разведения *Phytolacca* 5C, 7C и 15C не оказывают митогенного влияния на покоящиеся лимфоциты, но у лимфоцитов, стимулированных материальными дозами фитогемагглютина, они тормозят митоз на 28–73%: одно исследование с использованием лимфоцитов кролика показало, что разведение 15C оказывает наибольшее воздействие (36), другое исследование с использованием лимфоцитов человека показало, что максимальный эффект достигается с разведением 7C (37). Еще раз, в этих экспериментах подчеркиваются идея биологического тропизма (в соответствии с которой раствор сверхвысокого разведения воздействует на ту же целевую систему, что и неразведенное вещество) и идея подобия как обращение действия (в соответствии с которой разведенный раствор подавляет действие исходного или подобного вещества). К сожалению,

это направление не было продолжено дополнительными экспериментальными исследованиями.

Исследования *in vitro* также могут помочь охарактеризовать гомеопатические лекарственные средства, основываясь на их действующих началах, которые, несомненно, присутствуют в их экстрактах (материнской тинктуре) и низких разведениях. Туя восточная (*Thuja occidentalis L.*) является аборигенным европейским деревом, широко используемым в гомеопатии и фитотерапии. В недавнем обзоре были представлены фитохимические свойства ее эфирного масла (туйон), противовирусное действие и иммунофармакологический потенциал последнего — например, стимулирующее и костимуляторное воздействие на цитокины, выработку антител и активацию иммунокомпетентных клеток и макрофагов. Эти эффекты *in vitro* наблюдались при использовании материальных доз (низких разведений) экстрактов этого растения и его действующих начал (39).

ГОРМЕЗИС И СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ

Группа Вагнера (40) экспериментально решила вопрос о влиянии на клеточном уровне (т. е. на лейкоциты) малых доз растительных экстрактов, используемых в гомеопатии и, кроме того, вопрос необычных изменений действия, наблюдаемых на кривых доза-реакция. Среди различных исследований, проведенных этой группой, особый интерес представляют сообщения о том, что относительно высокие концентрации (100 мкг – 10 нг/мл) *нафтохинонов* (плумбагин, алканин и др.) и цитостатиков (винкристин, метотрексат и флуорацил) тормозят лимфобластную трансформацию и фагоцитоз гранулоцитов, тогда как низкие концентрации (10 мкг – 10 фг/мл) оказывают стимулирующее действие; промежуточные дозы неэффективны. Авторы предположили, что ряд противоопухолевых эффектов растительных экстрактов может объясняться зависящим от дозы механизмом двойного действия. Это иммунологический пример U-образных кривых доза-реакция, которые были описаны ранее в токсикологии как закон Арндта-Шульца (41,42), а затем теоретически развиты как эффект гормезиса (43–46). Это явление может быть возможным механизмом, лежащим в основе обращения действия лекарств, или парадоксального действия лекарств, что напоминает традиционный принцип подобия в гомеопатии. Тем не менее гормезис может объяснить лишь некоторые аспекты гомеопатии (47–49).

Группа в Бухаресте провела исследование действия последовательных веществ на лимфоциты человека, стимулированные фитогемагглютинином (ФГА) (50). Лимфоциты периферической крови здоровых людей, больных с ослабленным иммунитетом с хронической бактериальной инфекцией или неоплазиями и аллергических больных стимулировали *in vitro* ФГА в культуральной среде с дополнением высоких разведений (10^{-7} , 10^{-15} или 10^{-30}) или без него пчелиного яда и фосфора в тридистиллированной воде. Наиболее значительное торможение за счет включения ДНК было отмечено в лимфоцитах аллергических больных, культивируемых в среде с добавлением разведений 10^{-30} в присутствии ФГА. Клетки пациентов с ослабленным иммунитетом не показали какого-либо существенного торможения при разведении 10^{-30} . По мнению авторов, эти данные указывают на возможное влияние высоких разведений на структуры клеточных мембран сенсibilизированных субъектов. В этом случае сенсibilизация из-за патологии делала человека восприимчивым к гомеопатическому разведению.

ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO* СЛОЖНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Комплексный гомеопатический препарат *Engystol-N*, состоящий из *Vincetoxicum* в разведениях от 6X до 30X и *Sulfur* в разведениях от 4X до 10X, стимулирует производство цитокинов Т-

лимфоцитами в цельной крови (51). Культуральные среды Т-лимфоцитов, обработанных разведениями 10^{-4} и 10^{-8} Engystol-N, показывают тормозящее действие на генерацию супероксидных анионов нейтрофилами. Из этих данных был сделан вывод, что этот препарат стимулирует выделение лимфокинов с эффектом торможения производства супероксидных анионов нейтрофилами, который превалирует над прямым стимулирующим эффектом, подтверждая и расширяя предполагаемые иммуномодулирующие свойства препарата.

Комплексное гомеопатическое лекарство *Canova* используется как иммуномодулятор (52). Оно состоит из *Thuja occidentalis* 19X, *Bryonia alba* 18X, *Aconitum napellus* 11X, *Arsenicum album* 19X и яда *Lachesis muta* (гадюковые) 18X, все экстракты разбавлены в 70% спирте в равных частях. Исследования механизма его действия показали, что оно стимулирует иммунную систему путем активации макрофагов, но не оказывает генотоксического действия *in vitro* на лимфоциты (53).

Traumeel S, гомеопатический состав, содержащий низкие потенции (от 4X до 12X) *Arnica montana* и других растительных экстрактов и минералов (*Calendula officinalis*, *Hamamelis virginiana*, *Achillea millefolium*, *Atropa belladonna*, *Aconitum napellus*, *Hepar sulfuris*, *Symphytum*, *Mercurius solubilis*, *Bellis perennis*, *Chamomilla*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea purpurea*, *Hypericum*), широко используется для облегчения состояния при травмах, воспалении и дегенеративных процессах.

