

Artículo original

Evaluación de los Efectos Anticáncer de Preparaciones de Alta Dilución de Modelos *In Vitro

**Rajesh Shah.

Resumen

PALABRAS CLAVE:

Cáncer, Homeopatía, Nosode de VIH, Nosode de hepatitis C, Nosode de cáncer, Etanol, Ley de los semejantes.

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad. Algunos experimentos recientes con preparaciones altamente diluidas han mostrado efectos anticáncer en modelos *in vitro* e *in vivo*. Este principio fundamental de la Homeopatía sugiere que las sustancias capaces de ocasionar ciertas enfermedades podrían tener la capacidad de alterar el mismo mal si se utiliza dicha sustancia de forma ultra diluida y potenciada. Esta hipótesis llevó a examinar a ciertos carcinógenos por su potencial eficacia anticáncer. La prueba de sulfurodamina B resulta útil para determinar la citotoxicidad en estudios basados en células para evaluar agentes anticancerosos. En el protocolo estuvieron involucradas la preparación de diluciones homeopáticas, incubación de células con diluciones homeopáticas, unión de SRB y la medición de absorbancia.

Las células fueron tratadas con potencias 30C de: nosode de VIH, nosode de hepatitis C, **Carcinosinum**, nosode de cáncer y etanol, así como un control positivo (adriamicina). Las preparaciones fueron evaluadas en cultivos de células: HeLa, HepG2, A549, MCF, 7 T 24, Jurkat, SCC 40 y también HL-60. La actividad anticáncer de las preparaciones homeopáticas se han medido mediante porcentaje de inhibición del crecimiento, y todas mostraron actividad anticáncer en células HeLa, HepG2, A 549, T 24 y HL-60. El **Carcinosinum** mostró actividad anticáncer en las células SCC 40, mientras que el nosode de Hepatitis C, el **Carcinosinum** y el nosode de cáncer fueron efectivos contra los cultivos de células de cáncer de mama MCF-7. Sin embargo, ninguna de las preparaciones mostró actividad alguna contra los cultivos de célula de leucemia. A manera de conclusión, preparaciones altamente diluidas y potencializadas han demostrado efectos anticáncer y citotóxicos en cultivos celulares, lo cual sustenta el razonamiento del principio homeopático fundamental de la Ley de los Semejantes, y trazando el camino para ampliar su aplicación en los servicios de salud.

Abstract

Cancer is one of the leading causes of mortality. The recent experiments with high-diluted preparations have shown anticancer effects in in vitro and vivo models. The fundamental principle of homeopathy suggests that the substances capable of producing certain diseases may have a capacity to alter the same disease if used in the ultra-dilute-potentized form. This hypothesis led certain carcinogens for

*Artículo publicado con la autorización expresa del autor, difundido originalmente en *International Journal of High Dilution Research* 2019; 18(1):12 - 27 Traducción del inglés al español: Jesús Navarro Hernández.

**Departamento de investigación, *Life Force*, Mumbai, India. Correspondencia con el autor: sanjivak@gmail.com

Recibido: agosto, 2018. Aceptado: septiembre, 2019.

KEYWORDS:

Cancer, Homeopathy, HIV nosode, Hepatitis C nosode, Cancer nosode, Ethanol, Law of similar.

examining their potential anti-cancer efficacy. Sulforhodamine B assay is useful in determining the cytotoxicity in cell-based studies in evaluating anticancer agents. The protocol involved preparation of homeopathy dilutions, incubation of cells with homeopathy dilutions, SRB binding, and measurement of absorbance.

*Cells were treated with 30 potencies of HIV nosode, Hepatitis C nosode, **Carcinosin**, Cancer nosode, and Ethanol along with positive control (Adriamycin). The preparations were tested in HeLa, HepG2, A549, MCF 7, T 24, Jurkat, SCC 40, and HL-60 cell-lines. The homeopathic preparations have shown the anticancer activity measured as percentage growth inhibition. All the homeopathy preparations studied, exhibited anticancer activity on HeLa, HepG2, A 549, T 24, and HL-60 cells. **Carcinosin** showed the anticancer activity on the SCC 40 cells. Hepatitis C nosode, **Carcinosin**, and Cancer nosode have shown the anticancer activity on breast cancer cell line MCF-7. None of the preparations exhibited anticancer activity on Human Leukemia Cell Line. High-dilution, potentized preparations of certain carcinogens have demonstrated anti-cancer, cytotoxic effects in the cell-line model, supporting the rationale of the fundamental homeopathic principle the Law of Similars, opening windows to its wider applications in healthcare.*

Introducción

El cáncer es una enfermedad difícil y aún no se le considera completamente tratable, por lo cual siempre se necesitan nuevas opciones terapéuticas. Algunos estudios recientes con preparaciones homeopáticas altamente diluidas han mostrado efectos anticáncer en cultivos celulares¹⁻⁴, también se ha demostrado la regresión del cáncer en modelos animales⁵ utilizando preparaciones de alta dilución; por ello se alienta más investigación hacia este rumbo.

El sistema homeopático fue iniciado por Samuel Hahnemann en 1796, casualmente el mismo año en el cual Edward Jenner⁶ introdujo las primeras vacunas. Ambos acercamientos a la medicina se basan, a grandes rasgos, en la observación de sustancias u organismos capaces de producir enfermedades en humanos, así como la posibilidad de alterar el padecimiento en sí, administrando éste al cuerpo de manera atenuada (como es el caso de las vacunas) o potencializada o diluida (como es el caso de la medicina hahnemanniana).

En el caso de la Homeopatía, esta observación se traduce en la Ley de los semejantes. Para comprobar el principio fundamental homeopático, algunos carcinógenos conocidos fueron seleccionados para examinar su potencial eficacia como anticáncer.

A los nosodes se les considera de amplio espectro, y son preparaciones homeopáticas fre-

cientemente utilizadas, cuya fuente son materiales biológicos como cultivos o muestras clínicas de microorganismos (bacterias, hongos y virus) parásitos, tejidos malignos (como los cancerígenos), o productos de desperdicio de humanos o animales⁷. Algunos nosodes han exhibido actividad contra las enfermedades en las cuales trazan su origen. Los nosodes preparados con el cultivo de células del VIH⁸, virus del hepatitis C⁹ y parásitos *Plasmodium falciparum*¹⁰ han mostrado actividad contra enfermedades en pruebas clínicas o modelos de cultivo celular, validando la Ley de los semejantes.

