



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN MEDICINA ALTERNATIVA

ESTRATEGIAS DE PROTECCION INMUNITARIA. UNA VISION DESDE LA HOMEOPATIA FUNDAMENTADA EN NANOPARTICULAS

GISSELLE ADRIANA CUBILLOS MORALES

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Medicina Alternativa - Homeopatía
Bogotá D.C., Colombia
2018

ESTRATEGIAS DE PROTECCION INMUNITARIA. UNA VISION DESDE LA HOMEOPATIA FUNDAMENTADA EN NANOPARTICULAS

GISSELLE ADRIANA CUBILLOS MORALES

Protocolo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Medicina Alternativa área Homeopatía

Tutor:

Doctor. Eduardo Beltrán Dussan. MD Pediatra Hemato-Oncólogo, Master Medicina Alternativa, Área Medicina Neural Terapéutica extendida a Área de Homeopatía
Docente Maestría Medicina Alternativa. Universidad Nacional de Colombia

Cotutor:

Doctor. Jorge Caminos Pinzón. Químico. Master en Bioquímica, Doctorado en Neuroendocrinología. Docente Biología Molecular. Universidad Nacional de

Línea de Investigación:
Protocolo de investigación

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Medicina Alternativa - Homeopatía
Bogotá D.C., Colombia
2018

A Dios, por ser mí soporte,
a mis padres por su apoyo, a mi esposo e hijo
por su comprensión.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a cada uno de mis docentes, quienes me brindaron la oportunidad de participar en este proyecto y fueron mi apoyo en su proceso, a todos por sus enseñanzas, en la guía para tener un nuevo conocimiento en Medicina Alternativa y Homeopatía. Muchas gracias.

Contenido

Pág.

1. Pregunta	10
2. Introduccion	10
3. Justificación	11
4. Objetivos	11
4.1 Objetivo General	11
4.2 Objetivos Específicos.....	11
5. Marco Teórico	12
5.1 Desarrollo y Evoluion de las vacunas a traves de la historia.....	12
5.1.1 El surgimiento de la Ingeniería Genética.....	15
5.1.2 Futuro y avances de las vacunas	16
5.1.3 Excipientes – adyuvantes de las vacunas.....	18
5.1.3.1 Tiomersal o Timerosal.....	19
5.1.3.2 Hidróxido o fosfato de aluminio.....	19
5.1.3.3 Antibióticos.....	19
5.1.3.4 Formaldehido.....	20
5.1.4 Vacunas y controversias.....	20
5.2 Homeopatia historia y fundamentos.....	24
5.2.1 Nosodes	30
5.2.2 Comprensión Miasmática y Nosodes	31
5.3 Vacunosis.....	32

5.4	Nanopartículas y Homeopatía.....-	34
6.	Mecanismo inmunológico de las vacunas.....	37
7.	Etapas de desarrollo de las vacunas.....	39
7.1	Fase Preclínica.....	40
7.2	Fase I Clínica.....	42
7.3	Fase II Clínica.....	43
7.4	Fase III Clínica.....	43
7.5	Fase IV Clínica.....	44
8.	Homeopatía y reacción inmunológica.....	44
9.	Metodología.....	49
10.	Discusión.....	50
11.	Conclusiones.....	54
12.	Cronograma.....	56
	Bibliografía.....	58

RESUMEN

ESTRATEGIAS DE PROTECCION INMUNITARIA. UNA VISION DESDE LA HOMEOPATIA FUNDAMENTADA EN NANOPARTICULAS

Introducción: Con la aparición de enfermedades infectocontagiosas, que generaron un aumento en la morbilidad y la mortalidad de poblaciones a nivel mundial, se desarrollaron componentes inmunológicos, con la capacidad de brindar una respuesta inmune protectora, llamados vacunas. No obstante, las controversias generadas por las mismas, incentivan la búsqueda y el desarrollo de nuevas estrategias de reforzamiento inmune, que tengan la capacidad de generar una respuesta protectora, sin producir efectos no deseados y potencialmente nocivos para el cuerpo humano. El objetivo de este estudio, es la realización de un protocolo de investigación, que permita evaluar la respuesta inmunológica protectora con el uso de estrategias homeopáticas, tratando de eliminar la presencia de posibles efectos secundarios.

Materiales y Métodos: Se realizó una búsqueda bibliográfica, sobre la historia y el desarrollo de las vacunas, las posibles respuestas inmunológicas generadas y sus controversias. Se describe la historia y principios de la homeopatía, los estudios realizados en la respuesta inmune generada y los nosodes. Se plantea una metodología experimental con el uso de nosodes, a partir algunos agentes infecciosos a diferentes potencias, con el fin de evaluar la posible respuesta inmunológica generada. Se propone la posibilidad de individualizar el estímulo homeopático mediante la adición de medicamentos homeopáticos que cubran la totalidad sintomática.

Resultados: Se evidenciaron las posibles respuestas inmunológicas generadas en estudios realizados con el uso de medicamentos homeopáticos, de la misma manera, se encontraron reportes sobre los posibles efectos secundarios generados con el uso de vacunas convencionales y las nuevas técnicas en desarrollo de las vacunas, con el fin de evitar la ocurrencia de los mismos, permitiendo el planteamiento de un diseño metodológico experimental.

Conclusiones: El desarrollo del presente protocolo, se realizó con el fin de evaluar una propuesta de protección inmunológica, en ausencia de posibles efectos adversos, con el uso de una estrategia homeopática que incluye el uso de nosodes, con base en el desarrollo de la fase preclínica de las vacunas, teniendo en cuenta los principios y fundamentos de la homeopatía.

Palabras clave: Vacunación, homeopatía, nosodes, vacunosis, respuesta inmune.

ABSTRACT

IMMUNE PROTECTION STRATEGIES. A VISION FROM THE HOMEOPATHY BASED ON NANOPARTICLES

Introduction: With the appearance of infectious diseases, which generated an increase in the morbidity and mortality of populations worldwide, immunological components were developed, with the capacity to provide a protective immune response, called vaccines. However, the controversies generated by them encourage the search and development of new strategies for immune reinforcement, which have the capacity to generate a protective response, without producing unwanted and potentially harmful effects for the human body. The objective of this study is to carry out a research protocol that allows evaluating the protective immune response with the use of homeopathic strategies, trying to eliminate the presence of possible side effects.

Materials and Methods: A bibliographic search was carried out on the history and development of vaccines, the possible immunological responses generated and their controversies. It describes the history and principles of homeopathy, the studies carried out on the immune response generated and the nosodes. An experimental methodology is proposed with the use of nosodes, starting from some infectious agents at different potencies, in order to evaluate the possible immunological response generated. It is proposed the possibility of individualizing the homeopathic stimulus by adding homeopathic medicines that cover the symptomatic totality.

Results: The possible immunological responses generated were evidenced in studies carried out with the use of homeopathic medicines, in the same way, reports were found about the possible side effects generated with the use of conventional vaccines and the new techniques in vaccine development, in order to avoid the occurrence of them, allowing the approach of an experimental methodological design.

Conclusions: The development of this protocol was carried out with the purpose of evaluating a proposal of immunological protection, in the absence of possible adverse effects, with the use of a homeopathic strategy that includes the use of nosodes, based on the development of the phase Preclinical vaccines, taking into account the principles and foundations of homeopathy.

Key words: Vaccination, homeopathy, nosodes, vaccinosis, immune response.

ESTRATEGIAS DE PROTECCION INMUNITARIA. UNA VISION DESDE LA HOMEOPATIA FUNDAMENTADA EN NANOPARTICULAS

1. Pregunta:

¿Es posible la estimulación de una repuesta protectora inmunológica frente a enfermedades infecciosas mediante intervenciones homeopáticas?

2. Introducción:

En el transcurso del desarrollo de la humanidad, la aparición de enfermedades infectocontagiosas ha ocasionado efectos desfavorables con múltiples desenlaces, siendo en su mayoría casos fatales. Esto incentivó, la búsqueda en la preservación de la vida humana y el mejoramiento en las condiciones de salud de una población, para lo cual la ciencia ha creado componentes inmunológicos, como la defensa a dichas enfermedades, con el fin de generar un impacto favorable en la morbi-mortalidad de la población. Sin embargo, estos componentes han generado controversia por los efectos adversos que puedan producir (1,2). La homeopatía es un sistema médico complejo, fundamentado en el principio de la similitud, en el que toda sustancia farmacológicamente activa produce en un individuo sano, una serie de síntomas característicos de dicha sustancia y que administrándola en dosis infinitesimales en un individuo enfermo, puede recuperar el estado de salud a nivel funcional y orgánico, generando cambios fisiológicos en el individuo, que involucran el sistema inmunológico (3). Durante los casi 200 años de su existencia, ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de múltiples enfermedades y nuevas maneras de comprender su funcionamiento desde el punto de vista terapéutico, generando un adecuado conocimiento científico, que sustenta la probabilidad de inducir una respuesta inmunológica del individuo sin la necesidad de utilizar agentes biológicos (4).

Históricamente se han buscado explicaciones sobre el mecanismo de acción de los medicamentos y por tal motivo la investigación en medicina y el surgimiento de un nuevo conocimiento científico, ha llevado a la aplicación de la nanociencia a la medicina y sus correlaciones con la terapéutica en forma de nanomedicina, considerando a las nanopartículas y sus elementales propiedades fisicoquímicas. La homeopatía como sistema médico complejo, al igual que otros sistemas médicos, ha sido entendida por medio de la innovadora nanomedicina, como método fisicoquímico terapéutico que contiene información estructural capaz de generar una respuesta celular, con el propósito de favorecer el restablecimiento del estado de salud en un organismo (5,6).

3. Justificación:

El desarrollo de la investigación científica en medicina, con el propósito de promover un reforzamiento inmunológico adecuado, que posea la capacidad de generar una respuesta inmune protectora rápida, frente a agentes infecciosos que puedan afectar un organismo, ha creado métodos terapéuticos que puedan mejorar el sistema inmune con el fin de garantizar su estado de salud y el de una población. Sin embargo, la administración de estos métodos terapéuticos, pueden originar efectos colaterales no deseados que en ocasiones pueden ser graves, inesperados y de difícil resolución (2).

La homeopatía como sistema médico complejo, puede inducir una respuesta del sistema inmune de un organismo, mediante el uso de dosis infinitesimales de una sustancia natural (3). Esta potencia la capacidad de respuesta del sistema inmunológico a un estímulo externo, con el fin de poder eliminar el agente toxico o agente causante de enfermedad, que ocasiona el desequilibrio en la dinámica vital o equilibrio hemodinámico del organismo y por ende la enfermedad.

El presente estudio busca plantear un método terapéutico que podría servir en el mejoramiento de la respuesta inmune, por medio de un apropiado soporte inmunitario sin la necesidad de recurrir a agentes biológicos potencialmente perjudiciales para el organismo y su uso repetitivo. El propósito de la presente investigación es la búsqueda de una respuesta inmunológica protectora y preventiva, con la realización de una propuesta experimental, que permita brindar dicha protección; sin generar controversia con los requerimientos de protección inmunitaria actualmente establecidos.

4. Objetivos:

4.1 General

- a. Diseñar un protocolo de investigación para el desarrollo de una estrategia de protección inmune, por métodos homeopáticos que permita prevenir enfermedades infecciosas comunes.

4.2 Específicos:

- b. Definir el origen y evolución de componentes inmunológicos como protectores llamados vacunas.
- c. Establecer la relación de nuevas tecnologías en el desarrollo de componentes inmunológicos y su capacidad de fortalecer el sistema inmunológico.
- d. Definir la relación del principio fundamental homeopático y el principio básico en el desarrollo de vacunas, tomando como base su historia, evolución y nuevas tecnologías.
- e. Describir las nuevas tecnologías en la realización de componentes inmunológicos y su relación con las propiedades fisicoquímicas de componentes homeopáticos.
- f. Revisar la literatura sobre propuestas de elaboración de vacunas fundamentadas en homeopatía.
- g. Analizar de qué manera los medicamentos homeopáticos pudieran generar un estímulo protector en el sistema inmunológico.
- h. Diferenciar el uso de vacunas como protectores inmunológicos frente al uso de métodos homeopáticos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Desarrollo y evolución de las vacunas a través de la historia

Con la aparición y el aumento de agentes infecciosos a nivel mundial, se empezaron a dar los primeros ensayos empíricos en el desarrollo de formas preventivas con el fin de controlar la diseminación, las consecuencias y el auge de nuevos agentes infecciosos en todo el mundo, llevando al descubrimiento de compuestos de protección inmunológica y su posterior desarrollo, con el objetivo principal de alcanzar el máximo grado de protección y a su vez la menor aparición de reacciones adversas (7). No obstante, la búsqueda del perfeccionamiento de los mismos, históricamente se ha dirigido a inducir inmunidad contra el agente infeccioso, sin la necesidad de sufrir la enfermedad natural, convirtiéndose en la herramienta más importante en salud pública a nivel mundial. El uso y el progreso de estos agentes de protección inmunológica, a los cuales se les dio el nombre de vacunas, ha generado un impacto positivo en la disminución y en algunos casos la erradicación de importantes enfermedades infecciosas, generando la promoción por la OMS del desarrollo de nuevas tecnologías, con el fin de contrarrestar la epidemia y/o pandemia generada (7).

Con la nueva definición adquirida para agentes de protección inmunológica, se denomina a las vacunas como preparaciones que generan en un individuo respuestas inmunológicas por medio de la producción de anticuerpos a través de mecanismo humoral o mediada por células, que contrarrestan agentes infecciosos, para lo cual se requiere un procesamiento adecuado con el fin de proporcionar una inmunización efectiva y disminuir el riesgo de eventos adversos (8). Para alcanzar la eliminación completa de un agente infeccioso, es necesario que los casos reportados en un área geográfica se reduzcan a cero, pero solo se logra cuando su eliminación puede sostenerse a lo largo del tiempo sin interrupciones. Hasta el momento, la única enfermedad que ha sido erradicada es la viruela, lo que refuerza la búsqueda de nuevas tecnologías.

A partir de este concepto el descubrimiento y avance de las vacunas ha trascendido a través de la historia. Desde Egipto hasta China, era reconocido que las personas que se recuperaban de ciertas enfermedades mostraban resistencia a enfermarse al tener contactos posteriores con la misma enfermedad. Según el historiador *Thucydides*, en su descripción de la plaga en Atenas (430 a.c.) las personas que se recuperaban de la enfermedad ya no le temían, teniendo en cuenta que ésta no atacaba dos veces. Fue entonces cuando se creó el término inmunidad, derivado del latín *inmunitas* que en tiempos romanos describía la exoneración de una persona al servicio del estado (7).

