



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Evaluación de la respuesta inmunológica del *Apis Mellifica* homeopatizada en cultivos de células mononucleares en sangre periférica**

**Javier Eduardo Torres Carranza**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Alternativa  
Bogotá D.C., Colombia

2012



# **Evaluación de la respuesta inmunológica del *Apis Mellifica* homeopatizada en cultivos de células mononucleares en sangre periférica**

**Javier Eduardo Torres Carranza**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título  
de:

**Magíster en medicina alternativa con énfasis en homeopatía**

Director:

Dr. Jorge Eduardo Caminos

Línea de Investigación en Homeopatía.

Investigación Básica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Alternativa

Bogotá DC, Colombia

2012



*Para mi amada familia (Astrid, Vale y Juan Camilo), gracias por amor y afecto. A mis padres y hermanos por acompañarme en este camino que emprendí en mi vida.*



## Resumen

**Introducción:** La **Apis Mellifica**, uno de los medicamentos homeopáticos utilizado por la homeopatía que tiene efectos sobre al sistema inmune, por ejemplo: actúa sobre la basófilos, provocando una inhibición en la liberación de histamina. El objetivo de este estudio es evaluar la respuesta de las células mononucleares frente al *Apis Mellifica* homeopatizada.

**Materiales y Métodos:** La medición de los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10, se determinaron cuando las células mononucleares en sangre periférica humana se expusieron al *Apis Mellifica* homeopatizada a la potencia 30 CH, mediante el ensayo “Cytokine Human Panel” de Invitrogen®.

**Resultados:** Las células mononucleares crecieron un 18% en comparación con el grupo control, mostrando efectos mitogénicos del *Apis Mellifica* homeopatizada sobre las células mononucleares. Los resultados de los niveles de citoquinas IL-1 $\beta$ ,IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10, medidos en el equipo de Luminex®, no evidenció modificación estadísticamente significativa de las mismas por parte del *Apis Mellifica* homeopatizada.

**Conclusiones:** Los resultados del estudio mostraron un efecto estimulante de proliferación de las células mononucleares expuestas al *Apis Mellifica* homeopatizada, este estudio, deja la puerta abierta, para la realización de nuevos estudios.

**Palabras claves:** Abeja (*Apis Mellifica*), leucocitos mononucleares, citoquinas, Medicamento homeopático.

## Abstract

**Introduction:** *Apis mellifica*, a homeopathic medicine used in homeopathy that has effects on the immune system, for example, acts on basophils, causing an inhibition of histamine release. The aim of this study is to evaluate the response of mononuclear cells compared to *Apis mellifica* homeopatizada. **Materials and Methods:** The measurement of levels of cytokines IL-1  $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 and IL-10 were determined when cells in human peripheral blood mononuclear cells were exposed *Apis mellifica* 30 CH, by the assay "Human Cytokine Panel" from Invitrogen  $\text{\textcircled{R}}$ . **Results:** The mononuclear cells grew 18% compared with the control group, showing mitogenic effects of *Apis mellifica* homeopatizada on mononuclear cells. The results of the levels of cytokines IL-1  $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 and IL-10, measured in the Luminex  $\text{\textcircled{R}}$  team, showed no statistically significant modification of the same by part of *Apis mellifica* 30 CH. **Conclusions:** The results of the study showed a stimulating effect on proliferation of mononuclear cells exposed to *Apis mellifica* homeopatizada, this study leaves the door open for further studies. **Keywords:** Honeybee (*Apis mellifica*), Leukocytes Mononuclear, Cytokines, Homeopathic Remedies.



# Contenido

	Pág.
<b>Resumen</b> .....	<b>VII</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>XI</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>XII</b>
<b>Lista de Símbolos y abreviaturas</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1 Justificación</b> .....	<b>5</b>
<b>2 Objetivo General</b> .....	<b>9</b>
2.1 Objetivos específicos.....	9
<b>3 Marco Teórico</b> .....	<b>10</b>
3.1 Homeopatía .....	10
3.2 Sistema inmune.....	12
3.2.1 Las citoquinas.....	13
3.3 Apis Mellifica.....	14
3.3.1 Experimentación pura del <i>Apis Mellifica</i> .....	15
<b>4 Materiales y métodos</b> .....	<b>18</b>
4.1 Preparación de la formulación homeopática de <i>Apis Mellifica</i> .....	18
4.2 Obtención de las células mononucleares de sangre periférica.....	18
4.3 Evaluación del efecto del <i>Apis Mellifica</i> homeopatizada sobre la viabilidad celular de células mononucleares de sangre periférica de individuos sanos.....	19
4.4 Evaluación de los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica tratadas con <i>Apis Mellifica</i> . .....	21
4.5 Criterios de inclusión .....	21
4.6 Análisis estadístico .....	22
<b>5 Resultados</b> .....	<b>23</b>
5.1 Viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica de individuos sanos al aplicar <i>Apis Mellifica</i> homeopatizada a la 30 ch. ....	23
5.2 Cuantificación de los niveles de las citoquinas medidas al aplicar <i>Apis Mellifica</i> homeopatizada a la 30 ch versus control. ....	24
5.3 Respuesta individual de las citoquinas en células mononucleares al aplicar <i>Apis Mellifica</i> homeopatizada a la 30 ch vs control.....	26

<b>6</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>29</b>
<b>7</b>	<b>Conclusiones y Recomendaciones.....</b>	<b>31</b>
7.1	Conclusiones .....	31
7.2	Recomendaciones del estudio .....	32
<b>A.</b>	<b>Anexo: Modelo de consentimiento informado.....</b>	<b>33</b>
<b>B.</b>	<b>Anexo: Especificaciones del fabricante del kit “Cytokine Human Panel” Invitrogen®.....</b>	<b>35</b>
	<b>Bibliografía .....</b>	<b>37</b>

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 5-1:</b> Efecto “in vitro” del Apis Mellifica homeopatizada a la 30 CH sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periférica a las 72 horas de incubación.....	36
<b>Figura 5-2:</b> Efecto de “in vitro” Apis Mellifica homeopatizada a la 30 CH sobre los niveles de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 en células mononucleares de sangre periférica.....	37
<b>Figura 5-3:</b> Producción individual de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 de las células mononucleares aisladas de la sangre periférica expuestas a Apis Mellifica a la 30 CH de los pacientes 1 al 10.....	38

## Lista de tablas

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 5-1:</b> Efecto “in vitro” de Apis Mellifica homeopatizada a la 30 CH sobre la producción de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 de las células mononucleares aisladas de la sangre periférica. Valores individuales (P1= Paciente uno). .....	37

## Lista de Símbolos y abreviaturas

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
CH:	Dilución Centesimal Hahnemanniana
Ig:	Inmunoglobulina
IL 1 $\beta$	Interleuquina 1 $\beta$
IL 2	Interleuquina 2
IL 4	Interleuquina 4
IL 6:	Interleuquina 6
IL 8:	Interleuquina 8
IL10:	Interleuquina 10
(GM-CSF)	Factor estimulante de granulocitos y macrófagos.
MTT	Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazólico)
TNF:	Factor de Necrosis Tisular
Th1:	Linfocitos T Helper 1
Th2:	Linfocitos T Helper 2
CMH:	Complejo mayor de Inmunohistocompatibilidad.
PEC:	Perfil de expresión de citoquinas.



# Introducción

Hace 215 años el principio básico de la Homeopatía<sup>1</sup> fue publicado en Europa por el médico alemán Samuel Hahnemann [1], iniciando formalmente esta área de la medicina, que se enmarca filosóficamente en la teoría vitalista [2].