Los males asociados con la infección del VIH son comunes. El virus deprime al sistema inmunológico y puede potencialmente causar cánceres como el sarcoma de Kaposi, linfoma no Hodgking y cáncer cervical¹¹. Por otra parte, los individuos infectados con hepatitis C tienen un riesgo más alto de desarrollar cáncer hepático¹². El alcohol etílico (C₂H₆O), subsecuentemente conocido como etanol, ha sido clasificado como un carcinógeno del grupo I por el Centro Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (IARC)¹³ y puede ocasionar cáncer de mama, colorrectal, laringe, hígado, esófago, cavidad oral y faringe¹⁴. Siguiendo los principios de la Ley de los semejantes, el virus del VIH, la hepatitis C y el etanol potenciado podrían actuar en contra de estos males si se administran en una dosis potenciada a una dilución alta.

Nuestros estudios anteriores con Khuda-Bukhsh *et al.*, han corroborado este principio al demostrar los efectos anticáncer de los nosodes de VIH¹⁵

y hepatitis C¹⁶ en modelos de cultivo celular. Decidimos repetir esta parte del estudio, y agregamos tres sustancias medicinales: etanol potenciado y un nosode de cáncer nuevo, así como uno de los antiguos y populares medicamentos homeopáticos preparados de tejidos de cáncer indocumentados (**Carcinosinum**), para examinar sus potenciales efectos anticáncer.

La evaluación de citotoxicidad con base en células *in vitro* promete ser un método útil, confiable y rápido para demostrar la actividad quimioterapéutica de un medicamento¹⁷. Los ensayos de MTT/MTS¹⁸ y sulfurodamina B (SRB) son técnicas que se utilizan ampliamente para medir citotoxicidad inducida por medicamentos, así como la proliferación celular para aplicarse al cribado de drogas en gran escala¹⁹. El ensayo de SRB, el cual fue desarrollado por Skekhan y otros colegas, se basa en la habilidad del tinte de SRB a enlazarse de manera electroestática y de forma dependiente del pH a residuos de aminoácidos básicos de proteína.

En condiciones ácidas leves, el SRB se enlaza con residuos de aminoácidos básicos de proteínas de células fijadas con ácido tricloroacético (TCA), el cual puede ser cuantitativamente extraído de células y solubilizado para la medición de densidad óptica (OD) por bases débiles como el Tris. Los resultados del ensayo SRB fueron lineales con el número de células y proteína celular que se midieron en densidad celular de microtituladoras de 96 pocillos que iban del 1 al 200% de confluencia²⁰. El método SRB es apropiado, sensible y el resultado final es colorimétrico, no destructivo e indefinidamente estable. El mejor uso de este método es para la determinación de densidad celular con base en la medición del contenido de proteína celular. El método descrito aquí ha sido optimizado para el cribado de la toxicidad de compuestos en células adherentes en un formato de 96 pocillos²¹.

Materiales y métodos

Procuración de las sustancias medicinales

El nosode de VIH se preparó utilizando suero de VIH tipo I y II, que se obtuvo de pacientes infectados con el virus, número de protocolo LF/001/09⁷; el nosode de Hepatitis C se elaboró utilizando suero de VHC tipo I y III extraído de pacientes infectados, con un número de protocolo de LF/002/09⁸, y el nosode de cáncer ha sido desarrollado por el autor en los últimos años siguiendo el HPI (*Farmacopea Homeopática de la India*) y otras directrices²².

En el caso del nosode de cáncer, fue preparado por el autor de varios tejidos de cáncer, incluyendo carcinoma de células escamosas de la piel, adenocarcinoma rectal, entre otros. Se obtuvieron y se documentaron consentimientos informados (aprobados por el comité) de los donadores para la utilización de materiales biológicos (suero y tejidos). En el caso del **Carcinosinum**, un nosode homeopático conocido, se consiguió en el mercado, que no cuenta información adecuada de su fuente (SBL, lote no. H1413685). El nosode de etanol (dispensación de 92%, según los estándares de HPI) fue preparado hasta la potencia 30c por el autor. El uso de nosodes para el ensayo SRB *in vitro* fue aprobado por el comité de ética, número de protocolo ACTREC/LF/15).

Preparaciones homeopáticas

Los cultivos celulares fueron tratados con la potencia 30C de las siguientes preparaciones de alta dilución:

- Nosode de VIH (HN0D07), se preparó del suero de individuos infectados con VIH tipo I y II, según el método de la *Farmacopea Homeopática de la India*.
- Nosode de Hepatitis C (HCN0D8) se preparó del suero de individuos infectados con Hepatitis C tipo I y III, según el método de la *Farmacopea Homeopática de la India*.
- Carcinosinum** (CS1N01) se compró de los laboratorios Boiron Ltd. en Sharda.
- Nosode de cáncer (CN0D02) se preparó de tejidos de cáncer, según el método de la *Farmacopea Homeopática de la India*.
- Etanol (AP0T03) se compró de Merck, Alemania y se potencializó.
- Adriamicina/ADR (Doxorubicina como control positivo).
- Control celular.

Todas las preparaciones anteriormente mencionadas, se diluyeron utilizando el alcohol como vehículo, el cual se le compró a Merck (pureza del 99.9%) en condiciones asépticas y potencializadas utilizando un potenciado electro-mecánico estándar.

Cultivos Celulares

En el presente estudio se utilizaron cultivos de células de cáncer cervical (HeLa), Hepatoma (Hep-G2), carcinoma de pulmón (A-549), cáncer de mama

(MCF-7), cáncer de vejiga (T-24), leucemia (Jurkat), célula escamosa oral (SCC-40), y leucemia mieloide (HL-60).

Selección de dosis

A los cultivos se les administró la potencia 30C de nosode de VIH, nosode de hepatitis C, **Carcinosinum**, nosode de cáncer y etanol potenciado y se utilizaron las diluciones de 1:10, 1:05, 1:01 y directa (30C).