Тем не менее мало что известно о его возможном влиянии на поведение иммуноцитов. Воздействие *Traumeel* было рассмотрено *in vitro* на Т-клетках человека, моноцитах и эпителиальных клетках кишечника (54). *Traumeel* тормозил секрецию IL-1-бета, TNF-альфа и IL-8 на 50–70% как в покоящихся, так и активированных клетках ($P < 0,01$ для всех клеток). Интересно, что эффект оказался в обратной связи с дозой: максимальное торможение наблюдалось с разведениями медицинского сырья от 10^{-3} до 10^{-6} . Этот факт позволяет предположить, что *Traumeel* не тормозит иммунные функции клеток через токсический эффект. Хотя необходимы дополнительные исследования, чтобы уточнить механизм действия этого гомеопатического состава (см. ниже исследования по нейтрофильным гранулоцитам), результаты *in vitro* могут предложить механизм его противовоспалительного действия. Основные результаты на лимфоцитах обобщены в табл. 2.

Табл. 2 Сводка лабораторных исследований на лимфоцитах

- *Phytolacca* (5C, 7C и 15C) не оказывает митогенного влияния на покоящиеся лимфоциты, а у лимфоцитов, стимулированных материальными дозами фитогемагглютина, она блокирует митоз (36,37).
- Нафтохиноны (плумбагин, алканин и др.) и цитостатики (винкристин, метотрексат и флюорацил) тормозят лимфобластные трансформации при относительно низких разведениях, тогда как более высокие разведения оказывают стимулирующее действие (38).
- Высокие разведения *Apis* или *Phosphorus* угнетают лимфоциты крови (стимулированные ФГА *in vitro*) здоровых людей, а клетки пациентов с ослабленным иммунитетом не проявляют значительного торможения (40).
- Гомеопатический комплексный состав, содержащий *Vincetoxicum* от 6X до 30X и *Sulfur* от 4X до 10X, стимулирует выработку цитокинов лимфоцитами человека (51).

- Гомеопатический иммуностимулирующий комплекс *Canova* не имеет генотоксических для лимфоцитов человека свойств (53).
- *Traumeel S* подавляет производство IL-бета, TNF-альфа и IL-8 человеческими Т-клетками, моноцитами и эпителиальными клетками кишечника (54).

ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ (НЕЙТРОФИЛЫ)

Среди исследований возможного регуляторного действия гомеопатических разведений на воспаление необходимо упомянуть исследования, касающиеся фагоцитарных клеток и, в частности, полиморфноядерных лейкоцитов (нейтрофильных гранулоцитов). В этом случае испытывались вещества, которые используются гомеопатами при остром воспалении с одним из основных полиморфноядерных компонентов.

Сообщалось (55), что разведения *Belladonna* и *Ferrum phosphoricum* 5С и 9С тормозят производство свободных радикалов кислорода (измеряемое как хемилюминесценция, т. е. испускание света, генерируемого во время метаболических реакций) гранулоцитами, стимулированное опсонизированным зимозаном. Торможение было весьма значительным и достигало 30–40% примерно так же, как и торможение, полученное с помощью 10 µМ дексаметазона и 0,1 µМ индометацина. Авторы отметили, что существует значительное различие в индивидуальной чувствительности к этим препаратам, и эта проблема различной чувствительности клеток, выделенных у различных объектов, была отмечена другими авторами (56), которые исследовали влияние *Belladonna*, *Hepar sulfur*, *Pyrogenium*, *Silicea* и *Staphylococcinum* на хемотаксис и получили противоречивые результаты.

Сообщалось также (в предварительном сообщении), что *Bryonia* (семейство Cucurbitaceae) 4С и 9С оказывала стимулирующий эффект на окислительный метаболизм полиморфноядерных лейкоцитов, который мог быть как прямым, так и косвенным (увеличивающим ответ на хемотаксические пептиды) (57).

НАШИ ИССЛЕДОВАНИЯ *IN VITRO* ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Наша группа также исследовала действие гомеопатических лекарств на воспалительные клетки и получила значительные результаты, особенно в отношении низких разведений (58–63). Сначала мы изучили возможное прямое действие гомеопатических разведений на системы клетки, оценивая их действие *in vitro* на окислительный метаболизм культивируемых нейтрофилов, активированных формилированными пептидами (60). Результаты первой серии исследований, основанных на анализе многочисленных разведений большой серии составов, можно резюмировать следующим образом: (i) *Manganum phosphoricum* 6X и 8X, *Magnesium phosphoricum* 6X и 8X, *Sulfur* 6X, *Acidum citricum* 3X и *Acidum succinicum* 3X и 4X оказывают с высокой воспроизводимостью тормозящее действие на наши системы для анализа *in vitro*, (ii) *Acidum fumaricum* и *Acidum malicum* (оба в разведении 4X) оказывают слегка усиливающее действие на окислительный метаболизм; (iii) в ходе различных экспериментов *Phosphorus* и *Magnesium phosphoricum* часто показывали тормозящее действие даже при очень высоких разведениях (>15X), но они не всегда появлялись в одних и тех же разведениях, что затрудняет их статистический анализ, однако за счет объединения всех данных, касающихся воздействия высоких разведений фосфора, удалось выявить небольшое (10–15%), но статистически значимое подавление активации клетки.

Эти результаты могут быть по-разному интерпретированы с биохимической точки зрения. Во-первых, они показывают, что в средних/высоких дозах растворы оказывают определенное воздействие на клетки крови. Кроме того, они, похоже, наводят на мысль, что большинство испытанных средств вмешивается в самые тонкие механизмы клеточного регулирования, которые, как известно, основываются на ионном обмене, процессах фосфорилирования и уменьшении окисления. В нормальных клетках большая часть физиологии, фосфор, сера, магний, марганец, кальций и другие элементы играют важную роль в таких механизмах, и поэтому особенно интересно, что некоторые гомеопатические лекарства могут действовать на этих уровнях управления.