Antiguamente en la India y en la China, los esfuerzos por reducir las consecuencias de la pandemia de la viruela llevaron a la práctica de lo que se llamaba *variolación*, que consistía en la inoculación del exudado de las lesiones de un individuo infectado a uno sano a través de la piel (India), o de la nariz (China). Dicha práctica se extendió por toda Europa, debido a la introducción inicial realizada por Lady Mary Montagu en Gran Bretaña, esposa del embajador británico, quien durante su estadía en Constantinopla comprendió el procedimiento lo suficientemente bien como para practicarlo en su hijo de 6 años en 1718. Solo hasta finales del siglo XVIII en Gran Bretaña, se realizaron las primeras investigaciones en lecheras, quienes sufrían frecuentemente de pústulas o lesiones en las manos, como resultado del contagio de la vacuna viruela (cowpox) y ocasionalmente sufrían la enfermedad.

Estos hallazgos fueron recopilados por Edwar Jenner médico Inglés, quien vivía en la ciudad de Gloucestershire-Inglaterra, realizando la inoculación de la secreción producida por las heridas infectadas con viruela de las manos de Sarah Nemes, a James Phipps de 8 años de edad el 14 de

mayo de 1796, quien después de seis semanas de observación no había desarrollado la enfermedad (7).

Aproximadamente cien años más tarde, otro descubrimiento científico dado por el físico alemán Robert Koch en 1876, tomo importancia al identificar el *Bacillus anthracis* como el causante de la enfermedad del ántrax y en 1882 al *Tubercle bacillus* como el causante de la tuberculosis, lo cual contribuyó a finales del siglo XIX al avance y descubrimiento de nuevas vacunas, como la vacuna contra *Pasteurella multocida* para animales en 1880, contra el ántrax para animales y contra la rabia en 1885 (7), desarrollada por el químico francés Louis Pasteur, resurgiendo el concepto de vacuna; quién en una de sus múltiples investigaciones, aprendió accidentalmente que al tomar el organismo causante del cólera en gallinas, conocido como *Pasteurella multocida* y exponerlo a condiciones adversas podría lograr su atenuación. Sin embargo a pesar de que esta teoría de atenuación no tuvo éxito, finalmente sus resultados fueron reconocidos (9).

A su vez fue desarrollada la vacuna, contra la fiebre tifoidea para animales y humanos en 1886, con un hallazgo importante en 1888 cuando Roux y Yersin demostraron que el bacilo *Corynebacterium diphtheriae* producía endotoxinas solubles. Dos años después, Von Behring y Kitasato evidenciaron que al someter animales a dosis sub letales de toxinas, se inducía la producción de antitoxina en el suero de los mismos, llegando a la conclusión de que la terapia del suero se daba a través de la producción de anticuerpos; así mismo se desarrollaron vacunas contra el cólera en 1896 y la peste en 1897 (7,9). Cabe destacar que Daniel Salmon y Theobald Smith, fueron los pioneros en la inactivación de bacterias, logrando para esta época como se dijo anteriormente, la producción de vacunas con células inactivas contra la fiebre tifoidea, cólera y la peste (9).

A comienzos del siglo XX, los avances en investigación en microbiología médica, permitieron el desarrollo de nuevas tecnologías, sin embargo, en algunos casos el agente infectante era indeterminable, lo que dio inicio al concepto de virus. El virus de la enfermedad de mosaico del tabaco fue el primero en ser identificado (7). Con el nacimiento de este concepto, nuevos científicos como Adolf Mayer, Dimitri Ivanofsky y Martinus Beijerinck, por medio de sus trabajos en plantas, demostraron que la savia de plantas enfermas, podía transmitir la enfermedad a plantas saludables, sin embargo, no fue posible cultivar dicho agente. No obstante, con el tiempo Beijerinck, se dio cuenta que el virus aumentaba su fuerza de replicación en tejido vivo, sugiriendo que el agente infeccioso asociado con la enfermedad del mosaico del tabaco, necesitaba de este tipo de tejido para replicarse, lo que cambió el concepto de cultivo ex vivo (7).

Con el descubrimiento de toxinas solubles para la difteria y el tétano, realizado por Roux y Yersin, basados en la combinación de antitoxina con toxina obtenida del sobrenadante de los cultivos, permitió el desarrollo de la primera inmunización activa contra la difteria y el tétanos (7). Pero solo hasta 1923, Alexander Glenny y Barbara Hopkins descubrieron que la toxina de la difteria podría ser atenuada por medio de la acción de formalina, convirtiéndola en toxoide, reduciendo su toxicidad y conservando la acción inmunogénica, con mejor tolerancia al ser combinado con la antitoxina; llevando a la producción de antígeno diftérico inactivo (9). En 1926, tiempo después del aislamiento del agente causante de la tosferina dado en 1907, dicho agente fue combinado con toxoide diftérico y tetánico con el fin de formar la vacuna DPT (difteria-tétanos-tosferina), aceptada y considerada como punto de partida para el desarrollo de nuevas vacunas (7).

A mediados del siglo XX, nuevas vacunas celulares fueron producidas, la vacuna contra *Bordetella pertussis*, compuesta por células bacterianas inactivas que inducían aglutinación de anticuerpos.

Posteriormente fueron remplazadas por antígenos bacterianos que inducían anticuerpos protectores y la vacuna viral contra la influenza, creada por Wilson Smith, quien usaba los hurones para demostrar que la infección previa con influenza inducía inmunidad. Desafortunadamente, en 1940 llegó a ser evidente que el virus tiene más de una cepa y por lo tanto las vacunas resultan ser inefectivas (9). Ese mismo año, la atención en el desarrollo de nuevas estrategias se dirigió hacia vacunas producidas a partir de la cápsula bacteriana y sus polisacáridos, fomentando el uso de componentes y subunidades microbianas para la generación de las mismas, como la primera vacuna desarrollada contra el neumococo con limitado número de serotipos aprobada en 1946 (7).

Posteriormente, con el auge del crecimiento viral en cultivos celulares a partir de tejidos y el éxito obtenido de John Enders, Frederick Robbins y Thomas Weller; al cultivar el virus de la poliomielitis en tejido embrionario humano no - neuronal, contribuyó a que en 1955 Jonas Salk introdujera la vacuna inactivada con formalina de este agente infeccioso, seguida por la aprobación de la vacuna de adenovirus muerto en 1958 (7). Sin embargo, debido a la pobre seguridad en la manufactura de vacunas en ese momento, la vacuna fue inadecuadamente desactivada causando un número considerable de casos de polio, lo cual llevó al mejoramiento de la misma, produciendo nuevas vacunas vivas atenuadas y poco contenido de carga viral, siendo más costo efectiva la introducida por Sabin en 1961 como vacuna de polio oral (7,9). Una de las vacunas significativas desarrollada, fue la vacuna contra la hepatitis A, producida por medio de la inactivación clásica del virus, aprobada en 1955 y recomendada para su aplicación en niños en el 2006, prediciendo su éxito y la alta eficacia de los anticuerpos producidos (9).

Luego de la introducción de la vacuna del polio, muchas otras emergieron, una de las más relevantes fue la vacuna trivalente (contra las paperas-sarampión-rubeola MMR) en 1969 y con licencia para su distribución en 1971. Esta combinación fue realizada por medio de cultivo celular o a partir de huevos embrionados y con su administración pasiva, haciendo que el virus fuera menos reactogénico para mantener su inmunidad (7). En 1970, el mismo principio fue aplicado al desarrollo de la vacuna contra la varicela zoster por Michiaki Takahashi, quien atenuaba el virus por medio de células de cuy (conejo de indias), induciendo respuesta inmune similar a la infección natural, pudiendo de esta forma demostrar su eficacia (9).

Una de las vacunas con base en los polisacáridos de la capsula bacteriana, el neumococo, fue aprobada en 1946, sin embargo, fue solo hasta 1977 que la vacuna de 14 serotipos obtuvo licencia de distribución, con posterior desarrollo de la vacuna de polisacáridos polivalente de 23 serotipos aprobada en 1984 (7). Se han presentado, dos limitaciones significativas en el desarrollo de las vacunas con base en polisacáridos; la primera se define por la baja inmunogenicidad de los polisacáridos del grupo B, la segunda consiste en que estos son clasificados como antígenos independientes de células T, sin que la respuesta inmune implique dichas células, al igual que los polisacáridos del grupo C los cuales son pobremente inmunogénicos. Estas limitaciones fueron resueltas prontamente por medio de la conjugación de proteínas, dando como resultado la erradicación en gran parte de la región occidental la enfermedad por *Haemophilus influenzae* tipo b, estrategia ahora también aplicada en la producción de vacunas con base en polisacáridos, para neumococo (7).

En 1980 se dio el nacimiento de dos importantes estrategias para su desarrollo, el primero consistía en la conjugación de polisacáridos bacterianos con proteínas y un nuevo método llamado ingeniería genética, mejorando su inmunogenicidad (9). Un ejemplo se dio con las vacunas producidas a partir de los polisacáridos capsulares de *Haemophilus influenzae* tipo b, grupos A, C, Y, W135,

meningococo y múltiples serotipos de neumococo, descubiertas por Porter Anderson, David Smith, Emil Gotschlich y Robert Austrian, respectivamente. El bacilo *Haemophilus influenzae*, inicialmente identificado por Robert Pfeiffer en 1889, llegó a ser un problema de salud pública en el mundo, que afectaba inicialmente a los niños y evidenciando que únicamente el tipo b era el causante de una grave enfermedad (9).

5.1.1 El surgimiento de la Ingeniería Genética

La ingeniería genética fue principalmente concebida por Stanley Cohen y Herbert Boyer. Consistió en la creación de sustratos a partir de bacterias, levaduras y células animales para la producción de proteínas inmunogénicas. Blumberg y colaboradores en 1965, descubrieron la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), en la sangre de personas infectadas, en la cual la ingeniería genética permitió el desarrollo de nuevas vacunas contra la hepatitis B realizadas por medio de la expresión del gen de la superficie del antígeno en uno de los sustratos celulares de personas infectadas (HBsAg), aprobada como primera vacuna en 1981. Sin embargo el riesgo de infecciones adquiridas con el uso de productos sanguíneos, llevó al remplazo de ésta por la primera vacuna recombinante derivada de la levadura en 1986 (7).

Desde la mitad del siglo XX, el concepto de inmunidad celular descrito por Élie Metchnikoff tomó importancia, que posteriormente fue aclarado por Jacques Miller y Robert Good con el descubrimiento y la separación de linfocitos en células B y células T (9). Con estos hallazgos, se evidenció que luego de la vacunación, las células T helper son esenciales para el desarrollo de células B de memoria y anticuerpos de larga duración. El nuevo conocimiento de la inmunidad innata, de la función de diferentes tipos de anticuerpos y de la función de células T CD4 y células T CD8, en respuesta a la vacunación ha sido muy importante, al igual que el término vacunología reversa y biología molecular, los cuales ayudan a definir antígenos más efectivos, mientras que los sistemas biológicos explican cómo los cambios en la expresión de genes se correlacionan con la respuesta inmune protectora (9). Este nuevo punto de vista para el desarrollo de vacunas con el conocimiento de la función del sistema inmune, fue primordial para el inicio de nuevas investigaciones con el fin de combatir enfermedades relevantes a nivel mundial, como HIV/SIDA y malaria, en las cuales la inmunidad natural es imperfecta o está ausente, evocando el sistema inmune innato en aras de mejorar la inmunidad adaptativa (9).

Una de las limitaciones en la producción de vacunas, se basa en que los componentes aislados (antígeno) del patógeno, fallan al inducir la inmunidad cuando son usados por sí solos, no obstante, con el fin de mejorar la insuficiente inmunogenicidad de productos microbiológicos purificados, se crearon los adyuvantes, sustancias que combinadas con el antígeno deseado permiten el reconocimiento y la respuesta del sistema inmune, debido a que las proteínas solubles son menos inmunogénicas que las presentadas en forma de partícula. Impulsando el uso de fosfato de calcio o gel de fosfato de aluminio (alumbre), el cual absorbe los antígenos solubles, siendo las sales de aluminio los únicos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration). Sin embargo el mayor inconveniente del aluminio es dado por la producción de anticuerpos con poca o ninguna inducción de inmunidad, mediada por células (7).

La palabra adyuvante es derivada del latín *adjuvare*, que significa ayuda, son aparentemente usados para incrementar la respuesta a antígenos por medio de la inmunidad adaptativa; en un principio

se pensaba que causaban un efecto de depósito en el sitio de inyección, de tal manera que el adyuvante permite la liberación lenta de antígenos en el tiempo, pero actualmente se ha demostrado que actúan como un agente inflamatorio (9). De manera que el uso de fuertes adyuvantes, pueda estimular los factores de la inmunidad innata y a su vez las células B con expansión de las células T, mejorando la inmunidad adaptativa (8,9).

Con el fin de disminuir el número de dosis requerido para algunas vacunas, se llevó a cabo la combinación de varios antígenos en una sola vacuna obteniendo nuevas vacunas como la DPT (difteria-tétanos-tosferina) y la triple viral – MMR (paperas-sarampión-rubeola), siendo generalmente las más usadas hasta el momento. A pesar de su utilidad, un aspecto importante a tener en cuenta es el gran costo que representan con acceso insuficiente a las mismas, junto con la posible reducción de la respuesta inmune cuando varios antígenos compiten por la misma respuesta (10).

Actualmente, las vías por las cuales son adquiridos los agentes infecciosos, son un aspecto de investigación para el mejoramiento de las vacunas. Muchas infecciones naturales son adquiridas a través de la mucosa, tracto respiratorio, tracto intestinal o genital y, por lo tanto, las defensas contenidas en esa mucosa pueden ser más efectivas. La mucosa intestinal tiene una ventaja adicional de respuesta inmune, como la primera línea de defensa inmunológica. Por definición, la mucosa tiene una vigilancia del sistema inmune altamente desarrollada, en la que por medio de las células especializadas (células M intestinales) el antígeno es presentado a células dendríticas y linfocitos, generando una respuesta inmune (10).

5.1.2 Futuro y avances de las vacunas

Para poder comprender un adecuado funcionamiento de las vacunas y por ende su seguridad, es necesario comprender su mecanismo en el sistema inmune. El sistema inmunitario adquirido se encarga especialmente en defender el cuerpo contra el ataque de microorganismos y las consecuencias de dicha infección. Por ende, nace la necesidad de enseñar al cuerpo a reconocer estos antígenos o toxinas antes de que puedan atacarlo, dejando una memoria inmunológica, creando una nueva habilidad de diseñar antígenos, para invocar el sistema inmune innato en aras de promover la respuesta inmune adaptativa, e identificar las células T necesarias para la respuesta requerida (9,10).