Ensayo SRB

Se tomó como referencia la técnica del ensayo de SRB según el programa de desarrollo terapéutico del Instituto Nacional del Cáncer. El centro avanzado para el tratamiento, investigación y educación de cáncer (ACTREC, por sus siglas en inglés), proporciona un servicio comercial para el cribado de medicamentos anticáncer. El trabajo se llevó a cabo a través de un servicio personalizado en ATREC.

Las células se cultivaron en un medio RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) con un contenido de suero fetal de bovino de 10% y 2mM de L-glutamina. Para los presentes experimentos de cribado, las células se cultivaron en microtituladoras de 96 pocillos en 100 μ L en una densidad de conteo celular de +5000 por plato. La densidad de siembra celular inicial se seleccionó dependiendo del tiempo de duplicación de los cultivos individuales. Las placas se incubaron a 37°C, 5% CO₂, 95% aire y una humedad relativa del 100% durante 24 horas previas a la administración de medicamentos experimentales.

Las muestras homeopáticas (potencia de 30C; directa) se almacenaron a temperatura ambiente, se diluyeron a 1:10, 1:05 y 1:01 con el vehículo (alcohol no potenciado). Alícuotas de 10 μ l de estas distintas diluciones homeopáticas se agregaron al pocillo apropiado, el cual ya tenía un contenido de 90 μ l del medio, lo cual resultó en las concentraciones requeridas finales del medicamento, por ejemplo 10 μ g/ml, 20 μ g/ml, 40 μ g/ml, 80 μ g/ml.

Tras añadir el compuesto, las placas fueron incubadas en condiciones estándar durante 48 horas y el estudio se terminó con la adición de ácido tricloroacético (TCA). Las células se fijaron *in situ* añadiendo cuidadosamente 50 μ l de TCA 30% (p/v) frío

(concentración final de 10% TCA) y se incubó durante 60 minutos a 4°C. Se tiró la solución supernadante y las placas se lavaron cinco veces, y secadas con aire. La solución SRB de 50 μ l a 0.4% (p/v) en 1% de ácido acético se agregó a cada uno de los pocillos, y las placas se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente. Tras la tinción, el tinte sin consolidar se recuperó y los residuales se retiraron al lavar 5 veces con ácido acético del 1%. Las placas se secaron con aire, subsecuentemente, las tinciones se eludieron con 10 mM de base de trizma, y la absorbancia se leyó en lector de placas a una longitud de onda de 540 nm con una longitud de onda de referencia de 690 nm.

El crecimiento porcentual se calculó de placa en placa para pocillos de prueba de manera relativa a los pocillos de control. El crecimiento porcentual se expresó como la proporción de absorbancia promedio de pocillos de prueba al porcentaje de absorbancia promedio de los pocillos de control por 100.

Utilizando las seis medidas de absorbancia [tiempo cero (Tz)], crecimiento del control (C), y crecimiento de prueba en la presencia de medicamento en los cuatro puntos de concentración (Ti), el porcentaje de crecimiento se calculó a cada uno de los niveles de concentración del medicamento. La inhibición de crecimiento porcentual se calculó de la siguiente manera: $[(Ti/C) \times 100 \%$.

La inhibición de crecimiento del 50% (GI50) se calculó desde $[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100$, que es la concentración del medicamento que se obtiene de una reducción del 50% en el incremento neto de proteínas (según se midió en la tinción de SRB) en células de control durante la incubación medicamentosa. La concentración de droga que resulta en inhibición total del crecimiento (TGI), se calcula mediante $Ti=Tz$.

El experimento se condujo en triplicado para cada cultivo de manera que pudieran validarse los resultados.

Resultados

Las imágenes 1-3 muestran el crecimiento celular tras la tinción de SRB en cultivos de A-549, MCF-7 y T-24, indicando la eficacia de muestras de prueba comparadas con los controles.

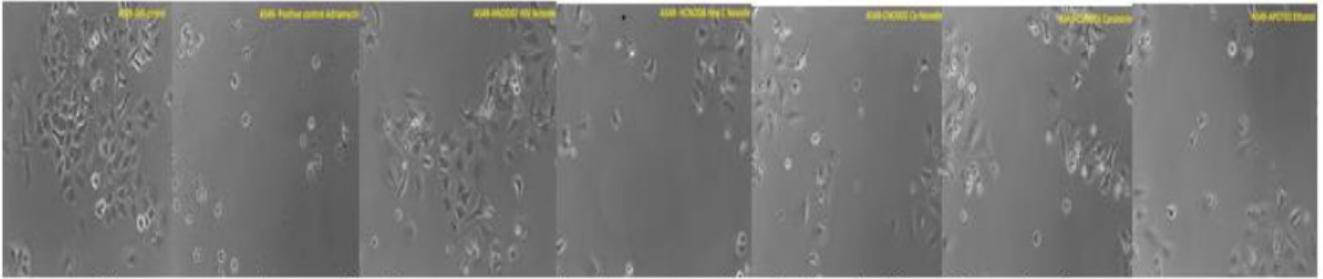


Imagen 1. Eficacia en A-549 (cultivo celular del pulmón):
Hepatitis C, VIH, **Carcinosinum**, nosode de cáncer y etanol con el control positivo y el de cultivo.

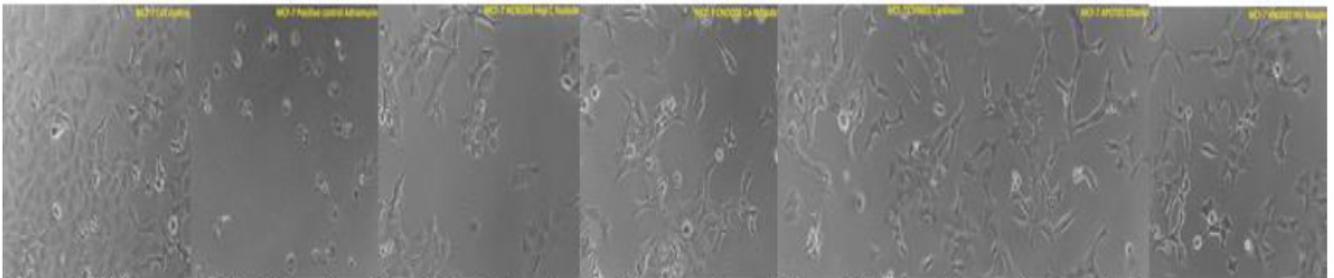


Imagen 2. Eficacia en MCF 7(cultivo celular de mama):
Hepatitis C, **Carcinosinum**, nosode de cáncer y etanol con el control positivo y el de cultivo.