La homeopatía tiene tres partes principales: la doctrina, en ella se encuentran los principios teóricos dada por sus leyes, la segunda parte la semiológica, donde se interpretan los síntomas y signos del paciente y por último un método terapéutico, donde el medicamento homeopático estimula la energía vital proporcionando la información necesaria para que el cuerpo elimine las enfermedades(3). Estos principios son interpretados y aplicados siguiendo los criterios establecidos en el Organon, obra escrita por Samuel Hahnemann [1,4].

La terapéutica homeopática está basada en el principio de la similaridad; lo similar cura lo similar<sup>2</sup>. Cuando administramos un medicamento homeopático a un sujeto enfermo, el medicamento es capaz de sanar lo que el mismo medicamento produce en un sujeto sano [5]. Para que esto ocurra el medicamento debe ser dinamizado<sup>3</sup> o potenciado, característica de los medicamentos homeopáticos que ha sido documentada desde el área de la inmunología, la física, la clínica y la bioquímica [5, 6, 7,8].

El sistema inmunológico nos defiende del ataque de gérmenes, células tumorales y otros agentes extraños al organismo. Esta respuesta inmunológica se ha dividido en

---

<sup>1</sup> *homeois* que equivale a semejante y *pathos* que significa padecimiento o enfermedad

<sup>2</sup> *Similia similibus curentur*

<sup>3</sup> Diluciones sucesivas de una sustancia, que se hace por etapas y en cada una de ellas la dilución está sujeta a choque mecánico, la concentración de la sustancia en la dilución puede variar entre microdosis hasta donde la teoría física afirma que ya no hay moléculas de la sustancia original.

inmunidad innata e inmunidad adaptativa (o adquirida). La inmunidad innata está presente antes de exponernos a los microorganismos y otros agentes extraños y representa una primera línea de defensa, la segunda línea de defensa es la inmunidad adaptativa. Los principales componentes de la inmunidad innata incluyen: células (el sistema mononuclear fagocítico, neutrófilos, macrófagos, mastocitos y células NK) y sustancias de diferente índole (citocinas, proteínas del complemento, los receptores solubles en la superficie de las células). La inmunidad adaptativa se divide en la inmunidad humoral y la inmunidad mediada por células. La inmunidad humoral es principalmente mediada por inmunoglobulinas, los productos de los linfocitos B, ya sea en forma secretada o como unidas a la membrana receptores de superficie celular. La inmunidad celular donde los linfocitos T son los principales actores.

En las últimas décadas la acción de los medicamentos homeopáticos ha documentado efectos en el sistema inmune [9,10], por ejemplo, sobre modulación en la producción de anticuerpos [11], la inhibición de la de granulación de basófilos [12], la viabilidad celular y la inducción de citoquinas [13].

Las citoquinas son pequeñas proteínas producidas por las células en respuesta a una variedad de estímulos. Las citoquinas son sustancias que causan una variada respuesta de las células del sistema inmune [14] [15], algunas citoquinas como la interleuquina dos (IL-2) hacen parte de la respuesta inmune adaptativa, otras como el Factor estimulante de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- $\alpha$ ), la interleuquina quince (IL-15), la interleuquina 18 (IL-18) son producidas por células de la inmunidad innata pero están involucradas en la inmunidad adquirida [14]. Dada la gran diversidad de células productoras de citoquinas y los numerosos efectos de las mismas, algunos de los cuales desconocidos [16].

Debido a la gran cantidad de citoquinas que interactúan en la respuesta inmune y la gran variedad de funciones de las mismas. Se escogió en forma aleatoria un kit para la determinación cuantitativa simultánea para las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 de laboratorios Invitrogen®

El Apis Mellifica es un medicamento homeopático que se obtiene a partir de la abeja entera [17], el medicamento contiene todos los componentes del veneno de la abeja y



todas las sustancias presentes en el insecto. Su acción terapéutica sobre enfermedades de tipo inmunológico como es asma y la rinitis alérgica está documentada [18] pero se conoce muy poco sobre su acción sobre el sistema inmune [19]. ¿Cuál es el comportamiento de la citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 en un cultivo de células mononucleares en sangre periférica humana al exponerse a la Apis Mellifica homeopatizada a la potencia 30 CH?



# 1 Justificación

El sistema inmunológico protege al organismo humano del medio hostil que lo rodea, además de este beneficioso mecanismo de defensa, el sistema inmune puede causar daño, cuando el resultado de su respuesta es inadecuado; como en el caso del asma, la alergia y la autoinmunidad [20], en estas enfermedades los sistemas de retroalimentación mediados por citoquinas están alterados creando una respuesta inmunológica inadecuada.

Las enfermedades autoinmunes, se han convertido en un problema de salud global, por ejemplo, el asma tiene una prevalencia del 10% en algunas poblaciones [21], Mientras que la rinoconjuntivitis alérgica afecta al 25% de las personas que viven en los países occidentales [22].

Para el tratamiento de las estas respuestas inmunes inadecuadas se utilizan variadas opciones terapéuticas: el control ambiental del alérgeno que causa la reacción, el uso de medicamentos como los antihistamínicos orales, inhibidores de los leucotrienos, broncodilatadores, corticoides y los medicamentos homeopáticos [23, 24, 25].

La mayoría de los tratamientos alopáticos tiene una acción sintomática inicialmente beneficiosa, pero que no modifica el curso de la enfermedad. La homeopatía, basada en el principio de *simillia*, ha proporcionado evidencia preliminar de ser beneficiosa en el tratamiento de alteraciones alérgicas como el asma [26].

El *Apis Mellifica* es un importante medicamento homeopático que puede ser empleado en el tratamiento de enfermedades alérgicas; su mecanismo de acción a nivel inmunológico no se conoce, aunque *in vitro* ya existe evidencia de su acción inhibitoria sobre el basófilo, donde inhibe la liberación de sustancias [17]. Conocer el Perfil de Expresión Especifico de citoquinas (PEC) del *Apis Mellifica* es una labor que permitirá aumentar el conocimiento sobre su mecanismo de acción; el comportamiento de la respuesta inmune y enriqueciendo el saber homeopático.

En este experimento, se utilizara *Apis Mellifica* homeopatizada hasta la potencia 30 CH, potencia utilizada por Hahnemann, para realizar los estudios de experimentación pura como lo expresa el parágrafo 128 del Organon.

Se medirá la respuesta inmune de la *Apis Mellifica* homeopatizada a la potencia 30 CH sobre las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes sanos utilizando el “Cytokine Human Panel” Invitrogen® en el equipo Luminex 200®.





## **2 Objetivo General**

Evaluar la respuesta sobre las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 del Apis Mellifica homeopatizada a la potencia 30 CH en un cultivo de células mononucleares obtenidas de sangre periférica de pacientes sanos medida mediante el ensayo “Cytokine Human Panel” Invitrogen® en el equipo Luminex 200®.

### **2.1 Objetivos específicos**

Determinar perfil específico de expresión de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 in vitro expresada por células mononucleares humanas de sangre periférica al ser expuesta a Apis Mellifica homeopatizada.

Cuantificar transversalmente el comportamiento de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 utilizando “Cytokine Human Panel” de Invitrogen® en el equipo Luminex 200®.

## 3 Marco Teórico

### 3.1 Homeopatía

La homeopatía es un sistema médico que utiliza los propios mecanismos de auto curación que posee el organismo, utilizando el principio fundamental de la similitud: un medicamento homeopático en un sujeto sano producen cierto conjunto de síntomas, mientras que el mismo medicamento cura un conjunto similar de los mismos síntomas en una persona enferma. Este principio ha soportado la prueba del tiempo, y ha sido ratificado por los descubrimientos científicos actuales en varias áreas de la ciencia, incluidos entre ellos el de la inmunoalergología [27].