Затем мы провели исследования, направленные на углубление знаний о противовоспалительном действии *Traumeel S* (61,62). Результаты показали обусловленное процессом излечения уменьшение отека лапы, более быстрое у крыс, получавших *Traumeel S* ($P < 0,05$ после 3 часов и $P < 0,01$ после 5 часов), чем в контрольной группе, которой вводили физиологический раствор (0,9% NaCl). Было испытано воздействие *Traumeel S* на две важные клеточные функции, а именно производство супероксиданионов и адгезию тромбоцитов человека. Этот препарат не влияет ни на какую из этих клеточных функций, что подсказывает, что его противовоспалительное действие обусловлено не гранулоцитами или ингибированием тромбоцитов. Эти данные также наводят на мысль, что *Traumeel S* не нарушает антимикробные функции иммунных клеток, таких как гранулоциты.

Нейтрофильные гранулоциты крови человека (нейтрофилы), обработанные низкими разведениями (4X) гомеопатического экстракта препарата *Podophyllum peltatum*, оказывали специфическое стимулирующее воздействие на метаболические реакции: усиление окислительного ответа на последующее стимулирование бактериальными формил-пептидами (63) (рис. 6). Этот праймирующий эффект был связан с высвобождением супероксиданионов (O_2^-) (респираторный взрыв) и был количественно подобен праймированию эффекта TNF-альфа. Это явление наблюдалось с гомеопатическим препаратом, содержащим среди прочего экстракт подофилла (*Podophyllum compositum*) и гомеопатическое разведение 4X *Podophyllum* (конечная концентрация действующего вещества была около 0,025 мг/мл), в то время как гомеопатический *Podophyllum* 12X или другие компоненты, содержащиеся в этом комплексном гомеопатическом препарате, не вызвали увеличения высвобождения O_2^- . Очищенный подофиллотоксин оказал такое же воздействие в дозах 0,1–10 мг/мл, в то время как дозы более 100 мг/мл подавили респираторный взрыв, так что чистый токсин показал типичную бифазную кривую доза-реакция.

Аналогичные эффекты были получены с очищенным колхицином (1–1000 мг/мл) — веществом, разрушающим микротрубочки. Праймирование каким-либо производным соединением *Podophyllum* не было отмечено на нейтрофилах, стимулированных форболовым эфиром в концентрации (PMA) 50 нг/мл. Кроме того, как производные соединения гомеопатического *Podophyllum*, так и чистый подофиллотоксин препятствуют межклеточной адгезии в покрытой сывороткой поверхности микропланшетов с культурами. Эти результаты показывают, что низкие разведения экстракта гомеопатического препарата оказывают специфическое в зависимости от стимулятора влияние на активацию метаболизма нейтрофилов. Интерес к этому лекарству также вызван тем, что значительно более высокие дозы подофиллотоксина используются в традиционной фармакологии для торможения пролиферации клеток, и эти дозы представляются эффективными против кондилом кожи. Праймирующими оказываются дозы, содержащиеся в гомеопатическом препарате, токсичными — дозы, содержащиеся в аллопатическом.

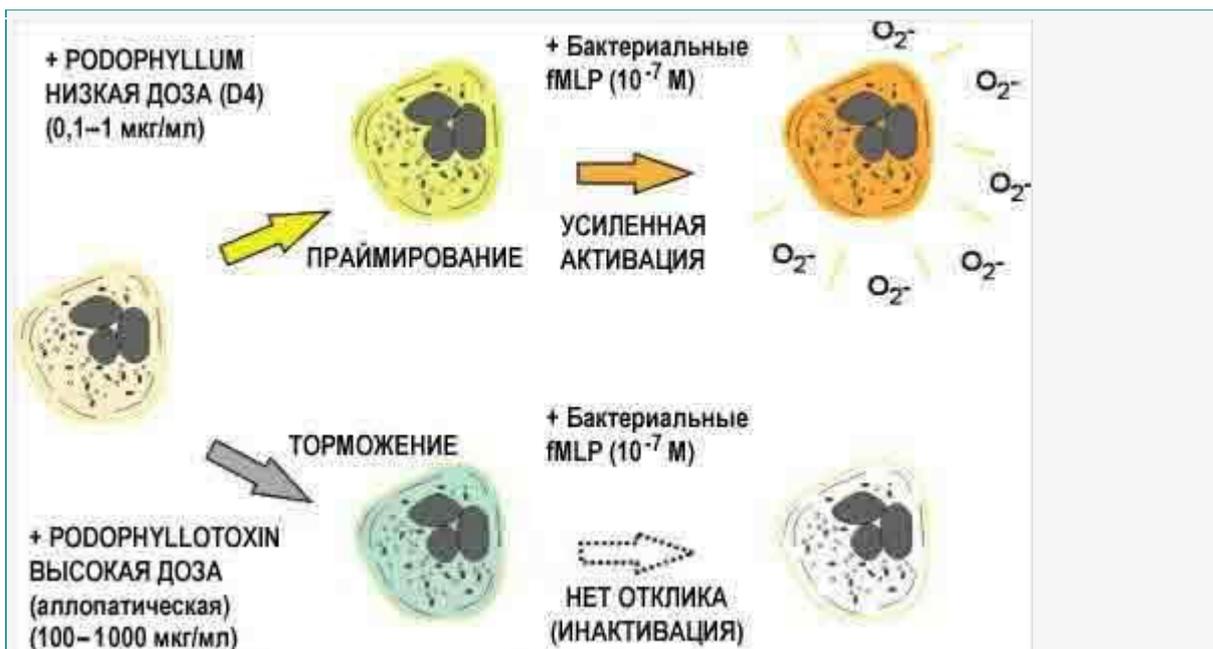


Рис. 6 Двойное действие *Podophyllum* и подофиллотоксина на метаболизм нейтрофилов человека в зависимости от дозы (63). Объяснения см. в тексте.

ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ

Статья о регулировании метаболизма нейтрофилов, опубликованная группой Бенвениста (64), содержит очевидно "невероятные" данные, которые в случае подтверждения могут иметь отношение к интерпретации гомеопатических феноменов. Авторы утверждали, что электронным образом передали информацию мощного активатора лейкоцитов (РМА: 4-форбол-12-бета-миристинат-13-ацетат, активный ингредиент кротонного масла) суспензии клеток в пробирке, контактирующей с соленоидом, по которому проходил электрический ток. Если кратко, суспензия нейтрофилов была помещена при температуре 37°C внутрь соленоида, подключенного к осциллятору, который был также подключен к другому соленоиду, содержащему раствор РМА. Осциллятор работал в течение 15 мин, после чего посредством измерения высвобождения радикалов в течение еще 45 мин была зарегистрирована активация нейтрофилов. Активация клеток имела место только тогда, когда работал генератор; когда он был отключен, ее не было. В качестве контроля: активация клеток не происходила, когда вместо РМА второй соленоид содержал его неактивный аналог 4-альфа-форбол-12,13-дидеканоат. Авторы интерпретировали это, выдвинув гипотезу, что РМА излучает определенный сигнал, который может быть передан нейтрофилам электронным образом без какого-либо химического контакта. Ясно, что если эти результаты будут подтверждены, они сильно поддерживают существование "метамолекулярных" модуляций в живых системах и откроют чрезвычайно увлекательную область исследований.

В работах, не связанных с гомеопатией, было показано, что аденозиновые рецепторы нейтрофилов (65), а также ряд биохимических функций (66), чувствительны к приложенным извне слабым периодическим импульсным магнитным полям в метаболизме нейтрофилов при согласовании импульсов по частоте с метаболическими колебаниями. Эти наблюдения и тонкая связь таких различных систем как гомеопатия и иглоукалывание (67) показывают, что высокие разведения биологически активных веществ могут влиять, в том числе и через биофизические пути, на передачу сигнала и уровень транскрипции клеточного гомеостаза.

Основные результаты по гранулоцитам приведены в табл. 3.

Табл. 3 Сводка результатов лабораторных исследований по гранулоцитам

- *Belladonna*, *Hepar sulfur*, *Pyrogenium*, *Silicea* стимулируют или тормозят хемотаксис лейкоцитов с переменным эффектом у разных людей (55).
- *Belladonna* и *Ferrum phosphoricum* 5C и 9C (не *Apis* 9C) с индивидуальной чувствительностью тормозят стимулированный зимозаном метаболизм (55).
- *Bryonia* 4C и 9C стимулирует окислительный метаболизм гранулоцитов (57).
- *Manganum phosphoricum* (от 6X до 8X), *Magnesium phosphoricum* (от 6X до 8X) и *Phosphorus* (30X–200X) тормозят окислительный метаболизм гранулоцитов (60). Действие высоких разведений *Phosphorus* не является очевидным во всех экспериментах.
- *Traumeel S* не воздействует на окислительный метаболизм гранулоцитов человека (61).
- *Podophyllum* (4X) и низкие разведения подофиллотоксина праймируют окислительный метаболизм гранулоцитов; более высокие дозы того же токсина оказывают тормозящее действие (63).
- Форболмиристатацетат, известный активатор гранулоцитов, как представляется, действует на эти клетки и через "электронную передачу" сигнала (64).

ИССЛЕДОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ, ОСТЕОБЛАСТОВ И ДРУГИХ ФЕРМЕНТОВ

Некоторые исследования *in vitro* использовали модель цитотоксичности, чтобы изучить, могут ли гомеопатические разведения токсичных веществ (в основном те, что обладают цитотоксическими свойствами при использовании в высоких дозах) оказывать защитное воздействие на клеточные культуры клеток соединительной ткани, участвующих в репаративных процессах. Группа Буарона (68) сообщила, что минимальные дозы (5C) сулемы (HgCl_2) защищают культуры фибробластов от отравления высокими дозами ртути. Исследовался митотический индекс. Эта модель, очевидно, основана на гипотезе обратного, или парадоксального, эффекта вариаций доз. Другие (69) наблюдали цитотоксическое действие HgCl_2 на культуры лимфоцитов мыши в дозах от 10^{-5} до 10^{-7} М, в то время как эффект торможения роста без цитотоксичности наблюдался при дозах от 10^{-6} до 10^{-7} М. Однако другая группа, изучавшая воздействие разведений от 10^{-10} до 10^{-18} М с использованием той же модели (70), не обнаружила этот эффект.

Совсем недавно сообщалось, что остеогенезу *in vitro* остеобластов, полученных из голени крыс, способствует гомеопатический препарат *FMS-Calciumfluor*, содержащий сверхнизкие дозы флюорида кальция, связанного с монофосфатом кальция (71,72). Щелочная фосфатаза, показатель созревания остеобластов и включение меченых Са в матрицу увеличились по сравнению с необработанными контрольными культурами. Действие гомеопатического препарата зависело от концентрации и условий его приготовления и наблюдалось при концентрации примерно на три порядка ниже, чем для сообщавшихся в литературе аналогичных эффектах при применении NaF для обработки культур остеобластов *in vitro*.

Для выяснения возможных механизмов действия противовоспалительного гомеопатического комплекса *Zeel comp. N* и его составляющих было исследовано *in vitro* подавление синтеза лейкотриенов B4 и простагландинов 5-липоксигеназой (5-LOX) и циклооксигеназой 1 и 2 (COX1 и COX2) соответственно (73). Воссозданная комбинация *Zeel comp. N*, а также входящие в его состав материнские тинктуры *Arnica montana*, *Sanguinaria canadensis* и *Rhus toxicodendron* (*Toxicodendron quercifolium*) показали различные тормозящие действия на ферменты 5-LOX и COX1 и COX2. Эффекты наблюдались при использовании малых доз этих соединений (микрограммы оригинальной материнской тинктуры).

ОБСУЖДЕНИЕ

Лабораторные исследования клеток и особенно лейкоцитов являются благодатной областью, в которой гомеопатические и конвенциональные исследователи работали вместе. Известные методы, используемые в современной иммунологии и клеточной биологии, были приняты для проверки *in vitro* действия коммерчески доступных гомеопатических препаратов или действующего начала, разведенного в соответствии с традиционными гомеопатическими методами. Кроме того, аналогичный принцип был также исследован на редукционистских моделях, основанных на различных ответах воспалительных клеток при изменении условий эксперимента.

