



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Medición de citoquinas en cultivos in vitro  
de células mononucleares de sangre periférica  
humana expuestos a  
*Nux vómica* homeopatizada

**Yenny Alexandra Nieves Meneses**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Maestría en Medicina Alternativa, Área Homeopatía  
Bogotá D.C., Colombia  
2012



Medición de citoquinas en cultivos in vitro  
de células mononucleares de sangre periférica  
humana expuestos a  
*Nux vómica* homeopatizada

**Yenny Alexandra Nieves Meneses**

Trabajo investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:  
Magister en Medicina Alternativa – Área Homeopatía

Director:

Dr. Jorge Eduardo Caminos. Coordinador Departamento Bioquímica  
Facultad Medicina Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Maestría en Medicina Alternativa, Área Homeopatía  
Bogotá D.C., Colombia  
2012



*A Dios,  
de quien he recibido toda clase de bendiciones,*

*a mi familia,  
que ha sido apoyo y fortaleza,*

*a Héctor Enrique,  
quien con su amor me sostiene y me anima a seguir  
adelante.*

## Agradecimientos

Agradezco a mis docentes, compañeros y amigos de la Maestría en Homeopatía de la Universidad Nacional de Colombia, quienes me enseñaron y compartieron sus experiencias y me motivaron a crecer como persona y profesional.



## Resumen

El uso de medicamentos homeopáticos se ha popularizado especialmente por carecer de reacciones adversas y contraindicaciones. *Nux vómica* es un remedio ampliamente utilizado para tratar múltiples afecciones como alergias, trastornos digestivos, estrés y cáncer entre otros. Los numerosos estudios sobre las acciones farmacológicas de *Nux vómica*, no arrojan evidencia científica sobre sus efectos específicos en la respuesta inmune. Con el presente trabajo se pretende evaluar los efectos de *Nux vómica* homeopatizada sobre la expresión de algunas citoquinas. **Materiales y Métodos:** Mediante ensayo in vitro, las células mononucleares cultivadas fueron expuestas a la acción de *Nux vómica* diluida a la potencia 30 CH. Se determinó la viabilidad celular y se cuantificaron los niveles de las citoquinas IL 1 $\beta$ , IL 2, IL 4, IL 6, IL 8 e IL 10 con el kit de inmunoensayo "Human Cytokine Magnetic 10-Plex Panel" de Invitrogen®. **Resultados:** Respecto a la viabilidad de los linfocitos, el efecto proliferativo no fue mayor al 11%. En cuanto a la expresión de citoquinas, solo en el caso de IL-4 se obtuvo un valor estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ). **Conclusiones:** *Nux vómica* a la 30 CH no es citotóxica y logra estimular la cascada de señalización intracelular. La expresión de IL 4 permite argumentar que *Nux vómica* es un medicamento adecuado para tratar enfermedades de tipo inflamatorio y alérgico.

**Palabras clave:** *Nux vómica*, dilución homeopática, células mononucleares, citoquinas.

## Abstract

The use of homeopathic medicines has become popular especially for lack of adverse reactions and contraindications. *Nux vomica* is a remedy widely used to treat many conditions such as allergies, digestive disorders, stress and cancer among others. Numerous studies on the pharmacological actions of *Nux vomica*, scientific evidence do not show specific effects on the immune response. The present work was to assess the effects of *Nux vomica* homeopatizada on the expression of some cytokines. **Materials and Methods:** in vitro assay, cultured mononuclear cells were exposed to the action of *Nux vomica* diluted to 30 CH. Cell viability was determined and quantified the levels of cytokines IL-1  $\beta$ , IL 2, IL 4, IL 6, IL 8 and IL 10 with the immunoassay kit "Human Cytokine 10-



Plex Panel Magnetic" from Invitrogen ®. **Results:** Regarding the viability of lymphocytes, the proliferative effect was not greater than 11%. As for cytokine expression, only in the case of IL-4 was obtained a statistically significant ( $p < 0.001$ ). **Conclusions:** Nux vomica to the 30 CH is not cytotoxic and can stimulate intracellular signaling cascades. The expression of IL 4 can argue that Nux vomica is an appropriate medicine to treat inflammatory diseases and allergic-type

**Keywords:** *Nux vomica*, homeopathic dilution, mononuclear cells, cytokines.

# Contenido

	<b>Pág.</b>
<b>Resumen</b>	8
<b>Lista de figuras</b>	12
<b>Lista de tablas</b>	13
<b>Lista de siglas</b>	14
<b>1. Introducción</b>	16
<b>2. Justificación</b>	18
<b>3. Objetivos</b>	20
3.1 Objetivo general	20
3.2 Objetivos específicos	20
<b>4. Marco teórico</b>	21
4.1 Homeopatía como sistema médico complejo	21
4.2 La respuesta inmune	22
4.3 Citoquinas	23
4.3.1 Fuente de citoquinas y su mecanismo de regulación	24
4.3.2 Clasificación de las citoquinas según el tipo de respuesta	26
4.4 Medición de citoquinas	27
4.5 Homeopatía e inmunidad	28
4.6 Nux vómica-materia Médica	29
4.7 Investigaciones con Nux vómica	30
<b>5. Materiales y métodos</b>	31
5.1 Preparación de nux vómica a la 30CH	31
5.2 Obtención de las células y del compuesto homeopático	32
5.3 Ensayo de linfoproliferación con la exposición a <i>Nux vómica</i>	32

5.4	Determinación de niveles de citoquinas luego de exposición a la preparación homeopática de <i>Nux vómica</i>	33
5.5	Análisis estadístico	33
6.	<b>Resultados</b>	34
6.1	Respuesta linfoproliferativa a la exposición de <i>Nux vómica</i> a la potencia 30CH	34
6.2	Cuantificación de los niveles de citoquinas con la exposición a <i>Nux vómica</i> 30CH frente al control	35
6.3	Respuesta individual (pacientes 1-10) de las células Mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> 30CH vs. Control	35
7.	<b>Discusión</b>	37
8.	<b>Conclusiones y recomendaciones del trabajo</b>	39
	<b>Bibliografía</b>	48

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 3-1.</b> Efecto in vitro de Nux vómica (30CH) homeopatizada ..... sobre los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica. Respuesta individual pacientes 1 al 5.	42
<b>Figura 3-2.</b> Efecto in vitro de Nux vómica (30CH) homeopatizada ..... sobre los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica. Respuesta individual pacientes 6 al 10.	43

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Efecto in vitro de <i>Nux vómica</i> 30CH homeopatizada ..... sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periférica 48 horas de exposición	44
<b>Tabla 2.</b> Respuesta individual de la IL-2 en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	44
<b>Tabla 3.</b> Respuesta individual de la IL-1 $\beta$ en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	45
<b>Tabla 4.</b> Respuesta individual de la IL-4 en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	45
<b>Tabla 5.</b> Respuesta individual de la IL-6 en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	46
<b>Tabla 6.</b> Respuesta individual de la IL-8 en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	46
<b>Tabla 7.</b> Respuesta individual de la IL-10 en células ..... mononucleares expuestas a <i>Nux vómica</i> homeopatizada a 30 CH vs control	47

## Lista de siglas

CH: Centesimal Hahnemanniana

IL 2: Interleuquina 2

IL 1 $\beta$ : Interleuquina 1 beta

IL 4: Interleuquina 4

IL 6: Interleuquina 6

IL 8: Interleuquina 8

IL 10: Interleuquina 10

Th1: Linfocitos T Helper 1

Th2: Linfocitos T Helper 2

CMH: Complejo mayor de Inmunohistocompatibilidad.

CH: Centesimal Hahnemanianna



# 1. Introducción

La homeopatía se destaca como un sistema médico complejo, que concibe al hombre como un ser constituido por cuerpo material, fuerza vital (que rige a todos los seres vivos) y espíritu [1,2] La *energía vital* es aquella que se relaciona con las partes más pequeñas, las células, que conforman un todo y representa la unión inseparable entre organismo y espíritu. Su creador, el Dr. Samuel Hahnemann (1755-1843), basado en la corriente filosófica vitalista, postula que la enfermedad es la consecuencia del desarreglo de esa energía vital causado por una influencia dinámica de un agente externo patógeno [3]. Basado en las aseveraciones de Hipócrates y Paracelso sobre la teoría de los semejantes y las dosis mínimas, crea un sistema médico en cual lo similar se cura con lo similar. Para lograr esa curación debe restablecerse de manera permanente el equilibrio vital que involucra el cumplimiento de cuatro principios fundamentales: 1. La individualidad del enfermo. 2. La semejanza entre la manifestación de los síntomas y el remedio con el que se trate la enfermedad. 3. La experimentación en individuos sanos y 4. El medicamento prescrito como único [2].

El correcto empleo de la homeopatía implica tanto el conocimiento de las propiedades farmacológicas del medicamento homeopático como el de las leyes doctrinales que validan su uso. Tal vez una de las propiedades farmacológicas más destacadas de los remedios homeopáticos es que estimulan la capacidad defensiva o autocurativa del paciente aportando el restablecimiento, o al menos, una mejoría general en la salud, desencadenando y facilitando de esta manera, un proceso natural de curación [3]

En los últimos años, la medicina homeopática se ha venido utilizando en el tratamiento clínico de diversas enfermedades agudas que afectan a pacientes de todas las edades, así como en la medicina veterinaria con resultados satisfactorios. Entre las patologías en las que se ha investigado sobre el efecto curativo de los remedios homeopáticos están las que comprometen el sistema respiratorio, el sistema inmune, infecciones bacterianas, patologías ginecológicas, estrés, tratamientos pre y posquirúrgicos, psiquiátricos, cáncer entre otras [6-8].

La investigación en homeopatía le ha permitido a esta medicina, defenderse ante los severos juicios de sus detractores, que la consideran como una pseudociencia. Los diferentes tipos de modelos de experimentación elaborados a partir de las ciencias básicas, han permitido determinar las propiedades fisicoquímicas y materiales de los remedios homeopáticos in vitro así como en estudios preclínicos realizados en animales y plantas. Otros estudios se basan en ensayos clínicos que comparan los efectos del tratamiento homeopático frente al placebo y en la farmacodinamia de las



ultradiluciones [9,10]. De otro lado, las revisiones sistemáticas y los meta-análisis más completos concluyen que la homeopatía difiere del placebo. Un meta-análisis publicado en Lancet [11] incluía 186 estudios controlados con placebo vs. homeopatía, de los cuales se pudieron sacar datos para el análisis en 89 de ellos. El resultado obtenido concluyó que la homeopatía era beneficiosa aproximadamente de 2 a 3 veces más que el placebo.

Dentro de los miles de medicamentos homeopáticos que existen, aproximadamente 30 de ellos son los más utilizados y conocidos por los terapeutas. Son llamados policrestos, término de origen griego que proviene de *polys*: muchos y *khrestos*: benéfico y del latín *polycrestus*: que tiene muchas aplicaciones [4]. Estos medicamentos abarcan gran número de síntomas físicos y mentales por lo cual son recetados para tratar una amplia gama de enfermedades. *Nux vómica* es un policresto extraído de la *Strychnos nux-vomica* o Nuez vómica, un árbol utilizado en remedios herbales que alivian principalmente afecciones de tipo gastrointestinal y hepático. Como remedio homeopático se ha venido utilizando en múltiples afecciones como alergias, trastornos digestivos, estrés emocional y cáncer entre muchos otros [14,15, 40, 41, 42, 43]. Aunque su uso se reporta en publicaciones médicas desde el siglo XIX, existe poca documentación de su efectividad terapéutica en las revistas de medicina estándar actuales. Incluso, como remedio herbario se agregó al listado de la comisión E (organismo alemán regulador del uso de hierbas), donde se especifica que su prescripción no es recomendable principalmente por su contenido de estricnina, un alcaloide altamente tóxico [5]. Sin embargo, la utilización de la presentación homeopática no ha reportado hasta el momento efectos nocivos o adversos para la salud.

