

Efeito de ultradiluições homeopáticas em modelos *in vitro*: revisão da literatura

Silvia Waisse

Resumo

Introdução: Existem questionamentos quanto aos efeitos das ultradiluições (UDs) homeopáticas por ultrapassarem o número de Avogadro. **Objetivo:** Realizar uma revisão da literatura sobre os efeitos das UDs em modelos *in vitro*. **Métodos:** Foi realizada uma busca sistemática na base de dados PubMed de estudos sobre UDs simples em modelos *in vitro* a partir de 2007. **Resultados:** 28 publicações cumpriram os critérios de inclusão/exclusão; 26 estudos demonstraram efeitos evidentes de UDs simples em modelos *in vitro*, a maioria originada em países onde a homeopatia tem alto grau de institucionalização. **Conclusões:** Estudos *in vitro* demonstram inquestionavelmente a atividade biológica de UDs acima do número de Avogadro, dando conta do efeito das mesmas na prática clínica. A maioria das pesquisas se origina em países onde a homeopatia é uma racionalidade médica oficialmente aceita, o que facilita o acesso a recursos de pesquisa.

Palavras-chave

Homeopatia; Ultradiluições; Modelos *in vitro*; Revisão

Effects of homeopathic high dilutions on *in vitro* models: literature review

Abstract

Background: the effects of homeopathic high dilutions (HDs) are debated because they exceed Avogadro's number, **Aim:** to perform a literature review on the effects of HDs on *in vitro* models. **Methods:** a systematic search was performed in database PubMed for studies assessing simple HDs on *in vitro* models published from 2007 onwards. **Results:** 28 publications met the inclusion/exclusion criteria; 26 studies demonstrated patent effects of simple HDs on *in vitro* models; most such studies were conducted in countries where homeopathy attained a high level of institutionalization. **Conclusions:** *in vitro* models patently evidence biological activity of HDs above Avogadro's number and account for effects found in clinical practice. Most studies were conducted in countries where homeopathy is officially recognized, which facilitates the access to research.

Keywords

Homeopathy; High dilutions; *In vitro* models; Review

Introdução

Como se sabe, a ação dos medicamentos homeopáticos é considerada implausível por parte da comunidade científica, pois os mesmos estão diluídos além do número de Avogadro (6×10^{23}). Isto é, a possibilidade de localizar uma única molécula é praticamente nula e, por esse motivo, as ultradiluições (UDs) homeopáticas não poderiam, por princípio, ter qualquer atividade, tanto físico-química quanto biológica [1].

No entanto, toda uma série de experimentos (modelos experimentais) procurou dar explicação para os efeitos observados das UDs na prática clínica e no laboratório. Assim, por exemplo, foi desenvolvida a chamada “teoria quântica fraca”: a partir de um trabalho original de Atmanspacher e cols. [2], diversos estudos sugerem que os efeitos das UDs não envolvem interações locais (causais), mas uma espécie de interconexão modelada com base no fenômeno de entrelaçamento manifestado por partículas subatômicas com uma origem comum [3-7].

Já para outros autores, a ação das UDs deve ser entendida pela interação entre substância original e o seu solvente, hipotetizando que a informação da primeira é transferida ao último, que assim a carrega até o alvo biológico. De fato, diversas pesquisas demonstraram mudanças físicas mensuráveis nas UDs, incluindo termoluminescência [8], retardo da luminescência [9], dispersão dielétrica [10,11], fluorescência [12], transmissão de luz ultravioleta [13,14], propriedades magnéticas [15], impedância e outras propriedades elétricas [16-18], analogia com supercorrentes spin em superfluidos [19] e formação de nanodomínios aquosos [20]. Em particular, vale ressaltar os estudos de relaxamento em ressonância magnética protônica iniciados em 1985 [21] e as pesquisas de mais de 20 anos em eletromagnetismo [7]. Um estudo mais recente coletou evidências sobre a presença de nanoestruturas estáveis da água em UDs homeopáticas através de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia ultravioleta visível, microscopia de fluorescência e microscopia de força atômica [22].

No entanto, além dos modelos físico-químicos anteriormente citados, permanece a questão acerca da ação biológica das UDs. Nesse sentido, uma revisão sistemática da literatura sobre estudos *in vitro* foi publicada em 2007 [23]. Os estudos *in vitro* estão livres da complexidade e fatores de confusão próprios dos modelos *in vivo* e ensaios clínicos. Ao mesmo tempo, fornecem a base para a realização dos mesmos, assim como podem explicar seus mecanismos e os efeitos observados na prática clínica. No entanto, a revisão de Witt et al.. [23] teve mais o intuito de avaliar a qualidade metodológica dos estudos do que analisar os efeitos dos mesmos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão descritiva das publicações relatando efeitos de UDs simples *in vitro* no período de 2007 até a atualidade.

Materiais e métodos

Foi realizada, em fevereiro de 2017, uma busca na base de dados PubMed de artigos publicados a partir de 2007 utilizando as palavras-chave “homeopathy” AND “in vitro” em qualquer língua. O termo “homeopatia” foi escolhido porque não há consenso na

literatura sobre o termo científico para denominar as ultradiluições (UDs) homeopáticas (por exemplo: dinamizações, potências, diluições seriadas e agitadas, infinitesimais, etc.). O limite temporal foi definido em função da existência de uma revisão prévia publicada em 2007.

Critérios de inclusão: publicações descrevendo pesquisa original sobre os efeitos de UD simples, isto é, não representando formulações complexas, em modelos *in vitro*. Foram considerados trabalhos publicados “ahead of print” em revistas incluídas em PubMed.

Essa estratégia de busca foi escolhida para permitir a avaliação direta das publicações por leitores interessados, assim como assegurar a qualidade metodológica dos trabalhos através da indexação na base de dados PubMed. Portanto, não foram consideradas outras fontes de informação, como outras bases de dados, busca de referências citadas nos artigos selecionados, contato direto com autores, etc.