La necesidad de proporcionar nuevas tecnologías para el desarrollo de vacunas, que sean efectivas en contrarrestar sucesos con pocos métodos de tratamiento como; 1. Enfermedades infecciosas para las cuales las vacunas no están disponibles o son actualmente inadecuadas, por ejemplo, HIV, HCV (hepatitis C), *Neisseria meningitidis tipo B*, *Streptococo grupo B*, TBC (tuberculosis) y malaria, 2. Protección contra el tratamiento de enfermedades pandémicas; por ejemplo, virus de influenza, su continuo crecimiento y la difusión de organismos antimicrobianos resistentes, incluyendo la infección de *staphylococco* resistente a vancomicina, TBC multiresistente y cepas de HIV resistente a medicamentos, 3. Protección contra enfermedades emergentes o re-emergentes como, el virus West Nile, síndrome respiratorio agudo (SARS), Ebola, Hanta, Dengue y bioterrorismo (11).

Con el surgimiento de la ingeniería genética y la biología molecular, nuevas tecnologías han sido desarrolladas con el fin de modular la respuesta inmune inducida por vacunas, entre las cuales

incluyen la presentación de proteína purificada o conjugada con polisacáridos, como mezcla de péptidos o ácidos nucleicos para iniciar la transcripción y traducción de productos genéticos en el hospedero. Este ácido nucleico puede ser presentado como ácido nucleico desnudo o siendo parte de un vector, como la expresión del antígeno y a su vez, las proteínas pueden estimular los anticuerpos y la inmunidad por células helper tipo II (10).

Las vacunas a partir de DNA, pueden generar una respuesta inmune extensa similar a la generada por virus vivo atenuado, sin la necesidad de replicación del patógeno y la generación de reacciones adversas. Una segunda generación de vacunas a partir de DNA aparece con el fin de mejorar la respuesta inmune celular y humoral (12). El uso de péptidos es otro método, que puede ser una alternativa cuando se desea estimular específicamente células T citotóxicas CD8, seleccionando péptidos que se unen al CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) clase I, asegurando su estimulación. La iniciación de la respuesta inmune requiere el reconocimiento de antígenos libres por las inmunoglobulinas (sobre células B) o el procesamiento de antígenos presentados como péptidos ligados a CMH clase I o II (sobre células presentadores de antígeno) por células T y la estimulación de quimiocinas, citoquinas a su vez estimulados por microorganismos (10).

De la misma forma, las nuevas vías administración de vacunas, es un campo novedoso en el que estas se pueden liberar por vía mucosa, oral o spray nasal, al igual que la producción de vacunas antigénicas como proteínas de plantas comestibles. Otro enfoque deseado, ha sido dirigido hacia la producción de una vacuna en dosis única, donde el antígeno pueda liberarse en intervalos de tiempo requeridos, pudiendo ser alcanzado por la tecnología de micro encapsulación como adyuvantes, degradados en el cuerpo en diferentes tasas, junto con la liberación del antígeno atrapado (10).

Hasta el momento, las enfermedades con importancia de salud pública en el mundo entero, que requieren el uso de vacunas son la malaria, el dengue y el HIV, siendo estas de difícil manejo e impacto desfavorable a nivel mundial, sin embargo, su búsqueda es larga y continúa. El ciclo infeccioso de la malaria es complejo y el comportamiento de la inmunidad en las diferentes fases, a pesar su búsqueda intensiva, es pobremente entendido. Además de la malaria, existen otros parásitos que también requieren el uso de vacunas, entre estos se destacan los protozoarios, la leishmaniasis y tripanosomiasis (13).

La búsqueda de nuevos métodos para el manejo de enfermedades infecciosas y la prevención de ETS (enfermedades de transmisión sexual) transmitidas por bacterias entre estas, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *virus de herpes simple* y *staphylococco aureus*, podrían estar en los primeros lugares de prioridad para nuevas vacunas, pero con poca consideración de las mismas hasta el momento. Varios avances se han producido a lo largo del tiempo, pudiendo nombrar los siguientes; la vacuna para el Estreptococo grupo A, pero con escaso progreso, debido al temor de causar autoinmunidad en proteínas cardiacas. Por otro lado, un avance en la vacuna contra la TBC (tuberculosis) actualmente, es el objetivo de una larga búsqueda, por medio del uso de micobacterias vivas atenuadas o modificaciones del *Bacilo Calmette-Guerin* (BCG). Al igual que el mejoramiento de vacunas contra influenza que puedan generar una protección adecuada y prolongada (10,13).

Como se dijo anteriormente, la búsqueda de una vacuna contra HIV/SIDA ha sido el objetivo de una amplia investigación, con varias decepciones obtenidas a lo largo de la historia. En primer lugar, la relación de vacunas basadas en proteínas envolventes, no pueden generar anticuerpos capaces de neutralizar los virus HIV aislados y, en segundo lugar, el uso de ensayos clínicos con enfoque en la

relación de sensibilización- refuerzo, falla en los estudios pre-clínicos. No obstante, la búsqueda continua y aún perdura la importancia de la posibilidad de encontrar vacunas con base en anticuerpos o células T (13).

Así mismo, la vigilancia y la acción temprana contra células cancerosas, es una de las funciones básicas del sistema inmune, de manera que el mejoramiento es su actividad para combatir incluso tumores establecidos, es una función apropiada para la vacunación. Varias estrategias han sido utilizadas, con el objetivo de inducir inmunidad hacia el tumor con base en células citotóxicas, incluyendo la inmunización con células tumorales inactivadas, ya sea provenientes, del paciente o de diferentes donantes. Siendo estas modificadas, por la introducción de ciertos genes de citoquinas (ej., IL-2 o IL-12) o tratándolas con interferón γ , regulando positivamente la superficie de las moléculas del CMH, así como muchas otras moléculas (10). A pesar de que su aplicación en la práctica no ha sido exitosa, hay dos excepciones; la vacuna anti-idiopática en el linfoma de células B, que ofrece una prolongación moderada de la remisión y la vacuna contra el cáncer de próstata avanzado, aprobada por la FDA en Abril de 2010 (13).

Las enfermedades autoinmunes, son un nuevo concepto que se abre camino en la generación de nuevas vacunas, un ejemplo es la diabetes insulino dependiente en la cual las células B productoras de insulina en los islotes de Langerhans son progresivamente destruidas, lo que puede ser prevenido por medio de la administración de autoantígenos en la mucosa como proinsulina, insulina o ácido glutámico descarboxilasa (GAD), método que ha sido realizado, en ratones con desorden de diabetes no insulino dependiente (13). Otra enfermedad autoinmune es la enfermedad celiaca, en la que existe una condición genética en la cual el intestino reacciona violentamente a los antígenos encontrados en algunos cereales. Recientemente una comprensión completa de todos los epítopes de células T hallados en el gluten, los cuales estimulaban las células T de individuos que habían ingerido recientemente cereal, permitió llegar a la hipótesis que la dieta libre de gluten puede eliminar dificultades en el estilo de vida de estos pacientes y así mismo evitar el daño intestinal causado por la enfermedad (13).

5.1.3 Excipientes – adyuvantes de las vacunas

Una de las limitaciones en la producción de vacunas se basa en que los componentes aislados (el antígeno) del patógeno, fallan al inducir la inmunidad cuando son usados por sí solos, no obstante, con el fin de mejorar la pobre inmunogenicidad de todos los productos microbiológicos purificados se crearon los adyuvantes, sustancias que combinadas con el antígeno deseado permiten el reconocimiento y la respuesta del sistema inmune, ya que las proteínas solubles, son menos inmunogénicas que las presentadas en forma de partícula. Impulsando el uso de fosfato de calcio o gel de fosfato de aluminio (alumbre), el cual absorbe los antígenos solubles, como toxoide diftérico y tetánico. Sin embargo, el mayor inconveniente del aluminio, es dado por la producción de anticuerpos con poca o ninguna inducción de inmunidad, mediada por células (7).

Como se describió anteriormente, la palabra adyuvante es derivada del latín *adjuvare*, que significa ayuda, son aparentemente usados para incrementar la respuesta a antígenos, por medio de la inmunidad adaptativa, permitiendo la liberación lenta de antígenos en el tiempo, pero actualmente se ha demostrado que actúan como un agente inflamatorio (9).

5.1.3.1 Tiomersal o Timerosal: etil-mercurio, usado con el fin de evitar la proliferación bacteriana y de hongos, durante el almacenamiento de las vacunas, es procesado en viales que contiene más de una vacuna (dosis múltiple) como conservante. Se conoce que el mercurio tiene efectos neurotóxicos a muy bajas concentraciones, lo que puede ocasionar autismo, retraso en el lenguaje, alteraciones cognitivas, cambios de humor, déficit de atención e hiperactividad, ataxia, temblor, depresión, ansiedad, síntomas gastrointestinales, alteraciones genéticas, daño inmunológico y neurológico. Cuando es administrado en pequeñas dosis, provoca la aparición de dermatitis atópica, urticaria, exantema y erupciones, este conservante es especialmente toxico durante los 6 primeros meses de vida, ya que, a esta edad, los órganos inmaduros tienen poca capacidad para metabolizar los agentes tóxicos del organismo. Se ha definido, que los niveles seguros de mercurio en el organismo son de 0.7-3.3 mcg/kg/semana, teniendo en cuenta la cantidad de etil-mercurio contenido en las vacunas de dosis múltiples, la dosis semanal, es incluso más alta que la dosis segura permitida en la vacunación realizada, a un lactante de 2, 4 o 6 meses de edad (14,15).

Este componente, es aun avalado por la OMS, con permiso de distribución de vacunas a diferentes países, especialmente países en desarrollo por su capacidad de conservación; algunas vacunas como la Difteria, el Tétano, la Tosferina (DPT), la hepatitis B, la rabia, la Influenza, *Haemophilus influenzae de tipo b* (Hib) y el meningococo, contiene cantidades diferentes de timerosal. No obstante, en Estados Unidos, todas las vacunas para niños menores de seis meses no contienen este componente como medida preventiva, también disponibles para adolescentes y adultos, evitando posibles efectos secundarios a largo plazo (16,17).

5.1.3.2 Hidróxido o fosfato de aluminio: es un adyuvante que estimula la respuesta inmune, puede ocasionar nódulos subcutáneos en el sitio de inyección, que contienen cristales aluminio, los cuales pueden persistir durante un tiempo. Este componente, disminuye la conducción nerviosa, causando síntomas como parálisis esofágica, vesical y rectal, paraplejia, disfagia, síndrome del Golfo con dolores musculares, fatiga crónica y alteración de la concentración, además con posibilidad, de generar enfermedades a largo plazo, como Alzheimer, Parkinson y demencia. Algunas vacunas como la DPT, hepatitis A y B, VPH, neumococo y *Haemophilus influenzae tipo b*, contiene este componente como adyuvante (14).

5.1.3.3 Antibióticos: son usados, con el fin de prevenir el crecimiento microbiano y la contaminación bacteriana, durante la manufactura de las vacunas, por lo tanto, pequeñas cantidades de los mismos, pueden estar presentes en las vacunas, generando una posible reacción alérgica en personas susceptible. Algunos usados en la manufactura de vacunas como la triple viral (MMR), polio oral, varicela, influenza y rabia; pueden incluir neomicina, polimixina B, estreptomocina y gentamicina (14,17).

5.1.3.4 Formaldehido: se usa para la manufactura, de ciertas vacunas bacterianas y virales, con el fin de inactivar virus y detoxificar toxinas bacterianas, es utilizado de manera diluida en la manufactura, sin embargo, residuos de este componente, se pueden encontrar en vacunas actuales. La exposición frecuente de formaldehido, puede ocasionar el desarrollo de cáncer y en animales es cancerígeno. Vacunas como DPT, hepatitis A y B, contienen cierta cantidad de este componente (14,17).

5.1.4 Vacunas y controversias

El medio de distribución o liberación de las vacunas, son características importantes para su desarrollo, las rutas de administración, por vía mucosa, oral o intranasal, son las deseadas, ya que evitan el requerimiento de agujas y las complicaciones asociadas, sin embargo, su eficacia no se ha conseguido completamente. Uno de los enfoques de la WHO (World Health Organization), es la reducción en el número de dosis para una efectiva vacunación, siendo este alcanzado, por medio de la optimización de los adyuvantes y nuevos sistemas de distribución, aumentando la memoria inmune (7).

Al conocer, que la inducción de la respuesta inmune se da inicialmente, con la activación de células dendríticas de los ganglios linfáticos periféricos, donde se genera la descomposición de los agentes invasores. Se puede entender, que estas células, garantizan las respuestas de los linfocitos hacia dichos agentes, conduciendo a su diferenciación y proliferación en los ganglios linfáticos, donde los linfocitos maduros, posteriormente migran por medio de los vasos sanguíneos, a los sitios deseados para su acción. Se debe tener en cuenta, que los órganos linfáticos secundarios son estructuras muy organizadas, con dominio de células B y células T, que promueven la interacción de los linfocitos con patógenos afines, generando células T dependientes y la respuesta de anticuerpos (18).

Estos órganos linfáticos, a su vez contienen folículos de células B, que ayudadas por células T y estimuladas por el antígeno, pueden multiplicarse y formar centros germinales. Por otro lado, el sistema vascular especial en el tejido linfoide secundario, también contribuye a la vigilancia inmunológica, donde la presencia de vénulas endoteliales, a través de las cuales entran los linfocitos a los ganglios linfáticos, hace que el sistema sea aún más importante para la respuesta inmune. El direccionamiento de antígenos, a los órganos linfáticos secundarios, puede incrementar la respuesta inmune y con diferentes características anatómicas y fisiológicas, que difieren en su localización, tamaño, número y participación en dicha respuesta. De acuerdo con esto, el mejor sitio de administración de la vacuna, puede ser seleccionado (18).

Los ganglios linfáticos, son las partes principales de los órganos linfoides secundarios, donde la respuesta inmune innata conduce a la activación de la inmunidad, siendo estos los sitios principales, donde los patógenos evaden el sistema inmune y se enfrentan con los linfocitos, para activar la respuesta inmune o para generar una tolerancia (18). Estos ganglios linfáticos, son puntos de control naturales para la presencia de antígenos en los tejidos periféricos, por tal motivo se ha considerado que la respuesta inmune, puede darse en los diferentes tejidos del organismo. Uno de estos es el tejido linfoide nasal asociado, donde el sitio de inducción inmunitaria, se encuentra en la superficie de la cavidad nasal dentro del conducto nasofaríngeo, con el fin de maximizar la exposición a antígenos aerotransportados con células inmunes, estos antígenos adheridos son eficientemente presentados por células M, sobre el tejido linfoide nasal sin ser captados por las células ciliadas, dichos antígenos solubles pueden atravesar el epitelio respiratorio, generando una respuesta inmune y el desarrollo de su investigación en la administración de antígenos, dirigidos a células M usando polímeros muco-adhesivos (18).