En el campo de la inmunología se han reportado hallazgos interesantes con el uso de *Nux vómica* a partir de estudios in vivo con ratas en los que se pudo demostrar un efecto supresivo de la respuesta inflamatoria y de tipo humoral [41,42].

Con el presente trabajo se pretende investigar el efecto in-vitro de una preparación homeopática de *Nux vómica* sobre las células mononucleares a fin de dilucidar si hay respuesta en cuanto a la expresión de algunas citoquinas.

Entonces, el interrogante planteado para este trabajo es: ¿Cuál es efecto de la *Nux vómica* a la potencia 30CH sobre la producción de las citoquinas IL 1 $\beta$ , IL 2, IL 4, IL 6, IL 8 e IL 10 en un cultivo in-vitro de células mononucleares de sangre periférica humana?

## 2. Justificación

Dado que la homeopatía implica una racionalidad holística del enfermo para fines diagnósticos o terapéuticos, se ha observado un creciente interés de su utilización en la población general. No solamente esta medicina, sino otras disciplinas alternas a la alopátia se han convertido en opciones de tratamientos seguros y económicos. Este fenómeno ha hecho que la homeopatía como sistema médico complejo sea aún más criticado por la medicina alopática principalmente por la carencia de una base fisiopatológica clara. De ahí la necesidad de realizar estudios experimentales que permitan explicar en cierto modo la forma en que se supone, estimula el sistema inmunológico al controlar y recuperar el equilibrio del organismo en su globalidad, desencadenando un proceso de curación natural.

La selección de *Nux vómica* para realizar el presente estudio se debe básicamente a sus características terapéuticas por las cuales hace parte del grupo de medicamentos policrestos de la materia médica.

*Strychnos nux-vomica* o Nuez vómica, es el nombre de un árbol de hoja perenne nativa del sudeste de Asia, de la especie genérica *Strychnos* de las Loganiáceas. Sus semillas, y algunas veces la corteza, se utilizan en remedios herbales que alivian principalmente afecciones de tipo gastrointestinal y hepático. La semilla plana y de gusto amargo, contiene tres alcaloides: estricnina, brucina e igasurina. De ellos, la estricnina es considerada como una sustancia altamente tóxica que actúa como un gran estimulante del sistema nervioso central, controlando específicamente las señales nerviosas que van a los músculos, desencadenando de ese modo una hipercontracción muscular generalizada [12]. En el campo de la homeopatía, la materia médica que describe los síntomas patogenésicos de la *Nux vómica*, experimentados por el paciente sano, básicamente se refiere a un cuadro de hiperexcitabilidad e irritabilidad, afectando principalmente los sistemas nervioso y digestivo [4]. En cuanto a la brucina, no solo se han reportado sus propiedades antiinflamatorias [40] sino que mediante ensayos in-vitro se han encontrado efectos interesantes para el tratamiento del cáncer hepático, ya que se demostró que desencadena la apoptosis en las células del hepatocarcinoma [42].

Gracias a que los medicamentos homeopáticos se preparan a partir de sustancias altamente diluídas, remedios como *Nux vómica* resultan inocuos y no producen mayores molestias para el paciente, dado que se administran en microdosis.

Aunque se han realizado numerosos estudios sobre las acciones farmacológicas de la *Nux vómica*, no hay evidencia científica suficiente sobre sus efectos específicos en la respuesta inmune, en especial, con el uso de preparaciones homeopáticas [13,14].

La posibilidad de medir a través de experimentos con cultivos in-vitro de células mononucleares, los efectos de la *Nux vómica* homeopatizada en la producción de citoquinas, permitirá ampliar los conocimientos relacionados con su intervención en la respuesta inmune.

Para llevar a cabo este estudio, se hará uso de una muestra de *Nux vómica* diluída hasta la potencia 30CH, potencia recomendada por Hahnemann, para realizar los estudios de experimentación pura, tal y como lo consigna en el parágrafo 128 de su obra más representativa, el Organón, el arte de curar [3].

La metodología que se aplicará para evaluar los resultados del experimento es la del inmunoensayo múltiple, en este caso, el kit “Human Cytokine Magnetic 10-Plex Panel” de Invitrogen® aplicable por el equipo Luminex 200.

## 3. Objetivos

### 3.1 Objetivo General

Obtener, mediante datos de cuantificación de algunas citoquinas, la respuesta in vitro a la exposición de cultivos de linfocitos humanos a la preparación homeopática 30CH de *Nux vómica*, utilizando la técnica del inmunoensayo múltiple.

### 3.2 Objetivos Específicos

- Cuantificar la expresión de las citoquinas IL 1 $\beta$ , IL 2, IL 4, IL 6, IL 8 e IL 10, luego de exponer cultivos de células mononucleares de sangre periférica humana, proveniente de individuos sanos, a dosis de *Nux vómica* homeopatizada a la potencia 30 CH.
- Establecer si a ese nivel de dilución de la *Nux vómica*, existe algún efecto sobre la viabilidad celular.
- Comparar los resultados obtenidos con los hallazgos reportados en otros estudios sobre el efecto inmune de tipo antiinflamatorio de las preparaciones fitoterapéuticas de *Nux vómica*.

## 4. Marco Teórico

### 4.1 Homeopatía como Sistema Médico Complejo

El concepto de complejidad en un sistema médico hace referencia a la estructuración en varias dimensiones con teorías elaboradas, que permite generar una propuesta terapéutica determinada [2]. A partir del vitalismo, Hahnemann postula como idea central de la homeopatía que el desequilibrio de la fuerza vital manifestado como una enfermedad, será corregido por la acción dinámica del remedio mediante dos principios fundamentales surgidos de la filosofía homeopática: la elección del remedio mas similar a los síntomas de la enfermedad (ley del semejante) y la reacción secundaria curativa del organismo (dinamismo vital) [35]. La propuesta homeopática en realidad comprende un universo de complejidades donde confluyen aspectos de la química, la física, la biología, la anatomía, la antropología, la psicología, la sociología, la economía, la ecología, la filosofía y la teología.

En resumen, la medicina homeopática puede explicarse como un sistema de alta complejidad fundamentado en 5 dimensiones básicas que son [6]:

**4.1.1 La morfología humana o anatomía**, que determina la forma en que el cuerpo se estructura y organiza.

**4.1.2 La dinámica vital humana o fisiología**, que determina la manera como se mueve la energía vital, como se produce su equilibrio o desequilibrio en el cuerpo, así como las causas que lo originen.

**4.1.3 La doctrina homeopática**, que configura el proceso de salud-enfermedad, lo que representa la enfermedad en sus orígenes o causas, lo que es susceptible de tratar o curar y lo que no. Esta doctrina está regida por leyes o principios fundamentales bien diferenciados a saber:

*Experimentación en el hombre sano*: síntomas, perturbaciones y alteraciones causados por el medicamento. Datos recopilados y consignados en la materia médica. Hahneman recomendó realizarla con medicamentos diluidos a la potencia trigésima centesimal (30 CH). Con esta solución se impregnan granos o glóbulos que comenzará a consumir el experimentador en dosis pequeñas, que irá aumentando hasta que comiencen a aparecer los síntomas [3]

*Similitud (o semejante, cura lo semejante)*: la curación del conjunto de signos y síntomas del enfermo natural se lleva a cabo utilizando el agente que causó esos mismos síntomas en el paciente sano.

*Remedio único*: Administración de un medicamento simple o complejo, manejado como una unidad medicamentosa, que abarque la totalidad sintomática.

Dosis mínima y dinamizaciones: Utilización del agente mórbido artificial (medicamento) en diluciones sucesivas con agitaciones (potentización y dinamización). Esto hace que el efecto primitivo del medicamento pase inadvertido mientras que el efecto secundario o reacción curativa del organismo se mantiene activo. En términos fisicoquímicos, a partir de la potencia 12CH, se llega a superar el denominado número de Avogadro ( $6,032 \times 10^{23}$ ) que es el máximo de dilución posible de la materia, más allá del cual no se pueden hallar moléculas organizadas, de la mínima estructura de lo que fue la sustancia original. El medicamento entonces actúa como estimulador de la fuerza vital a la que hace reaccionar debidamente gracias a lo que se ha denominado “memoria del agua” Un fenómeno que asegura que las moléculas de agua guardan la información energética de las moléculas del solvente altamente diluidas y sucursionadas [46]. La farmacocinética homeopática sigue las leyes farmacológicas de Arndt y Shutz. La primera afirma que pequeñas excitaciones provocan la actividad vital, las medias la aumentan y las exageradas la anulan por completo. La segunda afirma que toda excitación provoca en una célula aumento o disminución de su función fisiológica, en relación con la intensidad débil o fuerte de la excitación [36]. La acción de las microdosis homeopáticas está corroborada por la química coloidal y la teoría de los electroiones. Cuanto mayor sea el estado de dispersión del medicamento, más fácil será su absorción por la membrana celular y su difusión al interior de la misma. [33, 35, 36]. En lo que respecta a las escalas de dilución o de dinamización, la primera y más utilizada por mucho tiempo fue la centesimal Hahnemanniana (CH ó C), en la cual existe una proporción soluto/solvente de 1/99, y cada dilución siguiente, es la centésima de la anterior. Otra escala propuesta por Hahnemann fue la escala decimal (D ó X), en la que la proporción de dilución es 1/9 y cada dilución siguiente está 100 veces más diluida. En este caso es posible hacer una equivalencia entre las escalas decimal y centesimal: Al dividir por 2 la escala decimal, se obtiene la centesimal. Para dar un ejemplo, la dilución 60D es igual a la 30 CH. Una tercera escala de dinamización es la cincuentamilesimal, donde la proporción es de 1/50000. Esto es, la cantidad de soluto es reducida 50000 veces con respecto a la dilución anterior. Se identifica con L.M ó 0/... Por ejemplo, 6L.M y 0/6 significan lo mismo [3].

**4.1.4 El sistema diagnóstico,** con el que se identifica la existencia o no de un proceso mórbido, la naturaleza del mismo, fases y evolución probable, su origen o sus causas. Involucra la recopilación juiciosa de la totalidad sintomática.

**4.1.5 El sistema terapéutico,** que determina las formas de intervención más acertadas para cada enfermedad identificada previamente por el sistema diagnóstico. La preparación de medicamentos se realiza bajo un método especial o farmacopea a partir de una tintura madre que se diluye sucesivamente y a la que se le aplica cada vez energía cinética con golpes fuertes y secos al recipiente en el que se prepara. Esta acción genera un estado de dinamización y potenciación del efecto curativo del medicamento. Además de la administración del medicamento, la terapéutica hace recomendaciones relacionadas a la alimentación, el estilo de vida y hábitos saludables, así como la revisión del entorno emocional y social que en un momento dado pueda interferir con el proceso de curación [3].