La homeopatía se basa en entender al ser humano como un ser "holístico", lo que puede interpretarse, con los conocimientos actuales, en términos de un marco proporcionado por la teoría de sistemas complejos, donde, la totalidad del componentes del organismo se encuentran en "equilibrio" permitiendo el "normal estado de salud" o "atractor"<sup>4</sup> [28]. El organismo humano, tienen propiedades como: la auto-gestión, la no linealidad y el dinamismo. Esto facilita la comprensión de los fenómenos homeopáticos, y el por qué la homeopatía siempre ha

---

<sup>4</sup> "Un atractor es el estado en que un sistema evoluciona después de un tiempo suficientemente largo. Para que el conjunto sea un atractor, las trayectorias que le sean suficientemente próximas han de permanecer próximas incluso si son ligeramente perturbadas. Geométricamente, un atractor puede ser un punto, una curva, una variedad o incluso un conjunto complicado de estructura fractal conocido como atractor extraño. La descripción de atractores de sistemas dinámicos caóticos ha sido uno de los grandes logros de la teoría del caos" obtenido de <http://es.wikipedia.org/wiki/Atractor>



considerado la enfermedad como multicausal: donde interactúan la predisposición hereditaria (miasma en homeopatía), los agentes predisponentes (noxas biológicas, ocupacionales, ambientales, alimenticias, tóxicas, etc.) y el componente no físico y parapsicológico (energía vital en términos homeopáticos) [29]. La homeopatía considera que cada ser humano es irrepetible, integral e indivisible, por lo que cada individuo se enferma diferente a otro ser humano por lo que el medicamento homeopático debe ser elegido teniendo en cuenta esta individualidad.

Luego de haber escogido el medicamento homeopático de acuerdo con la totalidad de síntomas expresados por el paciente y ser administrado el medicamento produce una alteración en la energía vital del enfermo esto se denomina acción primaria, a esta acción la energía vital actúa lo que se denomina reacción secundaria, permitiendo la curación del individuo

En los últimos doscientos años la homeopatía ha documentado pacientemente mediante un proceso de experimentación los síntomas reportados por individuos sanos (Patogenesia o experimentación pura en términos homeopáticos) cuando se les administra una sustancia medicamentosa homeopática, esto ha permitido establecer los síntomas más característicos o patrón de cada sustancia, para luego, aplicando la ley de la semejanza, curar esos mismos síntomas en un sujeto enfermo.

La terapéutica homeopática se fundamenta en la producción de medicamentos homeopáticos a partir de sustancias naturales que han sido potenciadas, este proceso de potenciación, se logra diluyendo el principio activo sucesivamente y realizando una agitación vigorosa, entre cada dilución, obteniéndose al final un preparado con una concentración muy reducida de la sustancia original. Esta dosis infinitesimal obtenida luego de diluir y dinamizar, atenúa los efectos tóxicos que posee la sustancia natural y potencia sus efectos curativos, así se tiene que en los medicamentos homeopáticos no se encuentra la sustancia que le dio origen. Hahnemann desarrolló técnicas para intervenir la concentración. Primero,

tomó la sustancia y la conservó en un solvente, habitualmente alcohol, formando la tintura madre, Posteriormente, tomó una gota de la disolución anterior y le añadió 99 gotas de alcohol puro, mezcló, luego golpeo el recipiente sobre una superficie dura, lo que sería la succusión o dinamización. El primer paso crea un remedio con una disolución de una parte en 10 o 100. La disolución continúa, siempre añadiendo una parte de la tintura a 99 partes de alcohol y haciendo dinamización a cada paso y así sucesivamente. A un mayor grado de potenciación mayor efecto terapéutico a pesar de las ínfimas cantidades del principio activo. La potenciación homeopática es difícil de explicar utilizando los modelos farmacológicos que se usan para estudiar el efecto de los medicamentos alopáticos. Es por esto que el modo de acción de los medicamentos homeopáticos debe ser estudiado utilizando los nuevos conocimientos en inmunología: HL Weiner y colaboradores descubrieron un mecanismo inmunoregulador denominado ‘bystander suppression’, el cual consiste en la supresión del comportamiento agresivo de células activadas por un auto antígeno, con la aplicación de dosis bajas del mismo auto antígeno de activación [30] [31].

### **3.2 Sistema inmune**

El sistema inmune se formado por una variedad de estructuras y de células (leucocitos) que se diferencian a partir de un precursor común ubicado en la médula ósea (células madre hematopoyéticas). Las células del sistema inmune son variadas: existen células que ingieren (fagocitos) a los antígenos, las que ayudan a detectar los elementos extraños al organismo (células presentadoras de antígenos), o simplemente células con la función de eliminar los elementos extraños (células asesinas naturales, Linfocitos B, linfocitos T), y por último, las células que regulan la actividad del sistema inmune (células T reguladoras). Todas estas células están comunicados entre sí a través de moléculas se

denominan colectivamente citoquinas. Estas sustancias activan, Inducen o suprimen el funcionamiento del sistema inmunológico.

### 3.2.1 Las citoquinas

La respuesta adecuada del sistema inmunológico a la agresión depende del equilibrio entre la acción pro-inflamatoria y anti-inflamatoria, este equilibrio se logra por la acción y expresión de las citoquinas. Las citoquinas son de proteínas que regulan y determinar la naturaleza de la respuesta inmune, esto lo logran, afectando a la célula que la produce (función autocrina) o una célula vecina (función paracrina). Pueden agruparse según su función en [32]:

- Citoquinas que presentan antígenos.
- Citoquinas que regulan la actividad citotóxica del sistema inmune.
- Citoquinas que regulan la actividad humoral
- Citoquinas moduladoras de la respuesta inmune.

Las citoquinas incluyen a las interleuquinas, los interferones, los factores estimulantes hematopoyéticos, los factores de necrosis tumoral y algunos factores de crecimiento [33]. La primera citoquina que se fue descubierta fue el interferón (IFN)-encontrado en 1957 por Isaacs y Lindenmann como un factor soluble producido por las células después de la exposición el virus de la influenza previamente inactivado por el calor [34].

Las citoquinas reciben varias denominaciones: leucoquinas (producidas por leucocitos), linfoquinas (producidas por linfocitos), monoquinas (producidas por monocitos), interleuquina (producidas por linfocitos), e interferones; son almacenadas y transportadas por células del sistema inmune, células hemáticas, etc. pero las células T auxiliares (helper, Th) y los macrófagos son sus mayores creadores.

Biológicamente su acción se logra cuando actúan sobre receptores específicos expresados por las células objeto de su acción, estos efectos son múltiples: incluyen la estimulación o inhibición de la proliferación celular, regulan la transcripción de genes, la apoptosis celular, la citotoxicidad celular, la actividad antiviral, la diferenciación, regulación y activación de las células T, B y macrófagos, activan la maduración de células sanguíneas, etc. [35].

La inflamación, es una respuesta normal para la conservación del organismo frente a la agresión, Su ausencia de esta puede ser mortal [36] pero su perpetuación es un riesgo ya que puede dañar el tejido y provocar necrosis celular. Por esta razón, los componentes de la respuesta inmunológica se aseguran la resolución de la inflamación a través de la regulación por medio de las citoquinas. Desafortunadamente existen enfermedades donde hay alteraciones en la producción de citoquinas por parte de los linfocitos T y linfocitos T auxiliares (helper, Th). [37]

### 3.3 *Apis Mellifica*

El *Apis mellifica* es un medicamento homeopático obtenido del reino animal probado por Frederick Humphries in 1852 e introducido a la homeopatía por E.E. Marey (34). La tintura madre de *Apis Mellifica* se prepara a partir de la abeja entera macerada para luego diluirla en alcohol, conteniendo gran número de componentes del insecto así como los componentes del veneno de la abeja. [38]

Dentro de los componentes existentes en la tintura madre del *Apis Mellifica*, se destacan la existencia de las siguientes sustancias: Fosfolipasa A2, hialuronidasa, la Melitina, apamina, dopamina, noradrenalina y serotonina. [39]

Existe evidencia experimental, donde el *Apis Mellifica* en diluciones homeopáticas, inhibe la degranulación in vitro de los basófilos, además en experimentación en cobayos evita el eritema causado por la radiación ultravioleta [17] [40]. La inhibición del *Apis Mellifica* homeopática es interesante ya que en

forma natural es pro inflamatoria e irritante, mientras que en forma homeopática tiene un efecto contrario [41]. Este experimento ilustra el principio de similitud homeopático ya que una sustancia conocida (*Apis Mellifica*) en dosis convencionales es conocida como estimulante de la inflamación y en otras dosis inhibe las células responsables de los fenómenos del proceso inflamatorio.