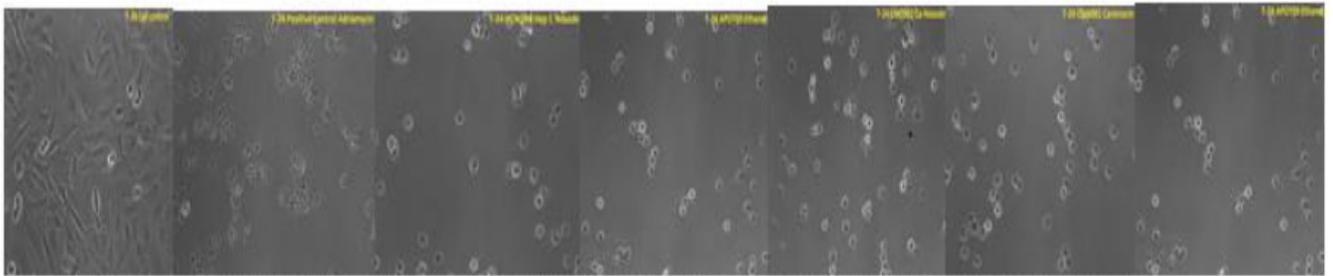


Imagen 3. Eficacia en T-24 (cultivo de célula de vejiga):
Hepatitis C, **Carcinosinum**, nosode de cáncer y etanol con el control positivo y el de cultivo.

Las figuras 1 a 9 representan el porcentaje de crecimiento de control estudiado en todos los cultivos celulares para el nosode de VIH, Hepatitis C, **Carcinosinum** y nosode de cáncer, etanol potenciado diluido a la 30C, 1:10, 1:05, 1:01 y directo (30C).

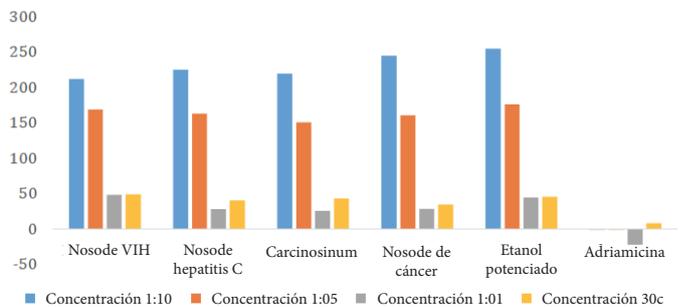


Figura 1. % Cultivo celular de cáncer cervical humano (HeLa).

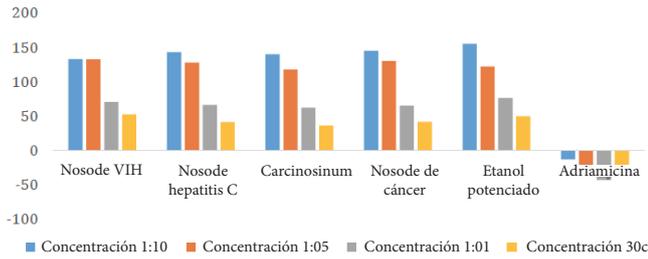


Figura 2. % de control de crecimiento y concentraciones de fármacos (Hep-G2).

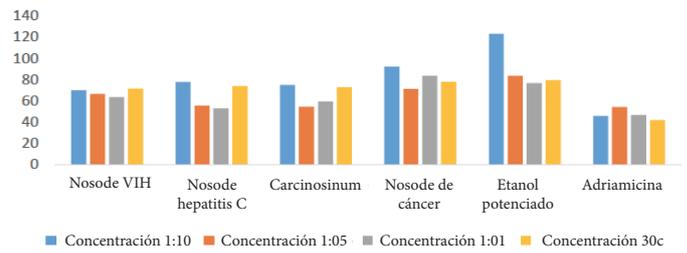


Figura 6. % Crecimiento de control y concentraciones de fármacos (JURKAT).

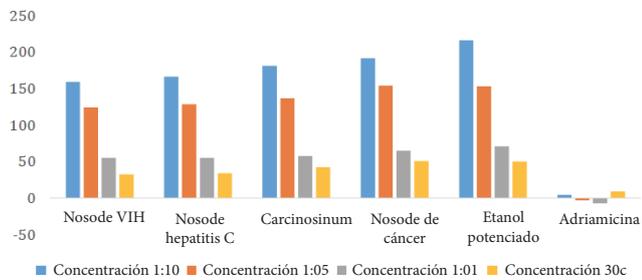


Figura 3. % Control de crecimiento y concentraciones de fármacos (A-549).

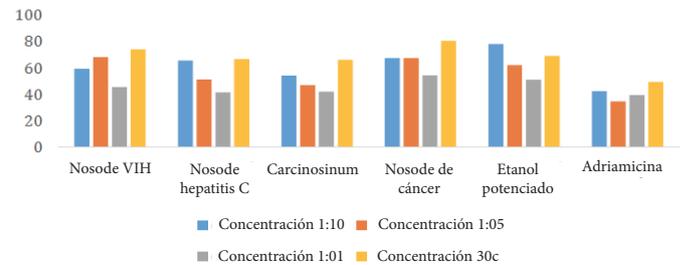


Figura 7. % Crecimiento de control y concentraciones de fármacos (SCC-40).

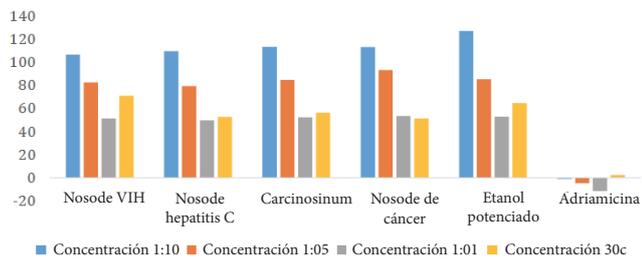


Figura 4. % Crecimiento de control y concentraciones de fármacos (MCF-7).

