

# Účinky biorezonančního zařízení BICOM Optima na buněčný metabolismus a oxidační vzplanutí zánětlivých buněk.

Peter C. Dartsch \*

Dartsch Scientific GmbH, Institut für zellbiologische Testsysteme, Germany

\***Autor:** Dartsch PC, Dartsch Scientific GmbH, Institut für zellbiologische Testsysteme, Auf der Voßhardt 25, D-49419 Wagenfeld, Německo; E-mail: pc.dartsch@dartsch-scientific.com



## Informace o článku

**Doručeno:** 1. ledna 2021

**Publikováno:** 18. ledna 2021

**Citace:** Peter C Dartsch. Účinky biorezonančního zařízení BICOM Optima na buněčný metabolismus a respirační vzplanutí zánětlivých buněk. Biomed J Sci & Tech Res 33(2) - 2021. BJSTR. MS.ID.005366.

**Klíčová slova:** Biorezonance; Zánět; Respirační vzplanutí; Neutrofilů; HL-60; Buněčná kultura

## Abstrakt

**Pozadí:** Neutrofilní granulocyty jsou nejběžnějším typem bílých krvinek, které se vyskytují u naprosté většiny savců. Hrají v těle důležitou roli jako součást vrozené imunity, jelikož se jedná o buňky, které se podílejí na akutní fázi zánětu. Holistická biorezonanční metoda využívá elektromagnetické vlny, které jsou snímány od pacienta a mění energetické pole organismu. V tomto smyslu ji lze tedy použít jako diagnostickou a terapeutickou metodu ke zlepšení stavu a k podpoře při léčbě různých nemocí. Na tomto základě jsme zkoumali, zda ošetřením přístrojem BICOM optima můžeme dosáhnout protizánětlivé reakce na kultivovaných funkčních neutrofilech snížením metabolické aktivity a tvorby volných kyslíkových radikálů, které by mohly způsobit lokální oxidační stres v zanícené tkáni.

**Materiál a metody:** Buňky lidských promyelocytů (buňky HL-60) byly po dobu 5 dnů diferencovány k funkčním neutrofilům přidáním 1,5 obj.% dimethylsulfoxidu do kultivačního média. Během procesu diferenciacce byly buňky ošetřeny během tří po sobě jdoucích dní programovým řetězcem „Patogeny Ai“ biorezonančním zařízením BICOM optima v externím miniinkubátoru při teplotě 37 °C, vždy po dobu 180 minut. Kontrolní vzorek byl inkubován ve stejnou dobu v jiném externím miniinkubátoru bez biorezonančního ošetření. Nakonec byl porovnán bazální metabolismus buněk a tvorba volných kyslíkových radikálů jak u ošetřených, tak i u neošetřených funkčních neutrofilů.

**Výsledek:** Ošetření pomocí biorezonančního přístroje BICOM nemělo žádný významný vliv na mitotickou aktivitu, nebo na velikost buněk funkčních neutrofilů. Měření bazálního buněčného metabolismu funkčních neutrofilů bez oxidačního vzplanutí prokázalo statisticky významné snížení bazálního buněčného metabolismu o  $12,2 \pm 4,5\%$  (průměrná hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka;  $p < 0,05$ ; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test). V souladu se snížením bazálního metabolismu došlo po ošetření biorezonančním zařízením BICOM i ke snížení tvorby volných kyslíkových radikálů o  $17,8 \pm 3,1\%$  (střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka). Ve srovnání s neošetřeným kontrolním vzorkem je toto snížení tvorby radikálů také statisticky významné ( $p \leq 0,01$ ; Wilcoxon-Mann-Whitneyův test).

**Závěr:** Principy biorezonance nejsou v konvenční medicíně přijímány jako metoda léčby chronických zánětlivých procesů, nebo při léčbě hojení ran. Výsledky tohoto výzkumu naznačují, že biorezonanční terapie může být velmi užitečná jako doplněk konvenčních terapeutických přístupů při léčbě akutních a chronických zánětlivých procesů. Navíc léčba pomocí zařízení BICOM optima může zlepšit a udržovat zdraví a pohodu.