### **3.3.1 Experimentación pura del *Apis Mellifica***

Hahnemann empleó la experimentación en seres humanos sanos con sustancias diluidas y agitadas con una metodología que le es propia, descrita en el *Organon el arte de curar* publicado en el año de 1810, antes de que Claude Bernard postulara los principios relacionados con la experimentación en la medicina. La experimentación en Homeopatía se denomina Patogenesis<sup>5</sup>. La patogenesis es el resultado de la experimentación en una persona sana, anotando cuidadosamente todos los síntomas causados, en la persona. Para el *Apis Mellifica* se han descrito los siguientes síntomas [40]:

- la sensación de dolores “ardientes y pungitivos” que se caracterizan por ser rápidos y agudos [42], pueden afectar la garganta, los párpados, en la piel, en las glándulas mamarias, etc.
- El edema que puede ser local o general (denominado por Kent como hidropesía) [43].
- La ausencia de sed principalmente cuando hay hipertermia de las fiebres intermitentes.
- Síntomas Mentales: Celoso, con hablar obsceno, la persona actúa en forma nerviosa y es quisquillosa, hay dificultad en complacer a la persona. Es torpe, deja caer los objetos. Existe indiferencia, falta de concentración

---

<sup>5</sup> Del griego *Pathos* sufrimiento y *Gennaïen* que significa producir

al momento de leer y escribir, no toleran que los dejen solos, nada los satisface se preocupan por todo [40].

- Cabeza: Sensación de cansancio a nivel cerebral, sensación de vértigo cuando estornuda que empeora al acostarse o al cerrar los ojos. Existe la sensación de una puñalada súbita como un golpe sobre la cabeza. Dolor de cabeza con cansancio y entumecimiento que mejora con la presión local [40].
- Ojos: Brillantes, están abotagados mientras los parpados y conjuntivas están rojos y edematosos; el lagrimeo es caliente. Hay fotofobia, no puede mirar fijamente a ningún objeto.
- Oídos: El oído externo esta rojo e inflamado, puede haber otitis.
- Nariz: Hinchada, edematosa y roja. Coriza con sensación de inflamación en la nariz.[40]
- Boca: Brillante y enrojecida. La lengua esta roja y con vesículas en los bordes, hinchada, puede estar colgada por fuera de la boca. Rechinamiento de los dientes, mordida involuntaria y súbita de los dientes.
- Garganta: Hinchada por dentro y por fuera, sensación de estar arenosa, las amígdalas están hinchadas con un rojo intenso, hay dolor al deglutir que mejora al tomar bebidas frías. La úvula esta edematosa.
- Estomago: El dolor al tocar el epigastrio. Hay eructos con sabor de lo ingerido. El abdomen se siente rígido, al hacer esfuerzos al evacuar. Puede haber diarrea acuosa, amarilla involuntaria.
- Corazón: Punzadas en el corazón que van hacia atrás desde el ápice, sensación de que golpea y que agita todo el cuerpo.
- Respiratorio: Jadeante, siente que cada respiración es la última, hambre de aire. Hay edema de la laringe. Dolores ardientes y punzantes a través de la parte anterior del tórax. Hay hidrotórax después de la pleuresía. El pecho se siente golpeado. Descarga dolorosa en el pecho después de toser. Hay ronquera y expectoración dulzona. [40]

- **Urinario:** La micción es ardiente, hay disuria con dolores aguijoneantes. La orina es escasa, fétida, la última gota arde y pica. El sedimento urinario como asientos de café, incontinencia.
- **Extremidades:** Hay en las manos y en la punta de los dedos entumecimiento, mientras las palmas están calientes. Edema en las manos. Comedón que incipientemente se acompaña de dolores ardientes, punzantes y aguijoneantes. Las piernas están pesadas, dormidas e inmóviles. Los pies dormidos y rígidos, pálidos, inflamados y edematosos. Temblor en las manos y pies. Las uñas se sienten floja. [40]
- **Piel:** Esta rosácea, roja, sensible y dolorida, puede tener erupciones ásperas o punzantes. Urticaria extensa, sequedad en la piel, caliente, alternando con bochornos de calor, inflamaciones edematosas.
- **Sueño:** Hay inclinación para dormir, pero no lo hace por el nerviosismo. Somnolencia durante la fiebre. Hay despertares súbitos al dormir a veces con gritos. Se mueve mucho durante el sueño. Los sueños están llenos de aprensión y fatiga.[40]

## **4 Materiales y métodos**

### **4.1 Preparación de la formulación homeopática de Apis Mellifica**

El extracto de Apis Mellifica se prepara siguiendo las indicaciones de farmacopea homeopática Alemana Versión 2000 [24]. Método 3<sup>a</sup>: tintura madre y diluciones líquidas, la primera dilución decimal (D1) se logra a partir de 3 partes (volúmenes) de Tintura Madre y 7 partes (volúmenes) de alcohol al 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.

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

### **4.2 Obtención de las células mononucleares de sangre periférica.**

Luego de informar a los voluntarios sobre el experimento se obtiene el consentimiento informado por parte de los participantes del estudio (Anexo 1). Se eligieron a 10 personas (5 mujeres – 5 hombres) sanas con edades entre los 20 y



40 años de edad según los criterios de inclusión, para compararlas con una persona de control. Se obtuvo de ellos mediante venopunción una muestra de sangre periférica, de la cual se obtuvo las células mononucleares, mediante gradientes de densidad con Ficoll-Hypaque por centrifugación a 400g por 20' a temperatura ambiental. Estas células, se lavaron dos veces con medio de cultivo RPMI Invitrogen® a 300g por 10'. Para obtener la densidad celular se calculó por conteo en cámara de Neubauer, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Número de células} = X/4 (fd) (V) (D)$$

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

fd= factor de dilución Azul Tripán/suspensión celular

V = 10.000 volumen de la cámara de Neubauer

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

### **4.3 Evaluación del efecto del *Apis Mellifica* homeopatizada sobre la viabilidad celular de células mononucleares de sangre periférica de individuos sanos.**

El efecto del *Apis Mellifica* sobre la viabilidad celular, se realizó sobre las células mononucleares inmediatamente después de ser aisladas y mantenidas en incubadora a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> en un medio de cultivo celular RPMI suplementado con 10% de suero autólogo, 1% de aminoácidos no esenciales y 1% de penicilina/estreptomicina.

Luego del cultivo celular se obtuvieron células para valorar la toxicidad del *Apis Mellifica*; se realizó en cajas de cultivo con 96 pozos, el sembrado de  $1 \times 10^5$  células por cada pozo en un volumen total de 150  $\mu$ l 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 como “pozos control” para cada dilución y dosis. Por último se agregó *Apis Mellifica* dinamizada a la 30 CH en volúmenes de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14  $\mu$ l.