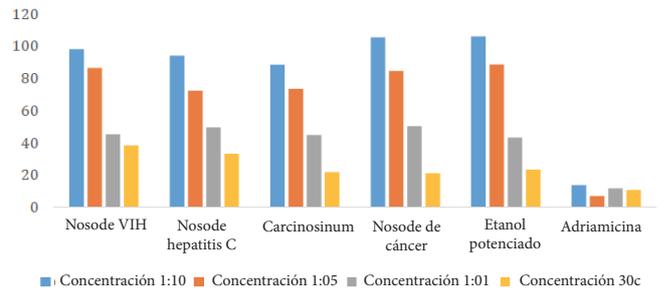


Figura 8. % Crecimiento de control y concentraciones de fármacos (HL-60).

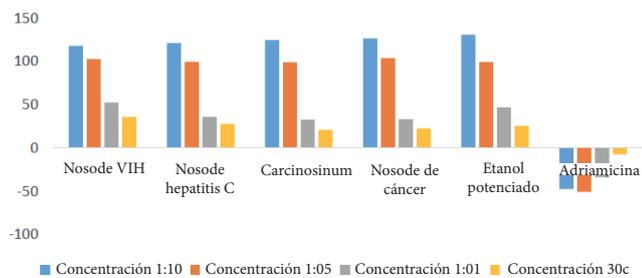


Figura 5. % Crecimiento de control y concentraciones de fármacos (T-24).

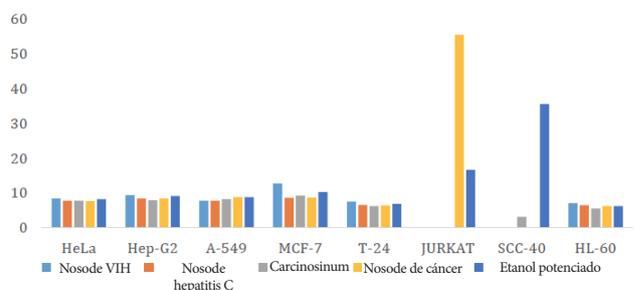


Figura 9. Concentración de fármaco que causa 50% de inhibición del crecimiento celular (Graph G-150).

Línea celular de cáncer cervical humano (HeLa)

Las cinco preparaciones homeopáticas mostraron actividad anticáncer en el cultivo de células de cáncer cervical humanas (figuras 10, 1 y 9).

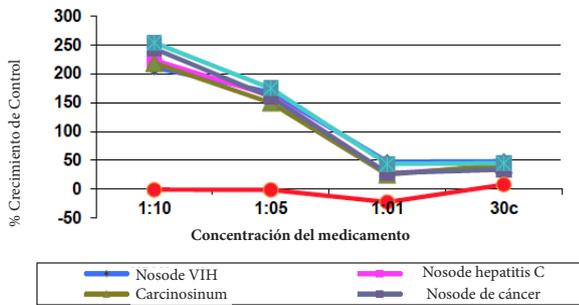


Figura 10. Curva de crecimiento - cultivo de célula de cáncer cervical humano (HeLa).

Cultivo celular de hepatoma humano Hep-G2

Las cinco preparaciones homeopáticas mostraron actividad anticáncer en el cultivo de células de cáncer, en el cultivo de células de hepatoma humano (Hep-G2) (figuras 11, 2 y 9).

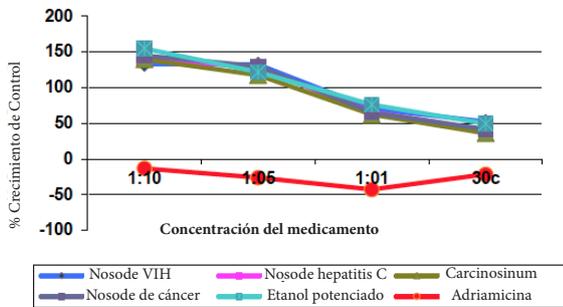


Figura 11. Curva de crecimiento - cultivo de célula de hepatoma humano (Hep-G2).

Cultivo celular de cáncer de carcinoma de pulmón humano

Las cinco preparaciones homeopáticas mostraron actividad anticáncer en el cultivo de células de carcinoma de pulmón humano (figuras 12, 3 y 9).

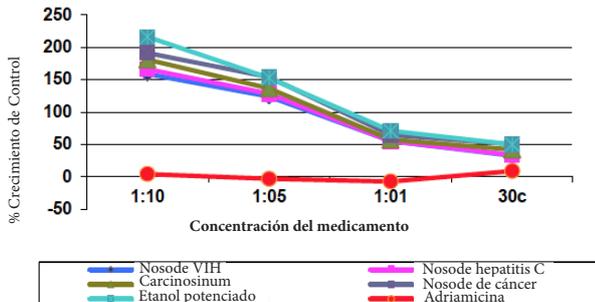


Figura 12. Curva de crecimiento - cultivo de célula de carcinoma de pulmón humano (A-549).

Cultivo celular de cáncer de mama (MCF-7)

Los nosodes de hepatitis C, Carcinosinum y cáncer, mostraron actividad anticáncer en el cultivo de células de cáncer de mama (MCF-7) (figuras 13, 4 y 9).

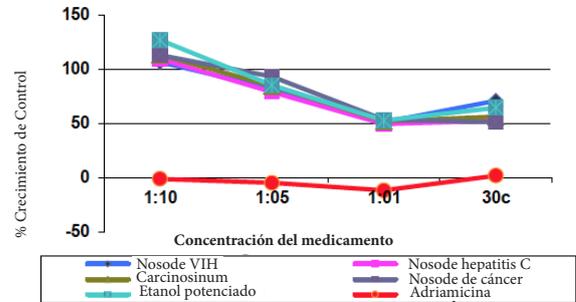


Figura 13. Curva de crecimiento - cultivo de célula de cáncer de mama (MCF-7).

Cultivo celular de cáncer de vejiga humano (T-24)

Las cinco preparaciones homeopáticas mostraron actividad anticáncer en el cultivo de células de cáncer de vejiga humano (T-24) (figuras 14, 5, y 9).