En algunos estudios, se demostró que la vacunación dirigida por medio de la mucosa, al tejido linfoide nasal con el uso de células M, ligado a reovirus protein $\sigma 1$, producía una fuerte respuesta humoral e inmunidad mediada por células y esta inmunización, a su vez basada en la nanopartícula de quitosano a través de la mucosa nasal, genera la inducción de una fuerte respuesta humoral (sistémica y mucosa) y celular inmune. Por tal motivo esta ruta es una opción considerable para la vacunación contra infecciones respiratorias e intestinales (18).

Otro sitio de acción, se genera en el tracto gastrointestinal, que permanece en contacto con microorganismos potencialmente patógenos y presenta una alta carga de linfocitos, macrófagos entre otras células, que participan en la inducción de fuerte respuesta inmune. La cantidad de linfocitos en el tubo digestivo, es más o menos equivalente a la del bazo, donde las placas de Peyer que son folículos linfoides, con predominio de linfocitos B, linfocitos de la lámina propia con células B secretoras de IgA y linfocitos intraepiteliales de la zona baso lateral; son los que le dan su capacidad para la respuesta inmune e inmunización de la mucosa (18).

Por lo tanto, la importancia en las diferentes rutas de administración de las vacunas debe ser considerada, ya que al igual que cualquier fármaco, las vacunas son administradas en sitios comunes de inyección, incluso cuando no hay similitud en el comportamiento biofarmacéutico. Teniendo en cuenta, que una vacuna debe interactuar con células inmunes apropiadas en el sistema linfático, la ruta y los sitios anatómicos potenciales para una respuesta inmune, deben estar dirigidos a la mucosa de diferentes organismos, que sean capaces de producir una respuesta óptima por medio de los órganos linfáticos secundarios, quienes son la respuesta inicial al antígeno y a agentes invasores (18).

Partiendo del objetivo en común que buscan las vacunas, con el propósito de reducir en número, las enfermedades infecciosas y sus consecuencias, el desarrollo de las mismas debe darse por medio de tecnologías adecuadas que les permita ser más seguras, más efectivas y fáciles de administrar.

El descubrimiento de las vacunas y su consideración, dentro de la práctica médica en el último siglo, ha tenido un impacto positivo en la salud humana, consideradas como la intervención médica más segura y efectiva hasta el momento, constituyendo un éxito en la historia de la medicina moderna. Junto con la introducción de antibióticos y métodos de higiene, las vacunas tienen una significativa contribución en la disminución de la mortalidad y morbilidad, causada por enfermedades infecciosas (11). Evidenciando asombrosos resultados, como la erradicación del virus de la viruela y mediante varios esfuerzos encaminados en la erradicación del polio. Cada año las vacunas pediátricas previenen, cerca de 3 millones de muertes en el mundo y protegen más de 750,000 niños con riesgo de padecer una grave discapacidad, con un impacto reportado en Estados Unidos en la reducción casi del 100% de la mayoría de agentes infecciosos (11).

La dificultad y las falencias presentes en las técnicas utilizadas, para el desarrollo de vacunas, han mostrado resultados desfavorables, desde que la vacunación fue establecida en el siglo XIX, perdiendo una de sus principales características como “segura” y la confiabilidad absoluta por parte de la población. Por tal motivo, es necesario comprender que las vacunas no son completamente efectivas y que siempre habrá población susceptible, de padecer efectos adversos ocasionados por la infección, incluyendo personas inmunocomprometidas, aquellos que presentan una disposición genética para los mismos o en edades extremas, en las que los niños y ancianos son los más afectados, ya que ellos presentan con frecuencia un sistema inmune más susceptible (11).

Cuando estos problemas afectan la seguridad de las vacunas, las medidas de seguridad son reforzadas, modificando las técnicas de manufactura y evitando que el evento se repita. Entre los eventos adversos reportados, relacionados con algunas vacunas se pueden nombrar, el autismo con la vacuna del sarampión, la esclerosis múltiple relacionada con la vacuna de hepatitis, diabetes, autoinmunidad y sobrecarga antigénica con las vacunas múltiples, cáncer con la vacuna del polio inactivado, síndrome de muerte súbita infantil con la vacuna de la DPT y desórdenes crónicos

neurológicos con la vacuna de tosferina celular, sin embargo, estos no presentan evidencia alguna según investigaciones realizadas (11).

En 1998 la vacuna oral contra el rotavirus, fue introducida en el mercado como método de inmunización en niños, sin embargo, un año después el producto fue retirado a casusa de su asociación con intususcepción y obstrucción intestinal. Posteriormente, retirada de la lista de vacunas recomendadas en Estados Unidos, por el riesgo potencial que presentaba de producir eventos adversos, sin ser una enfermedad fatal en dicho país. Afortunadamente, las vacunas contra el rotavirus de segunda generación, pasan por etapas finales de pruebas y desarrollo, con el propósito de optimizar su seguridad. Otros eventos desafortunados fueron evidenciados durante el desarrollo y aplicación de múltiples vacunas, para los cuales se tomaron medidas correctivas como se muestra a continuación en la Tabla 1 (11).

Vacuna	Problema	Medida preventiva
Virus Sincitial Respiratorio muerto	Aumento de la enfermedad después de la exposición	Nunca fue introducida
Virus de polio oral	Reversión de la virulencia	Vacunas vivas requieren más supresión
Rotavirus vivo oral	Intususcepción	Ya no es recomendada
Sarampión inactivado	Sarampión atípico	Vacuna removida
Resfriado con toxina bacteriana adyuvante	Parálisis de Bell	Removida
Tos ferina celular	Reactogénico	Removida
Ántrax-producto filtrado libre de células	Reactogénico	Proteína recombinante purificada estará disponible a futuro
Gripe porcina	Síndrome de Gillan-Barré	Descontinuada

Tabla 1 (adaptación de referencia 11)

Recientemente, apareció evidencia de que las vacunas pueden causar enfermedades inmunes, llegando a la conclusión de que la autoinmunidad, es una característica del sistema inmune saludable, que puede ser activado en ocasiones por una infección adquirida a través de las mismas. Cuya composición contiene varias moléculas, como preservativos, adyuvantes y residuos de manufactura, con posible acción reactogénica, aunque no es claro cuales componentes pueden causar una respuesta anafiláctica, se sabe que la gelatina y las proteínas del huevo, presentes en algunas vacunas, pueden inducir reacciones de hipersensibilidad (11).

El aluminio, componente favorable como adyuvante en las vacunas, se cree favorece la inducción de células T helper tipo 2, incluyendo anticuerpos de IgE, sugiriendo que el aluminio puede contribuir al desarrollo de reacciones alérgicas mediadas por células TH2, en individuos con predisposición genética, aun sin evidencia que apruebe esta teoría. El timerosal, un preservativo derivado del mercurio presente en casi todas las vacunas en multidosis, siendo un derivado del

mercurio es altamente tóxico, motivo por el cual fue removido en 1999, sin embargo, no existe evidencia que lo soporte. Otra relación existente en el Reino Unido, que ha generado gran controversia en años recientes, es la vacuna de la triple viral (MMR) y la posible generación de autismo, no obstante, aun sin evidencia que lo sustente (11).

A pesar de las controversias generadas por las vacunas, con la introducción de las vacunas conjugadas de proteína-polisacárido contra el serogrupo C de *Neisseria meningitidis*, el Reino Unido mostró una clara reducción en el número de muertes ocasionadas por la misma, entre los años 1999 y 2001, al igual que una reducción en el uso de la vacuna conjugada del neumococo (11).

La optimización en los avances de la ingeniería genética, incluyendo la aproximación al término de “genética reversa”, permitió la producción de vectores virales, con predeterminados defectos genéticos e identificación de nuevos antígenos recombinantes, mejorando de esta forma el desarrollo de las vacunas (11). Otro de los aspectos relevantes, que interfieren en esta optimización, se generó con la vacuna oral contra la poliomielitis, con la presencia de pocas mutaciones atenuantes, ya que en raras ocasiones pueden causar, que el virus vivo atenuado revierta su virulencia. No obstante, esta vacuna continúa siendo usada con buenos resultados, siendo gradualmente remplazada por virus muertos (11). De la misma manera, la inmunización contra el sarampión, fue aceptada en Estados Unidos en 1960, sin embargo, la vacuna de formalina inactivada aprobada en 1963, fue retirada debido a que inducía corta inmunidad y predisponía al síndrome de sarampión atípico. Estos eventos fueron importantes para el desarrollo de futuras vacunas a partir de virus vivos, las cuales no deben ser aceptadas hasta que su atenuación molecular sea garantizada y sea eliminado el riesgo de revertir su virulencia (11).

Otra importante vacuna, contra el virus del papiloma humano en la prevención del cáncer cervical, fue aprobada en el 2006, siendo Australia el primer país en introducir la vacunación dentro del régimen de inmunización en adolescentes en el 2007, con la reducción de alteraciones precancerosas en mujeres menores de 18 años, en comparación, con los eventos precancerosos existentes antes de la vacunación. En cuanto a la seguridad evidenciada de esta vacuna en el 2006, se recurrió al análisis de múltiples dosis administradas, reportando varios efectos adversos, la mayoría relacionados con reacciones locales de hipersensibilidad, otros con graves consecuencias, que en una minoría terminaron siendo letales, sin embargo, al indagar la causa de muerte, esta no tenía relación alguna con la vacuna (19).

Es importante considerar, que según lo reportado por la OMS para el 2016 y 2017, se han relacionado algunos efectos secundarios a vacunas, los cuales han sido reportados, generalmente como reacciones locales o sistémicas moderadas, como fiebre o rash cutáneo, en un 5-15% de los vacunados para sarampión, paperas y rubeola. Reacciones adversas más severas, en números variables, dependiendo del tipo de vacuna (o agente infeccioso) como linfadenitis, osteítis, infección de BCG diseminada, convulsiones, episodios de hipotónia - hiporreactividad, anafilaxis, síndrome de Gillan-Barre, hipersensibilidad, convulsión febril, purpura trombocitopénica, meningitis aséptica, encefalitis, poliomielitis paralítica, reacciones alérgicas, artralgias, artropatía y neuritis braquial, según lo reportado en menor número de casos, sin embargo, también asociadas a agentes infecciosos (20).

5.2 HOMEOPATIA HISTORIA Y FUNDAMENTOS

La historia de la homeopatía, data de hace aproximadamente 2400 años, cuando Hipócrates planteó las posibilidades terapéuticas, utilizando tanto el principio de los similares como el de los contrarios. Mucho tiempo después, Samuel Hahnemann en 1790, desarrolló la concepción de *Similia Similibus Curantur*, como extensión de las observaciones realizadas por Hipócrates, principio que se encuentra plasmado, en su trabajo “Ensayo sobre el principio curativo” publicado en 1796 (3).

La palabra Homeopatía, viene del griego *omeos*, que significa similar y *pathos*, que significa sufrimiento, es un sistema de medicina alternativa cuyo primer principio, el de la similitud, significa que lo similar puede curar lo similar, lo que se traduce en que una sustancia que puede producir síntomas en una persona saludable, tiene la capacidad de curar síntomas similares en una persona enferma. En la medicina alopática, cuyas raíces vienen del griego *alo*, que significa opuesto y *pahtos*, que significa sufrimiento, siendo la forma de tratamiento más usada en el mundo, el planteamiento es diferente, teniendo como base el principio de la oposición, que busca la supresión o el bloqueo completo, del proceso patológico natural de la enfermedad (3).

Samuel Hahnemann, un hombre brillante, con más de siete idiomas aprendidos, desilusionado con las prácticas médicas de su época, por ser más letales que la misma enfermedad, dedicó su vida a la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento con menos consecuencias para el ser humano.

Al traducir el libro sobre Materia Medica, escrito por el médico escocés William Cullen, quien había afirmado la efectividad de la quina en el tratamiento de la malaria, debido al sabor amargo que presentaba, algo sin sentido para Hahnemann, pues sabía que existían otras sustancias con igual sabor y no presentaban efecto sobre la malaria. Decidió entonces, tomar una poca cantidad de quina, para observar lo que podría causar en sí mismo, encontrando que le producía, fiebre, escalofríos y otros síntomas también producidos en pacientes con malaria, lo que lo llevó a pensar, que tal vez, ésta podría ser la cura para la malaria, ya que los síntomas eran similares a la enfermedad (21,22).

Según el método inicial, de procesamiento de los medicamentos homeopáticos, las sustancias homeopáticas iniciales, son encontradas por medio de pruebas realizadas en una persona sana, a la que se administra una dosis de dicha sustancia, registrando meticulosamente los efectos que le produce, como método de *Experimentación Pura*. Inicialmente propuesto por Hahnemann quien probó varias sustancias, en su mayoría extractos de plantas o minerales simples, en sí mismo, en su familia y sus amigos, haciendo una lista de cada síntoma mental y físico que producían, construyendo finalmente lo que llamo el “cuadro de síntomas”, el cual contenía plantas y minerales en gran variedad, que usó como herramienta para manejo de sus pacientes. Reafirmando el principio homeopático y también el desarrollo, de un conocimiento médico de cientos de sustancias simples, algunas ya usadas terapéuticamente (21).

Dichas sustancias, han sido recolectadas en el libro de farmacología homeopática “Materia Medica”, en el que se categorizan, de acuerdo al área corporal que afectan, basado en las características toxicológicas que estas presentan, al pasar por el proceso de prueba o descritas por envenenamiento accidental, la Materia Medica de Kent es uno de los ejemplos más conocidos de la Materia Medica Homeopática, escrito entre 1881 y 1908 (3).

Durante su estadía en Alemania, Hahnemann enseñó un nuevo sistema médico, en la universidad de Leipzig desde 1811-1820, durante este tiempo un buen número de doctores y seguidores, se convirtieron en médicos homeópatas y otros durante la epidemia asiática del cólera en 1831, la cual

se extendió por toda Europa. Merito dado a Hahnemann, pues descubrió, que el remedio homeopático a base de alcanfor, era efectivo contra esta epidemia y altamente exitoso en el tratamiento de la enfermedad. Quien escribió, que el contagio del cólera se debía, a “una progenie de criaturas vivas invisibles excesivamente pequeñas”, transmitidas de manera invisible, de hombre a hombre; evento importante ocurrido, cuando Louis Pasteur, tenía tan solo nueve años de edad. Durante la epidemia, las cifras oficiales revelaban que la tasa de mortalidad de la enfermedad, en manos de médicos ortodoxos eran de un 85%, mientras que la tasa de muerte de pacientes con cólera en Alemania, bajo el manejo de médicos homeópatas fue de un 4% (21,22).