Se evaluó la viabilidad celular a las 48 y 72 horas de tratamiento por el método colorimétrico de MTT. Este método es simple y se usa para determinar la viabilidad celular, dada por el número de células presentes en el cultivo, lo cual puede medirse mediante la formación de un compuesto coloreado, debido a una reacción que tiene lugar dentro de las mitocondrias de las células viables. El MTT (Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazólico), es captado por las células y reducido por la enzima succínico deshidrogenasa mitocondrial a su forma insoluble formazan. El producto de la reacción, el formazan queda retenido en las células y puede ser liberado mediante la solubilización de las mismas. Para esto, una vez cumplido el tiempo, el medio de cultivo fue retirado de cada pozo y se adicionó 100  $\mu$ l 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 este tiempo de incubación se retiró el MTT de los pozos, y los cristales que se formazan generados por las células vivas fueron disueltos adicionando a los pozos 100  $\mu$ l 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:

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

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.

#### **4.4 Evaluación de los niveles de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica tratadas con *Apis Mellifica*.**

La cuantificación de los niveles de citoquinas se determinaron sobre las células mononucleares tratadas con *Apis Mellifica* homeopatizada con la dosis seleccionada y la potencia escogida la 30 CH previamente sucusionada, mediante el ensayo “Cytokine Human Panel” Invitrogen® en el equipo Luminex 200.

#### **4.5 Criterios de inclusión**

Para evaluar los niveles citoquinas en células mononucleares de sangre periférica tratadas con *Apis Mellifica* homeopatizada, se utilizaron once voluntarios sanos que cumplieron con los criterios de inclusión:

- Sujetos que no presentaran enfermedades virales, bacterianas o inmunodeficientes.
- Personas que no estuvieran recibiendo algún tipo de tratamiento alopático u homeopático.
- Sujetos que en su muestra tuvieran el número de células mononucleares necesarias para el estudio.

Los voluntarios sanos que cumplieron con los criterios de inclusión antes descritos, se les toma datos personales y la muestra de sangre periférica. A 10 de estas muestras se les expuso al medicamento y una de las numero once fue tomada como control a la cual no se expuso a ninguna sustancia.

#### **4.6 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.

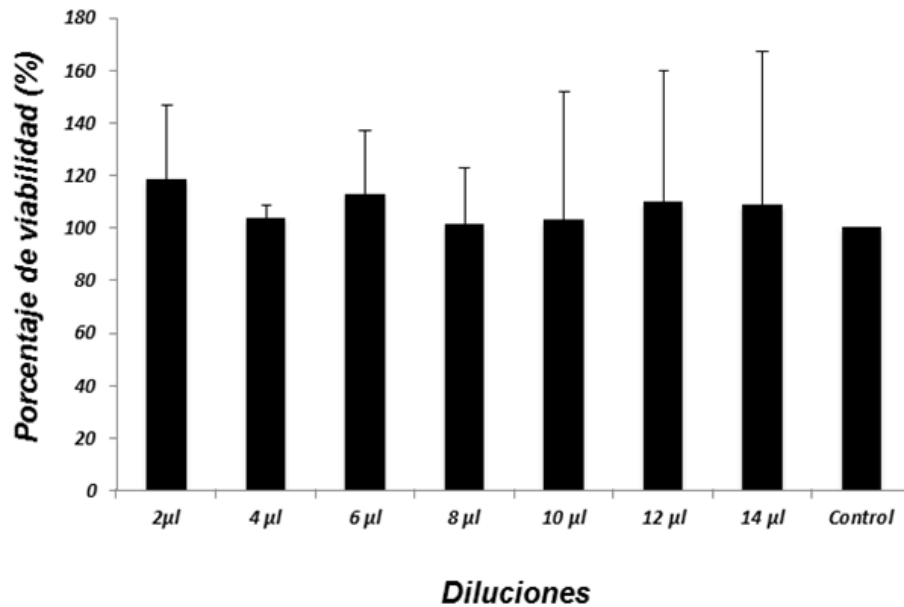
## 5 Resultados

Los resultados obtenidos son puntuales y/o transversales en células mononucleares de sangre periférica de individuos sanos (5 mujeres y 5 hombres), comparados con un control.

### 5.1 Viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica de individuos sanos al aplicar *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 ch.

La viabilidad de las células al exponerse al *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30CH se realizó a cabo estudiando las dosis de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14  $\mu$ l obteniéndose como resultado que en todos los volúmenes de *Apis Mellifica* se obtuvo proliferación celular en las diferentes dosis comparadas con las células del pozo control, la máxima proliferación se obtuvo con un volumen de 2  $\mu$ l con una proliferación del 18 % con referencia al control, (Figura No 1) por lo cual se decidió realizar el experimento con este volumen, por la mayor proliferación celular. Estos resultados encontrados en la medición de la viabilidad celular muestran que la *Apis Mellifica* a la 30 CH provoca en las células mononucleares un efecto mitogénico, que conlleva a proliferación de las mismas. Estos resultados, también, dejan ver que el *Apis Mellifica* a la 30 CH en los diferentes volúmenes aplicadas a las células mononucleares no provoco citotoxicidad.

**Figura 5-1:** Efecto “in vitro” del *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 CH sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periférica a las 72 horas de incubación.

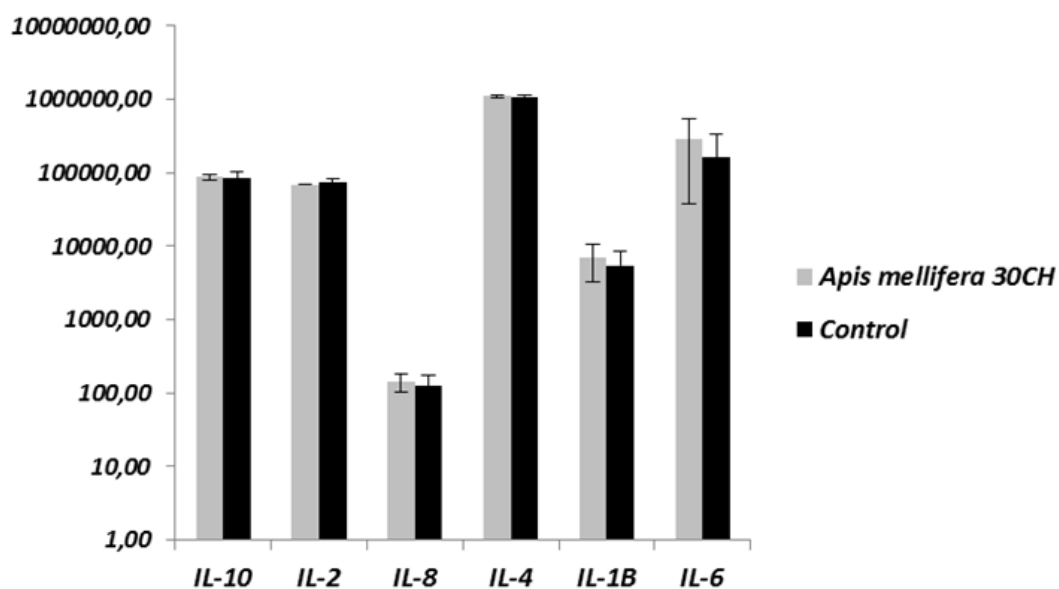


Los resultados obtenidos con la prueba de viabilidad, demuestra que *Apis Mellifica* a la 30 CH tiene un efecto proliferativo en la células mononucleares en sangre periférica a pesar de que esta concentración no contiene moléculas activas según el modelo molecular.

## 5.2 Cuantificación de los niveles de las citoquinas medidas al aplicar *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 ch versus control.

La cuantificación de los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 se determinó sobre las células mononucleares tratadas con *Apis Mellifica* homeopatizada a 30 CH versus el control, utilizando el “Cytokine Human Panel” Invitrogen® en el equipo Luminex 200®. Se Evidenció aumentos en la producción de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 pero no fueron significativas (P>0.5) (Figura No 2) (Tabla No 1).