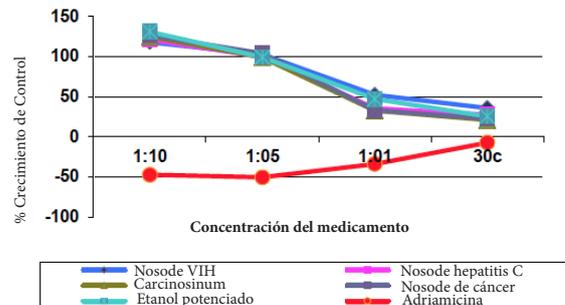


Figura 14. Curva de crecimiento - cultivo de célula de cáncer de vejiga humano (T-24).

Cultivo celular de leucemia humana JURKAT

Ninguna de las preparaciones homeopáticas mostró actividad anticáncer alguna en el cultivo de célula de leucemia JURKAT humana (figuras 15, 6 y 9).

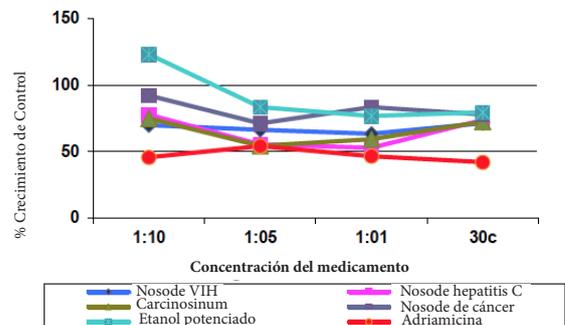


Figura 15. Curva de crecimiento - cultivo de célula de leucemia humana JURKAT.

Cultivo celular de célula escamosa oral humana (SCC-40)

El **Carcinosinum** fue la única de las preparaciones en mostrar actividad anticáncer (figuras 16, 7 y 9).

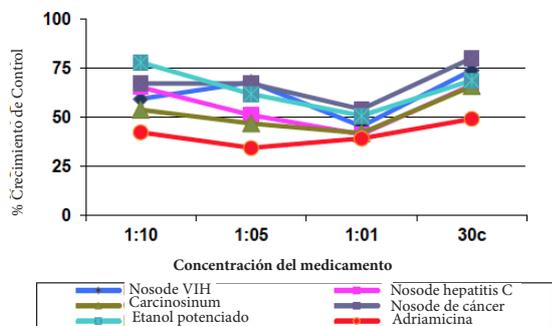


Figura 16. Curva de crecimiento - célula escamosa oral humana (SCC-40).

Cultivo celular de leucemia mieloide humana (HL-60)

Las cinco preparaciones homeopáticas mostraron actividad anticáncer en el cultivo celular de leucemia mieloide humana (figuras 17, 8 y 9).

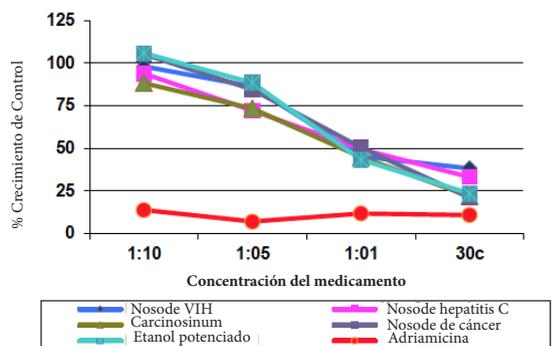


Figura 17. Curva de crecimiento- cultivo de célula de leucemia mieloide humana (HL-60).

Las altas diluciones pueden prepararse mediante el proceso de potencialización utilizando alcohol o agua —agua para inyectables WFI— como medio. Otro conjunto de preparaciones de alta dilución de todos los medicamentos utilizados en la prueba se preparó por separado con agua (WFI), como vehículo para llevar a cabo una prueba para determinar diferencias en la eficacia de otras fórmulas. Estas preparaciones se pusieron a prueba en un cultivo de células de cáncer de pulmón humano (A-549). Solamente se utilizó uno de los cultivos para determinar si la naturaleza del vehículo tiene algún impacto en la actividad y no se observó ninguna en los medicamentos de prueba elaborados con agua para inyectables como vehículo. De manera similar, para determinar si era el efecto del alcohol o el proceso de potencialización que produce el efecto anticáncer, se condujo otra prueba para examinar el efecto del etanol (sin potencialización) en un cultivo de células de cáncer de pulmón humano (A-549), en el cual el alcohol no mostró ningún efecto anticáncer (figura 18 y tabla 1).

Curva de crecimiento: Línea de células de cáncer de pulmón humano A-549

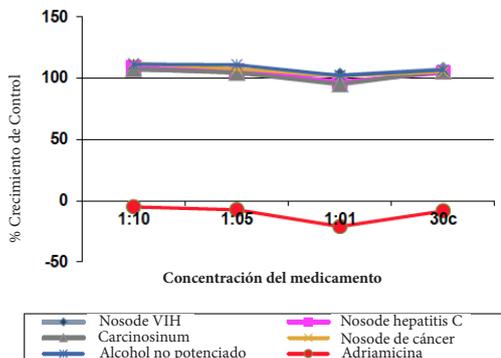


Figura 18. Curva de crecimiento de A-549.

Medicina	% Control de crecimiento y concentración de drogas (A-549)				Concentraciones de drogas (% v / v) calculado a partir del gráfico
	1	2	3	4	
% v/v	1	2	3	4	G15
Nosode VIH	107.1	105.1	102.2	107.1	>10
Nosode hepatitis C	108.5	106.1	96.8	104.5	>10
Carcinosinum	107.5	104.4	95.1	105.9	>10
Cáncer nosode	112.0	107.6	101.6	105.2	>10
Alcohol no potenciado	111.4	110.9	102.2	106.7	>10
Adriamicina	-5.0	-7.4	-21.2	-8.5	<10

Tabla 1: Resultados para preparaciones a base de agua y alcohol no potenciado en pulmón humano línea celular de cáncer (A-549).

Discusión

La investigación que evalúa la eficacia de los medicamentos potenciados y de alta dilución, que también se realiza en los modelos de laboratorio fuera del sistema humano, es relativamente novedosa. El estudio controlado ha mostrado tres drogas homeopáticas cuyo origen son carcinógenos, como el virus del VIH, el de la Hepatitis C y el etanol, así como dos de tejidos de cáncer (nuevo nosode de cáncer y **Carcinosinum**) en altas diluciones (potenciados), con resultados variables en distintos tipos de células: célula de cáncer cervical humano (HeLa), hepatoma (HepG2), carcinoma de pulmón (A-549), cáncer de vejiga (T-24), y leucemia mieloide (HL-60).