# Úvod

Neutrofilové jsou nejčastějším typem granulocytů, jeden z typů bílých krvinek, který se vyskytuje u většiny savců. Mají dvojí roli jako (i) fagocyty (= mrchožroutské buňky), které kolují v krevním oběhu a jako základní součást vrozeného imunitního systému představují buněčnou obranu proti mikrobiálním patogenům [1] a (ii) jako buňky které po vstupu do zanícené tkáně vedou k rozvoji zánětlivé reakce. V případě zánětu neutrofilové migrují z krve do tkáně a vytvářejí zde v procesu tzv. oxidačního vzplanutí reaktivní formy kyslíku, převážně volné kyslíkové radikály [2,3]. Ačkoli radikály hrají důležitou roli při přenosu mezibuněčných signálů [4,5], přebytek radikálů ve tkáni způsobuje lokální oxidační stres, který již nelze neutralizovat vlastními enzymy, jako jsou superoxid dismutáza a další [6-8]. Výsledný oxidační stres v tkáni způsobuje změny v biomolekulách, jako jsou bílkoviny, lipidy a DNA. Následné poškození buněk a tkání je počáteční krok v patogenezi mnoha chorob [9–12]. Je známo, že buňky našeho těla emitují a přijímají elektromagnetické signály, které umožňují vnitrobuněčnou a mezibuněčnou elektromagnetickou komunikaci [13,14]. V případě poruch nebo nemocí dochází k narušení tohoto druhu buněčné komunikace [15]. Holistická biorezonanční metoda využívá elektromagnetické vlny, které snímá od pacienta, aby změnila energetické pole organismu.

Lze ji tedy použít jako diagnostickou a terapeutickou metodu ke zlepšení stavu a jako podporu při léčbě různých onemocnění [16-18]. V předchozí studii se nám již podařilo prokázat, že biorezonanční zařízení BICOM optima dokáže podporovat proces hojení ran stimulací metabolické aktivity a buněčné migrace a proliferace v kultivovaných fibroblastech pojivové tkáně [19]. Na základě předchozích zkušeností jsme v této studii zkoumali, zda by ošetření pomocí biorezonančního zařízení BICOM optima mohlo mít také vliv na protizánětlivou odpověď funkčních neutrofilů snížením metabolické aktivity a tvorby volných radikálů při aktivaci.

## Materiál a metody

### Biorezonanční zařízení BICOM

Biorezonanční zařízení BICOM optima mobil, vybavené aplikátorem BICOM GST71 laskavě na dobu provedení studie poskytla společnost REGUMED Regulative Medizintechnik GmbH, D-82152 Planegg, Německo. Jako základní byl používán programový řetězec „Patogeny Ai“. Všechny tři jednotlivé programy programového řetězce byly nastaveny na dobu 30 minut, takže kompletní cyklus ošetření byl 90 minut.

Při ošetřování buněčných kultur běžel tento cyklus dvakrát po sobě, takže dohromady byly buňky ošetřovány po dobu 180 minut. Vstupní pohárek vpravo nahoře byl pro experimenty vždy naplněn stejným kultivačním médiem, které bylo použito pro vzorky buněk. Doba trvání ošetření u člověka by samozřejmě neměla přesáhnout jednu hodinu. Primární otázkou této studie však bylo ověřit, zda biorezonanční zařízení BICOM může skutečně dosáhnout protizánětlivého účinku u funkčních neutrofilů snížením jejich metabolické aktivity a tvorby volných kyslíkových radikálů.