**FIGURA 5-2:** Efecto de “*in vitro*” *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 CH sobre los niveles de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 en células mononucleares de sangre periférica.



**Tabla 5-1:** Efecto “*in vitro*” de *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 CH sobre la producción de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 de las células mononucleares aisladas de la sangre periférica. Valores individuales (P1= Paciente uno).

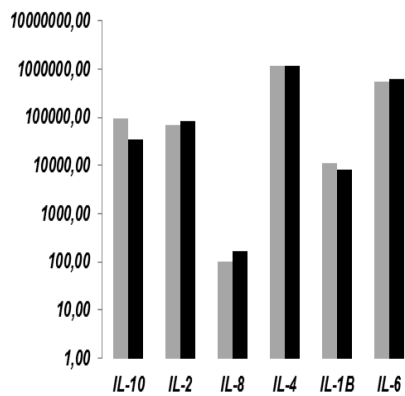
	Apis											
	IL-10	IL-2	IL-8	IL-4	IL-1B	IL-6	Control 1	Control 2	Control 3	Control 4	Control 5	Control 6
P1	94290,82	69732,17	102,63	1159566,52	11649,05	545605	34775,78	83884,87	171,85	1142103,47	8200	625764,5
P2	91029,09	69598,29	171,88	1084913,78	12067,01	169928,5	98536,95	69867,27	171,85	1092382,32	8200,00	230205,5
P3	93902,69	69263,92	171,88	1164245,20	8200,00	797168	96541,50	95754,76	110,58	1125315,63	8200	336,746
P4	75843,94	68936,57	171,88	1054935,39	9016,00	452122	94290,82	69934,30	46,78	1112963,12	10862,23	205,253
P5	89401,28	69565,87	103,55	1080553,94	4210,29	87751	91029,09	69732,17	106,27	1100455,05	3732,11	80,469
P6	83586,34	69532,68	171,87	1062058,52	9181,92	392340,5	93902,69	69464,01	103,06	1092382,32	5763,68	174,181
P7	75529,12	69264,12	73,36	1076644,50	1647,70	80469	75843,94	69598,29	171,85	1046334,27	1605,75	80,469
P8	90576,94	69264,37	171,87	1116811,98	3218,67	81920,5	89401,28	68739,85	171,85	1076841,05	2731,14	80,469
P9	91647,24	69799,61	107,50	1092586,14	5113,09	138698,5	83586,34	68806,69	27,55	1068972,14	1552,70	80,469
P10	90765,11	69665,13	171,87	1151299,56	4666,62	111462	88027,47	69800,23	158,07	1076644,50	3425,14	70,072
Promedio	87657,26	69462,27	141,83	1104361,55	6897,03	285746,50	84593,59	73558,24	123,97	1093439,39	5427,27	162768,77
DESV	6950,159418	270,0045	39,83774	40928,44109	3608,332	248645,128	18718,89	9025,153	54,28177	28268,61088	3274,201	177300,0754

### 5.3 Respuesta individual de las citoquinas en células mononucleares al aplicar *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 ch vs control

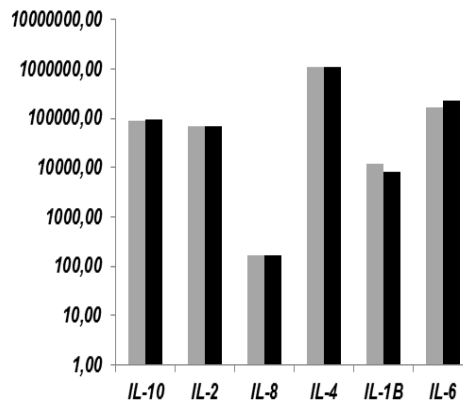
La medición de los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 producidas por células mononucleares expuestas a la *Apis Mellifica* homeopatizada a 30 CH versus el control, se evaluó, Se evidencio que la expresión de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 es uniforme en los diferentes sujetos evaluados. En general, no hubo una diferencia significativa e individualizadora entre pacientes y el control (Figuras No 3)

**FIGURA 5-3:** Producción individual de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 de las células mononucleares aisladas de la sangre periférica expuestas a *Apis Mellifica* a la 30 CH de los pacientes 1 al 10

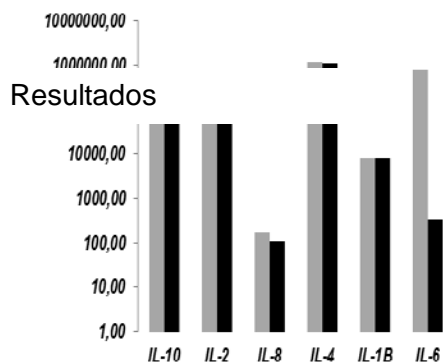
Paciente uno (P1)



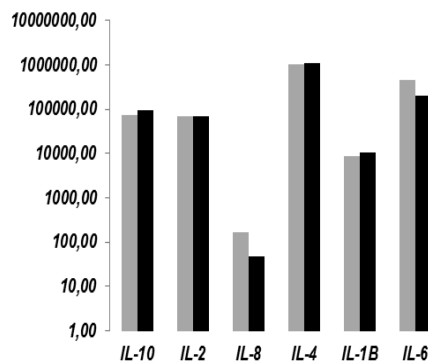
Paciente dos (P2)



Paciente tres (P3)

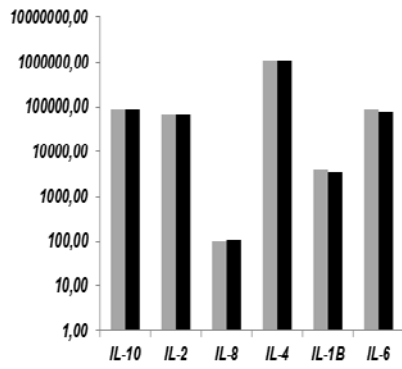


Paciente cuatro (P4)

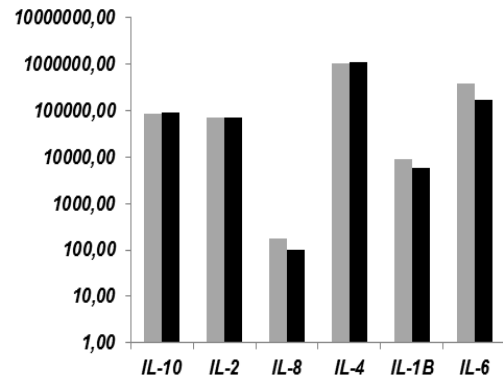




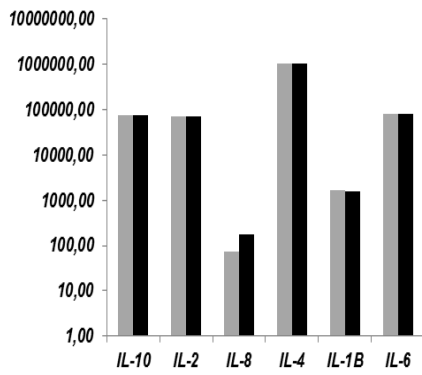
Paciente cinco (P5)



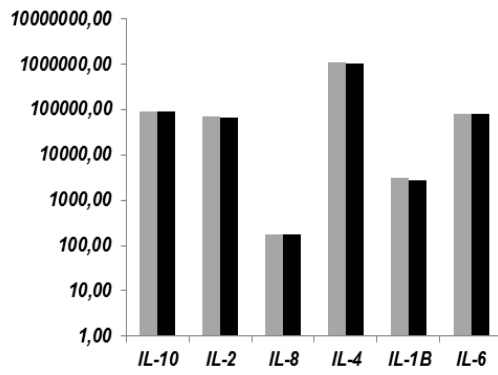
Paciente seis (P6)