## 4.2 La Respuesta Inmune

Como consecuencia de la evolución, el sistema inmunitario ha desarrollado mecanismos de defensa sofisticados y específicos en respuesta a los patógenos invasores. Este sistema brinda protección al organismo contra sustancias potencialmente nocivas al reconocer y actuar frente a los antígenos, que son en su mayoría, moléculas de tipo proteico encontrados en la superficie las células, virus,

hongos o bacterias. Sustancias de tipo inerte como toxinas, químicos, drogas o partículas del ambiente, también pueden considerarse como antígenos. El sistema inmunitario ejerce su acción defensiva al reconocer y destruir sustancias que contengan estos antígenos [15,16]. Así mismo, está capacitado para reconocer lo que le es propio manteniendo la individualidad del organismo gracias a que las casi todas las células corporales tienen proteínas de superficie llamados antígenos HLA (Human leukocyte antigen) o complejo mayor de histocompatibilidad. El sistema inmunitario aprende a ver estos antígenos como normales y usualmente no reacciona contra ellos [16].

Se entiende por respuesta inmune, todos aquellos eventos desarrollados por el sistema inmune con el objeto de defender la integridad biológica del individuo frente a cualquier agresión (estimulo antigénico). De este modo, la respuesta inmune puede ser de tipo inespecífica (natural o innata) y específica (adquirida o adaptativa) [15]. Aunque las respuestas de la inmunidad natural y la adquirida muestran diferencias en sus mecanismos de acción, la sinergia entre ambas es esencial para una respuesta inmune totalmente efectiva.

La respuesta inespecífica o innata es la primera barrera defensiva del organismo y no requiere sensibilización previa ya que existe en el individuo desde el nacimiento y es de carácter genético. Es una respuesta que se genera de manera inmediata debido a que en ella no participan la presentación del antígeno ni la expansión clonal celular. Tampoco se modifica con exposiciones repetidas del mismo agresor [16]. En la inmunidad natural participan barreras de naturaleza anatómica, como piel, mucosas y células o de naturaleza fisiológica o bioquímica como reflejos, temperatura, pH, proteínas, enzimas, complemento, entre otros. Muchos son los factores que influyen en el grado de efectividad de este tipo de respuesta entre los que se encuentran la edad, sexo, raza, estado nutricional o los relacionados con las condiciones del medio externo [15]. Otros mecanismos que participan en la inmunidad natural o innata son la inflamación y la fagocitosis, la cual permite establecer una interacción eficaz entre la inmunidad natural y la activación de la específica a través de la presentación del antígeno al linfocito. La inmunidad natural o innata es la primera línea de defensa e influye de manera importante en la dirección que seguirá el otro tipo de inmunidad: la específica o adquirida [17].

El mecanismo de respuesta específica o adquirida es un sistema que integra la inmunidad celular (linfocitos Th1) y la inmunidad humoral (linfocitos Th2) que se desarrolla solo frente a la sustancia extraña que indujo su iniciación y en ella participan prioritariamente los linfocitos y las sustancias liberadas por los mismos, llamadas anticuerpos y citoquinas. Todas las sustancias que se comportan como extrañas a un organismo frente a las cuales éste desarrolla una respuesta inmune específica, se conocen como antígenos [17]. Generalmente el sistema inmune responde de forma unitaria, por lo que la división en respuesta inespecífica y específica es más teórica que real. Lo que sí ocurre es que, dependiendo de las circunstancias, en unos casos predomina una u otra de estas formas de respuesta.

### 4.3 Citoquinas

Las citoquinas o citocinas, son un grupo de glucoproteínas solubles de bajo peso molecular (8-30 kDa), responsables de la comunicación intercelular y que a través de la activación de receptores específicos de membrana, activan mensajeros intracelulares regulando la transcripción génica e induciendo de esa manera el crecimiento celular, inflamación, inmunidad, diferenciación y reparación, entre otros eventos biológicos. A diferencia de las hormonas clásicas, las citoquinas no se almacenan como moléculas preformadas, y actúan especialmente por mecanismos paracrino (en

células vecinas) y autocrino (en las propias células productoras) [17,18]. Son producidas de novo cuando comienza la activación celular y tienen una vida media muy limitada. En respuesta a diferentes estímulos, inducen una amplia gama de efectos en cascada agonista, sinérgica o antagónica alterando funcionalmente la célula blanco para que se produzca por ejemplo, más citoquinas. Sus actividades son redundantes o sobrepuestas, es decir varias citoquinas diferentes comparten o inducen los mismos cambios o acciones biológicas. En otros casos una misma citoquina actúa en diferentes tipos celulares o la misma citoquina es segregada por varios tipos de células. Este fenómeno característico se denomina pleiotropía [16].

Tanto las células del sistema inmune, como los otros tipos celulares, producen citoquinas durante la activación de la inmunidad innata y adquirida. Estas moléculas son las responsables de la comunicación intracelular ante una invasión microbiana. Actúan a muy bajas concentraciones, del orden de nanogramos o picogramos, debido a la alta afinidad de los receptores de superficie celular. En cuanto a la glicosilación, esta no es tan esencial para su actividad biológica aunque les confiere mayor estabilidad y solubilidad. Las citoquinas sirven para iniciar la respuesta inflamatoria y para definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmune específica [18].

Entre las funciones descritas para las citoquinas, se ha establecido que cumplen un papel esencial en el sistema inmunitario a través de la activación de células T, B y macrófagos. Actúan como factores de maduración de las células sanguíneas promoviendo la diferenciación y proliferación de células hemáticas y al intervenir en la respuesta inflamatoria, pueden tener acciones proinflamatorias (Th1) o antiinflamatorias (Th2), de acuerdo al microambiente en que se encuentran. Entre las citoquinas consideradas como proinflamatorias, están las interleucinas (IL) 1, 2, 6, 8, 12, 15, 18,  $\text{INF}\alpha$ ,  $\text{INF}\beta$  (interferón alfa y beta) y  $\text{TNF}\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa). Las de acción antiinflamatoria son IL-4, IL-10, IL-13 y  $\text{TGF}\beta$  (factor transformador de crecimiento  $\beta$ ). Otra citoquina, el  $\text{TNF}\alpha$  ejerce acciones citotóxicas sobre algunos tumores malignos. La deficiencia de los distintos tipos de citoquinas o de sus receptores produce distintas patologías [19-22].

Hasta el momento se han identificado más de 100 tipos de citoquinas diferenciables por su secuencia de aminoácidos y su estructura tridimensional. Sus orígenes y funciones biológicas son ampliamente variados y a menudo ejercen superposición o redundancia funcional [17]. Sin embargo son muchas las que presentan características comunes agrupándose en familias de acuerdo al grupo celular que las produce, su naturaleza bioquímica o su estructura genómica. Ejemplo de esto es la familia de la interleucina 4 (IL-4) conformada además por la IL-3, IL-5, IL-13 y el factor estimulante de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), cuya característica común es su estructura terciaria de cuatro hélices, en donde la primera y la segunda se encuentran paralelas entre sí y simultáneamente antiparalelas a las dos restantes [24]. En cuanto a su acción sobre células diana específicas, se ha establecido que tanto la IL-4 como la IL-13 estimulan la proliferación de linfocitos B y ciertos clones de linfocitos T, favorecen la expresión de moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CHM II) en monocitos y linfocitos B e inhiben en los macrófagos la producción de linfocinas. Del mismo modo, el GM-CSF, la IL-5 y la IL-13 cumplen la función común de favorecer la proliferación de las células precursoras del sistema hematopoyético [26].

### 4.3.1 Fuente de Citoquinas y su mecanismo de regulación

A pesar de que las citoquinas son sintetizadas por varios tipos de células, dentro del sistema inmune humoral, los macrófagos son las células encargadas de su producción mayoritaria mientras que en el



sistema inmune específico las citoquinas inflamatorias son principalmente producidas por los linfocitos CD4 + T helper (Th). Entre estos, los linfocitos de ayuda Th1 y Th2 se caracterizan por secretar citoquinas diferentes con una variedad de funciones. Las células Th1 producen IL-2, interferón gamma (IFN-  $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral beta (TNF- $\beta$ ) las cuales ejercen funciones de inmunidad celular, activando linfocitos T citotóxicos y provocando hipersensibilidad de tipo retardado (respuesta a virus, protozoos y algunas bacterias). Las células Th2 son productoras de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Estas interleuquinas colaboran en la activación de las células B, y su respuesta va dirigida hacia la presencia de bacterias extracelulares y a helmintos. También están implicadas en reacciones de tipo alérgico pues la IL-4 activa la producción de inmunoglobulina E (IgE) y la IL-5 activa a los eosinófilos [21,25].

La regulación de la expresión de citoquinas derivadas de los linfocitos T, se realiza a partir de la transducción de señales que se desencadena cuando su receptor de superficie (TCR), reconoce el antígeno con la participación de las moléculas del HLA presentes en la célula presentadora del antígeno. Una vez, se ha realizado la unión específica al receptor, las señales son transmitidas al interior de la célula, principalmente a través de la vía de las proteinkinasa Jak, las cuales se fosforilan y activan otras proteínas, las STAT (transductores de señal y activadores de transcripción), que al fosforilarse forman dímeros y emigran al núcleo induciendo la transcripción de ciertos genes que generan importantes cambios en la función y ciclo vital de la célula. Todo este proceso finalmente desencadena una retroalimentación negativa que inactiva a los receptores de membrana [17]. La regulación cruzada entre Th1 y Th2 es otro de los mecanismos que controlan la producción de citoquinas. Por ejemplo, el IFN-  $\gamma$ , secretado por las Th1, inhibe a proliferación de las Th2 y por otro lado, la IL-10, secretada por las Th2 inhibe la secreción de IL-2 e IFN-  $\gamma$ .

Existen *in vivo* inhibidores que también regulan las funciones biológicas de la citoquinas, los cuales actúan como antagonistas al unirse a sus receptores pero sin activar la transducción de señales en la célula diana. También pueden unirse extracelularmente a los ligandos específicos de ciertas citoquinas impidiendo de esta manera, la unión al receptor de membrana o también pueden actuar sobre otro tipo de receptores celulares para ejercer un efecto opuesto al que ejerce la citoquina cuando se une a su receptor específico [19].

A pesar de que las citoquinas son sintetizadas por varios tipos de células, dentro del sistema inmune humoral, los macrófagos son las células encargadas de su producción mayoritaria mientras que en el sistema inmune específico las citoquinas inflamatorias son principalmente producidas por los linfocitos CD4 + T helper (Th). Entre estos, los linfocitos de ayuda Th1 y Th2 se caracterizan por secretar citoquinas diferentes con una variedad de funciones. Las células Th1 producen IL-2, interferón gamma (IFN-  $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral beta (TNF- $\beta$ ) las cuales ejercen funciones de inmunidad celular, activando linfocitos T citotóxicos y provocando hipersensibilidad de tipo retardado (respuesta a virus, protozoos y algunas bacterias). Las células Th2 son productoras de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Estas interleuquinas colaboran en la activación de las células B, y su respuesta va dirigida hacia la presencia de bacterias extracelulares y a helmintos. También están implicadas en reacciones de tipo alérgico pues la IL-4 activa la producción de inmunoglobulina E (IgE) y la IL-5 activa a los eosinófilos [21,25].