Данные по-прежнему скудны и предполагают несколько различных экспериментальных моделей. Так, мы не смогли применить количественные методы оценки, которые были разработаны современной эпидемиологией для традиционных лекарств. Так как вся эта область испытывает трудности, связанные с неприятием ее научным сообществом, как мы убедились в случае Бенвениста (18,74), качество данных все еще слишком предварительное, что делает статистический анализ статей невозможным.

Как и в клинических исследованиях, весьма вероятно, что и в этой области фундаментальных исследований действительно существует уклон публикаций в пользу статей, сообщающих о положительных результатах, и существование этого уклона должно быть принято во внимание при выработке общего суждения об этой области. Из-за отсутствия консенсуса или критериев качества в этом типе (по общему признанию, весьма предварительного характера) исследований, мы обнаружили, что практически невозможно применить оценку качества к каждой упомянутой статье. В самом деле, описанные здесь исследования отражают относительную малочисленность научных гомеопатических результатов в отношении действия на клетки иммунной системы.

НЫНЕШНЕЕ НЕОПРЕДЕЛЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

Наиболее последовательной моделью в области высоких разведений является модель регулирования базофилов гистамином, анти-IgE и гомеопатическими разведениями (75). Тем не менее и в этом случае нет международного соглашения о применимости этой модели в качестве демонстрации эффекта высоких разведений или явления динамизации. Эксперименты не были опубликованы в авторитетных журналах и встретились с трудностями воспроизведения даже в самих мультицентровых исследованиях (24), и эти результаты не известны большинству ученых-медиков. Отсутствие воспроизводимости в разных лабораториях, небольшие различия по сравнению с плацебо и, возможно, предрассудки

ограничили принятие этих очевидно парадоксальных результатов, которые в противном случае совершили бы прорыв в этой области.

Несмотря на эти экспериментальные достижения, данные в пользу эффекта высоких разведений в иммунологических моделях не столь последовательны и воспроизводимы, как это должно быть для общего признания со стороны научного сообщества. Современное состояние физико-химических знаний не позволяет сделать определенные выводы за или против существования специфических физических состояний гомеопатических лекарств высоких разведений. Скептики не убеждены имеющимися фактическими данными. С другой стороны, предполагая, что эти явления, описанные во многих экспериментах с высокими разведениями, не являются лабораторными артефактами и они действительно существуют, трудности их воспроизведения, по-видимому, можно отнести к применяемым чувствительным методам, на которые неизбежно влияют минимальные технические различия и условия, в том числе навыки оператора, тип крови доноров, сезон и день эксперимента, возможно, атмосферное давление, электромагнитное "загрязнение" лаборатории, следы загрязнений водных растворов, используемых для разведений, процедуры размешивания или встряхивания, время между разведениями, материал, из которого сделаны пробирки, и аналогичные факторы. Необходимы более обширные и систематические исследования, чтобы определить эти возможные источники лабораторных артефактов или расхождений между лабораториями.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

Другие лаборатории должны активнее направлять усилия на исследования дегрануляции тучных клеток/базофилов, потому что это, как представляется, наиболее чувствительная модель, и если будет проведено много других исследований по воспроизведению, мы могли бы легче обнаружить возможные артефакты и/или механизмы действия. На данном этапе изучения объединение и мета-анализ можно выполнить только в том случае, если базы данных в малоисследованных областях (например, исследования в биологии лимфоцитов, метаболизма нейтрофилов) увеличатся и пополнятся более последовательными результатами.

Специфический методологический вопрос, который необходимо исследовать глубже, касается методов разведения и встряхивания (динамизации). Эти методы хорошо известны и описаны в гомеопатической фармакопее, но в научной литературе эффекты высоких разведений негомеопатических веществ редко сообщаются с подробностями, позволяющими легко выполнить воспроизведение.

Дискуссия относительно воспроизводимости гомеопатических исследований является актуальной темой и в клинических исследованиях, где были предположены такие трудноуловимые явления как "слабое квантовое взаимодействие", которое, возможно, происходит в триаде врач-лекарство-пациент (76–78): лекарство будет действовать в контексте трехсторонних отношений с пациентом и врачом. Что может быть физической основой такого взаимодействия (корреляция посредством квантового взаимодействия известна и признана только в субмикроскопической мире), все еще является предметом предположений. В любом случае, если предположить, что и в лабораторной системе может иметь место некая форма корреляции между интенциональностью испытателя и действием лекарства, то это повлияет на экспериментальную воспроизводимость из-за введения еще одной плохо поддающейся контролю переменной. Мы можем ожидать вклад научной сложности, который сумеет дать концептуальные инструменты и методы анализа такого рода взаимодействий (79). Поскольку до сих пор усилия в большей степени были сосредоточены на гомеопатическом лекарстве

самом по себе, другие также учитывали действие лекарства на организм или его составляющие.

НАПРАВЛЕНИЕ ТОНКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Из факта, что лабораторно выявленные эффекты часто невелики, не следует, что их надо рассматривать как снижающие значимость результатов. В гомеопатии значимым является именно то, что лекарство способно "регулировать" или "запускать" реакцию организма, когда он находится далеко от равновесного состояния, а не то, что лекарство действует как прямой или резкий химический ферментный ингибитор. Когда организм особенно чувствителен, характеризуется высокой степенью нестабильности и находится в непосредственной близости от "точек бифуркации" своей эволюции, даже небольшое воздействие может перенаправить всю гомеодинамическую систему, участвующую в болезни, и таким образом стать определяющим фактором в окончательном результате реакции. Сложные системы обычно включают в себя подсистемы, которые усиливают малые возмущения и хаотическую динамику, для которых, как известно, требуются скорее тонкие и повторные импульсы, а не радикальные изменения. Такие соображения особенно верны в случае воспаления и иммунной системы, в которой одни и те же механизмы могут быть использованы для защитных или наступательных задач (например, лечения или самоуничтожения) в зависимости от их места и времени и объекта реакции. Этот "двусторонний" характер явлений делает их восприимчивыми к тонкой регуляции.

ОГРАНИЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Следует признать, что значительным ограничением исследований *in vitro* является их очень узконаправленный характер, поскольку они исследуют локальные явления в стандартизованных условиях, а не комплексное системное проявление, такое как болезнь. Ряд эффектов *in vitro* гомеопатических лекарственных средств дали примеры U-образных кривых "доза-реакция", которые можно рассматривать в качестве особого действия принципа подобия на биологическом и патофизиологическом уровне. Но надо сказать, что такого рода обратный эффект не является именно "тем самым" объяснением гомеопатических эффектов, которые могут иметь дальнейшие и более сложные последствия на уровне организма в целом. Демонстрация того, что данное лекарство стимулирует или подавляет активность клеток крови, интересна сама по себе, но не позволяет экстраполировать (в гомеопатии или аллопатии) действие того же лекарства на организм человека.

В заключение: важность лабораторных исследований состоит в том, что они позволили получить некоторые предварительные данные о воздействии высоких разведений/динамизаций в условиях, которые исключают любой возможный эффект внушения. Кроме того, рассмотренные данные могут указать некоторые биохимические и молекулярные мишени гомеопатических средств. Существует много других причин, по которым этот тип исследования оправдан. В будущем, если будут построены надежные и воспроизводимые модели для анализа воздействия гомеопатических разведений, можно будет углубить наши знания о биологических и физических основах этого явления, оценить стабильность лекарств во времени, определить все возможные причины их распада и стандартизовать препараты, сравнивая действие различных источников и разведений сырья.

БЛАГОДАРНОСТИ

Это исследование было проведено с использованием средств, предоставленных итальянским Министерством университетских научных и технических исследований (MURST).

ПРИМЕЧАНИЯ

(1) [Bellavite P, Conforti A, Piasere V, Ortolani R. Immunology and homeopathy. 1. Historical background. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2:441–52.](#)

(2) Davenas E, Beauvais F, Amara J, Robinson M, Miadonna A, Tedeschi A, et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. *Nature* 1988; 333:816–8.

(3) Maddox J, Randi J, Stewart WW. 'High-dilution' experiments a delusion. *Nature* 1988; 334:287–90.

(4) Benveniste J. The human basophil degranulation test as an in vitro method for the diagnosis of allergies. *ClinAllergy* 1981 ;11:1–11.

(5) Beauvais F, Bidet B, Descours B, Hieblot C, Burtin C, Benveniste J. Regulation of human basophil activation. I. Dissociation of cationic dye binding from histamine release in activated human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87:1020–8.

(6) Knol E, Mulf F, Kujipers T, Verhoeven A, Roos D. Intracellular events in anti-IgE activated non releasing human basophil. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:92–103.

(7) Boucinhas JC, DeMadeiros, Boucinhas ID. Prophylaxie des crises d'asthme bronchique chez l'enfant par l'usage de Poumon histamine 5 CH. *Homéopathie Franc* 1990; 78:35–39.

(8) Poitevin B, Aubin M, Benveniste J. Effect d'Apis Mellifica sur la degranulation des basophiles humains in vitro. *Homéopathie Franc* 1985; 73:193–8.

(9) Poitevin B, Aubin M, Benveniste J. Approche d'une analyse quantitative de l'effet d'apis mellifica sur la degranulation des basophiles humains in vitro. *Innov Tech Biol Med* 1986; 7:64–8.

(10) Murietta M, Leynadier F, Dry J. Degranulation des basophiles et substances 'diteshomeopathiques'. *Bull Acad Natl Med* 1985; 169:611–22.

(11) Poitevin B. Experimental study of homoeopathy in allergology. Biological studies. *Br Homeopath J* 1998; 87:154–64.

(12) Poitevin B, Davenas E, Benveniste J. In vitro immunological degranulation of human basophils is modulated by lung histamine and Apis mellifica. *Br J Clin Pharmacol* 1988; 25:439–44.

(13) Picart CJ. Scientific controversy as farce: the Benveniste-Maddox counter trials. *Soc Stud Sci* 1994; 24:7–37.

(14) Pool R. Unbelievable results spark a controversy. *Science* 1988; 241:407.

(15) Benveniste J, Davenas E, Ducot B, Spira A. Basophil achromasia by dilute ligand: a reappraisal. *FASEB J* 1991; 5:A3706.

(16) Benveniste J, Davenas E, Ducot B, Cornillet B, Poitevin B, Spira A. L'agitation de solutions hautement diluees n'induit pas d'activitebiologique specifique. *CRAcad Sci Paris* 1991; 312:461–6.

(17) Benveniste J. Further biological effects induced by ultra high dilutions. Inhibition by a magnetic field. In: Endler PC, Schulte J (eds). *Ultra High Dilution*. Dordrecht : Kluwer Acad. Publ., 1994, 35–8.

(18) Schiff M. *The Memory of Water. Homeopathy and the Battle of Ideas in the New Science*. London: Thorsons, 1995.

(19) Ovelgonne JH, Bol AWJM, Hop WCJ, Van Wijk R. Mechanical agitation of very dilute antiserum against IgE has no effect on basophil staining properties. *Experientia* 1992; 48:504–8.

(20) Hirst SJ, Hayes NA, Burrige J, Pearce FL, Foreman JC. Human basophil degranulation is not triggered by very dilute antiserum against human IgE. *Nature* 1993; 366:525–7.

(21) Benveniste J. Memory of water revisited (letter). *Nature* 1994; 370:322.

(22) Vecchi I. On high dilution experiments. *Frontier Perspect* 1999; 8:58–61.

(23) Wiegant FAC. Memory of water revisited (letter). *Nature* 1994; 370:322.

(24) Belon P, Cumps J, Ennis M, Mannaioni PF, Sainte-Laudy J, Roberfroid M, et al. Inhibition of

human basophil degranulation by successive histamine dilutions: results of a European multi-centre trial. *Inflamm Res* 1999; 48:S17–8.