### Použitá buněčná kultura

Výzkumy byly prováděny s lidskými promyelocyty (buněčná linie HL-60; ACC-3; ECACC 98070106; Leibniz-Institut; Německá sbírka mikroorganismů a buněčných kultur, Braunschweig, Německo) a použity v subkultivačních fázích (průchody) 10 až 18 po dobu dvou měsíců. Buňky byly standardně kultivovány na médiu RPMI 1640 doplněném o 10% růstovou směs a 0,5% gentamycinu. Buněčné kultury byly standardně inkubovány v inkubátoru při 37 ° C a atmosféře 5% CO<sub>2</sub> a 95% vzduchu při téměř 100% vlhkosti. V podmínkách kultivace na kultivačním médiu, obsahujícím 1,5% objemových dimethylsulfoxidu, lze buňky diferencovat na tzv. funkční neutrofilové, které jsou schopné po aktivaci forbolesterem generovat oxidačním vzplanutím volné kyslíkové radikály [20-23].

### Experimentální schéma

Buňky byly kultivovány jako suspenzní kultury ve speciálních kultivačních bankách s odvětrávaným a uzamykatelným víkem (růstová plocha 25 cm<sup>2</sup>; TPP, Švýcarsko), což umožňuje při zacházení se vzorkem zamezit výměně plynů mezi kultivačním médiem a normálním vzduchem takže se hodnota pH udržuje stále konstantní. Přidáním 1.5 objemových% dimethylsulfoxidu po dobu celkem 5 dní došlo k diferenciaci buněk HL-60 na funkční neutrofilové. Během procesu diferenciaci byly buňky během tří po sobě jdoucích dnů ošetřovány biorezonančním zařízením BICOM optima po dobu 180 minut v externím miniinkubátoru při 37 ° C. Jak bylo popsáno výše, byl použitý programový řetězec "Patogeny Ai". Kontrolní vzorky byly inkubovány po stejnou dobu v jiném externím miniinkubátoru a nebyly ošetřeny biorezonancí. Buňky byly poté až do další expozice kultivovány s odkrytým víčkem v hlavním plynovém inkubátoru. Pátý den diferenciaci byly buňky připraveny centrifugací (6 min. při 190 x g), opakovaně propláchnuty ve fyziologickém roztoku pufrovaném fosfáty s vápníkem a hořčíkem a pro testy bylo

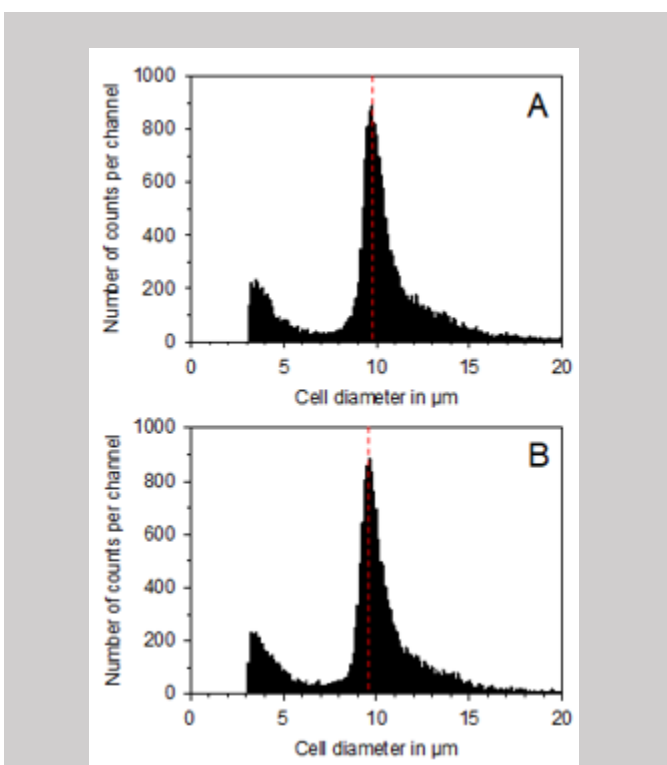
odebráno 60  $\mu$ l alikvoty resuspendovaných buněk v pufru obsahujícím 10 mM glukózy. Funkční neutrofilů v reakční směsi byly aktivovány pro generování volných kyslíkových radikálů přidáním forbol- 12-myristát-13-acetát (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Německo) [24].