La regulación de la expresión de citoquinas derivadas de los linfocitos T, se realiza a partir de la transducción de señales que se desencadena cuando su receptor de superficie (TCR), reconoce el antígeno con la participación de las moléculas del HLA presentes en la célula presentadora del antígeno. Una vez, se ha realizado la unión específica al receptor, las señales son transmitidas al interior de la célula, principalmente a través de la vía de las proteinkinasa Jak, las cuales se fosforilan y activan otras proteínas, las STAT (transductores de señal y activadores de transcripción), que al fosforilarse forman dímeros y emigran al núcleo induciendo la transcripción

de ciertos genes que generan importantes cambios en la función y ciclo vital de la célula. Todo este proceso finalmente desencadena una retroalimentación negativa que inactiva a los receptores de membrana [17]. La regulación cruzada entre Th1 y Th2 es otro de los mecanismos que controlan la producción de citoquinas. Por ejemplo, el IFN-  $\gamma$ , secretado por las Th1, inhibe a proliferación de las Th2 y por otro lado, la IL-10, secretada por las Th2 inhibe la secreción de IL-2 e IFN-  $\gamma$ .

Existen *in vivo* inhibidores que también regulan las funciones biológicas de la citoquinas, los cuales actúan como antagonistas al unirse a sus receptores pero sin activar la transducción de señales en la célula diana. También pueden unirse extracelularmente a los ligandos específicos de ciertas citoquinas impidiendo de esta manera, la unión al receptor de membrana o también pueden actuar sobre otro tipo de receptores celulares para ejercer un efecto opuesto al que ejerce la citoquina cuando se une a su receptor específico [19].

### 4.3.2 Clasificación de Citoquinas según el tipo de respuesta

Generalmente las citoquinas actúan como mensajeros intercelulares, sin embargo los patrones de acción y células que las originan han permitido clasificarlas de la siguiente manera [16,17, 23]:

**Citoquinas Th1:** IL-2, IFN-  $\gamma$  y TNF- $\beta$ . Acciones sobre la inmunidad natural. Activan los macrófagos y otros fagocitos.

**Citoquinas Th2:** IL-4, 5, 6, 9, 10, 13. Activación y proliferación de células B, hasta su diferenciación a células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Actividad principal sobre la respuesta humoral.

**Citoquina Th3:** Factor transformante del crecimiento beta (TGF-  $\beta$ ). Regulación de la respuesta inmune, modulación e inhibición de la respuesta inflamatoria. Promueve la cicatrización e induce tolerancia y la producción de la Inmunoglobulina A (IgA).

**Citoquinas de la inflamación:** IL-1, IL-6 y TNF. Activación de los eosinófilos e inducción de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado, cambios metabólicos sistémicos y fiebre. La IL-8 es un quimioattractante celular que induce la expresión de moléculas de adhesión y activación de células endoteliales.

**Citoquinas de la hematopoyesis:** De este grupo hacen parte la IL-1 que estimula los procesos hematopoyéticos de la médula ósea, la IL-2 que activa el crecimiento de los linfocitos B y T y la IL-3 que estimula la producción multilineal de células en médula ósea. También están la IL-5 que actúa como inductora de la proliferación y activación eosinofílica, la IL-6 que induce la diferenciación de linfocitos B y T así como la producción de plaquetas junto con la IL-11. La proliferación de linfocitos es función de la IL-7 pero la inhibición de la hematopoyesis depende del TNF. Otras citoquinas importantes en el proceso hematopoyético son el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y el factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF).

**Citoquinas antitumorales:** IFN-  $\gamma$ , INF $\alpha$ , INF  $\beta$ , TNF, LIF (factor inhibidor de leucemia y melanoma), IL-2, 4, 7. Estas citoquinas promueven la activación de linfocitos T contra antígenos tumorales, activan la respuesta inmune no específica e inducen la expresión de otras citoquinas activadoras. Además, pueden activar varias células de la respuesta inmune como las células NK

(Natural Killer), monocitos y macrófagos. De otro lado, favorecen la presentación de los antígenos específicos del tumor por parte de las propias células malignas [26].

**Citoquinas supresoras:** IL-10 que inhibe la producción de IL-2, IFN-  $\gamma$ , y citoquinas proinflamatorias junto con la IL-13. También tiene actividad antiaterogénica. El TGF $\beta$  inhibe a las células B, T, NK y a los fagocitos mononucleares.

**Interferones:** Los tipo I (INF $\alpha$ , INF $\beta$ ) participan en la inmunidad natural, aumentan la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I e interfieren en la replicación viral. El IFN-  $\gamma$ , tipo II, estimula la respuesta de linfocitos Th1, posee actividad antiviral y antiproliferativa, activa los fagocitos, promueve la diferenciación de linfocitos T y B y estimula la producción de las inmunoglobulinas G, subtipos 2 y 3.

**Quimiocinas:** Son aproximadamente 40 citoquinas con peso molecular entre 8-11 kD, que tienen función quimiotáctica al promover reacciones inflamatorias mediante la regulación del tráfico y la afluencia de varios tipos celulares al sitio de la inflamación. Así mismo, son promotoras de los procesos de angiogénesis y cicatrización. Actualmente existen 4 familias clasificadas de acuerdo a la ubicación de sus residuos conservados de cisteína. Algunas de estas son la IL-8, la cotaxina, eotaxina, RANTES.

## 4.4 Medición de Citoquinas

Son muchas las entidades clínicas donde las citoquinas y sus procesos de señalización se encuentran involucrados. Se han ampliado las posibilidades de entender mejor sus mecanismos fisiopatológicos para obtener opciones terapéuticas más acertadas. Gracias a los avances en biotecnología como la citometría de flujo y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se han podido identificar citoquinas a nivel intracelular. La disponibilidad de métodos precisos y sensibles para la medición de las citoquinas es un requisito indispensable para el correcto uso de estos mediadores en la práctica clínica.

Al momento de realizar mediciones de citoquinas, los niveles proteicos son susceptibles de ser cuantificados en los distintos fluidos corporales como plasma, líquido cefalorraquídeo, sinovial o en las células de los órganos diana a las cuales se tenga acceso. Muchas veces la correlación entre los niveles cuantificados y los síntomas clínicos no tienen una adecuada correspondencia debido a la producción local de citoquinas en los órganos afectados [28].

Las mediciones de la expresión de citoquinas pueden hacerse desde el nivel nuclear con la detección de los niveles de expresión de los genes que se están transcribiendo. Esta técnica llamada Northern blot fue desarrollada en 1977 y consiste básicamente en la extracción de fragmentos de (ácido ribonucleico (ARN) de una mezcla compleja, la cual se somete a una electroforesis en gel separando de esta manera los fragmentos en base a su tamaño. Aunque es una buena técnica para detectar pequeños cambios en la expresión de genes, es muy sensible a la degradación de la muestra por parte de RNAsas generadas por contaminación ambiental [29]. Cuando las cantidades de citoquinas son muy pequeñas o el número de células disponibles para estudiar se expresión, se recurre a técnicas mucho más sensibles como la transcripción reversa seguida de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

En cuanto al nivel proteico, las citoquinas comúnmente son medibles con la técnica de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas). Esta técnica de inmunoensayo permite fijar a un soporte sólido un anticuerpo monoclonal frente a la citoquina en estudio, luego se añade un segundo anticuerpo marcado enzimáticamente que cataliza esta reacción y genera un producto cuya intensidad de color es fácilmente medible por espectrofotometría. Existen variantes de esta técnica como el ELISPOT que permite conocer la frecuencia de células sintetizadoras de una determinada citoquina.

Los kits comerciales de ELISA son ampliamente utilizados para la medición de citoquinas. Sin embargo es una prueba que depende mucho de la calidad del juego, así como de la habilidad del operador y su experiencia [30]. De otro lado, es una técnica que permite medir solo una citoquina a la vez en una alícuota de muestra dada. Es por ello que se han diseñado los Array Multiplex o inmunoensayos múltiples los cuales están disponibles en diferentes formatos basados en la utilización de la citometría de flujo, la quimioluminiscencia, o la tecnología electroquimioluminiscencia. Esta técnica permite medir hasta 25 citoquinas simultáneamente [31].

En cuanto a la interpretación de resultados debe tenerse en cuenta que la presencia de niveles altos de expresión de ARN no son necesariamente correspondientes a los altos niveles proteicos ya que los mecanismos complejos postranscripcionales son los que gobiernan finalmente la tasa de producción de citoquinas. En cuanto a los niveles de citoquinas biológicamente activas, no siempre son equivalentes a los niveles detectados de proteína debido a la presencia de proteasas que en un momento dado puedan contaminar la muestra de estudio. Por ello las condiciones de almacenaje, de sueros y otros fluidos deberá hacerse en presencia de inhibidores de proteasas. Es posible que la presencia de receptores solubles u otras proteínas transportadoras actúen como “secuestradores” de citoquinas ocasionando una lectura errónea al hacerlas indetectables. En cuanto a los ensayos múltiples, adicionalmente debe tenerse en cuenta las condiciones de temperatura de las muestras analizadas ya que múltiples ciclos de congelación y descongelación aumentan la degradación de las citoquinas [32].

## 4.5 Homeopatía e Inmunidad

Ya se ha mencionado previamente que los medicamentos homeopáticos son capaces de estimular la capacidad defensiva o autocurativa del enfermo restableciendo o mejorando su salud de una manera suave y natural.

Esto es posible gracias a que el cuerpo humano posee capacidades autocurativas implícitas. La sintomatología tanto física como mental es la expresión pura de los intentos de adaptación del cuerpo y de la mente a las diversas agresiones internas y externas llamadas noxas. Por ello se considera que los síntomas son mecanismos naturales de defensa del organismo, por medio de los cuales, la enfermedad es desalojada del organismo. Desde este punto de vista, el intento de suprimir dichos síntomas se considera un acto absurdo y contraproducente. Todo proceso patológico debe ser controlado y ayudado sin llegar a suprimirlo pues la naturaleza buscará otros medios de descarga creando en el organismo úlceras, tumores, cálculos, etc. En consecuencia, el tratamiento homeopático debe realizarse en el mismo sentido que los síntomas experimentados, estimulándolos con las microdosis de los remedios en lugar de suprimirlos, siempre y cuando no esté en riesgo la integridad física o mental del paciente [33].

Los avances tecnológicos de las técnicas de estudio microbiológico e inmunológico, se han convertido en una herramienta fundamental para dilucidar las bases conceptuales que puedan explicar los fenómenos curativos de la terapéutica homeopática. En el año 2000 se publicó un estudio en el *British Homeopathic Journal* [34] sobre el Herpes Tipo 2 (genital) recidivante, en un grupo de 50 pacientes en quienes los tratamientos antivirales convencionales no habían arrojado resultados satisfactorios. Aplicando la técnica de tratamiento con Microinmunoterapia se logró una eficacia del 70%. Los ácidos nucleicos específicos del gen responsable del virus del Herpes 2, se utilizaron para preparaciones homeopáticas que hicieron efecto sobre la primera etapa del proceso patológico de la enfermedad.

## 4.6 *Nux vómica* – Materia Médica

El uso de esta planta fue introducido en la práctica homeopática por Hahnemann en 1805. Las preparaciones homeopáticas se realizan a partir de los granos desecados del árbol. Sus principales usos fitoterapéuticos se deben básicamente a los efectos de sus alcaloides de estriquina y brucina. Aunque ambas sustancias poseen mecanismos de acción similares, la brucina es mucho menos tóxica. La estriquina actúa elevando el flujo del jugo gástrico que es absorbido rápidamente en el intestino provocando una acción estimuladora potente, semejando un laxante. En el sistema nervioso, causa astenia. Dosis tan pequeñas como 0,05gr pueden causar rigidez de los músculos y parada respiratoria [37].