Por su gran influencia, tres hospitales homeopáticos fueron establecidos en Alemania, cinco en Australia, tres en Francia y seis en el Reino Unido, durante el siglo 19 (21). La práctica homeopática no solo se extendió por toda Europa, también llegó a los Estados Unidos, como método de enseñanza y manejo médico, donde nació el Instituto Americano de Homeopatía en 1844, principalmente, con el fin de regular la formación de médicos homeópatas, quienes en ese tiempo eran más populares que sus colegas ortodoxos (23).

Esto llevó a los médicos ortodoxos, a fundar su propia organización conocida, como la Asociación Médica Americana en 1846. Más tarde, con la llegada e influencia de la nueva teoría molecular y la farmacología como ciencia, sobrevino el decaimiento de la homeopatía. Estas dos teorías eran ajustables entre sí, podían ser entendidas por medio de un mecanismo de acción más claro, a diferencia de la homeopática, en la que el método establecido era difícil de comprender y su mecanismo de acción aún no estaba establecido. Ocasionalmente, que las juntas médicas y la creación de leyes favorecieran solamente a la práctica ortodoxa, lo que implicó el cierre de todos los colegios médicos y hospitales homeopáticos, con su modificación a la práctica ortodoxa en 1935 (21).

A pesar de la disminución en la popularidad de la homeopatía, algunos médicos homeópatas continuaron su práctica, superados en número por homeópatas no médicos, quienes perfeccionaron y expandieron la homeopatía durante 1920 y 1960. No obstante, en 1960 los medicamentos químicos, empezaron a fomentar temor en las personas, debido a los efectos desfavorables que tenían estos productos en el organismo, creando un desbalance entre cuerpo y mente, por lo tanto, el intento por restaurar ese desequilibrio, incrementó el número de tratamientos homeopáticos, permitiendo, que a mediados del siglo XX, Europa se estableciera como centro dominante en homeopatía a nivel mundial, tradición protegida por la Facultad de Homeopatía, con sede en el Hospital Homeopático Real de Londres (21).

El crecimiento homeopático, permitió la incorporación de la homeopatía en varios países europeos, dentro su servicio nacional de salud, en Gran Bretaña fue incorporada desde 1946 y en Francia las compañías farmacéuticas homeopáticas, permitieron su uso en investigación científica. En la actualidad, los ciudadanos de la mayoría de países europeos, tienen acceso a médicos entrenados en homeopatía. Además, en algunos países como Francia y Holanda, cerca de un tercio de médicos usan medicina homeopática. En Estados Unidos el resurgimiento de la homeopatía fue más lento, ya que las leyes impuestas restringen su práctica, permitida solo para médicos homeópatas o sus asistentes (21).

En Enero de 1998, el Consejo Nacional Francés de *l'Ordre des Medecins*, similar a la Asociación Americana de Medicina, hace el reconocimiento oficial de la homeopatía, incluyendo su entrenamiento en el plan de estudios de pregrado de medicina y la creación de un plan de estudios de posgrado (3).

El desarrollo de una teoría detallada, para explicar y guiar la práctica homeopática realizada por Hahnemann, está contenida principalmente, en su mejor trabajo “El Órganon” y a su vez, en el tratado de “enfermedades crónicas”. Observando que el cuerpo y la mente tenían expresiones de energía vital, llamada fuerza vital, la cual combina, el aspecto espiritual de un hombre, el alma y la energía física del cuerpo, conocida como prana en el Hinduismo y chi en el Taoismo. La fuerza vital, contenida en todas las sustancias de un organismo, no solo mantiene el equilibrio y homeostasis fisiológica del cuerpo, también corrige el desequilibrio y favorece la cicatrización del mismo. Cuando esta fuerza vital, se debilita y el cuerpo es incapaz de curarse así mismo, entonces el medicamento homeopático es requerido. Esta teoría fue confirmada un siglo después, con el postulado de Einstein en el que proclamo, que la materia y la energía son intercambiables (21).

La manera en la que diferentes elementos y compuestos descargan exceso de energía es altamente específica, dependiendo de la configuración de sus partículas subatómicas, como puede ser observado en espectrometría de masas, donde los elementos en el espacio exterior, pueden ser identificados por el patrón de luz que descargan. Con base en esto, el homeópata tiene la capacidad de aumentar la fuerza vital del paciente, eligiendo la sustancia correcta y asumiendo que el medicamento homeopático, trabaja por resonancia entre la energía implícita en una solución médica y la “energía corporal” del paciente (21).

En homeopatía, los síntomas no son equivalentes a la enfermedad, por el contrario, son una adaptación del cuerpo al estrés causado por la enfermedad, de tal manera que el tratamiento homeopático actúa con el fin de cambiar la energía corporal y retornarla a su balance homeostático (24). Hahnemann postuló, que el estrés externo altera la fuerza vital del paciente y que los síntomas de la enfermedad, son un impulso para que la fuerza vital restablezca el estado de armonía original. Actualmente se entiende, que el estrés altera la frecuencia de la fuerza vital y que los síntomas, son parte del intento del cuerpo por retornar a su frecuencia saludable original, esto con el fin, de restablecer el equilibrio, mejorando los síntomas internos y algunas veces agravando los síntomas superficiales, lo que explica por qué la homeopatía, no está a favor de la supresión sintomática, contrario de lo realizado por la medicina ortodoxa (21).

En este caso, cuando la fuerza vital es reforzada por el medicamento correcto, el primer efecto visto, se da en altos niveles de fuerza vital, es decir, en la mente y las emociones, seguido del efecto en la energía corporal y finalmente en los síntomas físicos. Explicando, que primero se genera la restauración del balance en altos niveles de energía vital, antes de equilibrar los niveles más bajos, como el físico (21).

La enfermedad por sí misma, es tan fuerte, que abruma la habilidad de la fuerza vital para corregirla, a diferencia, la “enfermedad medicinal” inducida por el medicamento es tan suave, que permite montar una respuesta para corregir el desequilibrio, inducido por el medicamento. Teniendo en cuenta, que el desequilibrio producido por la enfermedad, es muy similar al producido por el medicamento, la dirección de curación, o retorno de fuerza vital estimulada por el medicamento, también ayudara a corregir la enfermedad por sí misma. Esta hipótesis, es similar al concepto de la vacunación, en el cual, una pequeña cantidad de la enfermedad, estimulará una respuesta protectora por medio de las defensas corporales, la diferencia radica, en que el medicamento homeopático es una vibración de energía, en lugar de ser un producto de la enfermedad, siendo de esta manera efectiva, para enfermedades infecciosas y no infecciosas (21).

George Vithoulkas, homeópata contemporáneo, en su libro “la ciencia de la Homeopatía” propuso, que el medicamento homeopático correcto, contenía energía en la misma frecuencia o en la misma relación armónica, de la fuerza vital del paciente. Esta fuerza vital, cambia de frecuencia cuando el paciente está enfermo, de manera, que al tomar el medicamento ocurre una resonancia reforzando la fuerza vital del paciente, correspondiente a la fase de empeoramiento de síntomas, generado en algunas ocasiones cortamente después de haberlo ingerido. Esto se debe, a que la fuerza vital se refuerza, mientras continua resonante en la frecuencia no saludable, comenzando después a mejorar la condición del paciente. Esta fase de mejoría, corresponde al retorno de la fuerza vital a una frecuencia saludable, una vez que ha sido reforzada. Actualmente, a pesar de los avances realizados en campos electromagnéticos, la evidencia existente sobre la acción de la fuerza vital, aún debe recorrer un largo camino para ser considerada como prueba (21,25).

La potenciación, principio de diluciones infinitesimales, ha sido probablemente el principio más controversial de la homeopatía, que consiste en la combinación de la sustancia inicial en ultra dilución, elaborada a partir de la dilución de la sustancia real más allá del número de Avogadro y la sucusión de la misma por agitación vigorosa, lo que permite la permanencia de la energía de la sustancia en la solución, incluso cuando está presente en cantidades infinitesimales (24).

En el principio de la potenciación, los medicamentos homeopáticos son muy diluidos, incluso sin presencia de moléculas de la sustancia original. Hecho que conlleva, al escepticismo médico, sin embargo, al recordar que los medicamentos son una frecuencia de energía contenida en la solución, es factible que esta energía pueda permanecer, después de que las moléculas de la sustancia han sido removidas (21).

Históricamente, se cree que Hahnemann, empezó su práctica homeopática, diluyendo algunas de sus medicinas tóxicas en su forma original, observando que dichas sustancias no perdían su eficacia y sus efectos secundarios podían ser eliminados, por lo cual dedujo, que los medicamentos diluidos trabajaban más fuertemente en una dirección curativa. Posteriormente notó, que los medicamentos homeopáticos, podían ser más poderosos en sus propiedades curativas, llevando a cabo, una serie de diluciones sucesivas y siendo agitadas vigorosamente, método conocido como sucusión, incrementado su efectividad terapéutica (21). Así, por ejemplo, una potencia de 10-C se hace realizando 10 diluciones separadas de 1 en 100, con agitación entre cada dilución, de manera que la potencia más diluida, es así misma la más poderosa. Entre más alta sea la potencia, como en la dilución LM, mayor es el efecto sobre síntomas mentales y emocionales, por lo tanto, se entiende, que las bajas potencias, son útiles en el tratamiento de síntomas físicos y las altas potencias LM, como las diluciones de 1 en 50.000 son adecuadas para el tratamiento de síntomas mentales, psicológicos y físicos. Hoy en día las sustancias son generalmente diluidas en C, centesimales 1:100 y X, decimales 1:10 potencias (21).

Se debe resaltar, que no hay un cambio esencial en la acción patogénica de la sustancia, sus efectos no se invierten o se revierten de forma sistemática, ni desaparecen más allá del límite de Avogadro. La sustancia dinamizada, tiene un efecto patogénico en todas sus formas y tal dinamización provoca un efecto tanto en individuos saludables, como en enfermos, si la sustancia dinamizada es patogénica, la cura solo puede presentarse cuando el organismo reacciona a la dinamización, mecanismo similar a la respuesta inmunológica producida, frente a un antígeno (26). La homeopatía, actúa por medio de propiedades iatrofísicas, que explica fenómenos fisiológicos y patológicos, por medio de la física. Específicamente, la estructura física de sus solventes hidroalcohólicos, es alterada por la dilución gradual y la sucusión, como lo estableció Cyril Smith, donde

la tintura o el soluto original, transcribe la información a los solventes frescos, mientras que la sucusión, graba en el líquido los datos que están impresos en dicha sustancia, esta polarización del solvente ha sido propuesta, como una explicación más profunda al mecanismo de acción (26).

Hasta la fecha, al menos 2500 sustancias han sido descritas en la literatura homeopática y recopiladas en la *Materia Medica*, herramienta básica para prescripción homeopática. La repertorización, metodología usada para encontrar un medicamento o grupo de medicamentos, los más cercanos que coincidan, con el complejo de síntomas presentados por el paciente, fue inicialmente desarrollada, por Hahnemann y después continuada por otros homeópatas, entre los cuales se pueden nombrar a, Boericke, Clarke, Kent, Vijnovsky, Jahr, Phatak, Lathoud, Scholten, Draiman, Demarque, Vannier e Eizayaga. El Repertorio moderno de los medicamentos homeopáticos, es computarizado y sirve como herramienta, que permite la búsqueda en una base de datos simultáneamente. Al final del proceso de repertorización, el homeópata usualmente encuentra uno o más medicamentos posibles para su prescripción (3).

En los primeros años de práctica, Hahnemann notó, que las personas con cierto temperamento, eran más propensas que otras a responder a ciertos medicamentos. Observó, que además de actuar en condiciones agudas, ciertos remedios ejercen sus efectos, con base en la concepción de individualización, en la cual se consideran características morales e intelectuales, hábitos, relaciones, gustos o aversiones y aspectos que influyan en el estado de ánimo de cada individuo (24). El desarrollo de perfiles psicológicos, que se relacionaran con remedios homeopáticos, llevaron a la divergencia en el estilo de práctica homeopática, algunos homeópatas prescribían más sobre la constitución del paciente a largo plazo, concentrándose en su personalidad, con el fin de seleccionar el medicamento constitucional, que mejor se ajustara. Otros se concentraban, en los síntomas actuales, con poca atención a las características constitucionales a largo plazo. En la actualidad, muchos homeópatas combinan, ambas modalidades de prescripción (24).

Existen dos métodos diferentes para la prescripción homeopática, en uno se trata un solo síntoma o condición de corta acción, en el otro se trata el paciente como un todo constitucional, considerando manifestaciones mentales, emocionales y físicas, generando un cambio a largo plazo en el individuo. Aunque Hahnemann, defendió el uso de un solo medicamento constitucional, la aplicación de este método en comparación con la combinación de varios medicamentos ha sido un debate importante entre homeópatas, a pesar del éxito evidenciado por este último (24).

En cuanto a la toxicidad de los medicamentos homeopáticos, no existen reacciones adversas que la confirmen, son generalmente seguros. En estos medicamentos, no existen moléculas de la sustancia original, solo trazos energéticos que están contenidos, en agua, alcohol y glóbulos de azúcar. Algunos medicamentos con potencial tóxico en su forma original, como arsénico y veneno de serpiente, son utilizados únicamente en altas diluciones (21).

Aunque los medicamentos homeopáticos sean seguros, deben ser considerados como medicamento y no como placebo, ya que estos tienen un potente efecto energético en el organismo, pudiendo inducir efectos secundarios cuando son usados incorrectamente. Si el medicamento es tomado por un periodo prolongado, puede inducir síntomas característicos del mismo (físicos o psicológicos), que desaparecen rápidamente una vez el medicamento es suspendido y en caso de ser requerido, se usa otro medicamento como antídoto. De la misma manera, si el paciente tiene una grave enfermedad física o mental, esta se puede agravar, por el uso

de un medicamento incorrecto, ya sea una baja potencia por periodo prolongado o una sola dosis de una alta potencia (21).