(25) Cherruault Y, Guillez A, Sainte-Laudy J, Belon P. E'tude mathematique et statistique des effets de dilutions successives de chlorhydrate d'histamine sur la reactivitedes basophiles humains. *Bio-Sciences* 1989; 7:63–72.

(26) Sainte-Laudy J, Sambucy JL, Belon P. Biological activity of ultra low doses I. Effect of ultra low doses of histamine on human basophil degranulation triggered by *D. pteronissinus* extract. In: Doutremepuich C. (ed). *Ultra Low Doses*. London : Taylor and Francis, 1991, 127–38.

(27) Sainte-Laudy J, Belon P. Inhibition of human basophil activation by high dilutions of histamine. *Agent Actions (Inflamm Res)* 1993; 38:C245–7.

(28) Gane P, Pecquet C, Lambin P, Abuaf N, Leynadier F, Rouger P. Flow cytometric evaluation of human basophils. *Cytometry* 1993; 14:344–8.

(29) Sainte-Laudy J, Vallon C, Gutrin JC. Analyse de l'expression membranaire du marqueur CD63 par activation du basophil humain. Application au diagnostique allergologique. *Allergie et Immunologie* 1994; 26:211–4

(30) Sainte-Laudy J, Belon P. Analysis of immunosuppressive activity of serial dilutions of histamine on human basophil activation by flow cytometry. *Inflamm Res* 1996; 45:S33–4.

(31) Sainte-Laudy J, Belon P. Application of flow cytometry to the analysis of the immunosuppressive effect of histamine dilutions on human basophil activation: effect of cimetidine. *Inflamm Res* 1997; 46:S27–8.

(32) Brown V, Ennis M. Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations. *Inflamm Res* 2001; 50:S47–8.

(33) Lorenz I, Schneider EM, Stolz P, Brack A, Strube J. Influence of the diluent on the effect of highly diluted histamine on basophil activation. *Homeopathy* 2003; 92:11–18.

(34) Lorenz I, Schneider EM, Stolz P, Brack A, Strube J. Sensitive flow cytometric method to test basophil activation influenced by homeopathic histamine dilutions. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 2003; 10:316–24.

(35) Guggisberg AG, Baumgartner SM, Tschopp CM, Heusser P. Replication study concerning the effects of homeopathic dilutions of histamine on human basophil degranulation in vitro. *Complement TherMed* 2005; 13:91–100.

(36) Colas H, Aubin M, Picard P, Lebecq JC. Inhibition du test de transformation lymphoblastique (TTL) ala phytohemagglutinine (PHA) par phytolacca americana en dilution homeopathiques. *Ann Homeopath Fr* 1975; 6:1–11.

(37) Bildet J, Dupont H, Aubin M, Baronnet S, Berjon JJ, Gomez H, Manlhiot JL. Action in vitro de dilutions infinitesimales de Phytolacca Americana sur la transformation lymphoblastique ala phytohemagglutinine. *Ann Homeopath Fr* 1981; 23:102–11.

(38) Poitevin B. Relation generale entre Homeopathie et immunoallergologie. *EncyclMed Chir/Homeopathie* 1988; 38255A.

(39) Naser B, Bodinet C, Tegtmeier M, Lindequist U. Thuja occidentalis (*Arbor vitae*): a review of its pharmaceutical, pharmacological and clinical properties. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2:69–78.

(40) Wagner H, Kreher B, Jurcic K. In vitro stimulation of human granulocytes and lymphocytes by pico- and femtogram quantities of cytostatic agents. *Arzneimittelforschung* 1988; 38:273–5.

(41) Schulz H. Uber die Theorie der Arzneimittelwirkung. *Virchow's Arch* 1877; 108:423–34.

(42) Martius F. Das Arndt-Schulz Grundgesetz. *Muench Med Wschr* 1923; 70:1005–6.

(43) Calabrese EJ, McCarthy ME, Kenyon E. The occurrence of chemically induced hormesis. *Health Phys* 1987; 52:531.

(44) Calabrese EJ. Hormesis: from marginalization to mainstream: a case for hormesis as the default