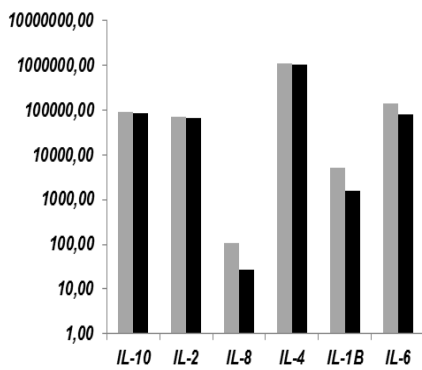
Pacientes siete (P7)



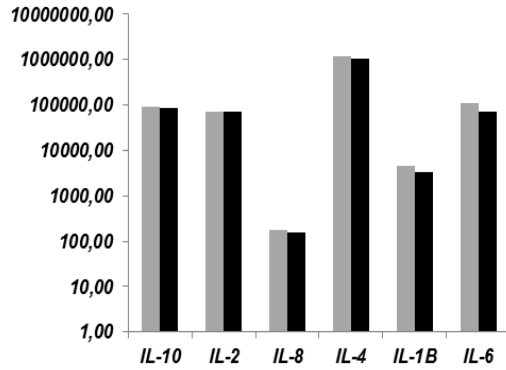
Paciente ocho (P8)



Paciente nueve (P9)



Paciente diez (P10)





## 6 Discusión

La homeopatía es una disciplina experimental, tal como se evidencia en la vasta cantidad de datos acumulados por más de dos siglos, es por esta razón que la inmunología se está convirtiendo en otra forma de documentar la acción de los medicamentos homeopáticos convirtiéndose en una herramienta adecuada para documentar el comportamiento de los organismos al exponerse a la acción de sustancias naturales homeopatizada

Los modelos experimentales in vitro de células del sistema inmune se utilizan cada vez con más frecuencia para, por esta razón se escogió las células mononucleares para este experimento y poder documentar el comportamiento de las mismas al expresar diferentes citoquinas.

Se encontró en este estudio que las células mononucleares expuestas a *Apis Mellifica* homeopatizada tiene un efecto estimulante del crecimiento celular de las mismas con referencias al control, crecimiento celular que confirmaría varios postulados de la doctrina homeopática como la acción y reacción y la dosis infinitesimal,

En el experimento con el kit de citoquinas, cuantificadas con el equipo de Luminex 200®, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, entre las citoquinas producidas por las células mononucleares al medicamento homeopático *Apis Mellifica* frente al control, pero si se presentó variaciones individuales entre los pacientes confirmando la individualidad a pesar de ser expuestos al mismo medicamento homeopático a la misma concentración. En cuanto a la no variación estadísticamente significativa de las citoquinas esto puede ser explicado por los siguientes enunciados:

- La Potencia utilizada (30CH), Aunque esta es la potencia escogida por Hahnemann para realizar la experimentación pura, existen potencias con mayor impacto sobre el energía vital, como las de la escala milesimal. Esto puede generar nuevas investigaciones en el futuro que puedan aclarar esta duda.
- Se conocen alrededor de más de 100 Citoquinas, los resultados obtenidos muestra que el *Apis Mellifica* homeopatizada no altera el perfil de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL- 2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 evaluados en este experimento y que su acción puede deberse a la expresión de otras citoquinas. Se necesitan nuevas experimentaciones para documentar este comportamiento.

# 7 Conclusiones y Recomendaciones

## 7.1 Conclusiones

Este estudio, documenta el efecto de la ultra dilución del *Apis Mellifica* sobre la proliferación de las células mononucleares in vitro.

El efecto de *Apis Mellifica* sobre la viabilidad de las células mononucleares in vitro a las 72 horas de incubación fue mayor cuando se empleó la dosis de 2 µl, la explicación de este efecto no se conoce, son necesarios más estudios para determinar de qué forma el *Apis Mellifica* homeopatizada incrementa el número de células mononucleares de sangre periférica in vitro.

No se puede determinar cambios en la producción de la citoquinas para el *Apis Mellifica* homeopatizada a la 30 CH al cuantificar las siguientes citoquinas: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10.

Este estudio integra los conceptos de la doctrina homeopática (dosis infinitesimal, Medicamento homeopático) con conceptos de medicina clásica (estimulación inmunológica de células mononucleares).

Este experimento deja planteados nuevos proyectos de investigación para determinar el Perfil de Estimulación de Citoquinas para el *Apis Mellifica* homeopatizada midiendo otras citoquinas diferentes a las utilizadas en este experimento.

## 7.2 Recomendaciones del estudio

Esta evaluación sugiere que debe estudiarse un panel más amplio de citoquinas que permita documentar y al mismo tiempo explicar el mecanismo de acción para el *Apis Mellifica* sobre células mononucleares *in vitro*.

Puede ampliarse este estudio utilizando *Apis Mellifica* homeopatizada en potencias diferentes a la usada, por ejemplo potencias como 12 CH, 200 CH y otras para documentar su comportamiento experimental.

Puede realizarse un estudio escogiendo los pacientes siguiendo la doctrina homeopática, escogiendo pacientes con características de *Apis Mellifica* luego de una repertorización homeopática

Puede realizarse un estudio de medición del mismo panel de citoquinas comparando entre si otros medicamentos homeopáticos, para conocer si este grupo de citoquinas empleada en este estudio pueden ser estimuladas por otro medicamento homeopático

# A. Anexo: Modelo de consentimiento informado



## Consentimiento informado

**Fecha:** Junio de 2011

En la Universidad Nacional de Colombia se encuentra en desarrollo un proyecto de investigación denominado “**Evaluación de la respuesta inmunológica del *Apis Mellifica* homeopatizada en cultivos de células mononucleares en sangre periférica**” con el propósito de determinar la acción de medicamentos homeopáticos sobre células mononucleares de humanos. Esta investigación es realizada por Javier Eduardo Torres Carranza Médico cirujano como requisito para optar el título de Magister en Medicina Alternativa; tesis dirigida por el Dr. Jorge Eduardo Caminos

Para poder efectuar la medición es necesario obtener una muestra de sangre de donantes sanos voluntarios. A partir de dicha muestra se obtendrán células mononucleares que serán expuestos al medicamento homeopático. Una vez se realicen y registren las observaciones no se utilizarán con ningún otro propósito. La obtención de la muestra se logra con la venopunción en miembros superiores, este procedimiento tiene complicaciones como dolor, infecciones locales, daño reversible de la pared de la vena y la formación de un hematoma en el área de la venopunción.

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.

## **AUTORIZACION**

He leído el procedimiento descrito arriba. El (la) investigador(a) me ha explicado el estudio, He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a las garantías de la ley. He sido informado/a de los posibles perjuicios que la extracción de una muestra de ml de sangre puede tener sobre mi bienestar y salud. Ha contestado mis preguntas por lo cual doy Voluntariamente mi consentimiento para participar en este estudio

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 “Cytokine Human Panel” Invitrogen®**

Especificaciones generales

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: Quimioquinas

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 °



## Bibliografía

- [1]. SCHMIDT Josef M. 200 years *Organon of Medicine* – A comparative Review of its six editions (1810 – 1842) *Homeopathy* (2010) 00, 271.277.
- [2]. BAYONA J. Correa f. Cubillos c. González f. Guerrero m. Gutiérrez s. López I. Martillett i. Quiroz t. Ramírez a. Morales h. Rojas a. Riveros c. Riveros n. Vargas I. Vega a. *Doctrina homeopática*. Ed. Fundación Instituto Homeopatía Luis G Páez 2005 Pág. 12-21
- [3]. OWEN David. *Principios y prácticas de la homeopatía*. Ed. Elsevier Ltd 2009 Pág. 16.
- [4]. HAHNEMANN S. *Organon del Arte de curar*. Ed. B.jain publishers(P) LTDA. 2008.
- [5]. BELLAVITE Paolo, Ricardo Ortolani, Franscesco Pontarollo, Giuseppina Pitari and anita Conforti. *Immunology and homeopathy*. 5 the Rationale of the “*simile*” eCAM 2007; 4(2) 149-163
- [6]. REY Louis . Termoluminescence of ultra-high dilutiones of lithium chloride and sodium chloride. *Physica A* 323 (2003) 67-74.
- [7]. VICKERS A. , R. McCarney, P. Fischer and R. van Haselen. Can homeopaths detect homeopathic medicines? A pilot study for a randomised, double-blind, placebo controlled investigation of the provind hypothesis. *British Homeopathic Journal* (2001) 90, 126-130.
- [8] W.E. Boyd and M. Brit. Biochemical and biological evidence of the activity of high potencies. *Homeopathy* (2011) 100, 36-61.