*Nux vómica* tiene tropismo sobre el sistema nervioso y el aparato digestivo y se prescribe a menudo para tratar síndromes gripales, hipertensión arterial episódica y síntomas que afectan a la vía aérea superior y los oídos [38].

En lo que respecta a la materia médica [38], es uno de los grandes policrestos, debido a que la mayor parte de sus síntomas se corresponden en similitud con los de las enfermedades más comunes. A continuación se hace una descripción resumida de los principales síntomas descritos para *Nux vómica* como resultado de la experimentación pura:

**Identificación del remedio:** Masculino. Tipo moreno, delgado, nervioso y emotivo. Hipersensible, excitable, colérico, discutiador, peleador, celoso, astuto. Trastornos por ira, por intoxicación alimentaria o medicamentosa.

**Síntomas mentales:** La ira desencadena sus padecimientos, quiere estar solo, persona escrupulosa, sufre de ansiedad por anticipación, no tolera los ruidos, luces ni olores, no perdona, es rencoroso. Intolerante a la contradicción. Necesita ocuparse, mandón, dificultad para concentrarse, temor a la pobreza, marcada idea del orden.

**Síntomas generales:** Friolento, empeora con el viento y corrientes de aire, también por la mañana al despertar y después de las comidas, somnolencia que le exige una breve siesta. Empeora al encolerizarse y con el esfuerzo intelectual. Insomnio. Deseos de alcohol, grasas y comidas condimentadas.

**Síntomas locales:** Convulsiones, ojos dolorosos, inflamados, congestivos. Cefaleas por excesos alimentarios, de alcohol o de tabaco. Coriza por la mañana al despertar que mejora al aire libre y a lo largo del día. Obstrucción nasal por la noche. Heperosmia. Boca amarga. Plenitud gástrica, ardor,

regurgitación, digestión lenta. Estreñimiento con deseos ineficaces. Hemorroides que mejoran con un baño frío. Líbido alta con baja potencia sexual. Reglas profundas y anticipadas.

## 4.7 Investigaciones con *Nux vómica*

Aún no ha podido demostrarse que *Strychnos nux-vomica* sea totalmente eficaz y segura para el tratamiento de cualquier enfermedad, en cuanto a que sus semillas contienen estricnina, sustancia altamente tóxica para los humanos y es por ello que no se prescribe en la medicina convencional. Sin embargo, algunas investigaciones han demostrado que el nivel de veneno en la preparación de la nuez vómica puede depender en gran medida de cómo las semillas se procesan [39].

De los múltiples estudios realizados con *Nux vómica* se han establecido principalmente actividades analgésicas y antiinflamatorias de sus alcaloides de brucina [40]. Otro estudio, doble ciego controlado por placebo, de 111 personas con artritis reumatoide, evaluó la efectividad de un remedio establecido que contenía *Rhus toxicodendron*, *Bryonia cretica*, *Strychnos nux vomica*, *Berberis vulgaris*, y *Ledum palustre* [43]. Los resultados mostraron que las personas en el grupo de tratamiento, en comparación con las del grupo de placebo, experimentaron una disminución significativa en la cantidad requerida de analgésicos y en su percepción del dolor.

En estudios de alergias se han obtenido resultados que confirman la actividad supresora de *Strychnos nux-vomica* en la respuesta alérgico-específica de anticuerpos IgE sugiriendo su posible aplicación en enfermedades alérgicas [41]

No hay evidencia de ensayos clínicos de eficacia como tratamiento contra el cáncer reportados en revistas en idioma inglés. Sin embargo existen algunos estudios realizados en China que han informado que *Strychnos nux-vomica* puede matar las células cancerosas hepáticas cultivadas in vitro [42].

## 5. Materiales y Métodos

### 5.1 Preparación de *Nux Vómica* a la 30CH

El medicamento se preparó de acuerdo a la farmacopea homeopática Alemana Versión 2000 [44]. Método 3<sup>a</sup>: Tintura madre y diluciones líquidas. La primera dilución decimal (D1) se hace a partir del 3 partes (volúmenes) de Tintura Madre y 7 partes (volúmenes) de alcohol 62% (p/p). La segunda dilución decimal (D2) se hace a partir de 1 parte de la primera dilución decimal y 9 partes de alcohol 62% (p/p), las diluciones siguientes se producen subsecuentemente, se emplea alcohol al 43% para elaborar las diluciones desde la cuarta dilución (D4) en adelante hasta obtener la dilución 60D que es el equivalente de la potencia 30CH (centesimal Hahnemania)

Esta preparación fue realizada en el Laboratorio Homeopático Alemán Ltda., quien certifica el análisis del producto. Con certificación ISO 9001:2008

### 5.2 Obtención de las células y del compuesto homeopático

Este trabajo ha sido realizado con muestras de 11 pacientes voluntarios, adultos sanos (3 hombres y 8 mujeres) con edades entre 26 y 36 años, sin antecedentes patológicos. Cada paciente firmó el consentimiento informado (Anexo A) luego de informársele sobre las implicaciones de su participación en la investigación, aclarándole que esta no generaría riesgo alguno para su salud.

#### **Criterios de inclusión:**

- Adulto joven sano, que en el momento del experimento no esté cursando con algún tipo de enfermedad aguda.
- Personas que no estén siendo tratadas con algún tipo de medicamento alopático, homeopático o complemento nutricional.
- Haber leído, comprendido, aprobado y firmado el consentimiento informado correspondiente.

## Variables evaluadas:

- Viabilidad celular de cultivos de células mononucleares
- Verificación de la población celular correspondiente a Linfocitos T.

## Obtención de células mononucleares de sangre periférica:

Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP), recolectada en tubos con anticoagulante EDTA, fueron aisladas mediante gradientes de densidad con Ficoll-Hypaque por centrifugación a 400g por 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se lavaron dos veces con medio de cultivo RPMI Invitrogen® a 300g por 10 min y la densidad celular se calculó por conteo en cámara de Neubauer, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{No. células} = X/4 (\text{fd}) (V) (D)$$

X/4= promedio de células en 4 cuadrantes de la cámara de Neubauer

fd= factor de dilución Azul Tripan/suspensión celular

V = 10.000 volumen de la cámara de Neubauer

D = volumen en el que se encuentra la suspensión celular.

## Compuesto:

Se adquirió Nux vómica a la 60D (30 CH) de una fuente comercial.

Una vez se establece el cumplimiento de los criterios de inclusión previamente mencionados, se realizó a los voluntarios el debido registro de datos personales y se les extrajo una muestra de sangre venosa periférica. De las once muestras, una fue tomada como control. Las 10 restantes fueron expuestas al medicamento.

## 5.3 Ensayo de linfoproliferación con la exposición a *Nux vómica*.

Para evaluar el efecto del compuesto Nux vómica sobre la viabilidad celular, las células mononucleares fueron utilizadas para los ensayos inmediatamente después de ser aisladas y se mantuvieron en incubadora a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> en medio de cultivo celular RPMI suplementado con 10% de suero autólogo, 1% de aminoácidos no esenciales y 1% de penicilina/estreptomicina.

La evaluación de la toxicidad de Nux vómica se realizó en cajas de cultivo de 96 pozos en los cuales se sembraron 1x10<sup>5</sup> células/pozo en un volumen total de 150µl de medio RPMI suplementado. Las células se sembraron por triplicado, para cada dilución y dosis de compuesto, y se utilizaron 6 pozos sin adición del compuesto “pozos control” para cada dilución y dosis. El tratamiento con Nux vómica se llevó a cabo adicionando las dosis de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14µl, de la dilución 30CH.



Se evaluó la viabilidad celular a las 48 y 72 horas de tratamiento por el método colorimétrico de MTT. Para esto, una vez cumplido el tiempo, el medio de cultivo fue retirado de cada pozo y se adicionó 100µl de la solución de MTT preparada en medio de cultivo RPMI sin suero y las células fueron incubadas por 4 horas a 37°C. Cumplido el tiempo de incubación se retiró el MTT de los pozos, y los cristales generados por las células vivas fueron disueltos adicionando a los pozos 100µl de dimetilsulfóxido DMSO e incubación en oscuridad por 15 minutos. Se obtuvieron lecturas de absorbancia a 595nm en un lector de placas Humareader utilizando como blanco 3 pozos con el disolvente DMSO.

Los resultados de viabilidad se expresaron como porcentaje (%) de células vivas, según la siguiente relación:

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{Absorbancia de las células tratadas}}{\text{Absorbancia de células control}} \times 100$$

La curva dosis respuesta se calculó teniendo en cuenta el rango de diluciones y dosis utilizadas y el porcentaje de reducción o aumento del crecimiento celular correspondiente. A partir de ello se determinaron las diluciones que produjeron la reducción de la viabilidad celular, y se escogió la dosis y tiempo para el análisis de citoquinas por ELISA.

## 5.4 Determinación de niveles de citoquinas luego de la exposición a la preparación homeopática de *Nux vómica*

La cuantificación de los niveles de citoquinas se determinó sobre las células mononucleares tratadas con el compuesto homeopático con la dosis seleccionada y la dilución 30 CH, mediante el ensayo “Human Cytokine Magnetic10-Plex Panel” de Invitrogen® en el equipo Luminex 200, siguiendo las especificaciones y recomendaciones técnicas del fabricante.

## 5.5 Análisis estadístico

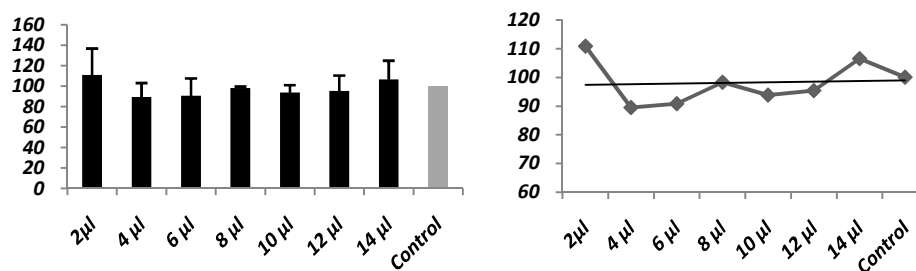
Se calcularon las medias y las desviaciones estándar para cada citoquina analizada en cada uno de los pacientes. Se realizó análisis de varianza Anova para hallar diferencias entre las citoquinas analizadas y sus respectivos controles seguidos por una test de Bonferroni.

## 6. Resultados

### 6.1 Respuesta linfoproliferativa a la exposición de *Nux vómica* a la potencia 30CH

La viabilidad *Nux vómica* se probó adicionando las dosis de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14  $\mu\text{l}$  de la preparación a la potencia 30 CH previamente sucusionada. Como resultado, se obtuvo en las dosis de 2 y 14  $\mu\text{l}$  un efecto proliferativo equivalente al 10,82 y 6,47 % respectivamente, con referencia al control (Figuras 1-1 y 1-2.). Las demás dosis estuvieron hasta un 11% por debajo del control. La dosis en la que se obtuvo mayor proliferación (2  $\mu\text{L}$ ) fue la escogida para realizar el experimento. Al promediar estos valores de viabilidad celular se establece que *Nux vómica* a la 30 CH no tiene efecto tóxico sobre los linfocitos y tampoco ejerce un efecto proliferativo (Tabla 1).