De acuerdo a lo anterior, las soluciones a altas potencias son más poderosas, una sola dosis puede producir efectos secundarios de corta duración, por lo tanto, los homeópatas generalmente no deben prescribir un medicamento de alta potencia, a menos de que esté completamente seguro de que es el correcto. Estos efectos secundarios son más probables de ocurrir, cuando se da un medicamento similar al correcto, ocasionando una resonancia parcial, que perturba la fuerza vital sin fortalecerla (21). Sin embargo, el medicamento correcto, puede producir temporalmente un empeoramiento de los síntomas existentes antes de que estos mejoren, evento generado por el reforzamiento de la fuerza vital en la frecuencia de la enfermedad, antes de retornar a la frecuencia saludable, este efecto se puede minimizar y evitarse, seleccionando una potencia apropiada para el paciente (21).

Existen varios aspectos en biomedicina, compatibles con la definición del principio de los similares, como, por ejemplo, algunos medicamentos convencionales capaces inducir síntomas que pueden aliviar. La fenitoina, uno de los antiepilépticos más usados puede generar convulsiones a altas dosis, no obstante, la pre exposición a bajas dosis de una sustancia, puede modular la respuesta a exposiciones posteriores, procedimiento conocido como sensibilización. Otros agentes biológicos y medicamentos, pueden mostrar un desempeño farmacodinámico no lineal, como la dobutamina, la cual puede ser un vasodilatador a bajas dosis y un vasoconstrictor en altas dosis (24). Por ende, la exposición primaria de varias dosis de antígeno, puede inducir un estado de respuesta aumentada, llamado inmunización o un estado de falta de respuesta específica, con la posterior exposición al mismo antígeno. Estos ejemplos representan la interpretación, que, a diferentes concentraciones de una sustancia determinada, los efectos que esta produce pueden ser opuestos. En si el principio de similares y de pequeñas dosis es usado ampliamente en técnicas de vacunación y de sensibilización (3).

Hasta el momento la amplia investigación realizada, para el entendimiento del mecanismo por el cual los medicamentos homeopáticos, actúan sobre los sistemas biológicos y la medida de la energía contenida en ellos, no se ha considerado como prueba suficiente para su aplicación. El tratamiento homeopático tiene un amplio campo de acción (3). Por tal razón, durante la práctica homeopática, se han realizado cientos de ensayos clínicos de tratamientos homeopáticos, donde la mayoría de estos han mostrado efectos positivos, no obstante, la dificultad en conducir estos ensayos clínicos para una condición específica, puede ocasionar sesgos en los resultados obtenidos, ya que el medicamento utilizado debe ajustarse individualmente a cada paciente y no un solo medicamento para todos los pacientes del estudio. Lo que significa que el método para medir su acción y efectividad, debe realizarse tomando al paciente en su totalidad sintomática, de manera individual (21).

La percepción de que los síntomas, son considerados como una parte de la respuesta natural del cuerpo y de la mente, a un agente estresante externo o interno, la evaluación homeopática consiste en un examen médico completo y una revisión sistemática del organismo. Donde la entrevista, es la estructura que proporciona los datos necesarios, para coincidir en un único cuadro de síntomas que contenga las características, de uno de los medicamentos a seleccionar. Los síntomas y hallazgos físicos encontrados, se clasifican de acuerdo al nivel de importancia-severidad y se someten a una repertorización, método utilizado en homeopatía clásica o constitucional, practicada por la mayoría de homeópatas en Europa, India, Sur América y Estados Unidos (3).

A nivel mundial, la práctica homeopática contrario a lo que se cree, muestra un buen entrenamiento homeopático en la mayoría de países, algunos con un curso de tiempo completo de al menos 3 años. En Estados Unidos diecisiete escuelas y cuatro en Canadá ofrecen entrenamiento homeopático, de los cuales uno en Canadá y cuatro en Estado Unidos, ofrecen plan de estudios de postgrado (21).

En Estados Unidos, las leyes en regulación de la práctica homeopática, son diferentes en cada estado, generalmente sólo médicos y osteópatas pueden practicar homeopatía, sin embargo, no existe un requerimiento legal para que estos practicantes tengan alguna calificación específica antes de practicarla; en el Reino Unido, solo aquellos inscritos a la Facultad de Homeopatía y a la Asociación Homeopática Británica, tienen el permiso para realizar dicha práctica con los más altos estándares de formación académica (21,27). Por lo tanto, se deben fomentar más programas educativos rigurosos en homeopatía para profesionales de la salud, ya que la mayoría son diseñados para personas comunes, haciendo necesaria la educación médica continuada de calidad.

De manera, que el crecimiento en el número de centros de medicina alternativa y complementaria, afiliados a los hospitales de enseñanza, deben proporcionar una sólida relación, entre la medicina biológica basada en la evidencia y muchas modalidades de medicina alternativa, incluyendo la homeopatía (3).

5.2.1 Nosodes

El termino *nosode*, derivado del griego *noso*, prefijo que significa enfermedad, indicando su raíz mórbida en latín *noxa*, a su vez, raíz de la palabra *nocivo* o *dañado*. Usado para denominar una medicina preparada a partir de agentes patógenos, tejido enfermo u órganos asociados a una enfermedad y, de igual manera, los *sarcodes*, derivados de las estructuras o secreciones naturales del cuerpo humano. Estos se caracterizan, por provenir de una sustancia patológica utilizada como medicamento preparado, según al método de dilución homeopático, de acuerdo a esto, se puede relacionar, la acción de las vacunas de medicina convencional con la aplicación del mismo principio, usado en terapia nosode (28,29).

Sammuel Hahnemann, fundador de la homeopatía, popularizo este sistema a finales del siglo 18, a partir del descubrimiento de la belladona, la cual cuando era administrada a bajas concentraciones y diluciones agitadas secuencialmente, podía prevenir el contagio de la fiebre escarlatina. En los últimos 200 años, numerosos reportes han demostrado, que estos nosodes, sarcodes, remedios y otras diluciones, han dado resultados para profilaxis de enfermedades infecciosas, como se puede apreciar en el libro publicado, en 1967 por Dorothy Shephard médico homeópata británico, detallando el uso de varias preparaciones (incluyendo nosodes), en la prevención y tratamiento de enfermedades epidémicas (4). Los nosodes, no son exclusivamente aquellos productos de origen patológico con atenuación previa, que hayan pasado por experimentación pura; sino los que cumplan los requisitos que definen esta clase de medicamentos, en primer lugar, ser producto de origen patológico y, en segundo lugar, ser usado en diluciones sucesivas, según el principio de similitud.

Estos medicamentos llamados nosodes, se realizan a partir de sustancias implicadas en la causa de la enfermedad o los productos de la misma, cuyo nombre *nosode* significa “de la enfermedad”, método defendido por Samuel Hahnemann, quien fue el primero en desarrollar una de estas

preparaciones, llamada psorinum, a partir del material recolectado de vesículas de sarna. La preparación de nosodes, se ha dado por medio de bacterias, virus, hongos, parásitos y todas las formas de agentes infecciosos, así mismo, por los tejidos y fluidos corporales que son afectados por ellos. Siendo también manufacturados, a partir de vacunas comercialmente producidas (29).

Por otro lado, La aparición de la teoría de los miasmas de Hahnemann, causó gran interés en las enfermedades crónicas, al igual que sus medicamentos anti-miasmáticos. Con la publicación del libro las enfermedades crónicas, se generó el desarrollo del uso de entidades miasmáticas como medicamentos homeopáticos potenciados. Inicialmente los experimentos con *nosodes*, se llevaron a cabo, por Constantine Hering entre 1827 y 1833, durante su residencia en Surinam, Guyana y Sur América. Durante este tiempo, Hering se dedicó al estudio de especies de plantas y animales, especialmente en la virulencia de venenos de serpiente y araña, utilizando el método de miasmas como base para un remedio, dando a este, el término de nosode (28).

5.2.2 Comprensión Miasmática y Nosode

La teoría de los miasmas, se originó en el libro de las enfermedades crónicas, escrito por Hahnemann y publicado en 1828. Siendo el resultado de 12 años de esmerado trabajo, en casos difíciles de carácter crónico, en su propia búsqueda de las enfermedades del hombre. Los tres miasmas descritos, son la base de todas las enfermedades crónicas naturales y de todas en general (30). Concepto ampliado por James Kent, quien fue capaz de identificar claramente los medicamentos que se relacionan con cada miasma, como los siguientes, *Psora*, que corresponde a la primera etapa y origen de todas de las enfermedades, se caracteriza por el debilitamiento del organismo, por hipofunción y la falta de reacción del organismo frente al medio. Psicosis que concierne a la segunda etapa de los miasmas, se da por hiperfunción, exceso de reacción o un crecimiento anormal, responsable de muchos desordenes sexuales y urinarios, condiciones que empeoran con la humedad y el contacto con el mar. Sífilis o tercera etapa, se expresa hasta la degeneración del organismo y su destrucción, responsable de muchas enfermedades del sistema nervioso, sanguíneo y esquelético, así como de desórdenes psicológicos, condiciones cardiacas y erupciones cutáneas. Otros dos miasmas se establecieron con el tiempo, el miasma tuberculínico que atañe la suma de psora-sífilis y el miasma cancerinismo, que corresponde a la suma de los tres (30).

Los Nosodes en el mundo entero, son empleados de acuerdo al principio homeopático e isopático para el tratamiento de enfermedades crónicas y agudas. Su principal uso consiste en la eliminación de un miasma o carácter de enfermedad heredado, llevando al desarrollo de un nosode para cada miasma, entre los cuales están, psórico con nosode psorinum, psicótico con nosode medhorrinum, sífilítico con nosode syphilinum, tubérculo con nosode tuberculinum y el cáncer con su propio miasma, nosode carcinosinum, usado en algunas ocasiones. La prescripción de cada uno de estos o de cualquier nosode, debe fundamentarse esencialmente en la historia familiar, los signos y síntomas de cada paciente, ya que indican la presencia de influencia miasmática sobre la salud del mismo y no sobre la base de una enfermedad diagnosticada (29).

Estos medicamentos algunas veces son usados, para activar la enfermedad suprimida por terapias no homeopáticas, permitiendo que la fuerza vital elimine completamente la influencia del agente infeccioso y entonces brindar una recuperación completa. En ocasiones, se utilizan como alternativa en vacunación médica, en potencias de 30C, 200C o 1 M, administradas según un conjunto de

protocolos diseñados, como una alternativa a los programas de vacunación neonatal y también como sustituto de vacunas en la prevención de enfermedades infecciosas, tales como, influenza, malaria, disentería y meningitis (29). Pudiendo ser más efectivo y menos iatrogénico, que el régimen de vacunación, igualmente aplicados, como método de protección para los miasmas que han sido heredado de sus padres. Estudios piloto, publicados en el Boletín Mexicano Homeopático de 1997, encontraron que la conversión de anticuerpos, puede ocurrir después de una exposición a una potencia 30C del agente infeccioso, desafortunadamente, dichos estudios no demostraron persistencia en la seroconversión (29).

Al tener en cuenta que los nosodes, tienen la habilidad de revivir enfermedades suprimidas, la precaución para su uso se hace más relevante. Pudiendo ser una buena herramienta de tratamiento, que no debe ser empleada únicamente, como preferencia del más similar a la enfermedad. Por lo tanto, el tema principal de la homeopatía, dado el nivel de experiencia y formación, debe ser la selección del mejor medicamento para el individuo, por medio de la repertorización y la materia médica, en el caso de que surja la necesidad de un nosode, se debe tener presente la potencia usada, la cantidad de dosis necesaria, el momento y la manera en que deben ser utilizados (29).

5.3 Vacunosis

La *vacunosis* se define, como el síndrome producido por los efectos adversos de la vacunación y el resultado de la enfermedad crónica posterior a la vacunación. Inicialmente descrito por el Dr. Compton Burnett, quien determino dos formas de presentación, la primera (aguda), que contiene las consecuencias fatales ocasionales de la vacunación, como síndromes que aparecen cortamente después de su administración y manifestaciones comunes, la segunda (crónica), que se conoce con el nombre de *vacunosis*. En el sentido Hahnemaniano, una perturbación profunda del organismo, se puede manifestar de diferentes maneras, en intensidad y tiempo diferentes, dicha manifestación depende del paciente, de su naturaleza y de influencias externas (31).

El desarrollo de síndromes agudos, posterior a la vacunación, pueden ocurrir después de 24 a 72 horas o de 7 a 45 días después de la vacunación. En el siglo XVIII, la eficacia de la inoculación de la viruela, era evaluada con la aparición o la falla en la formación, de una reacción sobre la piel alrededor del sitio de inoculación, reacción que fue tomada como evidencia para confirmar la vacunación y la presencia de inmunidad adecuada. Alguna falla en el desarrollo de la reacción en el sitio de inoculación, llevaba a la repetición del procedimiento, hasta que la vacunación había sido adquirida o el paciente era considerado incapaz para reaccionar (31). El Dr. Compton Burnett encontró, que muchos de los peores casos de *vacunosis*, ocurrían en paciente en quienes había fallado el método de vacunación. El criterio de una inoculación exitosa, era la reacción evidenciada sobre la piel, demostrada, por la respuesta del organismo saludable al agente infeccioso, esto también puede compararse, con la ley de Hering, en la cual el organismo reacciona ante un agente infeccioso para eliminarlo, ayudando a prevenir el desarrollo de problemas a largo plazo (31).

Actualmente, se pueden ver síntomas de diarrea, fiebre y reacciones cutáneas, como respuestas normales de manera inmediata. En este caso, la ausencia de reacción inmediata o aguda, a una vacuna no debe ser ignorada, ya que puede haber una condición crónica con patrón clínico variable, así mismo, la manera en cómo han sido tratadas las reacciones normales a la vacunación, tiene gran influencia en el desarrollo de una *vacunosis*. Hahnemann advierte, sobre las posibles consecuencias,

al suprimir las manifestaciones iniciales de una enfermedad, haciendo está cada vez más profunda y crónica, pues la supresión de dichas condiciones agudas, puede generar una enfermedad a largo plazo, por tal motivo, la supresión de síntomas posterior a la vacunación, debe buscarse en la historia del paciente y evitarse (31).

Es importante mencionar, que la *vacunosis*, es considerada de manera sicótica y que su manifestación dependerá de la interacción del estímulo sicótico de la vacunación, con el miasma predominante en el paciente, lo que ayuda a una correcta comprensión del mismo y un tratamiento adecuado (31).