- [9]. ELIANZHUYIL Surendran Sunilla, Ramadasan Kuttan, Korengath Chandran Preethi and Girija Kuttan. Dynamized Preparations in Cell Culture eCAM 2009;6(2) 257-263.
- [10]. SIMONE Martins de Oliveira, Carolina Camargo de Oliverira, Ana Paula Resseti Abud, Fernando de Souza Fonseca Guimarães, Raffaello P Di Bernardi, Ediely LO Coletto and Dorly de Freiteas Buchi. Mercurius solubilis: actions on macrophages. Homeopathy (2011) 100, 228-236.
- [11]. Paolo BELLAVITE, Ricardo Ortolani and Anita Conforti. Immunology and Homeopathy. 3 Experimental Studies on Animal Models. eCAM 2006;3(2)171-186.
- [12]. Cheppail RAMACHANDRAN, P.K. Raveendran Nair, Richard T. Clément and Steven J. Melnick. Investigation of Cytokine Expression in Human Leukocyte cultures with Two Immune-Modulatory Homeopathic Preparations. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 2007;13 (4) 403-407.
- [13]. BELLAVITE P, Confortani A, Pontarollo F, Ortolani R. Immunology and homeopathy: 2. Cells of the immune system and inflammation. Evidence-Based Complement Alternat Med 2006; 3: 13-24
- [14]. BELARDELLI F. Ferrantini M. Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. TRENDS in Immunology Vol 23 No 4 April 2002 201- 207
- [15]. DJOBA Siawaya JF, Roberts T, Badd C, Black G, Golokai HJ, et al (2008) An Evaluation of Commercial Fluorescent Bead-Based Luminex Cytokine Assays. Plos ONE 3(7): e2535 doi:10.1371/journal.pone.0002535
- [16]. TASMAN, William; Jaeger, Edward A. Duane's Ophthalmology. Volumen 2 Capitulo 25 General Principles of Immunology Lippincott Williams & Wilkins (2011) Philadelphia.
- [17]. DEMARQUE D., Jouanny J., Poitevin B and Saint-Jean Y. Farmacología y Materia Medica Homeopatica (1997) Primera edición BOIRON S.I.H pág 37-39.

[18]. Marc CENNELIER. La Alergia y la Homeopatía Editorial Paidotribo Barcelona 1999

[19]. POITEVIN B., Davenas E., Benveniste J. In Vitro immunological degranulation of human basophils is modulated by Lung histamine and *Apis mellifica*. Br. J. Clin Pharmac (1988), 25, 439-444.

[20]. ROITt, Ivan M. Inmunología fundamentos. 9 edición 1998 Editorial medica Panamericana Cap. 1 página 3.

[21]. LEVY L, Bell L. General practice audit of asthma in childhood. BMJ 1984; 289: 11 15- 18.

[22]. BAUCHAU V, Durham SR. Epidemiological characterization of the intermittent and persistent types of allergic rhinitis. Allergy 2005; 60:350–353.

[23]. FRANZESE CB, Burkhalter NW. The patient with allergies. Med Clin North Am. 2010 Sep; 94(5):891-902.

[24]. REILLY DT, Taylor MA, Campbell J. Is homoeopathy a placebo response? A controlled trial of homoeopathic immunotherapy in atopic asthma. Proceedings of the 45<sup>th</sup> Congress of the Liga Medicorum Homoeopathica Internationalis, 1990.

[25]. F WIEGANT and R Van Wijk A cell model of the Similia Principle Homeopathy (2010) 99, 3–14.

[26]. G. T. LEWITH, A. D. Watkins Unconventional therapies in asthma: an overview ali Prgy 1996: 51: 761-769.

[27]. BELLAVITE P, Conforti A, Pontarollo F, Ortolani R. Immunology and homeopathy. 2. Cells of the immune system and inflammation. Evid Based Complement Alternat Med 2006;3:13–24.

[28]. BELLAVITE P. Disease as information disorder. *Advances—J. Body-Mind Health* 1997;13:4–7.

[29]. PIRRA Raul. ORGANON DEL ARTE DE CURAR : EN BUSQUEDA DEL PENSAMIENTO ORIGINAL DE HAHNEMAN 1ª Ed. 2008 RGP Ediciones pag 136-138.

[30]. WEINER H. L. Oral tolerance for the treatment of autoimmune diseases. *Annu Rev Med* 1997; 48: 341–351.

[31]. HEINE H, Schmolz M. Immunoregulation via ‘bystander suppression’ needs minute amounts of substances – a basis for homeopathic therapy? *Med Hypotheses* 2000;54:392–3.

[32]. SCOTT P. Commins, Larry Borish and John W. Steinke. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines. *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology* doi:10.1016/j.jaci.2009.07.008

[33]. ANTHONY Meager Measurement of cytokines by bioassays: Theory and application. *Methods* 38 (2006) 237–252

[34]. BECKER, Kenneth L Principles and Practice of Endocrinology & Metabolism (3rd Edition) cytokines part of " chapter 173 - growth factors and cytokines. Lippincott Williams & Wilkins, 2001

[35]. TALEISNIK, Samuel. Receptores celulares y la transducción de señales. , Argentina: Editorial Brujas, 2010. P 97. disponible en [Http://site.ebrary.com/lib/unalbogsp](http://site.ebrary.com/lib/unalbogsp).

[36]. RUGELES MT, Patiño PJ, Montoya CJ. *Inmunología una ciencia activa*. 2ª edición. Ed Universidad de Antioquia, 2009: 332-350.

[37]. EUGENE Y. Kim, Kamal D. Moudgil\*Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines *Immunology Letters* 120 (2008) 1–5.

- [38]. PATIL J.D. gems of homoeopathic materia medica. B. Jain Publishers (p) Ltd. 2007: 92-99
- [39] DEMARQUE D., Jouanny J., Poitevin B. Y Sant-Jean Y. Farmacologia y materia medica homeopatica 1ª edición. Boiron S.I.H (1997): 37-39.
- [40] BILDET J., Guyot M., Bonni F., Grignon M.F., Poitevin B., Quilichini R. MISE en évidence des effets de dilutions d' apis mellifica et d' apium virus vis-à-vis de l'érythème provoqué par un rayonnement u.v. chez le cobaye. Annales Pharmaceutiques Françaises. (1989). 47 n°: 24-32.
- [41]. PHATAK S.R. MATERIA MÉDICA DE MEDICINAS HOMEOPATICAS. B. Jain Publishers (p) Ltd. 2006 Págs 78-84
- [42] .NASH E.B. Fundamentos de terapéutica homeopática 2ª Edición. Librería EL Ateneo Editorial 1984 Pág. 88-91.
- [43]. TYLER M.L imágenes de los medicamentos homeopáticos. 1ª Ed. B.Jaim Publishers (P) Ltd. 2008 pags 88-94.