Os parâmetros analisados foram: 1) país de origem do estudo; 2) objetivo do estudo; 3) medicamento/s testado/s; 4) nível de UD; 5) modelo experimental; 6) efeitos das UD comparados a controles (positivo/negativo).

Resultados

Foram localizados 61 artigos, que foram submetidos a análise dos títulos e resumos. Foram excluídos 33 artigos, por não corresponderem aos critérios de inclusão. Acrescentando os trabalhos publicados “ahead of print”, 28 publicações foram incluídas na presente revisão. O resumo dos achados foi descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Resumo dos achados de estudos *in vitro* com ultradiluições homeopáticas

Autor e ano	País	Objetivo	Medicamento	Diluição	Modelo experimental	Efeitos
Santana et al., 2017 [24]	Brasil	Mecanismo de ação anti-inflamatória	Antimonium crudum	30cH, 200cH	Co-cultura de macrófagos e <i>L. amazonensis</i>	POSITIVO Redução seguida de aumento do <i>spreading</i> dos macrófagos; aumento da percentagem de internalização de parasitas; potenciação da redução de produção de citocinas induzida pelo parasita
Lima et al., 2016a [25]	Brasil	Comparação de FSH em UD vs. FSH em dose ponderal	FSH	6cH	Desenvolvimento de folículos preantrais ovinos	POSITIVO Aumento do diâmetro folicular; aumento da taxa de sobrevivência folicular; maior taxa de ativação folicular no 1º dia de cultura
Lima et al., 2016b [26]	Brasil	Comparação de FSH em UD, dose ponderal e álcool 0,2%	FSH	6cH	Desenvolvimento, produção hormonal e expressão genética de folículos	POSITIVO Sobre a proliferação celular, álcool 0.2% teve maior efeito que FSH 6cH e este maior que FSH em dose

					preantrais bovinos isolados com ou sem adição de meio de cultura	ponderal; a produção de estradiol aumentou com todos os tratamentos; FSH 6cH induziu maior produção de conectina 43 que FSH ponderal
Wani et al., 2016 [27]	Índia	Atividade anticancerosa	Terminalia chebula	TM, 6d, 6c, 30c	Células de câncer mamário MDAMB-231 e MCF-7, e não cancerosas HEK-293; investigação de nanopartículas	POSITIVO UDs reduziram a viabilidade só das linhagens cancerosas; todas as UD diminuíram a cinética de crescimento das células cancerosas; a estrutura nanoparticulada da UD 6cH diferiu da TM apresentando nanopartículas de 20 nm de diâmetro
Mondal et al., 2016 [28]	Índia	Atividade anticancerosa	Psorinum	6d	Células de adenocarcinoma epitelial de pulmão humano A549	POSITIVO Inibição da proliferação celular; interrupção do ciclo celular em estágio sub-G; produção de EROs; despolarização da membrana mitocondrial; dano do DNA; promoção de apoptose por via mediada por mitocôndrios dependente da caspase
Lee et al., 2016 [29]	Coreia do Sul	Modulação de inflamação	Rhus toxicodendron	4d, 30d, 30c, 200c	Células preosteoblásticas murinas mc3t3-E 1	POSITIVO Aumento da expressão de mRNA e proteica de COX-2; aumento da produção de PgE2; diminuição da produção de NO
Pasetti et al., 2016 [30]	Brasil	Resistência bacteriana	Belladonna, nosódio	6c, 30c	MRSA	POSITIVO Inibição do crescimento de MRSA, com redução da produção de DNase; aumento da vulnerabilidade a oxacilina
Guedes et al., 2016 [31]	Brasil	Metamorfose de anfíbios	T3	10cH	Explantos de cauda de Rana (Lithobates) catesbeianus	POSITIVO T3 10cH afeta a expressão de mRNA de caspase 3 e 7 induzida por T3 retardando a metamorfose dos girinos
Tupe et al., 2015 [32]	Índia	Glicação de proteínas	Syzygium jambolanum, Cephalandra indica	TM, 30c, 200c	Eritrócitos humanos	POSITIVO Redução de marcadores de glicação (fructosamina, carbonilas proteicas e açúcar ligado a proteína); proteção contra grupos tiol e amino livres. Fenóis e flavonoides foram identificados em todas as amostras
Samadder et al.,	Índia	Atividade anticancerosa	Lycopodium clavatum	5c, 15c	Células de câncer cervical	POSITIVO Redução da

2015 [33]					HeLa e PBMC	proliferação e viabilidade das células cancerosas, sem citotoxicidade sobre PBMC normais; considerável apoptose das células cancerosas, com fragmentação do DNA, aumento da expressão das proteínas caspase 3 e Bax e redução de Bcl2, Apaf e da liberação de citocromo c. Efeito similar a cisplatina na sobrevivência das células cancerosas
Marzotto et al., 2014 [34]	Itália	Regulação da expressão gênica	Gelsemium sempervirens	2c, 3c, 5c, 9c, 30c	Neuroblastoma humano SH-SY5Y	POSITIVO Alteração da expressão de 56 genes em teste de microarray
Oliosio et al., 2014 [35]	Itália	Regulação da expressão gênica	Gelsemium sempervirens	2c	Neuroblastoma humano SH-SY5Y	POSITIVO Hipoexpressão da maioria dos genes num painel de neurotransmissores e reguladores humanos
Siqueira et al., 2013 [36]	Brasil	Efeito de nosódio de vírus influenza	Influenza A (A/Aichi/2/68 H3N2)	30d	Risco biológico; conteúdo viral; efeito sobre células MDCK e macrófagos murinos J774G8	POSITIVO Sem citotoxicidade; alterações morfológicas em MDCK; aumento da taxa de mitose de MDCK; alteração da atividade mitocondrial MDCK; diminuição da atividade PFK-1 em MDCK; aumento da produção de TNF- α por macrófagos
Huh et al., 2013 [37]	Coreia do Sul	Atividade anti-inflamatória	Rhus toxicodendron	4d, 30d, 30c, 200c	Cultura primária de condrócitos de camundongo	POSITIVO Aumento da expressão de mRNA de COX-2; exceto 200c, as demais UD's inibiram a expressão de colágeno tipo II, sugerindo desdiferenciação dos condrócitos; 30x aumentou a liberação de PgE2
Lima et al., 2013 [38]		Efeito de FSH em UD	FSH	6cH, 12cH, 30cH	Sobrevida, ativação e crescimento de folículos preantrais ovinos	POSITIVO Maior sobrevida e atividade folicular; maior crescimento de folículos e ovócitos por comparação a controles; manutenção da viabilidade e integridade ultraestrutural dos folículos depois de 7 dias de cultura
Mukerjee et al., 2013 [39]	Índia	Efeito anticanceroso	Thuja occidentalis	30cH	Dano DNA induzido por benzopireno sobre células pulmonares perfundidas de camundongo	POSITIVO Aumento da viabilidade celular; inibição do estresse induzido por benzopireno através de redução de EROs e HSP-90 e aumento de glutatona