Luego de la comunicación del autor con algunos de los principales productores del nosode **Carcinosinum**, se encontró que éste es actualmente una mezcla de 28 distintos tejidos de cáncer, de los cuales no existe información sobre sus orígenes exactos²⁴. El autor preparó un nuevo nosode de cáncer con tejidos bien definidos, utilizando cinco tipos distintos de cánceres (el artículo está bajo revisión para publicarse).

Este nuevo nosode de cáncer ha mostrado eficacia en cultivos de: HeLa, Hep-G2, A-549, MCF-7, T-24 y HL-60. Por otra parte, el **Carcinosinum** ha mostrado un efecto anticáncer contra HeLa, Hep-G2, A-549, MCF-7, T-24, SCC-40 y HL-60, lo cual podría deberse a que contiene un espectro más amplio de tejidos cancerosos. Más estudios de los tejidos de manera individual podrían ser esclarecedores en este aspecto.

Sólo el **Carcinosinum** mostró actividad anticáncer en cultivos de células escamosas orales (SCC-40). Ninguna de las preparaciones homeopáticas mostró eficacia en los cultivos de leucemia en célula humana (Jurkat). El nosode de hepatitis C, el **Carcinosinum** y el nosode de cáncer mostraron un efecto anticáncer en cultivos de células de cáncer de mama (MCF-7).

El estrógeno potenciado mostró actividad anticáncer en cultivos de células HeLa, Hep-G2, A-549, T-24 y HL-60. Un estudio adicional que utilizó etanol sin potencializar no mostró ningún efecto anticáncer en el cultivo de A-549, lo cual sugiere un papel importante de la potencialización en proporcionarle un efecto terapéutico, ya que el etanol potenciado sí mostró actividad anticáncer.

El etanol potenciado no mostró ninguna actividad en cultivos de MCF-7 y SCC 40; sin embargo, los nosodes de cáncer, hepatitis C (ambos potenciados y utilizando el mismo etanol como vehículo) y

el **Carcinosinum** sí demostraron efectividad en los mismos cultivos. Esto sugiere que el efecto positivo en los tres nosodes no se debió al etanol potenciado, sino a las respectivas sustancias potenciadas de cada uno. Este hallazgo se sustenta con el resultado de uno de los estudios hechos en el pasado, en el cual los nosodes de VIH y hepatitis C mostraron actividad anticáncer en cultivos de MCF-7 y A-549, en comparación con el etanol potenciado^{14,15}.

Cuando se hicieron las mismas preparaciones, pero usando agua (agua para inyección) como medio en lugar de alcohol, se vio que no mostraron actividad anticancerígena. Esta observación sugiere que al usar el alcohol como medio, parece retener las propiedades terapéuticas de la sustancia de origen, mejor que si se utiliza solamente agua. La literatura sugiere el uso de agua-etanol para diluciones en serie. Se han elaborado varias teorías para determinar el rol de grupos de agua-etanol y la transferencia de información de material de remedio específico en una solución coloidal de agua-etanol²⁵.

El VIH²⁶, el virus de la Hepatitis C²⁷ y el etanol potenciado^{28,29} son carcinógenos conocidos. Los tejidos cancerosos son productos de un proceso maligno, el cual puede incluir un amplio rango de proteínas, residuos, citocinas, inmunocitos, células, etcétera. Más estudios con las preparaciones ultra diluidas de estos carcinógenos y tejidos de cáncer han mostrado resultados anticancerígenos favorables; utilizando un mayor número de cultivos y estudios *in vivo* podrían aportar datos para una mejor comprensión del modo de acción.

Conclusión

Las preparaciones de alta dilución y potenciadas de ciertos carcinógenos han demostrado efectos anticáncer y citotóxicos en modelos de cultivos celulares, lo cual sustenta la lógica detrás del principio fundamental homeopático: la Ley de los semejantes, abriendo el camino para un uso más amplio de esta terapéutica en la salud pública.

Reconocimientos

Un sincero agradecimiento al *Tata Memorial Centre*, en Navi, Mumbai. El ensayo SRB *in vitro* para determinar la actividad anticáncer de los medicamentos se llevó a cabo en la *Anticancer Drug Screening Facility (ACDSF)* en ACTREC, *Tata Memorial Centre*, Navi, Mumbai.