Según lo expuesto, por el Dr. Tinus Smits, los síntomas agudos del síndrome post-vacunación, se resumen en fiebre, convulsiones, distracción, encefalitis o meningitis, inflamación, tos ferina, bronquitis, diarrea, somnolencia, llanto frecuente e inconsolable, llanto o grito encefálico, desmayo, shock, neumonía y muerte súbita. Los síntomas crónicos, se resumen en resfriados, flemas verdes, inflamación ocular, perdida del contacto visual, inflamación del oído medio, bronquitis, expectoración, tos, asma, eczema, alergia, inflamación de las articulaciones, cansancio, sed excesiva, diabetes, diarrea, estreñimiento, sueño alterado con periodos de vigilia, epilepsia, rigidez muscular, mareo, falta de concentración, perdida de la memoria, alteraciones del crecimiento, problemas de coordinación, inquietud, agresividad, irritación, desequilibrio emocional y torpeza mental (32). Estos síntomas pueden ser variados, ya que depende del momento de inicio de los síntomas, pues los síntomas agudos, pueden ser la expresión del inicio de una enfermedad crónica en algunos casos. De igual manera, no todas las vacunas causarán dichos síntomas característicos y la aparición de estos no serán siempre inmediatamente posterior a la vacunación, pues esto depende la individualidad de cada persona (32).

Para Vithoukals, las vacunas se administran a poblaciones enteras sin tener en cuenta la individualidad, todo individuo tendrá un grado singular de susceptibilidad a cualquier vacuna, no obstante, es administrada sin considerar este grado de singularidad, por tal motivo, en la mayoría de casos la vacuna ejerce un profundo trastorno sobre la salud de un individuo, especialmente en relación con la enfermedad crónica (33).

Según la teoría de Vithoukals, siempre que se administra una vacuna tiende a cambiar la velocidad de vibración electromagnética, de la misma manera, que ocurre con una enfermedad grave o un fármaco alopático. De acuerdo a la capacidad de respuesta del individuo o al estado de salud, se pueden generar dos tipos básicos de respuesta, no haber reacción o iniciar algún tipo de reacción (33). En el primer caso, se puede tratar de un sistema muy sano o un sistema con una profunda susceptibilidad, en este caso, el organismo no es sensible a la vacuna, no se produce resonancia y no hay reacción, pero si el organismo vibra a un nivel más profundo de susceptibilidad, el mecanismo de defensa es incapaz de producir una reacción inmediata a la vacuna y en este caso el individuo, sería inmune a la epidemia, aunque no se vacunara. Al contrario, si el organismo es capaz de reaccionar a la vacunación, significa que la velocidad de vibración de la vacuna, es próxima a la del paciente para producir una resonancia (33).

Esta reacción, es un mecanismo de defensa como respuesta a la influencia mórbida de la vacuna. Hay tres tipos de respuesta con diferente intensidad (reacción leve, reacción potente con fiebre y otros síntomas sistémicos, reacción muy fuerte con complicaciones como encefalitis, meningitis o parálisis cerebral) (33). En una reacción leve, se generan síntomas como, inflamación, prurito, dolor y algo de pus, el mecanismo de defensa no es suficientemente fuerte, para detectar por completo

la vacuna y su influencia mórbida permanece en el organismo, cambiando los niveles de vibración del organismo, incapaz de regresar al nivel previo a la vacunación y conduciendo más adelante a una posible enfermedad crónica. Si los síntomas producidos, son fuertes o sistémicos como, fiebre, anorexia o malestar general, el mecanismo de defensa es fuerte y será capaz de contrarrestar la influencia de la vacuna, haciendo que el individuo sea más sensible y contrayendo la enfermedad a pesar de la vacuna. La reacción muy fuerte, indica que la susceptibilidad del organismo a la enfermedad es muy grande, en este caso, el mecanismo de defensa es demasiado débil para contrarrestar el estímulo de la vacuna, de manera, que se produce una enfermedad profunda y por tal motivo, en el enfermo que sobrevive a dichas complicaciones, su estado de salud, puede quedar alterado por tiempo prolongado (33).

En homeopatía, cualquier alteración ocasionada por una vacuna, se denomina *vacunosis*, algunos homeópatas han observado casos similares de *vacunosis*, posterior a la aplicación de vacunas como la rabia, el sarampión, la poliomielitis, la influenza, el tífus e incluso el tétano; esto se puede mejorar, con la administración de una preparación potenciada de la vacuna utilizada, de la cual se ven beneficiados muchos pacientes (33).

5.4 Nanopartículas y Homeopatía

Las nanopartículas, como su nombre lo indica, son partículas microscópicas generalmente con dimensiones de 1-100 nm, de diferentes volúmenes, pero de la misma composición y con propiedades físico-químicas como, tamaño ultra pequeño, gran área superficial y alta reactividad. Conocidas con el nombre de nanotecnología y por su aplicación en nuevas tecnologías médicas, como nanomedicina (5). El uso de materiales a nano-escala, proporciona cierta libertad, para modificar propiedades fundamentales de fármacos o agentes biológicos, como su solubilidad, difusión, tiempo de vida media, características de liberación e inmunogenicidad. En las últimas décadas, las nano-partículas, han sido desarrolladas para el tratamiento de cáncer, diabetes, dolor, asma, alergias, infecciones, entre otras enfermedades, pudiendo brindar múltiples rutas de administración, baja toxicidad terapéutica, prolongación del ciclo de vida, adecuados sistemas de liberación específicos, siendo más efectivas y reduciendo los costos al cuidado de la salud (5).

Actualmente, hay varios tipos de nano-partículas entre los cuales están, los liposomas, que han sido usados como transportadores por sus habilidades de encapsular agentes hidrofílicos e hidrofóbicos con alta eficacia, proteger contra efectos no deseados de condiciones externas, ser ligando específico con objetivos celulares, tisulares y órgano definido, que al ser recubiertos con polímeros inertes y biocompatibles, (ej., glicol polietileno o PEG) prolongan el tiempo de vida media del liposoma en la circulación in vivo y finalmente, poder realizar preparaciones deseadas con la composición, tamaño, carga y otras propiedades necesarias (5). La conjugación, de pequeñas moléculas de fármacos a nanotransportadores poliméricos, puede disminuir los efectos adversos indeseables, prolongar el tiempo de minutos a horas y reducir la captación celular por la ruta endocítica, mejorando la liberación pasiva de los fármacos a los tejidos, siendo estos permeables a los vasos sanguíneos de múltiples órganos, tumores y placas ateroscleróticas (5).

Además de los liposomas encapsulados y los polímeros conjugados, diferentes nanopartículas como, las nanoemulsiones, los dendrímeros y nanopartículas inorgánicas, han mostrado un

potencial terapéutico, enriqueciendo el grupo de nanopartículas y demostrando nuevas estrategias para su aplicación en medicina (5).

Entre las nanopartículas más comunes, actualmente se encuentran, nanopartículas poliméricas, micelos, nanocápsulas, dendrímeros, nanopartículas con ingeniería viral, nanopartículas basadas en albumina, nanopartículas de polisacáridos, nanopartículas metálicas y nanopartículas de cerámica.

Los micelos poliméricos, están formados por autoensamblaje de copolímeros, consistentes en dos o más cadenas con diferente hidrofobicidad. Estos copolímeros, se ensamblan espontáneamente dentro del núcleo de una estructura micelar, en un medio acuoso, con el fin de reducir la energía libre del sistema, mientras que los bloques hidrofílicos, forman una corona para estabilizar el núcleo, cuando está en contacto directo con el agua e incrementando de esta forma su estabilidad en la sangre. Por su gran tamaño, los micelos pueden llevar más fármacos y pueden liberarlos más reguladamente, la modificación de su superficie con ligandos, como anticuerpos, péptidos, aptámeros de ácido nucleico, carbohidratos y otras moléculas, puede dirigir su liberación y captación por un conjunto de células, aumentando la especificidad y reduciendo la toxicidad (5).

El crecimiento de la investigación en biomedicina, ha dado la oportunidad de utilizar nanopartículas con propiedades magnéticas, con el fin de descubrir nuevas tecnologías de tratamiento, cuya composición, está dada por materiales magnéticos, como hierro, níquel, magnesio, gadolinio y sus aleaciones (compuestos de óxido, complejos de cationes y polímeros, etc.) capaces de mostrar características magnéticas, tales como, ferromagnetismo, paramagnetismo e incluso supramagnetismo. Con base en su capacidad de orientación magnética, biocompatibilidad y entre otras propiedades biológicas que contienen, las nanopartículas magnéticas tienen la característica de conjugarse fácilmente con múltiples unidades o moléculas biológicas, como enzimas, anticuerpos, células, ADN y ARN, por tal motivo, son consideradas una nueva oportunidad y de gran importancia, para su uso como tratamiento en biomedicina (34).

La liberación de antígenos prolongada, a partir de nanopartículas, puede proporcionar una respuesta inmune más efectiva, evitando el riesgo de tolerancia y sustituyendo la necesidad de la administración de varias dosis, para producir una respuesta inmune. Las nanopartículas de PLGA (ácido poliláctico-co-glicólico) funcionan satisfactoriamente, como un sistema de liberación de antígenos encapsulados, combinados con otros antígenos o combinados con adyuvantes, en la misma partícula, que a muy bajas dosis, son capaces de generar una fuerte respuesta de células T, reduciendo, los efectos secundarios asociados al uso de adyuvantes y los recursos económicos invertidos en programas de vacunación (35).

Uno de los fundamentos más importantes, en la elaboración de los medicamentos homeopáticos es la potenciación, sustentada en diluciones seriadas y agitaciones vigorosas en cada dilución, otro método de presentación de estos medicamentos es la trituration, que consiste en moler finamente una sustancia inicial con lactosa, cuando ésta no es soluble en agua o alcohol. El intento por comprender el mecanismo de acción de los medicamentos homeopáticos y su transferencia de información, lleva a la búsqueda de varias hipótesis enmarcadas en la energía ganada y la acción ejercida por partículas, que van más allá del número del Avogadro (6).

Con la aparición de nuevas herramientas, como la nanociencia y nanotecnología, surgió una estrategia para la exploración de medicamentos homeopáticos, fundamentada en la posibilidad de

que las nanopartículas estuvieran presentes en los mismos, siendo suficiente para considerarlos, como una forma de nanomedicina (6).

Un estudio realizado para la comprensión del mecanismo de acción, consistió, en la preparación de varias muestras a partir de medicamentos homeopáticos, derivados de plantas como, *Colchicum*, *Pulsatilla* y *Belladonna*, obtenidos como tintura madre y el desarrollo de controles, con el propósito de comparar los resultados. Estos fueron llevados a potencias de 15CH, en frascos de plástico sin contenido de vidrio, con el fin de observar la interferencia del vidrio en la preparación de las muestras. Estas fueron sometidas a exploración, bajo microscopio electrónico, microscopio de transmisión de electrones y análisis de elementos traza, para exploración en su contenido de silicio (6).

Los resultados obtenidos de todas las muestras, tanto de medicamentos homeopáticos como de controles, con microscopía electrónica, mostraron la presencia de nanomaterial, incluso en niveles de dilución de 12CH, donde la sustancia inicial es casi inexistente. Igualmente, con microscopía de transmisión de electrones, se observaron nanopartículas en ambos tipos de muestras, siendo comparativamente más fácil encontrarlas en medicamentos homeopáticos, ya que estos revelaban mejor su presencia, hallazgo evidenciado también, en diluciones simples sin agitación, pero en bajas cantidades. Dichas muestras, al ser sometidas a rayos x de energía dispersa, mostraron un alto contenido de silicio, en las nanopartículas de medicamentos homeopáticos, preparados en frascos de vidrio con agitación, el cual no fue observado en las nanopartículas de los controles (6).

Por consiguiente, las dosis de medicamentos homeopáticos tomadas por un paciente pueden contener pocas (o ninguna) molécula de la sustancia inicial, sin embargo, la presencia de nanopartículas en estas diluciones, dan explicación a su acción ejercida en el organismo, como método de tratamiento (6).

En las preparaciones de medicamentos homeopáticos, que generalmente usan frascos de vidrio para su potenciación, se ha considerado un papel principal, la formación de clústeres de agua por la liberación de sílice de los envases de vidrio, estas nanoestructuras de sílice formado durante la sucusión en vidrio o el biosintetizado por tinturas madres de extractos naturales, pueden a su vez adquirir y transmitir información epitaxial del principio activo del remedio, en potencias superiores, factor clave para el efecto del medicamento (36).

Estas nanopartículas de silicio, pueden también actuar como portadores de información, con el nombre nanoportadores, pudiendo transmitir la información de la sustancia inicial, la cual es identificable como objetivo, por los sistemas biológicos (6).

Es importante resaltar, que varias formas de silicio, son conocidas por interactuar con proteínas y células del sistema inmune. Un medicamento homeopático, que pueda tener la información de la sustancia inicial diluida y los portadores necesarios para llevar esta información, identificados por los sistemas biológicos como objetivo, pueden calificarse como nanomedicina, con nanopartículas que pueden adquirir la información de la sustancia inicial diluida, codificada sobre ellos, durante la potenciación (6).

6 Mecanismo inmunológico de las vacunas

Desde el inicio de los sistemas de protección inmune, como la vacunología, la mayoría de vacunas fueron desarrolladas empíricamente, con una comprensión escasa de los sistemas inmunológicos que inducen una inmunidad protectora, no obstante, la falta del desarrollo de vacunas para enfermedades importantes, como el VIH y la malaria, han creado la necesidad del entendimiento de los mecanismos inmunológicos, mediante el cual el organismo puede adquirir una inmunidad protectora (37).

Uno de estos mecanismos se puede entender, por medio de la acción de células T helper, como TH1, TH2, TH17, las cuales son eficaces para proteger contra diferentes patógenos (bacterias, virus u hongos); por otro lado, las células T helper foliculares (células TFH) que producen interleucina 21 (IL-21), ayudan con la diferenciación de células B y con la generación de células B de memoria. Además, la diferenciación de las células T CD4 y células T CD8 de memoria, puede subcategorizarse, en subconjuntos de células de memoria central y células de memoria efectora, cada uno con funcionalidad distinta (37).

El sistema inmune innato, puede detectar microbios a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), como los receptores Toll-like (TLR), que se expresan en varias células e incluyen células dendríticas (DC), otros tipos de PRRs como los receptores de lecitina tipo C (C-type lectin-like receptors) y los receptores citosólicos nodulares (Nod-like), detectan una amplia gama de microbios, así mismo, los receptores citosólicos tipo RIG-I pueden detectar ácidos nucleicos virales. Existen muchos subconjuntos de células dendríticas, al igual que los receptores PRRs, que hacen aparte de la respuesta inmune, sin embargo, en el momento no es claro su desempeño, en la determinación de la calidad y magnitud de la respuesta inmune adaptativa (37).