Bishayee et al., 2013 [40]	Índia	Mecanismo de ação anticancerosa	Condurango	30cH	Modulação da acetilação/desacetilação de histonas em células de câncer cervical humano HeLa	POSITIVO Efeito citotóxico; diminuição da atividade HDAC2; diminuição da síntese de DNA e interrupção do ciclo celular na fase G1
Arora et al., 2013 [41]	Índia	Ação anticancerosa em células humanas	Sarsaparilla, Ruta graveolens, Phytolacca decandra	30cH, 200cH, 1000cH, 10000cH	Adenocarcinoma renal ACHN (Sars), carcinoma colorretal COLO-205 (Ruta), carcinoma mamário MCF-7 (Phyt)	POSITIVO Efeito citotóxico; redução da proliferação celular; indução de apoptose; sem efeito (Sars) sobre células MDCK não cancerosas
Preethi et al., 2012 [42]	Índia	Mecanismo de atividade anticancerosa	Ruta graveolens, Carcinosum, Hydrastis canadense, Thuja occidentalis	200c, 1000c	Linfoma ascite de Dalton	POSITIVO Indução de apoptose
Ive et al., 2012 [43]	África do Sul	Autorrecuperação de intoxicação	Arsenicum album	6cH, 30cH, 200cH	Linfócitos humanos MT4 intoxicados com trióxido de arsênico	POSITIVO Aumento da viabilidade celular; máximo efeito depois de 3 dias de tratamento com Ars 200cH
Oliveira et al., 2012 [44]	Brasil	Efeitos imunológicos	Mercurius solubilis	6cH, 12cH, 30cH	Macrófagos peritoneais de camundongo	POSITIVO Alterações morfológicas típicas do estágio ativado; aumento da secreção de IFN γ e IL-4; aumento da produção NO e EROs
Das et al., 2012 [45]	Índia	Efeitos sobre expressão gênica	Arnica montana	30c	Escherichia coli submetida a radiação ultravioleta	POSITIVO Redução do dano do DNA e do estresse oxidativo; hiperexpressão de genes de reparação genética
De et al., 2012 [46]	Índia	Autorrecuperação de intoxicação	Arsenicum album	30c	Escherichia coli submetida a intoxicação por arsenito de sódio	POSITIVO Redução dos efeitos da intoxicação através de inibição da geração de EROs
Soto et al., 2011 [47]	Brasil	Efeito sobre viabilidade celular	Avena sativa, Pulsatilla nigricans isolados e em associação	6cH	Motilidade espermática, integridade da membrana plasmática e acrossômica, potencial de membrana mitocondrial em esperma suíno.	NEGATIVO
Frenkel et al., 2011 [48]	EUA	Efeito anticanceroso	Carcinosinum, Phytolacca decandra, Conium maculatum, Thuja occidentalis	Carc 30c, Con 3c, Phyt 200c, Thuj 30c	Adenocarcinoma mamário humano MCF-7 (E+ P+) e MDAMB-231 (E- P-)	POSITIVO Redução da viabilidade celular; interrupção do ciclo celular na fase G1. Atividade de Carc e Phyt equivalente à de 0.12 μ M de paclitaxel
Hofbauer et al. 2010	Áustria	Mecanismo de ação em gastrite e	Nux vomica, Calendula	10c, 12c	Células de carcinoma	POSITIVO Redução da expressão

[49]		úlceras gástricas	officinalis		gástrico humano KATO-III	genética do fator de crescimento epidérmico ligado a heparina induzida por <i>H. pylori</i> .
Patil et al. 2009 [50]	Índia	Ação imunomoduladora	Rhus toxicodendron	6cH, 30cH, 200cH, 1000cH	Função de PMN humanas	POSITIVO Aumento da quimiotaxia; aumento dos processos oxidativos; ação fungicida intracelular contra <i>C. albicans</i>
Sieglingvli takis et al., 2009 [51]	Alemanha	Efeito fisiológico	Atropina	6d, 32d, 100d	Contração de íleo isolado de rato	NEGATIVO

UD: ultradiluição; FSH: hormônio folículo estimulante; PMN: células polimorfonucleares; *C. albicans*: *Candida albicans*; EROs: espécies reativas de oxigênio; HSP-90: proteína de choque térmico 90; HDAC2: enzima desacetiladora de histonas 2; EUA: Estados Unidos de América; E+/E-: positivo/negativo para receptor estrogênico; P+/P-: positivo/negativo para receptor de progesterona; COX-2: enzima ciclooxigenase 2; PGE2: prostaglandina E2; PFK-1: enzima 6-fosfofructo-1-kinase; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IFN γ : interferon gama; IL: interleucina; NO: óxido nítrico; TM: tintura-mãe; PBMN: células mononucleares de sangue periférico; mRNA: RNA mensageiro; *H. pylori*: *Helicobacter pylori*; MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; T3: triiodotironina; *L. amazonensis*: *Leishmania (L.) amazonensis*.