**Figuras 1-1 y 1-2:** Efecto in vitro de *Nux vómica* 30CH homeopatizada sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periférica humana a las 48 horas de exposición. Eje Y porcentaje de proliferación celular, eje X dosis de medicamento en  $\mu\text{L}$



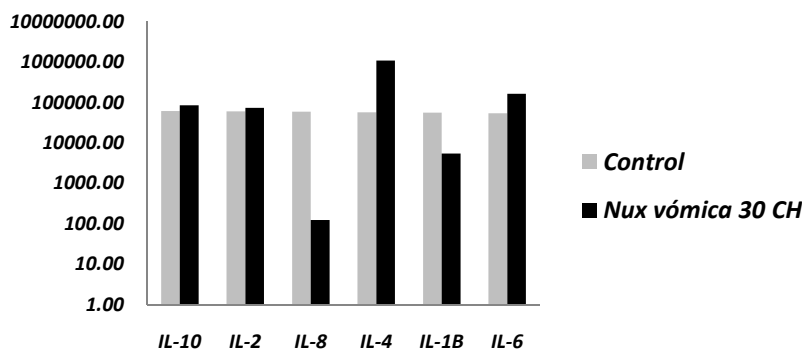
También puede inferirse que aunque el compuesto homeopático se encuentra a una potencia en la que no es posible detectar moléculas de *Nux vómica* (factor de dilución equivalente a 1060), el poder energético del medicamento, explicado por principios de química coloidal y teoría de electroiones mencionados anteriormente [33,35,36] y sobre el cual se sustenta la farmacocinética homeopática, logra desencadenar a nivel intracelular cascadas de señalización que finalmente se

traducen en actividad celular. Este resultado sirve para respaldar el principio de la dosis infinitesimal en el que se afirma que el medicamento actúa gracias un estímulo energético sobre la fuerza vital.

## 6.2 Cuantificación de niveles de citoquinas con la exposición a *Nux vómica* a la 30CH frente al control

La cuantificación de los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, se obtuvo a partir de las células mononucleares tratadas con la preparación homeopática de la *Nux vómica* a la potencia 30 CH previamente succusionada. La comparación se hizo frente a una muestra control que no fue expuesta a sustancia alguna. Las lecturas se realizaron por medio inmunoensayo múltiple “Human Cytokine Magnetic 10-Plex Panel” de Invitrogen® en el equipo Luminex 200. Las lecturas obtenidas demostraron solo en el caso de la IL-4 un valor estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ), según lo reportado en las tablas 2 a 7 (Lista de tablas). La gráfica que muestra el resultado global se muestra en la Figura 2:

**Figura 2:** Efecto in vitro de *Nux vómica* (30CH) homeopatizada sobre los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica. La cuantificación de citoquinas está en picogramos por microlitro (pg/uL).



## 6.3 Respuesta individual (pacientes 1 al 10) de las células Mononucleares expuestas a *Nux vómica* a la 30CH vs. Control

Para cuantificar los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 expuestas a la preparación homeopática 30 CH de *Nux vómica* previamente succusionada, frente a una muestra control, se evaluó la posibilidad de obtener diferentes respuestas individuales de las citoquinas, en cada una de las 10 muestras de sangre periférica seleccionadas para el estudio. La graficación de

estos resultados se muestra en las figuras 3-1 y 3-2. (Ver Lista de gráficas) y los datos respectivos en las tablas 2 a 7 (Lista de tablas). La comparación de los resultados individuales frente a la muestra control arroja un resultado similar expresado en términos de diferencias no significativas ( $P>0.05$ ). Tan solo en el paciente No. 4 se observó una elevación marcada en la producción de IL-6 con respecto al control, diferencia que no tiene mayor significado en el resultado general.

## 7. Discusión

La búsqueda de un sustento científico que explique los fenómenos de curación de los medicamentos homeopáticos es la motivación de los defensores de la homeopatía para investigar a fondo los posibles mecanismos moleculares mediante los cuales actúan los remedios. En el campo de la inmunología, se ha encontrado un buen terreno para hacer experimentaciones biomédicas que demuestran la efectividad de los medicamentos homeopáticos gracias a que la experimentación a este nivel se hace a partir de microdosis y las nanodiluciones (aplicación del principio de la dosis infinitesimal) [33,34]. Una investigación publicada en el 2003 [47], aporta un argumento a favor de la base de acción de las dosis mínimas de estos remedios. En este estudio se afirma que el agua posee un efecto denominado “efecto fantasma” con el que se comprobó que sustancias como el cloruro de litio o el cloruro de sodio (sal común) finalmente modifican la estructura del hidrógeno del agua después de ser llevadas a una alta dinamización (diluciones y sucusiones enérgicas sucesivas). Con estos hallazgos, el concepto de “memoria del agua” encuentra apoyo frente a experiencias químicas recientes.

El objetivo principal del presente estudio era demostrar si la *Nux-vómica* a la potencia 30CH (potencia sugerida para la experimentación en el paciente sano), era capaz de ejercer algún efecto sobre los linfocitos aislados en sangre periférica y sus productos: las citoquinas. En cuanto a la evaluación del comportamiento linfoproliferativo in vitro que arrojó este experimento, se encontró que *Nux vómica* solo tiene este efecto entre un 6 y 11% con la mayor y menor dosis aplicadas. Esta respuesta variable podría ser explicada bajo la teoría del fenómeno energético del medicamento facilitado por la reorganización molecular del solvente hidroalcohólico. En un trabajo publicado por Pellegrino [45] se estableció que el solvente es un factor dinámico, activo que adquiere propiedades farmacológicas, mantiene y transmite la información y se activa por el proceso de sucusión. El hecho de que se haya producido una discreta actividad biológica celular con el uso de *Nux-vómica* homeopatizada, confirma su inocuidad, más aún teniendo en cuenta que a ese nivel de dilución (30 CH) físicamente no existen moléculas del compuesto disueltas en el solvente hidroalcohólico. Esto no ocurre con la presentación fitoterapéutica considerada altamente tóxica por su contenido de estricnina. De esta manera, se comprueba que el uso de diluciones homeopáticas de *Nux vómica* es seguro para el tratamiento de los múltiples síntomas reportados en las materias médicas y para el manejo de enfermedades que afecten a cualquier grupo de edad.

En cuanto a los resultados de las mediciones de citoquinas, el hallazgo de la expresión de la IL-4 con la exposición al medicamento dinamizado a la 30CH, pone de manifiesto que se logró una efectiva transducción de señales intracelulares gracias a que los receptores específicos de membrana interactuaron apropiadamente con la información energética que posee el medicamento. Numerosas investigaciones han demostrado que uno de los sitios de acción de los medicamentos homeopáticos

en bajas diluciones, es a nivel de receptores celulares siendo uno de los trabajos más interesantes al respecto el del doctor Didier Grandgeorge [48]. Este médico francés observó, durante su práctica en el hospital de Grenoble, que el uso de Opium C9 le daba excelentes resultados en el tratamiento de la apnea del recién nacido. Similares éxitos obtenía al utilizar *Nux vómica* en los casos de espasmos musculares producidos por una excitabilidad refleja de origen medular, los espasmos de los músculos de la cara y el opistótono, todos ellos síntomas de un cuadro denominado Encefalopatía por Glicina [45].

De la IL 4 se sabe que es una glucoproteína con propiedades antiinflamatorias, producida por linfocitos Th2, mastocitos, eosinófilos y basófilos. Posee una acción sobre los linfocitos T y B, células asesinas naturales (NK), mastocitos, sinoviocitos y células endoteliales, usando la vía JAK/STAT. Además induce a la diferenciación de linfocitos B para producir IgG e IgE, que son inmunoglobulinas importantes en las respuestas alérgicas y antihelmínticas. Actúa sobre los macrófagos activados reduciendo los efectos de las citocinas IL-1, FNT $\alpha$ , IL-6 e IL-8, e inhibiendo la producción de radicales libres de oxígeno. Además, aumenta la susceptibilidad de los macrófagos a los efectos de los glucocorticoides [17,18].

De acuerdo a lo que se acaba de exponer, es posible argumentar el por qué las preparaciones homeopáticas de *Nux vómica* resultan eficaces en el tratamiento de enfermedades relacionadas con fenómenos inflamatorios [40], aunque con este experimento en particular no se haya obtenido una respuesta estadísticamente significativa en la expresión de las otras citoquinas del multiensayo. Seguramente la dinamización a la que se utilizó el medicamento (30 CH ó 60 D) esté relacionada con este resultado. Tal vez con una dilución menor a la 12CH, que aún contiene moléculas del compuesto o con una mayor a la 30CH que posee mayor poder dinámico, se obtengan otro tipo de resultados.

Respecto al hallazgo individual de la expresión de la IL 6 en el paciente No. 4 (Figura 3-1) frente al control, puede interpretarse como el cumplimiento del principio de individualidad de la homeopatía, ya que se trata de una respuesta única y particular para ese paciente. Aunque no se trata de un resultado significativo, podría considerarse la realización de estudios posteriores a potencias menores para tratar de obtener más respuestas individuales que argumenten desde el punto de vista molecular la explicación a la ley de la individualidad. Precisamente, es este principio el que más dificulta la realización de investigaciones de tipo cuantitativo en homeopatía pues se da por hecho que la efectividad de un medicamento es inherente a la prescripción adecuada del mismo de acuerdo a las características particulares de cada paciente. Sin embargo existen metaanálisis como el publicado en Lancet [11] en 1997 cuyos resultados no desestiman la efectividad la medicina homeopática.

## 8. Conclusiones y recomendaciones del trabajo

### 8.1 Conclusiones

Mediante la realización de este experimento se pudo demostrar que la preparación homeopática de *Nux vómica* a la potencia 30CH presenta efecto linfoproliferativo variable, que desde el punto de vista fisicoquímico, puede explicarse por el fenómeno de la reorganización estructural del solvente hidroalcohólico luego de dinamizaciones sucesivas. Este hecho le da sustento al principio doctrinal de la dosis infinitesimal y dinamizaciones acerca de sus efectos sobre la energía vital.

La *Nux vómica* homeopatizada no posee un efecto citotóxico ya que logró estimular la linfoproliferación.

Se consiguió la expresión de la IL-4, implicada en procesos inflamatorios y alérgicos, lo cual sustenta en parte que la prescripción de *Nux vómica* homeopatizada resulta acertada para tratar enfermedades respiratorias agudas, alérgicas o de tipo inflamatorio como la artritis reumatoidea, tal y como se sugiere en la materia médica.

Este tipo de ensayos in vitro, abre las puertas para continuar con el proceso de investigación en homeopatía y de esta manera explicar de una manera más tangible los mecanismos por los cuales los medicamentos homeopáticos curan enfermedades.

### 8.2 Recomendaciones

Para futuros ensayos in vitro con *Nux vómica*, sería apropiado evaluar la respuesta de los medicamentos a bajas y altas dinamizaciones y de esta manera verificar si se logra una mayor actividad biológica celular.

Sería interesante realizar este mismo ensayo con un grupo de pacientes que presenten síntomas típicos de la patogenesia de *Nux vómica*.

## A. Anexo: Consentimiento Informado

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_



La investigadora Yenny Alexandra Nieves Meneses, estudiante de último semestre de la Maestría en Terapéuticas Alternativas de la Universidad Nacional de Colombia se encuentra desarrollando un proyecto de investigación bajo la supervisión de Profesor Eduardo Caminos, docente del área de Bioquímica y Biología Molecular, con el propósito de determinar la acción de medicamentos homeopáticos sobre células mononucleares de humanos.

Para poder efectuar la medición es necesario obtener una muestra de sangre venosa de donantes voluntarios. A partir de dicha muestra se obtendrán células mononucleares que serán expuestas al medicamento homeopático. Una vez se realicen y registren las observaciones, no se utilizarán con ningún otro propósito.