Tvorba volných kyslíkových radikálů buňkami v reakční směsi způsobí štěpení tetrazoliového barviva WST-1 (Roche Diagnostics, Mannheim, Německo), které bylo také obsaženo reakční směsi. Množství volných kyslíkových radikálů v reakční směsi má přímou souvislost s barevnou změnou barviva. Kromě toho jsme stejným způsobem zkoumali i bazální metabolickou aktivitu funkčních neutrofilů, v tomto případě bez aktivace buněk, aby nedošlo k oxidačnímu vzplanutí. Optická hustota byla zaznamenána jako diferenciální měření  $\Delta OD = 450 - 690$  nm čtečkou Elisa (BioTek SLx 808 se softwarem Gen 5 verze 3.00) a vyhodnocena v programu Microsoft Excel lineární regresí pro daný čas interval 0 až 30 minut. Bylo provedeno pět nezávislých testů. Navíc pomocí systému analýzy buněk CASY (Omni Life Science, Bremen, Německo), tři testy byly také využity k analýze počtu buněk a distribuce velikosti buněk diferencovaných buněk.

## Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena pomocí neparametrického dvouvýběrového Wilcoxon-Mann-Whitneyova testu.

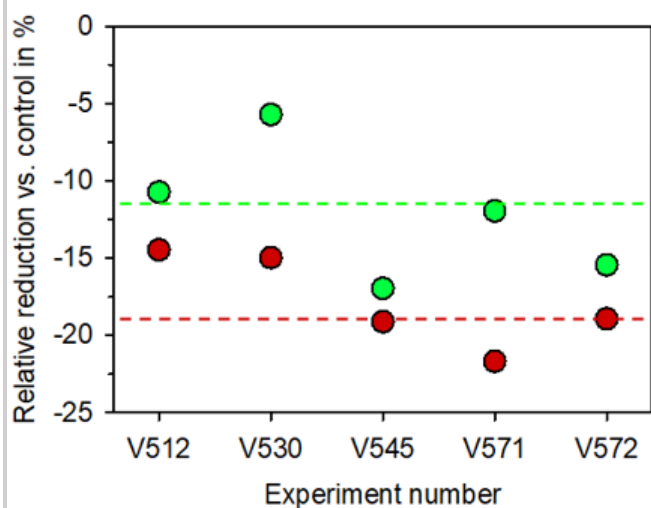
## Výsledek a diskuse



**Obrázek 1:** Zobrazení rozložení distribuce velikosti buněk funkčních neutrofilů bez ošetření. (A) a po ošetření ve třech po sobě následujících dnech přístrojem BICOM Optima během 5 dnů diferenciálního období od promyelocytů po funkční neutrofilů. (B) Malé vrcholy v obou grafech kolem hodnoty 3  $\mu$ m představují malé částice (tzv. buněčné zbytky jako jsou buněčné fragmenty a mrtvé buňky) a nejsou zahrnuty v hodnocení.

Jak je vidět (Obrázek 1), měření maximálního průměru buňky ukázalo u neošetřeného kontrolního vzorku hodnotu  $9,95 \pm 0,17$   $\mu$ m a hodnotu  $9,79 \pm 0,25$   $\mu$ m pro buňky, ošetřené přístrojem BICOM (střední hodnota  $\pm$  standardní odchylka;  $n = 3$ ).

V BICOMem ošetřeném vzorku byl počet buněk o  $7,7 \pm 4,6\%$  nižší než v kontrolním vzorku (střední hodnota  $\pm$  standardní odchylka;  $n = 3$ ; nezobrazeno). Hodnoty velikosti průměru buněk a jejich počet se mezi biorezonancí ošetřenými a neošetřenými kontrolními vzorky významně nelišily a z toho se dá usuzovat, že biorezonanční ošetření přístrojem BICOM nemá žádný významný vliv na proliferační aktivitu nebo velikost buněk funkčních neutrofilů. Při měření bazálního buněčného metabolismu funkčních neutrofilů bez spuštění oxidačního vzplanutí vykázal vzorek, ošetřený biorezonančním přístrojem BICOM, snížení oproti neošetřenému kontrolnímu vzorku (obrázek 2). Při výpočtu střední hodnoty  $\pm$  směrodatná odchylka ze všech 5 nezávislých experimentů se projevilo statisticky významné snížení bazálního buněčného metabolismu o  $12,2 \pm 4,5\%$  ( $p < 0,05$ ). V souladu se snížením bazálního metabolismu funkčních neutrofilů se projevilo po ošetření biorezonančním zařízením BICOM i snížení tvorby volných kyslíkových radikálů (obrázek 2). Snížení za všech 5 nezávislých experimentů bylo o  $17,8 \pm 3,1\%$  (průměrná hodnota  $\pm$  standardní odchylka). Ve srovnání s neošetřeným kontrolním vzorkem bylo toto snížení tvorby volných radikálů také statisticky významné ( $p \leq 0,01$ ).