Discussão

A única revisão anterior da literatura sobre os efeitos de UD's *in vitro* foi publicada por Witt et al. em 2007 [23]. Na mesma, definiram-se como efeitos *in vitro* aqueles induzidos por UD's em sistemas moleculares ou celulares; a mesma definição foi adotada na presente revisão. No entanto, os objetivos de ambas as revisões são diferentes: Witt et al. visaram analisar a qualidade dos estudos através de uma pontuação, enquanto que no presente trabalho visamos estabelecer se as UD's induzem efeitos evidentes em modelos *in vitro*, por terem os resultados maior objetividade, menor complexidade por comparação a modelos *in vivo* e ensaios clínicos, e reiterarem os efeitos constatados na prática clínica e no laboratório.

Na presente revisão, foram incorporados 28 estudos que cumpriram os critérios de inclusão, com uma média equivalente a 2,8 estudos/ano. A revisão anterior de Witt et al. localizou 67 experimentos, dos quais 46 foram publicados em revistas com revisão por pares, entre 1932 e 2005, com uma média equivalente a 0,63 artigos/ano [23]. Nesse sentido, pode-se inferir que a taxa de publicação aumentou notavelmente na última década, paralela à maior institucionalização da homeopatia em diversos países do mundo. Além disso, 19 estudos com UD's acima do número de Avogadro publicados no período de 2010 a 2015 tratavam-se de experimentos replicados [52-53].

A imensa maioria dos estudos analisados (n= 20; 71,4%) foi produzida em 2 únicos países, Brasil (n= 9; 32,1%) e Índia (n= 11; 39,3%); outros trabalhos foram desenvolvidos na Coreia do Sul (n= 2), Itália (n= 2), África do Sul, EUA, Áustria e Alemanha (n= 1, respectivamente). O predomínio do Brasil e da Índia foi previamente identificado [54]. Como motivo, pode-se invocar o avançado grau de institucionalização da homeopatia nesses países, onde essa abordagem é considerada uma racionalidade médica oficial, implantada no sistema de saúde público e coberta

pelo setor suplementar. Além disso, a homeopatia – tanto clínica quanto farmacêutica – é ensinada nas universidades, com o que o acesso a recursos de pesquisa é facilitado.

Os sistemas testados apresentam alta heterogeneidade, semelhante aos parâmetros avaliados. Nesse sentido, os resultados da presente revisão vão ao encontro dos relatados por Witt et al. [23]. Pode-se constatar que os trabalhos analisados representam momentos de trabalhos de pesquisa de longa extensão, alguns iniciados na década de 1990.

Destacam-se, nesse contexto, os trabalhos sobre metamorfose de girinos do grupo de Guedes, realizados na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, assim como por um grupo multicêntrico na Europa, liderado por Endler, do Interuniversity College for Health and Development, de Graz, Áustria. A metamorfose dos girinos é um processo altamente complexo, extremamente sensível aos hormônios tireoideos. Nesse contexto, a reabsorção da cauda dos girinos é foco de grande atenção entre os pesquisadores como sistema experimental para o estudo da morte celular [55]. Ao longo de mais de 25 anos, iniciado em 1991, Endler et al. realizaram inúmeros experimentos multicêntricos, com diversas variações dos parâmetros básicos, para provar a hipótese de que informação não molecular das ultradiluições é transmitida em sistemas biológicos [56]. Além de demonstrar que a tiroxina (T4) em UD (30d) desacelera a metamorfose de *Rana temporaria*, conseguiram estabelecer, com sucesso, um modelo experimental altamente reproduzível [53,57]. O grupo de Guedes confirmou esses achados numa outra espécie de anfíbio, *Rana catesbeiana* e, adicionalmente, demonstrou que a triiodotironina (T3) em UD modifica o efeito da T3 em doses farmacológicas sobre a apoptose [31, 58-60].

No conjunto, ressaltam os estudos sobre o efeito e mecanismos de ação das UD's no câncer (n= 8; 28,6%), a partir dos trabalhos realizados há mais de 35 anos pelo grupo de Khuda-Bukhsh, da Índia [61]. Khuda-Bukhsh foi chefe do Departamento de Zoologia da Universidade de Kalyani (Índia) e, atualmente, é professor emérito na mesma universidade, contando com 118 estudos publicados em periódicos indexados. Nesse contexto, também deve destacar-se o trabalho de Frenkel et al. [48], realizado no prestigioso MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, EUA. Igualmente, merece salientar-se o fato de que a atividade das UD's foi equivalente àquela de quimioterápicos consagrados, como cisplatina e paclitaxel [33, 48].

Foram testadas diluições variadas, nas escalas decimal e centesimal, ultrapassando o número de Avogadro (6×10^{23}) na ampla maioria dos estudos. A UD mais frequentemente utilizada foi a 30cH (10^{-60}) (n=18), seguida pela 6cH (10^{-12}) e 200c (10^{-400}), com 9 trabalhos cada.

Dada a recente identificação de nanopartículas (NPs) nas UD's [62, 63], um dos estudos pesquisou a estrutura nanoparticulada das UD's, identificando diferenças entre a estrutura da tintura-mãe e da diluição 6cH, a última apresentando NPs na ordem dos 20 nm de diâmetro [27]. Curiosamente, um trabalho detectou traços fenólicos e de flavonoides da planta estudada, inclusive no nível das UD's [32].

Na revisão de Witt et al. [23], 76% dos artigos relataram resultados positivos. No entanto, na presente revisão, apenas 7,14% (2/28) dos estudos relataram ausência de efeitos das UD's testadas. Um deles [47] procurou estabelecer o mecanismo da ação benéfica dos medicamentos homeopáticos *Avena sativa* e *Pulsatilla nigricans* no

aumento da fecundidade humana e animal [64, 65]. Os resultados do estudo indicaram que esse efeito não poderia ser atribuído à ação sobre a viabilidade dos espermatozoides.