REFERENCIAS

1. Bishayee K, Mondal J, Sikdar S, Khuda-Bukhsh AR. Condurango (*Gonolobus condurango*) Extract Activates Fas Receptor and Depolarizes Mitochondrial Membrane Potential to Induce ROS-dependent Apoptosis in Cancer Cells in vitro: CE-treatment on HeLa: a ROS-dependent mechanism. *J Pharmacopuncture*. 2015 Sep;18(3):32-41. doi: 10.3831/KPI.2015.18.022. PMID: 26389000.
2. Mondal J, Samadder A, Khuda-Bukhsh AR. Psorinum 6 × triggers apoptosis signals in human lung cancer cells. *J Integr Med*. 2016 Mar;14(2):143-53. doi: 10.1016/S2095-4964(16)60230-3. PMID: 26988436.
3. Frenkel M, Mishra M, Sen S, Yang P, Pawlus A, Vence L, Leblanc A, Cohen L, Banerji P, Banerji P. Cytotoxic effects of ultra-diluted remedies on breast cancer cells. *Int J Oncol*. 2010 Feb;36(2):395-403.
4. Sikdar S, Mukherjee A, Bishayee K, et al. Post-cancer Treatment with Condurango 30C Shows Amelioration of Benzo[a]pyrene-induced Lung Cancer in Rats Through the Molecular Pathway of Caspase-3-mediated Apoptosis Induction -Anti-lung cancer potential of Condurango 30C in rats-. *Journal of Pharmacopuncture*. 2013;16(3):11-22. doi:10.3831/kpi.2013.16.021.
5. Shilpi Saha, Dewan Md Sakib Hossain, Shravanti Mukherjee, Suchismita Mohanty, Minakshi Mazumdar, Sanhita Mukherjee, Uttam K Gosh, Chaturbhuj Nayek, Chinta Raveendar, Anil Khurana, Rathin Chakrabarty, Gaurisankar Sa, and Tanya Das. Calcarea carbonica induces apoptosis in cancer cells in p53-dependent manner via an immuno-modulatory circuit. *BMC Complement Altern Med*. 2013; 13: 230. doi: 10.1186/1472-6882-13-230 PMID: PMC3856502.
6. Riedel S, Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination, *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2005 Jan; 18(1): 21–25. PMID: PMC1200696. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1200696>, consultado el 2 de enero de 2018.
7. Shah R, Scientific method of preparing homeopathic nosodes. *Indian J Res Homoeopathy [Serial Online]* 2014; 8: 166e174 [citado el 21 de Octubre de 2014]. Disponible en: <http://www.ijrh.org/text.asp?2014/8/3/166/141740>.
8. Shah R. Clinical trial for evaluation of a Human Immunodeficiency Virus nosode in the treatment for Human Immunodeficiency Virus-Infected individuals. *Indian J Res Homoeopathy*. 2015 ;9 :25-33.
9. Shah R. A Clinical Evaluation of a Hepatitis C Nosode in the Treatment of Hepatitis C. *The Journal Of Alternative And Complementary Medicine*, Vol. 22, 3, 2016, pp. 197–203. DOI: 10.1089/acm.2014.0146.
10. Joshi S, Munshi R, Talele G, Shah R. An experimental in vitro study to evaluate the antimalarial activity of select homeopathy preparations. *International Journal of Medical and Health Research*. Volume 3; Issue 7; July 2017; Page. 65-68. Disponible en www.medicalsciencejournal.com
11. National Cancer Institute. HIV Infection and Cancer Risk [internet]. Estados Unidos: NCI; c2017 [consultada 2017 Dic 6]. *Infectious Agents* [2017 Sep 14]; [aproximadamente 6 pantallas]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents/hiv-fact-sheet>
12. World Health Organization. Hepatitis C fact sheet [internet]. Ginebra: WHO; c2017 [consultada 2017 Dic 6]. *Media Centre*; [aproximadamente 7 pantallas]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
13. Cogliano, VJ; Baan, R; Straif, K; Grosse, Y; Lauby-Secretan, B; El Ghissassi, F; Bouvard, V; Benbrahim-Tallaa, L; Guha, N; Freeman, C; Galichet, L; Wild, CP (Dec 21, 2011). "Preventable exposures associated with human cancers". *Journal of the National Cancer Institute*. 103 (24): 1827–39. doi:10.1093/jnci/djr483. PMC 3243677. PMID 22158127
14. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human [internet]. Ginebra: WHO; [fecha desconocida] [consultada 2018 Ene 2]. *Monographs*; [aproximadamente 2 pantallas]. Disponible en: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php.

15. Bukhsh AR, Shah R, Mondal J. Therapeutic potential of HIV nosode 30c as evaluated in A549 lung cancer cells. *Homeopathy* (2017) 106, 203e213. <https://doi.org/10.1016/j.homp.2017.09.001>, Disponible en: <http://www.sciencedirect.com>. Consultado el 26 de diciembre de 2017.
16. Bukhsh AR, Shah R, Das J, Mondal J. A homeopathic nosode, hepatitis C demonstrates anticancer effect against liver cancer cells in vitro by modulating telomerase and topoisomerase II activities as also by promoting apoptosis via intrinsic mitochondrial pathway. *Journal of Integrative Medicine*, May 2016, Vol.14, No.3.pp 209-18, [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-4964\(16\)60251-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-4964(16)60251-0).
17. Florento L, Matias R, Tũaño E, Santiago K, Cruz F, Tuazon A. Comparison of Cytotoxic Activity of Anticancer Drugs against Various Human Tumor Cell Lines Using In Vitro Cell- Based Approach. *Int J Biomed Sci*. 2012 Mar; 8(1): 76–80. PMID: PMC3614850. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614850/> accessed on 4th Jan 2018.
18. *Methods Mol Biol*. 2013;1055:191-205. doi: 10.1007/978-1-62703-577-4_14. Bioassays for anticancer activities. McCauley J1, Zivanovic A, Skropeta D. DOI: 10.1007/978-1-62703-577-4_14, Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23963912>.
19. Voigt W. Sulforhodamine B assay and chemosensitivity. *Methods Mol Med*. 2005;110:39-48. DOI: 10.1385/1-59259-869-2:039. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15901925>.
20. *Methods in Molecular Medicine*, vol. 110: Chemosensitivity: Vol. 1: In Vitro Assays Edited by: R. D. Blumenthal © Humana Press Inc., Totowa, NJ.
21. Vanicha V, Kanyawim K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening *Nature Protocols* 1, - 1112 - 1116 (2006).
22. Shah R. Scientific method of preparing homeopathic nosodes. *Indian J Res Homoeopathy* 2014; 8 :166-74.
23. Esteban A, Orellana, Andrea L, Kasinski. Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. *Bio Protoc*. 2016 Nov 5; 6(21): e1984. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5448418/pdf/nihms844985.pdf>
24. Communication with Nelson, US, Helios, UK; Hapco, India.
25. Iris R, Bell I, Koithan M. A model for homeopathic remedy effects: low dose nanoparticles, allostatic cross-adaptation, and time-dependent sensitization in a complex adaptive system. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012, 12:191. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/191>.
26. American Cancer Society. Known and Probable Human Carcinogens [internet]. Estados Unidos: ACS; [fecha desconocida] [consultada 2017 Dic 26]. General Information About Carcinogens; [aproximadamente 20 pantallas]. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/general-info/known-and-probable-human->
27. Lemon S M, David R, Mc Givern. Is Hepatitis C Virus Carcinogenic? *Gastroenterology*. 2012 May; 142(6): 1274–1278. doi: 10.1053/j.gastro.2012.01.045. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537433>. Consultado el 26 de diciembre de 2017.
28. National Cancer Institute. Alcohol and cancer risk [internet]. Estados Unidos: NCI-NIH; c2017 [consultada 2017 Dic 26]. Alcohol; [aproximadamente 8 pantallas]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/alcohol/alcohol-fact-sheet>.
29. Pöschl G, Seitz HK. Alcohol and cancer. *Alcohol*. 2004 May-Jun;39(3):155-65. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15082451>. Consultado el 26 de diciembre de 2017.