**Obrázek 2:** Snížení bazální metabolické aktivity (zelené datové body) a tvorby radikálů (červené datové body) funkčních neutrofilů po ošetření biorezonančním přístrojem BICOM Optima ve třech dnech z celkově pětidenního diferenačního procesu. V grafu jsou zobrazeny výsledky všech pěti nezávislých experimentů (V512, V530, V545, V571 a V572) a jejich průměrná hodnota je zobrazena jako přerušovaná čára (zelená pro metabolickou aktivitu a červená pro tvorbu volných kyslíkových radikálů). Neošetřený kontrolní vzorek představuje ve všech experimentech základní hodnotu „0“.

Ačkoliv principy biorezonance nejsou v konvenční medicíně přijímány jako metoda diagnostiky a terapie, současný výzkum ukázal, že léčba biorezonancí má zřejmý vliv na buněčné úrovni. Dalo by se namítnout, že buněčné kultury nejsou podobné komplexnosti lidského těla, ale musíme brát v potaz fakt, že buněčné kultury se mohou zaměřit na jednotlivé aspekty živé hmoty, jak zde bylo provedeno. Prezentovaný výzkum pracuje s funkčními neutrofilů ± ošetření pomocí biorezonančního zařízení BICOM optima a zaměřuje se na dvě principiální charakteristiky těchto buněk: (i) metabolická aktivita a (ii) tvorba volných kyslíkových radikálů v průběhu indukovaného oxidačního vzplanutí. V předchozí studii jsme zjistili, že ošetření fibroblastů pojivové tkáně pomocí biorezonančního zařízení BICOM optima vedlo ke stimulaci bazálního buněčného metabolismu a následně ke zlepšeném hojení ran [19]. Na první pohled by se výsledky této studie, konkrétně snížení metabolické aktivity a tvorba volných kyslíkových radikálů funkčními neutrofilů, mohly jevit, jako že jsou v předchozí studii v rozporu. Avšak, chronické zánětlivé a komplikované procesy hojení ran jsou také spojeny s výskytem přebytku kyslíkových radikálů, které způsobují ve tkáni lokální oxidační stres [25-27].

Z tohoto úhlu pohledu jsou výsledky výzkumu fibroblastů pojivové tkáně i funkčních neutrofilů v souladu a navzájem se doplňují v tom smyslu, že oba vedou k možnému zkrácení zánětlivých procesů, které souvisí s hojením ran a/nebo s oxidačním stresem in vivo. Mnohem silnější účinek biorezonančního zařízení BICOM optima na funkční neutrofilů by snížil účinnost vrozeného imunitního systému lidského těla proti mikrobiálním patogenům, které cirkulují v krvi.

## Závěr

Principy biorezonance nejsou v konvenční medicíně přijímány jako metoda léčby chronických zánětlivých procesů, nebo při léčbě hojení ran. Výsledky tohoto výzkumu naznačují, že biorezonanční terapie může být velmi užitečná jako doplněk konvenčních terapeutických přístupů při léčbě akutních a chronických zánětlivých procesů. Navíc léčba pomocí zařízení BICOM optima může zlepšit a udržovat zdraví a pohodu.