O outro estudo [51] se inscreve numa linha de pesquisa iniciada na década de 1990 sobre os efeitos de UD's em modelos fisiológicos bem estabelecidos, no caso, dos transmissores envolvidos no sistema parassimpático. Em 1997, Cristea et al. [66] demonstraram a ação de UD's de *Belladonna* - medicamento homeopático preparado a partir de *Atropa belladonna* L., que tem atropina como alcaloide principal – na contração de duodeno isolado de rato, com 3 replicações, 2 delas em teses de doutorado defendidas na Universidade de Leipzig, Alemanha [67-69]. Mais recentemente, Nieber et al. [70] testaram atropina e *Belladonna* 100d (10^{-100}) em íleo isolado de rato; ambas as UD's reduziram a amplitude das contrações. Igualmente, Alecu et al. [71], da Universidade de Cluj-Napoca, Romênia, testaram a possível ação de *Belladonna* 7cH (10^{-14}) como antagonista do bloqueio do receptor muscarínico induzido por pilocarpina. Os resultados evidenciaram que a administração de *Belladonna* 7cH, depois da atropina e antes da pilocarpina, restabeleceu a hipersecreção de saliva em ratos ($p < 0,0001$). Diferentemente dos outros estudos, Siegling-Vlatikis et al. [51] não detectaram efeito de atropina 6d, 32d ou 100d na contração induzida por acetilcolina do íleo isolado de rato.

Por outro lado, diversas ações celulares e subcelulares foram demonstradas, reiterando os achados na prática clínica e em modelos animais *in vivo*. Assim, nos trabalhos de Lima et al., da Universidade Estadual do Ceará, foi evidenciado que o hormônio folículo estimulante (FSH) na diluição 6cH (10^{-12}) aumenta a viabilidade, taxa de sobrevivência, taxa inicial de ativação e produção hormonal de folículos preantrais ovinos [25,26,38].

Diversos estudos relataram redução da viabilidade celular de células neoplásticas, com inibição da proliferação celular, interrupção do ciclo celular, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), despolarização da membrana mitocondrial, dano do DNA, promoção da apoptose e interferência no mecanismo de acetilação/desacetilação do DNA [27,28,33,39-42,48].

Igualmente, foi evidenciada a atividade de UD's na modulação da expressão gênica e proteica. Em relação a mecanismos anti-inflamatórios, foi demonstrado aumento da expressão do RNA mensageiro (mRNA) da enzima ciclooxigenase (COX)-2, com incremento na produção de prostaglandina (Pg) E2 [29, 37]. Numa ampla série de estudos [35,72-75], o grupo de Bellavite et al., da Universidade de Verona, Itália, vem abordando a ação ansiolítica do medicamento homeopático *Gelsemium sempervirens*, eventualmente demonstrando através de técnicas sofisticadas, como análise de *microarrays*, que essa ação é devida à modulação de diversos genes envolvidos no mecanismo da ansiedade [35,76].

De fato, o já mencionado Khuda-Bukhsh sugeriu, em 1997, que as UD's agem mediante a regulação da expressão gênica [77]. Essa hipótese foi testada em dezenas de experimentos, envolvendo uma multiplicidade de modelos, até que em 2013 foi demonstrado, novamente através de análise de *microarrays*, que o efeito de *Condurango* 30cH e *Hydrastis canadensis* 30cH sobre o perfil de expressão gênica de células HeLa foi significativamente diferente do placebo em relação a mais de 100 genes [78].

Em outro exemplo de linha de pesquisa em modelos biológicos *in vitro*, merece destaque o trabalho pioneiro de Passeti et al. [30], demonstrando que o uso de UDs homeopáticas (*Belladonna*) e isopáticas (a própria bactéria diluída e agitada) aumentam a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) ao antibiótico oxacilina. Esse grupo já tinha demonstrado que esses mesmos medicamentos, nas UDs 12cH e 30cH inibiram significativamente o crescimento *in vitro* de *Streptococcus pyogenes*, enquanto *Arnica montana* 30cH estimulou esse crescimento [79]. Vale ressaltar a relevância deste achado na atualidade, quando a existência de bactérias multirresistentes faz sentir seu impacto na prática clínica.

Ainda no campo das moléstias infecciosas, Holandino et al. [80], da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), vem testando um nosódio do vírus da influenza, que demonstrou efeito protetor na prática clínica e que pode ser explicado pelo efeito do medicamento em diversas etapas da resposta anti-infecciosa, incluindo ativação dos macrófagos. No caso dos macrófagos, o estudo de Oliveira et al. [81] demonstrou que o medicamento *Mercurius solubilis* induz alterações morfológicas típicas do estágio ativado; aumento da secreção de interferon (IFN) γ e interleucina (IL)-4; aumento da produção de óxido nítrico (NO) e EROs. Ainda nessa área, Bonamin et al. [82], da Universidade Paulista (UNIP), têm procurado explicar como o medicamento *Antimonium crudum* exerce seu anteriormente demonstrado efeito anti-inflamatório e imunomodulador *in vivo* (redução da migração de monócitos ao sítio de infecção e aumento da população de linfócitos B no linfonodo local). Os resultados evidenciaram que o medicamento aumenta o *spreading* e a internalização do parasita nos macrófagos, mas não tem efeito sobre a digestão intracelular do mesmo, não apresentando efeito parasiticida. Contudo, a produção de quimiocinas (CCL2) capazes de atrair monócitos localmente é inibida pelo tratamento. O resultado é a interrupção do ciclo do parasita no próprio tecido hospedeiro. Este exemplo mostra como uma informação obtida de pesquisa básica realizada *in vitro* pode auxiliar o clínico a encontrar protocolos de tratamento adequados, sobretudo na utilização do gênio epidêmico homeopático para o tratamento populacional, face ao conhecimento revelado sobre o modo de ação do medicamento na relação parasita-hospedeiro. Da mesma forma, quanto aos efeitos sobre os leucócitos, Patil et al. [83] demonstraram aumento da quimiotaxia, aumento dos processos oxidativos e da ação fungicida intracelular contra *Candida albicans* com o uso do medicamento *Rhus toxicodendron*, reconhecido pelo seu efeito anti-inflamatório.