La participación en el estudio es voluntaria y usted puede elegir retirarse en cualquier momento. La información recolectada, será archivada garantizando la confidencialidad de la identidad de cada participante. Las conclusiones derivadas de la investigación, podrán ser enviadas a una publicación científica o expuestas ante la comunidad médica.

Los riesgos y efectos adversos del procedimiento de punción venosa son: Dolor, generalmente mínimo, mientras se realiza la punción. Hematoma en sitio de punción, venoflebitis, infección en sitio de punción.

Queda constancia de que el voluntario entiende lo anteriormente expuesto y acepta participar libre y voluntariamente en el estudio.

Nombre \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

CC \_\_\_\_\_ Tel \_\_\_\_\_



## B. Anexo: Especificaciones del fabricante del kit “Human Cytokine Magnetic 10-Plex Panel” de Invitrogen®

**Marca:** Luminex ®

**Marcador:** GRO- $\alpha$ , eotaxina, MCP-2, MCP-3, RANTES, IP-10, MIP-1 $\beta$ , MCP-1, MIG, MIP-1 $\alpha$

**Sistema:** Luminex ®

**Especie:** Humano

**Plataforma:** Luminex ®

**Bolas Tipo:** Poliestireno

**Bolas Región:** Ver prospecto del producto

**Sensibilidad:** Ver prospecto del producto

**Tamaño del producto:** 100 pruebas

**Proteínas de la familia:** Quimiocinas

**Lectura de la enzima:** RPE

**Método de detección:** Fluorescente

**Investigación Categoría:** inmunología

**Tipo de muestra (específico):** Suero, plasma, Sobrenadantes de cultivo celular

**Contenido y almacenamiento:** Premezclado contiene perlas recubiertas de anticuerpos de captura, de serie, el anticuerpo detector premezclado, diluyentes, concentrado de SAV, tampones, la solución de lavado, filtro de placas, el protocolo completo y la hoja de muchos datos técnicos específicos. Conservar a 2-8 °C

Figura 3-1: Efecto in vitro de *Nux vómica* (30CH) homeopatizada sobre los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica. Respuesta individual pacientes 1 al 5. Barra gris: *Nux vómica*. Barra negra: control

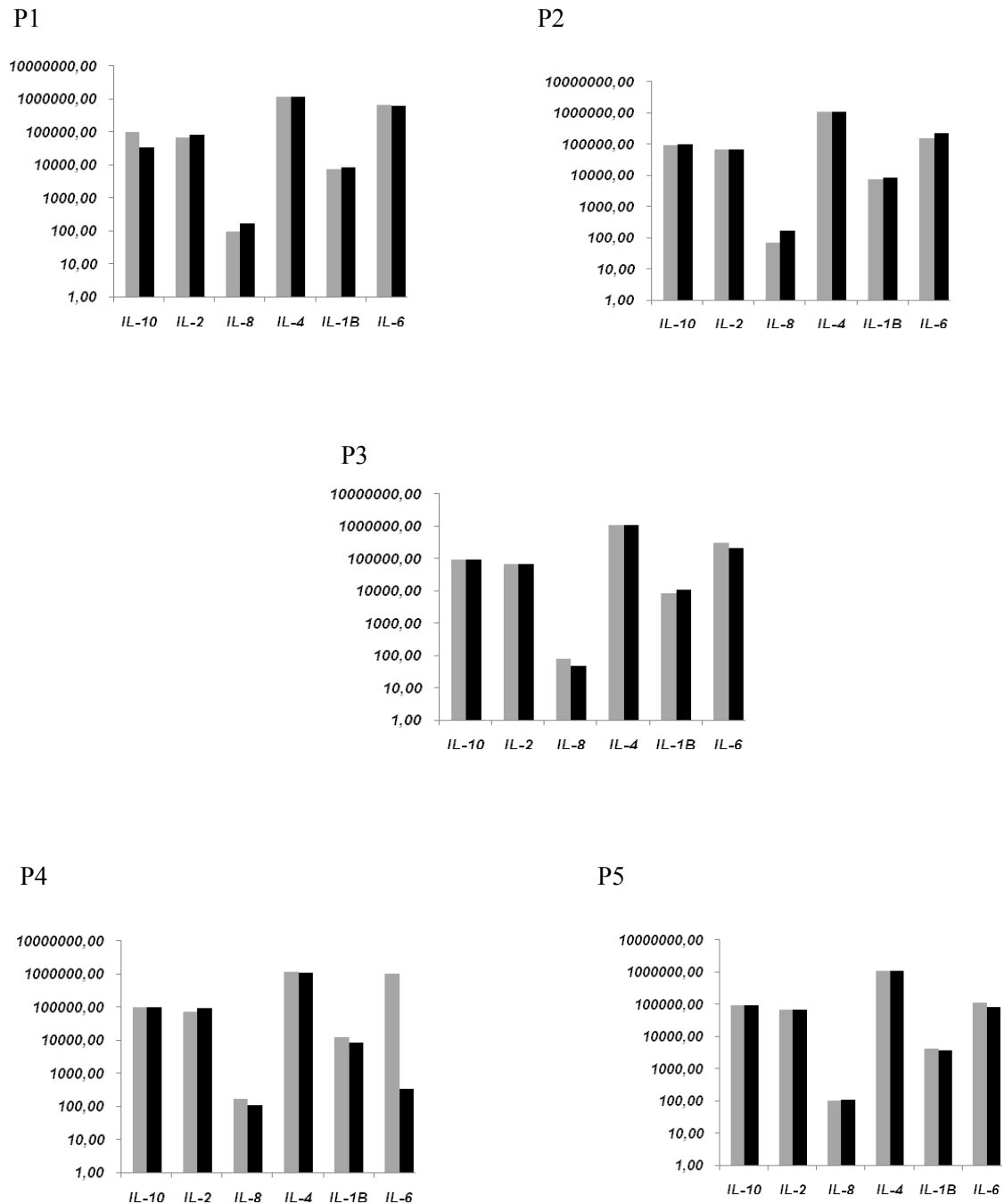
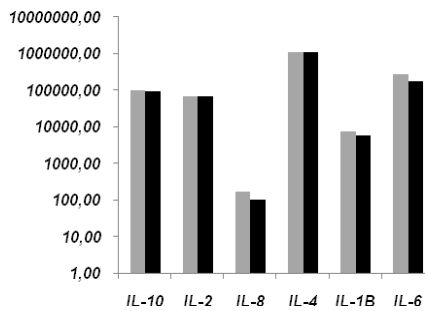
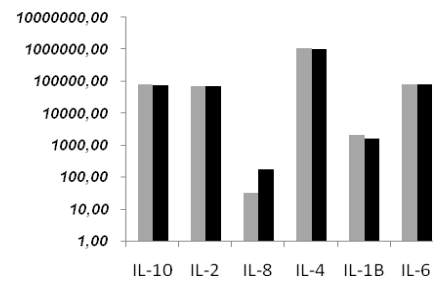


Figura 3-2: Efecto in vitro de *Nux vómica* (30CH) homeopatizada sobre los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica. Respuesta individual pacientes 6 al 10. Barra gris: *Nux vómica*. Barra negra: control

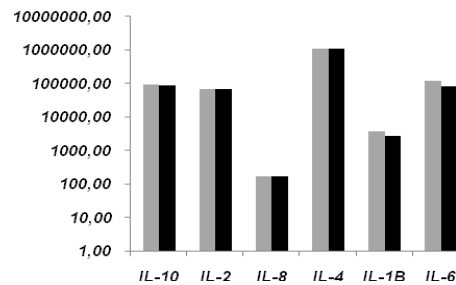
P6



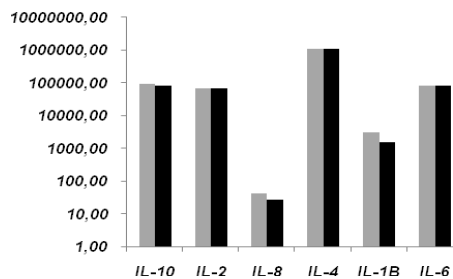
P7



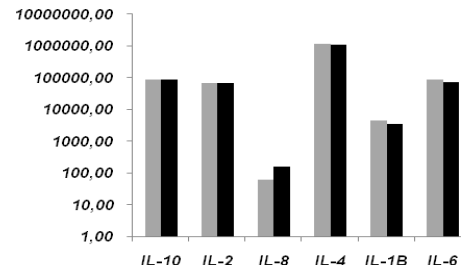
P8



P9



P10



**Tabla 1: Efecto in vitro de *Nux vómica* 30CH homeopatizada sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periférica 48 horas de exposición**

<b>Dosis</b>	<b><i>Nux vómica</i></b>
<b>2 µl</b>	110,82 ± 26,3
<b>4 µl</b>	89,43 ± 13,86
<b>6 µl</b>	90,74 ± 17,03
<b>8 µl</b>	98,21 ± 1,73
<b>10 µl</b>	93,77 ± 7,51
<b>12 µl</b>	95,31 ± 15,3
<b>14 µl</b>	106,47 ± 18,76
<b>Control</b>	100 ± 0

**Tabla 2: Respuesta individual de la IL-2 en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

<b>PACIENTE</b>	<b>IL-2</b>	<b>CONTROL</b>	<b>DIFERENCIA</b>	<b>95% CI of diff,</b>
<b>1.000</b>	69867	83885	14018	-18800 to 46835
<b>2.000</b>	69264	69867	603,2	-32215 to 33421
<b>3.000</b>	70036	95755	25719	-7099 to 58536
<b>4.000</b>	69800	69934	134,7	-32683 to 32952
<b>5.000</b>	69598	69732	133,9	-32684 to 32952
<b>6.000</b>	69867	69464	-402,9	-33221 to 32415
<b>7.000</b>	69464	69598	134,3	-32684 to 32952
<b>8.000</b>	69732	68740	-992,3	-33810 to 31825
<b>9.000</b>	69599	68807	-792,4	-33610 to 32025
<b>10.000</b>	69867	69800	-67,05	-32885 to 32751

**Tabla 3: Respuesta individual de la IL-1 $\beta$  en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

PACIENTE	IL-1B	CONTROL	DIFERENCIA	95% CI of diff,
1.000	7655	8200	545	-6038 to 7128
2.000	7655	8200	545	-6038 to 7128
3.000	12351	8200	-4151	-10734 to 2432
4.000	8200	10862	2662	-3920 to 9245
5.000	4229	3732	-496,4	-7079 to 6086
6.000	7616	5764	-1853	-8435 to 4730
7.000	2086	1606	-480	-7063 to 6103
8.000	3738	2731	-1007	-7589 to 5576
9.000	3034	1553	-1481	-8064 to 5102
10.00	4585	3425	-1160	-7743 to 5422

**Tabla 4: Respuesta individual de la IL-4 en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

PACIENTE	IL-4	CONTROL	DIFERENCIA	95% CI of diff,
1.000	1151000	171,9	-1151000	-1,269e+006 to -1,033e+006
2.000	1069000	171,9	-1069000	-1,187e+006 to -951416
3.000	1142000	110,6	-1142000	-1,260e+006 to -1,024e+006
4.000	1101000	46,78	-1101000	-1,219e+006 to -983053
5.000	1109000	106,3	-1109000	-1,226e+006 to -990862
6.000	1073000	103,1	-1073000	-1,190e+006 to -954911
7.000	1088000	171,9	-1088000	-1,206e+006 to -970480
8.000	1085000	171,9	-1084000	-1,202e+006 to -966571
9.000	1069000	27,55	-1069000	-1,187e+006 to -951560
10.00	1142000	158,1	-1142000	-1,260e+006 to -1,024e+006