## Reference

1. Witko Sarsat V, Rieu P, Descamps Latscha B, Lesavre P, Halbwegs Mecarelli L (2000) Neutrophils: molecules, functions, and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 80: 617-653.
2. Nathan C (2002) Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846-852.
3. Ward PA (1999) The acute inflammatory response and its regulation. *Arch Surg* 134: 666-669.
4. Vliet van der A, Bast A (1992) Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. *Chem Biol Interact* 85: 95-116.
5. Lander HM (1997) An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 11: 118-124.
6. Mc Cord JM, Fridovich I (1969) Superoxide dismutase – an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
7. Culotta VC (2001) Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. *Curr Top Cell Reg* 36: 117-132.
8. Limón Pacheco J, Gonshebat ME (2009) The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mut Res Gen Toxicol Environ Mutagen* 674: 137-147.
9. Kannan K, Jain SK (2000) Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiol* 7(3): 153-163.

10. Higuchi Y (2003) Chromosomal DNA fragmentation in apoptosis and necrosis induced by oxidative stress. *Biochem Pharmacol* 66: 1527-1535.
11. Choi K, Kim J, Kim GW, Choi C (2009) Oxidative stress-induced necrotic cell death via mitochondria-dependent burst of reactive oxygen species. *Curr Neurol Neurosurg Res* 6: 213-222.
12. Ede CK, Tofik E (2020) Biomarkers of oxidative stress and its role in atherosclerosis development. *Biomed J Sci & Tech Res* 32: 2020.
13. Prasad A, Rossi C, Lamponi S, Pospíšil P, Foletti A (2014) New perspective in cell communication: Potential role of ultra-weak photon emission. *J Photochem Photobiol B* 139: 47-53.
14. Vladimirov EB, Milman VD (2019) Mechanisms of signal transduction in cells: facts and hypotheses. *J Clin Med Sci* 3: 112.
15. Alberto F, Mario L, Sara P, Settimio G, Antonella L (2014) Electromagnetic information delivery as a new tool in translational medicine. *Int J Clin Exp Med* 7: 2550-2556.
16. Karakos P, Grigoriou T, Theodoros K, Theodoros L (2019) The effectiveness of bioresonance method on human health. *Open Epidemiol J* 8: 1-8.
17. Henneke J (2012) *Bioresonance: A New View of Medicine. Scientific Principles and Practical Experience.* Books on Demand, Norderstedt.
18. Ebrahimi M, Sharifov S, Salili M, Chernosova L (2015) An introduction to impact of bioresonance technology in genetics and epigenetics. In: Mehdipour P (Eds.). *Epigenetics Territory and Cancer.* Springer, Dordrecht pp. 495-513.
19. Dartsch PC (2021) Investigations on the beneficial effects of BICOM optima mobile bioresonance device on cultured connective tissue fibroblasts. *J Biomed Sci Res* 3 (1): 133.
20. Babior BM (1999) NADPH oxidase: An update. *Blood* 93: 1464-1476.
21. Tan AS, Berridge MV (2000) Superoxide produced by activated neutrophils efficiently reduces the tetrazolium salt WST-1 to produce a soluble formazan: A simple colorimetric assay for measuring respiratory burst activation and for screening anti-inflammatory agents. *J Immunol Meth* 238: 59-68.
22. Teufelhofer O, Weiss RM, Parzefall W, Schulte Hermann R, Micksche M, et al. (2003) Promyelocytic HL60 cells express NADPH oxidase and are excellent targets in a rapid spectrophotometric microplate assay for extracellular superoxide. *Toxicol Sci* 76: 376-383.
23. Droge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
24. Dartsch PC (2006) TIIOS – a sensitive and cell-based test assay for the screening of biologically active substances for their antioxidant potential. *Innov Food Technol* 32: 72-75.
25. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT (2008) Wound repair and regeneration. *Nature* 453: 314-32.
26. Cano Sanchez M, Lancel S, Boulanger E, Neviere R (2018) Targeting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the treatment of impaired wound healing: A systematic review. *Antioxidants* 7(8): 98.
27. Schafer M, Werner S (2008) Oxidative stress