Conclusões

Estudos *in vitro* demonstram, inquestionavelmente, a atividade biológica de UDs acima do número de Avogadro, dando conta do efeito das mesmas na prática clínica. A maioria das pesquisas se origina em países onde a homeopatia é uma racionalidade médica oficialmente reconhecida, o que facilita o acesso a recursos de pesquisa. Contudo, o conhecimento gerado no nível celular permite desvendar os mecanismos de regulação celular deflagrados pelo tratamento homeopático e a aplicação deste conhecimento pode ajudar a aprimorar protocolos clínicos, bem como compreender suas limitações.

Referências

1. Rutten L, Mathie RT, Fisher P, Goossens M, van Wassenhoven M. Plausibility and evidence: the case of homeopathy. *Med Health Care Philos.* 2013;16(3):525-32.
2. Atmanspacher H, Roemer H, Walach H. Weak quantum theory: complementarity and entanglement in physics and beyond. *Foundations of Physics.* 2002;32:379-406.
3. Walach H. Magic of signs: a non-local interpretation of homeopathy. *Br Hom J.* 2000;89:127-40.
4. Milgrom L. Toward topological descriptions of the therapeutic process. *J Altern Complement Med.* 2010;16(12):1329-41.
5. Milgrom L. Toward topological descriptions of the therapeutic process: part 2. Practitioner and patient perspectives of the "journey to cure". *J Altern Complement Med.* 2012;18:187-99.
6. Milgrom L. Toward topological descriptions of the therapeutic process: part 3. Two new metaphors based on quantum superposition, wave function, "collapse," and conic sections. *J Altern Complement Med.* 2014;20(6):452-60.
7. Weingärtner O. The nature of the active ingredient in ultramolecular dilutions. *Homeopathy.* 2007;96(3):220-6.
8. Rey L. Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride. *Physica A.* 2003;323:67-74.
9. Lenger K, Baipai RP, Drexel M. Delayed luminescence of high homeopathic potencies on sugar globuli. *Homeopathy.* 2008;97(3):134-40.
10. Mahata CR. Dielectric dispersion studies of some potentised homeopathic medicines reveal structured vehicle. *Homeopathy.* 2013;102(40): 262-7.
11. Maity T, Ghosh D, Mahat CR. Effect of dielectric dispersion on potentised homeopathic medicines. *Homeopathy.* 2010; 99(2): 99-103.
12. Sharma A, Purkait B. Identification of medicinally active ingredient in ultradiluted *Digitalis purpurea*: fluorescence spectroscopic and cyclic-voltammetric study. *J Anal Methods Chem.* 2012;2012:109058.
13. Marschollek B, Nelle M, Wolf M, Baumgartner S, Heusser P, Wolf U. Effects of exposure to physical factors on homeopathic preparations as determined by ultraviolet light spectroscopy. *ScientificWorldJournal.* 2010;10: 49-61.
14. Wolf U, Wolf M, Heusser P, Thurmeysen A, Baumgartner S. Homeopathic preparations of quartz, sulfur and copper sulfate assessed by UV-spectroscopy. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011;2011:692798.
15. Botha I, Ross AH. A nuclear magnetic resonance spectroscopy comparison of 3C trituration derived and 4C trituration derived remedies. *Homeopathy* 2008; 97(4): 196-201.
16. Assumpção R. Electrical impedance and HV plasma images of high dilutions of sodium chloride. *Homeopathy.* 2008;97(3):129-33.
17. Smith CW. The electrical properties of high dilutions. *Homeopathy* 2008; 97(3): 11-112.
18. Holandino C, Harduim R, de Veiga VF, Garcia S, Zacharias CR. Modeling physical-chemical properties of high dilutions: an electrical conductivity study. *Int J of High Dilution Res.* 2008;7(25):165-73.
19. Boldyreva LB. An analogy between effects of ultra-low doses of biologically active substances on biological objects and properties of spin supercurrents in superfluid $^3\text{He-B}$. *Homeopathy.* 2011;10 (3) 187193.
20. Czerlinski GH, Ypma T. Domains of water molecules provide mechanisms of potentization in homeopathy. *Water.* 2010;2:1-14.

21. Demangeat J-L. Nanosized solvent superstructures in ultramolecular aqueous dilutions: twenty years' research using proton NMR relaxation. *Homeopathy*. 2013;102:87-105.
22. Elia V, Ausanio G, Gentile F, Germano R, Napoli E, Niccoli M. Experimental evidence of stable water nanostructures in extremely dilute solutions, at standard pressure and temperature. *Homeopathy*. 2014;103(1):44-50.
23. Witt CM, Bluth M, Albrecht H, Weißhuhn TER, Baumgartner S, Willich SN. The in vitro evidence for an effect of high homeopathic potencies: a systematic review of the literature. *Compl Ther Med*. 2007;15:128-38.
24. Santana FR, Dalboni LC, Nascimento KF, et al. High dilutions of antimony modulate cytokines production and macrophage – *Leishmania (L.) amazonensis* interaction in vitro. *Cytokine*. 2017;92:33-47.
25. Lima LF, Rocha RMP, Alves AMCV, et al. Comparison between the additive effects of diluted (rFSH) and diluted/dynamized (FSH 6 cH) recombinant follicle-stimulating hormone on the in vitro culture of ovine preantral follicles enclosed in ovarian tissue. *Compl Ther Med*. 2016;25:39-44.
26. Lima LF, Rocha RMP, Duarte ABG, et al. Unexpected effect of the vehicle (grain ethanol) of homeopathic FSH on the in vitro survival and development of isolated ovine preantral follicles. *Microsc Res Tech*. 2017;80: 406-18.
27. Wani K, Shah N, Prabhune A, Jachav A, Ranjekar P, Kaul-Ghanekar R. Evaluating the anticancer activity and nanoparticulate nature of homeopathic preparations of *Terminalia chebula*. *Homeopathy*. 2016;105:318-26.
28. Mondal J, Samadder A, Khuda-Bukhsh AR. *Psorinum 6x* triggers apoptosis signals in human lung cancer cells. *J Integr Med*. 2016;14(2):143-53.
29. Lee KJ, Yeo MG. Homeopathic *Rhus toxicodendron* has dual effects on the inflammatory response in the mouse preosteoblastic cell line MC3T3-e1. *Homeopathy*. 2016;105:42-47.
30. Pasetti TA, Bissoli LR, Macedo AP, Libame RB, Diniz S, Waisse S. Action of antibiotic oxacillin on in vitro growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) previously treated with homeopathic medicines. *Homeopathy*. 2017;106(1):27-31
31. Guedes JRP, Carrasco S, Ferreira C et al. A morphometric and molecular study of the apoptosis observed on tadpoles' tail explants under the exposition of triiodothyronine in different homeopathic dilutions. *Homeopathy*. 2016;105:250-56.
32. Tupe RS, Kulkarni A, Adeshara K, Shaikh S, Shah N, Jadhav A. *Syzygium jambolanum* and *Cephalandra indica* homeopathic preparations inhibit album glycation and protect erythrocytes: an in vitro study. *Homeopathy*. 2015;104:197-204.
33. Samadder A, Das S, Das J, Paul A, Boujedaini N, Khuda-Bukhsh AR. The potentized homeopathic drug *Lycopodium clavatum* (5C and 15C) has anti-cancer effect on HeLa cells in vitro. *J Acupunct Meridian Stud*. 2013;6(4):180-7.
34. Marzotto M, Olioso D, Brizzi M et al. Extreme sensitivity of gene expression in human SH-SY5Y neurocytes to ultra-low doses of *Gelsemium sempervirens*. *BMC Compl Alt Med*. 2014;14:104.
35. Olioso D, Marzotto M, Moratti E, Brizzi M, Bellavite P. Effects of *Gelsemium sempervirens* L. on pathway-focused gene expression profiling in neuronal cells. *J Ethnopharmacol*. 2014;153(2):535-9.
36. Siqueira CM, Costa B, Amorim AM et al. H3N2 homeopathic influenza virus solution modifies cellular and biochemical aspects of MDCK and J774G8 cell lines. *Homeopathy*. 2013;102:31-40.
37. Huh YH, Kim MJ, Yeo MG. Homeopathic *Rhus toxicodendron* treatment increased the expression of cyclooxygenase-2 in primary cultured mouse chondrocytes. *Homeopathy*. 2013;102:248-53.