**Tabla 5: Respuesta individual de la IL-6 en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

PACIENTE	IL-6	CONTROL	DIFERENCIA	95% CI of diff,
1.000	651294	625765	-25530	-1,242e+006 to 1,191e+006
2.000	158609	230206	71597	-1,145e+006 to 1,288e+006
3.000	1058000	336,8	-1058000	-2,275e+006 to 158444
4.000	305299	205253	-100046	-1,317e+006 to 1,117e+006
5.000	114496	80469	-34027	-1,251e+006 to 1,183e+006
6.000	273114	174181	-98934	-1,316e+006 to 1,118e+006
7.000	80469	80469	0	-1,217e+006 to 1,217e+006
8.000	121069	80469	-40600	-1,257e+006 to 1,176e+006
9.000	80469	80469	0	-1,217e+006 to 1,217e+006
10.00	87727	70072	-17655	-1,234e+006 to 1,199e+006

**Tabla 6: Respuesta individual de la IL-8 en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

PACIENTE	IL-8	CONTROL	DIFERENCIA	95% CI of diff,
1.000	93,16	171,9	78,69	-194,6 to 352,0
2.000	69,71	171,9	102,1	-171,2 to 375,4
3.000	171,9	110,6	-61,27	-334,6 to 212,0
4.000	80,5	46,78	-33,72	-307,0 to 239,6
5.000	98,21	106,3	8,06	-265,2 to 281,4
6.000	171,9	103,1	-68,79	-342,1 to 204,5
7.000	32,16	171,9	139,7	-133,6 to 413,0
8.000	171,9	171,9	0	-273,3 to 273,3
9.000	40,7	27,55	-13,15	-286,4 to 260,1
10.00	60,01	158,1	98,06	-175,2 to 371,4

**Tabla 7: Respuesta individual de la IL-10 en células mononucleares expuestas a *Nux vómica* homeopatizada a 30 CH vs control**

PACIENTE	IL-10	CONTROL	DIFERENCIA	95% CI of diff,
1.000	97975	34776	-63199	-135704 to 9307
2.000	93720	98537	4817	-67689 to 77322
3.000	100382	96542	-3840	-76345 to 68665
4.000	94751	94291	-459,8	-72965 to 72046
5.000	93990	91029	-2961	-75467 to 69544
6.000	97288	93903	-3385	-75890 to 69120
7.000	78980	75844	-3136	-75641 to 69369
8.000	91212	89401	-1811	-74316 to 70694
9.000	90894	83586	-7308	-79813 to 65197
10.00	87029	88027	998,6	-71507 to 73504

## Bibliografía

- [1] Morrell, P. **Hahnemman y la Homeopatía**. B. Jain Publishers, India 2005.
- [2] Urrego D. Martilletti A. Casas G. Ruíz P. Vega J. **La medicina alternativa: Una visión desde los sistemas médicos complejos**. Ed. Universidad nacional de Colombia. Primera edición. Bogotá. 2001:77-80
- [3] Barrios J. Bayona M. Correa F. Cubillos C. González F. Guerrero M. Gutiérrez S. López L. Martilletti A. Quiroz T. Ramírez A. Morales H. Rojas A. Riveros C. Riveros N. Vargas L. Vega A. **Doctrina Homeopática**. Ed. Fundación Instituto Homeopatía Luis G Páez 2005:12-21,43, 256,257
- [4] Detinis, Luis. **Semiología homeopática**. Editorial Albatros. Buenos Aires. 1988
- [5] Blumenthal M. **The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines**. Austin, TX: American Botanical Council; 1998.
- [6] Luz M. **Natural, racional, social: razón médica y racionalidad científica moderna**. Primera edición. Buenos Aires: Lugar editorial. 1997
- [7] Wrone DA, Saber AJ. **Randomized trials and scientific methods**. Arch Dermatol. 1999;135(5):602.
- [8] Rosenbaum P, Waiser-Priven SI, Schunemann C. **Elaps in advanced pathology a case study**. Homeopathy. 2004;93(1):51-53.
- [9] Shang A, Huwiler-Müntener K, Nartey L, Juni P, Dorig S, Sterne JA, et al. **Are the clinical effects of homoeopathy placebo effects? Comparative study of placebo-controlled trials of homoeopathy and allopathy**. Lancet. 2005; 366:726–32
- [10] Elia V, Niccoli M. **Thermodynamics of extremely diluted aqueous solutions**. Ann N Y Acad Sci. 1999 Jun 30;879:241-48.
- [11] Linde K, Clausius N, Ramirez G, et al. (1997). **Are the clinical effects of homoeopathy placebo effects? A meta-analysis of placebo-controlled trials**. Lancet, 350:834-843
- [12] Blackwood. **Materia Médica, terapéutica y farmacología homeopática**. 1990; Publishers put. Ltd.; New Deli.



- [13] Zhou Ai-Xian, Guo Shuying, Tian Jia Li, et al. **Strychni compound film on the immune function.** *Chinese Journal Experimental prescriptions.* 1998; 4 (4): 46
- [14] Zhao Hong-Wei, Weng Shi Ai, Zhu Yan-Na, et al. **Brucine on mouse lymphocyte function.** *Chinese Pharmacology Bulletin.* 1999; 15 (4): 354
- [15] Fainboim L, Geffner J. **Introducción a la inmunología humana.** 5ª Edición. Argentina Editorial Panamericana. 2005:4-6
- [16] Dorland S, D. R. **Diccionario enciclopédico ilustrado de Medicina.** España: Elsevier; 2005.
- [17] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. **Inmunología Celular y Molecular.** Philadelphia Ed. Saunders Elsevier 6ª edición. 2007:32-207
- [18] Chaplin DD. **Overview of de human immune response.** *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:S430-435
- [19] Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. **Cytokine signaling-regulation of the immune response in normal and critically ill states.** *Crit Care Med* 2000; 28 (Suppl):N3-12
- [20] Robbins, Cotran, Kuman, Collins. **Patología estructural y funcional.** Edit. Mc. Graw Hill. 6a ed. Madrid, 2000:53-93.
- [21] Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. **A primer cytokines: sources on, receptors, effects, and inducers.** *Clin Microbiol Rev*,1997;10:742-780.
- [22] Standiford, TJ. **Anti-inflammatory cytokines and cytokine antagonists.** *Current Pharmac Des* 2000; 6:633-649.
- [23] Paul WE, Seder RA. **Lymphocyte responses and cytokines.** *Cell.* 1994 Jan 28;76(2):241-51
- [24] Zurawski G, de Vries JE. **Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells.** *Immunol Today.* 1994 Jan;15(1):19-26.
- [25] Arai, I.; Miyajima, F.; Miyatake, S. et al. **Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses.** *Annu Rev Biochem* 1990; 59:783-8363.
- [26] TR Mosmann, H Cherwinski, MW Bond. **Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.** *The Journal of immunology* 2005, vol. 175, no1, pp. 5-14
- [27] Reichert TE, Rabinowich H, Johnson JT, Whiteside TL. **Immune cells in the tumor microenvironment: mechanisms responsible for significant and functional defects.** *J Immunother* 1998;21:295-306.
- [28] Bienvenu A. et al. **Cytokine assays in human sera and tissues.** *Toxicology* 129(1): 55-61 (1998)
- [29] Watson, J, D.; Baker, T. A.; Bell, S. P.; Gann, A.; Levine, M. et Losick, R (2004). **Molecular Biology of the Gene.** Five edition. San Francisco: Benjamin Cummings.

- [30] Aziz N, Nishanian P, Mitsuyasu R, Detels R, Fahey JL. **Variables that affect assays for plasma cytokines and soluble activation markers**. Clin.Diagn.Lab Immunol 1999;6:89–95
- [31] Elshal MF, McCoy JP. **Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA**. Methods 2006;38:317–323.
- [32] Zhoua, Xin; Fragala, Maren S.; McElhaney, Janet E.; and Kuchela, George A. **Conceptual and Methodological Issues Relevant to Cytokine and Inflammatory Marker Measurements in Clinical Research**. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2010 September ; 13(5): 541–547
- [33] Instituto Hahnemanniano Internacional. Buenos Aires. **El medicamento homeopático y su teoría de aplicación**. Disponible en Internet en: <http://www.escueladehomeopatia.com.ar/hom/1%20Homeopatia.pdf>. Consultado el 19-04-12. 02:48 hrs.
- [34] M Jenaer, MF Henry, A Garcia, B Marichal. **Evaluation of 2LHERP in preventing recurrences of genital herpes**. British Homeopathic Journal. 2000 October; 89(4):174-177
- [35] Vithoulkas, G. **Homeopatía: una visión integral de la salud, la enfermedad y la curación**. Barcelona, Piados. 1996:29-36
- [36] Grandgeorge, D. **Hipotesis about the homeopathy action mode in view of the recent neurophysiology contributions**, Rev. homeopatia (São Paulo).1984(163):27-33
- [37] [www.envtox.ucdavis.edu/cehs/TOXINS/SPANISH6/strychnine.html](http://www.envtox.ucdavis.edu/cehs/TOXINS/SPANISH6/strychnine.html). Consultado en 21-04-12. 23:15 hrs
- [38] Ancarola R. **Materia médica homeopática jerarquizada**. Miraguano ediciones. Madrid 1996:139-141
- [39] Cai BC, Wang TS, Kurokawa M, Shiraki K, Hattori M. **Cytotoxicities of alkaloids from processed and unprocessed seeds of Strychnos nux-vomica**. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1998;19:425-42
- [40] Yin, W., Wang, T. S., Yin, F. Z., and Cai, B. C.(2003b). **Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine N-oxide extracted from seeds of Strychnos nux-vomica**. J. Ethnopharmacol. 88, 205–214
- [41] Brahmam AN, Rao DN. **Suppressive effect of strychnos nux-vomica on induction of ovalbumin-specific IgE antibody response in mice**. Indian J Biochem Biophys. 2008 Oct;45(5):341-4.
- [42] Deng X, Yin F, Lu X, Cai B, Yin W. **The apoptotic effect of brucine from the seed of Strychnos nux-vomica on human hepatoma cells is mediated via Bcl-2 and Ca<sup>2+</sup> involved mitochondrial pathway**. Toxicol Sci. 2006 May; 91(1):59-69.
- [43] Wiesenauer M, Gaus W. **A randomized double blind trial on the efficiency of a homeopathic drug for rheumatoid arthritis** [translated from German]. Aktuel Rheumatol. 199;16:1- 9.

- [44] **German Homoeopathic pharmacopoeia**. Ed. Medpharm Scientific Publishers.2003.
- [45] Pellegrino, J. **Comprobación científica de las dinamizaciones homeopáticas**. Homeopatía.1993 Vol 58: 47-50
- [46] **Teorías sobre la Fuerza Vital, las Diluciones Homeopáticas y el Mecanismo de Acción de los Medicamentos Homeopáticos**. Dr. Flavio Briones Méd. Vet., 1989 Disponible en internert en: [www.homeovet.cl/index.php?option](http://www.homeovet.cl/index.php?option). Consultado en 21-04-12 19:23 hrs
- [47] **L. Rey, Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride**. Physica A 323(2003): 67-74