- dose-response model in risk assessment. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 197:12–536.
- (45) Rozman KK, Doull J. Scientific foundations of hormesis. Part 2. Maturation, strengths, limitations, and possible applications in toxicology, pharmacology, and epidemiology. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33:451–62.
- (46) Pickrell JA, Oehme FW. Examining the risks and benefits of replacing traditional dose-response with hormesis. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24:259–64.
- (47) Oberbaum M, Cambar J. Hormesis: dose-dependent reverse effects of low and very low doses. In: Endler PC, Schulte J (eds). *Ultra High Dilution*. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994, 5–18.
- (48) Bellavite P, Lussignoli S, Semizzi M, Ortolani R, Signorini A. The similia principle. From cellular models to regulation of homeostasis. *Br Homeopath J* 1997; 86:73–85.
- (49) Calabrese EJ. Toxicological awakenings: the rebirth of hormesis as a central pillar of toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204:1–8.
- (50) Chirila M, Hristescu S, Manda G, Neagu M, Olinescu A. The in vitro action of a succussed substance on the proliferative response of human lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin. *Rom J Intern Med* 1992; 30:63–7.
- (51) Fimiani V, Cavallaro A, Ainis O, Bottari C. Immunomodulatory effect of the homeopathic drug Engystol-N on some activities of isolated human leukocytes and in whole blood. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2000; 22:103–15.
- (52) Sato DY, Wal R, de Oliveira CC, Cattaneo RI, Malvezzi M, Gabardo J, et al. Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated with a complex homeopathic medication. *Homeopathy* 2005; 94:26–32.
- (53) Seligmann IC, Lima PD, Cardoso PC, Khayat AS, Bahia MO, Buchi Dde F, et al. The anticancer homeopathic composite 'Canova Method' is not genotoxic for human lymphocytes in vitro. *Genet Mol Res* 2003; 2:223–8.
- (54) Porozov S, Cahalon L, Weiser M, Branski D, Lider O, Oberbaum M. Inhibition of IL- 1beta and TNF-alpha secretion from resting and activated human immunocytes by the homeopathic medication Traumeel S. *Clin Dev Immunol* 2004; 11:143–9.
- (55) Poitevin B, Aubin M, Royer JF. Effet de belladonna et ferrum phosphoricum sur la chemiluminescence des polynucleaires neutrophiles humains. *Ann Homeopath Fr* 1983; 3:5–12.
- (56) Moss VA, Roberts JA, Simpson HKL. The action of 'low potency' homeopathic remedies on the movement of guinea pig macrophages human leukocytes. *BrHomeopath J* 1982; 71:48–61.
- (57) Fletcher MP, Halpern GM. Effects of dilutions of Bryonia (4-9CH) and lung-histamine (4-9CH) on human neutrophil (PMN) activation responses as assessed by flow cytometry. In: Proceedings of the 2nd GIRI Meeting. Monte Carlo17, 1988, A20.
- (58) Bellavite P, Chirumbolo S, Signorini A, Bianchi I, Dri P. Simultaneous measurement of oxidative metabolism and adhesion of human neutrophils and evaluation of multiple doses of agonists and inhibitors. In: Doutremepuich C (ed). *Ultra Low Doses*. London: Taylor and Francis Ltd., 1991, 93–117.
- (59) Bellavite P, Chirumbolo S, Santonastaso C, Biasi D, Lussignoli S, Andrioli G. Dose-dependence of the various functional responses of neutrophils to formylpeptides. Activation, regulation, and inverse effects according to the agonist dose and cell condition. In: Bastide M (ed). *Signals and Images*. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1997, 111–9.
- (60) Chirumbolo S, Signorini A, Bianchi I, Lippi G, Bellavite P. Effects of homeopathic preparations of organic acids and of minerals on the oxidative metabolism of human neutrophils. A controlled trial. *Br Homeopath J* 1993; 82:227–44.
- (61) Lussignoli S, Bertani S, Metelmann H, Bellavite P, Conforti A. Effect of Traumeel S, a homeopathic formulation, on blood-induced inflammation in rats. *Complement Ther Med* 1999; 7:225–30.
- (62) Conforti A, Bertani S, Metelmann H, Chirumbolo S, Lussignoli S, Bellavite P. Experimental studies on the anti-inflammatory activity of a homeopathic preparation. *Biol Ther* 1997; 15:28–31.

- (63) Chirumbolo S, Conforti A, Lussignoli S, Metelmann H, Bellavite P. Effects of Podophyllum peltatum compounds in various preparations dilutions on human neutrophil functions in vitro. *Br Homeopath J* 1997; 86:16–26.
- (64) Thomas Y, Schiff M, Belkadi L, Jurgens P, Kahhak L, Benveniste J. Activation of human neutrophils by electronically transmitted phorbolmyristate acetate. *Med Hypotheses* 2000; 54:33–39.
- (65) Varani K, Gessi S, Merighi S, Iannotta V, Cattabriga E, Spisani S, et al. Effect of low frequency electromagnetic fields on A2A adenosine receptors in human neutrophils. *Br J Pharmacol* 2002; 136:57–66.
- (66) Rosenspire AJ, Kindzelskii AL, Simon BJ, Petty HR. Real-time control of neutrophil metabolism by very weak ultra-low frequency pulsed magnetic fields. *Biophys J* 2005; 88:3334–47.
- (67) Ventura C. CAM and cell fate targeting: molecular and energetic insights into cell growth and differentiation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2:277–83.
- (68) Boiron J, Abecassis J, Cotte J, Bernard AM. L'etude de l'action de dilutions hahnemanniennes de chlorure mercurique sur l'index mitotique de cultures de cellules animales. *Ann Homeopath Fr* 1981; 23:43–9.
- (69) van Mansvelt JD, Amons E. Inquiry into the limits of biological effects of chemical compounds in tissue culture. I. Low dose effects of mercure chloride. *Z Naturforsch* 1975; 30:643–9.
- (70) Kollerstrom J. Basic scientific research into the 'low dose effect'. *Br Homeopath J* 1982; 71:41–7.
- (71) Palermo C, Filanti C, Poggi S, Manduca P. Osteogenesis in vitro in rat tibia-derived osteoblasts is promoted by the homeopathic preparation, FMS-Calciumfluor. *Cell Biol Int* 1999; 23:31–40.
- (72) Manduca P, Marchisio S, Astigiano S, Zanotti S, Galmozzi F, Palermo C, et al. FMS-Calciumfluor specifically increases mRNA levels and induces signaling via MAPK 42,44 and not FAK in differentiating rat osteoblasts. *Cell Biol Int* 2005; 29:629–37.
- (73) Jaggi R, Wurgler U, Grandjean F, Weiser M. Dual inhibition of 5-ipoxygenase/cyclooxygenase by a reconstituted homeopathic remedy; possible explanation for clinical efficacy and favourable gastrointestinal tolerability. *Inflamm Res* 2004; 53:150–7.
- (74) Vallance AK. Can biological activity be maintained at ultra-high dilution? An overview of homeopathy, evidence, and Bayesian philosophy. *J Altern Complement Med* 1998; 4:49–76.
- (75) Belon P, Cumps J, Ennis M, Mannaioni PF, Roberfroid M, Sainte-Laudy J, et al. Histamine dilutions modulate basophil activation. *Inflamm Res* 2004; 53:181–8.
- (76) Walach H. Entanglement model of homeopathy as an example of generalized entanglement predicted by weak quantum theory. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 2003; 10:192–200.
- (77) Milgrom LR. Patient-practitioner-remedy (PPR) entanglement. Part 5. Can homeopathic remedy reactions be outcomes of PPR entanglement? *Homeopathy* 2004; 93:94–8.
- (78) Hyland ME. Entanglement and some heretical thoughts about homeopathy. *Homeopathy* 2005; 94:105–6.
- (79) Bellavite P. Complexity science and homeopathy. A synthetic overview. *Homeopathy* 2003; 92:203–12.