38. Lima LF, Rocha RMP, Alves AMCV et al. Dynamized follicle-stimulating hormone affects the development of ovine preantral follicles cultured in vitro. *Homeopathy*. 2013;102:41-8.
39. Mukherjee A, Boujedaini N, Kuda-Bukhsh AR. Homeopathic Thuja 30C ameliorates benzo(a)pyrene induced DNA damage, stress and viability of perfused lung cells of mice in vitro. *J Integr Med*. 2013;11(6):397-404.
40. Bishayee K, Sikdar S, Khuda-Bukhsh AR. Evidence of epigenetic modification in cell-cycle arrest caused by the use of ultra-highly diluted *Gonobolus condurango* extract. *J Pharmacopunct*. 2013;16(4):7-13.
41. Arora S, Aggarwal A, Singla P, Jyoti S, Tandon S. Anti-proliferative effects of homeopathic medicines on human kidney, colon and breast cancer cells. *Homeopathy*. 2013;102:274-82.
42. Preethi K, Ellanghiyil S, Kuttan G, Kuttan R. Induction of apoptosis of tumor cells by some potentiated homeopathic drugs: implications on mechanism of action. *Integr Cancer Ther*. 2012;11(2):172-82.
43. Ive EC, Couchman IMS, Reddy L. Therapeutic effect of *Arsenicum album* on leukocytes. *Int J Mol Sci*. 2012;13:3979-87.
44. Oliveira SM, Oliveira CC, Abud APR, et al. *Mercurius solubilis*: actions on macrophages. *Homeopathy*. 2011;100:228-36.
45. Das S, Saha SK, De A, Das D, Khuda-Bukhsh AR. Potential of the homeopathic remedy, *Arnica montana* 30C, to reduce DNA damage in *Escherichia coli* exposed to ultraviolet irradiation through up-regulation of nucleotide excision repair genes. *JCIM*. 2012;10(3):337-46.
46. De A, Das D, Dutta S, Chakraborty D, Boujedaini N, Khuda-Bukhsh AR. Potentiated homeopathic drug *Arsenicum album* 30C inhibits intracellular reactive oxygen species generation and up-regulates expression of arsenic resistance gene in arsenine-exposed bacteria *Escherichia coli*. *JCIM*. 2012;10(2): 201-27.
47. Soto FRM, Vuaden ER, Coelho CP, et al. Effects of the utilization of homeopathic elements in commercial diluent on swine sperm viability. *In Vitro Cell Dev Biol – Animal*. 2011;47:205-209.
48. Frenkel M, Mishra BM, Sen S, et al. Cytotoxic effects of ultra-diluted remedies on breast cancer cells. *Int J Oncol*. 2010;16:395-403.
49. Hofbauer R, Pasching E, Moser D, Frass M. Heparin-binding epidermal growth factor expression in KATO-III cells after *Helicobacter pylori* stimulation under the influence of *strychnos Nux vomica* and *Calendula officinalis*. *Homeopathy*. 2010;99(3): 177-82.
50. Patil CR, Salunkhe PS, Gaushal MH, Gadekar AR, Agrawal AM, Surana SJ. Immunomodulatory activity of *Toxicodendron pubescens* in experimental models. *Homeopathy*. 2009;98:154-9.
51. Stiegling-Vlitalis C, Martens H, Lüdtker R. In vitro examination of potentiated atropine sulfate dilutions on the contractility of the isolated rat ileum. *J Altern Complement Med*. 2009;15(10):1121-6.
52. Endler PC, Thieves K, Reich C, et al. Repetitions of fundamental research models for homeopathically prepared dilutions beyond 10^{-23} : a bibliometric study. *Homeopathy*. 2010;99(1): 25-36.
53. Endler PC, Bellavite P, Bonamin L, Jäger T, Mazon S. Replications of fundamental research models in ultra high dilutions 1994 and 2015: update on a bibliometric study. *Homeopathy*. 2015;104(4): 234-45.
54. Poitevin B. Survey of immuno-allergological ultra high dilution research. *Homeopathy*. 2015;104:269-76.

55. Yaoita Y, Nakajima K. Induction of apoptosis and CPP32 expression by thyroid hormone in a myoblastic cell line derived from tadpole tail. *J Biol Chem.* 1997;272: 5122-7.
56. Endler PC, Pongratz W, Van Wijk R, Kastberger G, Haidvogel M. Effects of highly diluted succussed thyroxine on metamorphosis of highland frogs. *Berlin J Res Hom.* 1991;1(3):151-60.
57. Harrer B. Independent replication experiments on a model with extremely diluted thyroxine and highland amphibians. *Homeopathy.* 2013;102(1):25-30.
58. Guedes JRP, Capelozzi VL, Guimarães HMB, Ferreira CM, Saldiva PHN. Homeopathically prepared dilution of *Rana catesbeiana* thyroid glands modifies its rate of metamorphosis. *Homeopathy.* 2004;93(3):132-7.
59. Guedes JRP, Carrasco S, Ferreira CM, et al. Triiodothyronine diluted according to homeopathic techniques modifies the programmed cell death of tadpole tails explants. *Int J High Dilution Res* 2010;19: 91-3.
60. Guedes JRP, Carrasco S, Ferreira CM, et al. Ultra high dilution of triiodothyronine modifies cellular apoptosis in *Rana catesbeiana* tadpole tail in vitro. *Homeopathy.* 2011;100: 220-7.
61. IPRH – Initiative to Promote Research in Homeopathy. Research Updates – Homeopathy. 2016;5(4):26-34. Disponível em: <http://researchinhomeopathy.org/wp-content/uploads/2017/01/RUH-vol-5-issue-4.pdf>.
62. Chikramane PS, Suresh AK, Bellare JR, Kane SG. Extreme homeopathic dilutions retain starting materials: a nanoparticulate perspective. *Homeopathy.* 2010;99:231-42.
63. Upadyhay RP, Nayak C. Homeopathy emerging as nanomedicine. *Int J High Dilution Res.* 2011;10(37):299-310.
64. Gerhar I, Wallis E. Individualized homeopathic therapy for male infertility. *Homeopathy.* 2002;91:133-44.
65. Lobreiro J. Homeopathic treatment for infertility in a prize Nelore bull. *Homeopathy.* 2007;96:49-51.
66. Cristea A, Nicula S, Darie V. Pharmacodynamic effects of very high dilutions of belladonna on the isolated rat duodenum. In Bastide M, ed. *Signals and Images.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 161-170.
67. Schmidt F, Süß WG, Nieber K. In-vitro Testung von homöopathischen Verdünnungen. *Biol Med.* 2004;1:32-37.
68. Radau H. Material wissenschaftliche Untersuchungen der pharmazeutischen Hilfsstoffen und ihre Bedeutung für die Herstellung homöopathischer Arzneimittel. Doctoral dissertation, Fakultät für Biowissenschaft, Pharmazie und Pharmacologie, Universität Leipzig, 2004.
69. Michael S. Untersuchungen zur Wirkung von homöopathischer Arzneimittel. Doctoral thesis, Institut für Pharmacie, Universität Leipzig, 2004.
70. Nieber K, Süß W, Michael S. In-vitro-Untersuchungen zum Nachweis der Wirkung von homöopathischen Verdünnungen. *AHZ.* 2005;250: 39.
71. Alecu A, Alecu M, Brezeanu R, Marcus G, Cojocaru A. Designs for research of high dilutions in animal models: an update. *Int J High Dilution Res.* 2010;9(30):5-15.
72. Magnani P, Conforti A, Zanolini E, Marzotto M, Bellavite P. Dose-effect study of *Gelsemium sempervirens* in high dilutions on anxiety-related responses in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2010;210(4):533-45.
73. Bellavite P, Conforti A, Marzotto M, et al. Testing homeopathy in mouse emotional response models: pooled data analysis of two series of studies. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:954374.
74. Bellavite P. *Gelsemium sempervirens* and animal behavioral models. *Front Neurol.* 2011;2:56.

75. Bellavite P, Magnani P, Zanolin E, Conforti A. Homeopathic doses of *Gelsemium sempervirens* improve the behavior of mice in response to novel environments. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:362517.
76. Marzotto M, Olioso D, Bellavite P. Gene expression and highly diluted molecules. *Front Pharmacol*. 2014;12(5): 237.
77. Khuda-Bukhsh AR. Potentized homeopathic drugs act through regulation of gene expression: a hypothesis to explain their mechanism and pathways of action in vivo. *Comp Ther Med*. 1997;5:43-6.
78. Saha SK, Roy S, Khuda-Bukhsh AR. Evidence in support of gene regulatory hypothesis: gene expression profiling manifests homeopathy effect as more than placebo. *Int J High Dilution Res*. 2013;12(45):162-7.
79. Pasetti T, Manzoni AJ, Ambrozino LGP, et al. Ação dos medicamentos homeopáticos *Arnica montana*, *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubilis* e *nosódio* sobre o crescimento in vitro da bactéria *Streptococcus pyogenes*. *Rev Homeop*. 2014;77(1/2):1-9.
80. Siqueira CM, Costa B, Amorim AM, et al. H3N2 homeopathic influenza virus solution modifies cellular and biochemical aspects of MDCK and J774G8 cell lines. *Homeopathy*. 2013;102:31-40.
81. Oliveira SM, Oliveira CC, Abud APR, et al. *Mercurius solubilis*: actions on macrophages. *Homeopathy*. 2011;100:228-36.
82. Santana FR, Dalboni LC, Nascimento KF, et al. High dilutions of antimony modulate cytokines production and macrophage – *Leishmania (L.) amazonensis* interaction in vitro. *Cytokine*. 2017;92:33-47.
83. Patil CR, Salunkhe PS, Gaushal MH, Gadekar AR, Agrawal AM, Surana SJ. Immunomodulatory activity of *Toxicodendron pubescens* in experimental models. *Homeopathy*. 2009;98:154-9.