Como se nombró anteriormente, existen dos grupos de vacunas; un grupo que son las vacunas vivas atenuadas, las cuales son versiones debilitadas de patógenos, que imitan el tipo de inmunidad protectora producido en personas que sobreviven a la infección (la viruela, fiebre amarilla, sarampión, paperas, rubeola y varicela), pudiendo generar respuestas celulares y anticuerpos frecuentes, creando una inmunidad que puede durar por décadas, otras sin embargo, debido a su capacidad de mutación no confiere una inmunidad duradera. El segundo grupo son aquellas vacunas que contienen sustancias llamadas coadyuvantes, que mejoran la magnitud y la calidad de la respuesta inmune, como las vacunas con subunidades (hepatitis B), vacunas con toxoide inactivo (difteria y tétanos), vacunas con carbohidratos (neumococo) y vacunas conjugadas (*Haemophilus influenzae* tipo B o meningococo), las cuales requieren de un refuerzo, para mantener una inmunidad protectora (37).

Las vacunas vivas atenuadas, probablemente realicen señalización a través de diferentes receptores PRRs, incluyendo los receptores TLRs, no obstante, pocos estudios han investigado como los PRRs, influyen en el sistema inmunológico adaptativo en respuesta a estas vacunas. Los estudios realizados en ratones para algunas vacunas, han demostrado la activación de las células dendríticas (DC) vía receptor TLR, en donde la señalización a través de combinaciones particulares de TLRs da como resultado, la activación sinérgica, de las células dendríticas o de células T específicas de antígeno y la respuesta de anticuerpos neutralizantes de alta afinidad, que pueden durar todo el tiempo de vida en un ratón (37).

En la actualidad, uno de los inconvenientes centrales radica, en como diseñar coadyuvantes que estimulen la clase de respuesta inmune protectora requerida, en este caso, como un subconjunto de células T helper específicas, células T citotóxicas, células T o células B de memoria a largo plazo,

que induzcan la localización en la mucosa y la persistencia de linfocitos antígeno específicos. Lo que requiere la comprensión del mecanismo, por el cual, los adyuvantes pueden mediar en la inmunogenicidad, por medio de subconjuntos de células DC y receptores PRRs entre otras células (37). Un ejemplo de esto, es el alumbre o sales de aluminio que se emulsionan con el antígeno en una sustancia tipo gel e induce una respuesta inmune tipo TH2, liberando el antígeno lentamente y generando una respuesta de anticuerpos, independiente de receptores de señalización TLRs. Así mismo, se piensa que la mayoría de vacunas presentan protección, a través de anticuerpos neutralizantes, contra patógenos transmitidos por sangre, dicha respuesta de anticuerpos antígeno específico, se pueden medir mediante ensayos de inmunoabsorción – ligado a enzimas (que miden el anticuerpo de unión), mediante la actividad de anticuerpos funcionales, incluyendo la inhibición, la neutralización de hemaglutinación y la capacidad opsonofagocítica (37).

Comprender el mecanismo mediante el cual los anticuerpos y células T, confieren protección contra patógenos y entender la inducción de la respuesta protectora inmune innata con adyuvantes es punto clave en el desarrollo de las vacunas (37).

En los estudios realizados, así como la modulación en la diferenciación de las células T, la protección inmune innata controla la respuesta de anticuerpos de diferenciación de células B-antígeno dirigidas, como puntos críticos, en el cual la activación de receptores TLR puede regular, la persistencia en la vía de diferenciación de células B de memoria y el desempeño de los basófilos en la supervivencia de las células plasmáticas de medula ósea, a su vez, la programación innata de células DC en los ganglios linfáticos y los macrófagos, pueden provocar la migración (células T y B activadas) y regular la diferenciación de células T y células B antígeno específicas en sitios de la mucosa (37).

Se debe comprender, que el objetivo de las vacunas basadas en células T, se basa en inducir células T de memoria específica de antígeno, cuya respuesta debe persistir tiempo después de que el antígeno haya sido eliminado y dar protección contra infecciones posteriores. Como se describió anteriormente, la diferenciación de células T dada por una vacuna, puede dar como resultado diversas poblaciones de células, por ejemplo, células T CD4 ingenuas, que se diferencian en subconjuntos de células T helper, con distintas funciones efectoras contra patógenos particulares cada una, otras como las células T CD8 ingenuas, se pueden diferenciar en células efectoras que circulan o residen en los tejidos y proporcionan una respuesta de protección inmediata, contra la infección en los sitios de entrada, a diferencia de las células T de memoria central, que residen en áreas ricas de dichas células, en órganos linfoides y generan un conjunto de células precursoras, que presentan una expansión clonal en respuesta al antígeno y se diferencian en células efectoras (37).

Entender los mecanismos, por los cuales se activa el sistema de protección inmunológica con las vacunas, es un punto importante de partida para su desarrollo y el mejoramiento de las mismas con nuevas tecnologías, sin embargo, dicho mecanismo ha sido estudiado en modelos animales (ratones). Teniendo en cuenta la heterogeneidad del ser humano, en la que influyen factores como, edad, género, estado nutricional y diversidad genética, así como el efecto que genera la obesidad, la desnutrición y los factores ambientales en el sistema inmune de cada persona, los cuales pueden generar cambios en la respuesta inmunológica adecuada para cada vacuna, se reconoce la importancia de estudiar más a fondo las estrategias de protección inmune y el desarrollo de un esquema de vacunación apropiado para un grupo poblacional (37).

7 Etapas de desarrollo de las vacunas

La investigación y el desarrollo de una vacuna contra un agente patógeno específico, puede tardar aproximadamente entre 10 a 15 años, las etapas de desarrollo, las pruebas requeridas y la regulación de las vacunas, fueron llevadas a cabo desde el siglo XX (38).

El 1 de Julio de 1902 en los Estados Unidos, fue aprobada la regulación de la venta de virus, sueros, toxinas y productos análogos, conocido como la ley de control biológico, esto fue dado, debido a los eventos ocurridos de contaminación, causados por la vacuna de la viruela y la antitoxina diftérica en 1901 en St. Louis. Dicha ley, creó el laboratorio de Higiene del Departamento de Salud Pública, para la supervisión de la venta de productos biológicos, el cual finalmente dio inicio al Instituto Nacional de Salud (38,39).

En 1944 se ordena al gobierno federal, la expedición de licencias para productos biológicos, incluyendo las vacunas. Tiempo después, en 1954, se formó la División de estándares biológicos con el fin de supervisar la seguridad y regulación de las vacunas, luego de un incidente ocurrido con la vacuna del polio virus, en el cual, de los 200.000 niños en los Estados Unidos vacunados con la vacuna defectuosa, que aun contenía polio virus activado, se produjeron 40,000 casos de polio, 200 casos de parálisis y 10 muertes, con responsabilidad del evento ocurrido, a los Laboratorios Cutter por su manufactura. Posteriormente, a la DBS (División de estándares biológicos) creada, se le dio el nombre de Bureau of Biologics y formó parte de la FDA (Food and Drug Administration), que actualmente se conoce, como el Centro de Evaluación e Investigación de Biológicos. De igual manera, en la Unión Europea, la Agencia Europea de Medicamentos, supervisa la regulación de vacunas y otros medicamentos, al igual que el comité de la OMS, realiza recomendaciones para productos biológicos internacionalmente, adoptando normas para su desarrollo (38,39).

Por consiguiente, la FDA tiene dos puntos de control en el proceso de desarrollo de las vacunas, los cuales deben cubrir los eventos que se presentan antes de que el fabricante envíe la solicitud para una nueva vacuna y después de que la solicitud sea presentada, así mismo, después de que la vacuna sea aceptada y autorizada para la venta, garantizando de esta forma, que la vacuna sea segura y efectiva (39).

Las etapas del desarrollo de una vacuna, se dan con el inicio de la fase exploratoria, que comienza con la investigación básica de laboratorio y puede durar generalmente de 2 a 4 años, en esta fase, se identifican antígenos que pueden incluir partículas de bacterias, virus o toxinas u otras sustancias derivadas de patógenos. Seguida de la fase preclínica, en la cual se usan métodos de investigación en cultivo de tejidos, o cultivo celular y ensayo clínico en animales, con el fin de evaluar la seguridad, la inmunogenicidad o la capacidad de provocar una respuesta inmunológica, lo que puede generar una percepción de la respuesta celular esperada, sugerir la dosis segura inicial y vía de administración adecuada, para la siguiente fase de investigación, proceso que puede durar de 1 a 2 años (38,40,41).

En la primera fase de los ensayos clínicos, se involucran un pequeño grupo de personas, regularmente entre 20 a 80 candidatos, iniciando siempre con personas adultas, con el fin de evaluar la seguridad de la vacuna, determinando el tipo y el alcance de la respuesta inmune. La segunda fase del ensayo clínico, se lleva a cabo con un grupo más grande de personas, son ensayos aleatorizados, controlados con grupo placebo, cuyo objetivo es determinar la seguridad de la vacuna, la inmunogenicidad, las dosis propuestas, el cronograma de inmunización y método de

administración. La tercera fase, se realiza sobre un grupo de miles de personas, son ensayos aleatorizados, doble ciego e involucran la vacuna experimental contra placebo, en la que se busca evaluar la seguridad de la vacuna, los efectos secundarios no encontrados en fases anteriores y la eficacia de la vacuna, con la realización posterior de la solicitud de la licencia y manufactura de la misma. En la cuarta fase o fase final, se realiza la vigilancia en su distribución y aplicación, con el fin de identificar efectos adversos reportados y su eficacia a largo plazo. Estos ensayos clínicos pueden durar entre 6-8 años, de acuerdo a la respuesta esperada en cada fase (38,40,41).

7.1 Fase preclínica

La primera fase del desarrollo, se puede dividir en 3 fases; la primera es la exploratoria, la segunda es la prueba en animales y la tercera, es la solicitud de la investigación de una Nueva vacuna (IND) a la FDA, esta aplicación a la IND contiene información sobre la seguridad, la pureza, la potencia y la eficacia de la vacuna, parámetros evaluados en los ensayos clínicos (39). Esta fase exploratoria, dura aproximadamente de 2-4 años y consiste en la investigación básica de laboratorio y la identificación de antígenos naturales o sintéticos, lo cuales tiene la capacidad de alertar al organismo contra posibles patógenos, en caso de que las vacunas muestren una buena respuesta en la fase exploratoria, se puede continuar con la siguiente fase de experimentación animal, que dura aproximadamente de 1-2 años y conlleva pruebas que evalúen, primero la seguridad y segundo la capacidad de la vacuna para provocar una respuesta inmune apropiada (test de inmunogenicidad). Estas pruebas en animales son frecuentemente realizadas en ratones y monos, los investigadores en esta fase puede comenzar a experimentar, con el hallazgo de dosis seguras y el método de administración de la vacuna, el desafío se centra en la vacunación del animal y su posterior infección con el agente patógeno con el fin de probar la efectividad de la vacuna (39,41).

En esta fase también se realizan ajustes a la vacuna candidata, con el fin de obtener en nivel deseado de inmunogenicidad, muchas vacunas no alcanzan el nivel de inmunogenicidad deseado, como para considerarse la realización de su solicitud al IND, pues la última fase en los ensayos preclínicos es la solicitud de aplicación a la FDA, que tiene como propósito describir los procesos de pruebas y manufactura, reportes de laboratorio y definir los estudios clínicos propuestos que podrían validar la eficacia y seguridad de la vacuna (39,41).

La evaluación preclínica para el desarrollo de una vacuna, se considera un requisito para la realización de ensayos clínicos, cuya evaluación consiste en diferentes pruebas de laboratorio realizadas, con el fin de comprobar que el antígeno utilizado, es adecuado para la realización de ensayos clínicos en humanos. Estos estudios, tienen como objetivo definir las características físicas, químicas y biológicas de un antígeno o producto en estudio, incluyendo los indicadores de seguridad e inmunogenicidad, en un tipo de animal apropiado, a su vez se deben identificar los posibles riesgos que pueden conllevar los sujetos vacunados y planificar los protocolos requeridos en las siguientes fases a seguir (42). En la fase preclínica, el estudio de los efectos tóxicos de un antígeno o vacuna en modelos animales, es un principio básico, el cual permite identificar el daño en órganos diana, como el sistema hematopoyético e inmunitario y la capacidad de toxicidad sistémica. Sin embargo, la aplicabilidad de las pruebas de toxicidad de una vacuna, dependen de la dosis, la composición de la vacuna y la población objetivo, en los cuales, los modelos animales pueden no ser predictivos de la respuesta en humanos (42).

Las pruebas de seguridad deben incluir, la evaluación de la dosis inicial segura, los esquemas de repetición de las dosis posteriores, la determinación de parámetros de seguridad para la supervisión posterior y la demostración del potencial del antígeno de la vacuna, para inducir anticuerpos, que reaccionan de manera cruzada con el tejido humano. En los casos en los que se tiene en cuenta, diferentes vías de administración, se deben considerar múltiples estudios de seguridad y toxicidad en modelos animales adecuados, según el tipo de antígeno a investigar, que deben abordar los parámetros de seguridad específicos, asociados con cada ruta de administración propuesta para la vacuna (42).

De la misma manera, se deben establecer pruebas de potencia durante el desarrollo de la vacuna y ser usadas de rutina en su distribución. Los datos de inmunogenicidad, obtenidos por los modelos animales, pueden ayudar en la selección de dosis, horarios y vías de administración, que se evaluarán en los ensayos clínico, pues estos estudios deben diseñarse, con el fin de evaluar las respuestas inmunes relevantes (tasas de seroconversión, niveles o clase de anticuerpos, inmunidad mediada por células en animales vacunados), abordando la interferencia entre antígenos, o virus vivos y en caso de que la vacuna contenga más de un antígeno, se debe evaluar la respuesta a cada uno estos, al igual que la liberación de mediadores solubles que puedan afectar el sistema inmune. Los resultados en esta fase, deben tener una respuesta inmune muy similar a la respuesta dada en humanos, para poder ser extrapolables en los ensayos clínicos siguientes (42).

La segunda etapa del proceso del desarrollo de las vacunas, compromete ensayos clínicos en humanos, que se divide en tres fases, parecidos al proceso que tiene la FDA para productos farmacéuticos. Finalmente, el comité asesor sobre las prácticas de inmunización (ACIP) del Centro de Control y prevención de enfermedades (CDC), revisa los datos generados por la fase 1 a la 3 y da su recomendación al gobierno federal, para el uso de la vacuna. Como se describió anteriormente, el objetivo de la primera fase clínica, es evaluar la seguridad de la vacuna en humanos, determinando el tipo y el alcance de respuesta inmune de la misma, realizada generalmente, en un grupo de 20 a 80/100 voluntarios, por medio de un estudio no ciego, en el cual investigadores conocen a que grupo se le administra la vacuna y a que grupo el placebo (39,41,43).

El propósito de la segunda fase clínica, se centra en la realización de estudios de seguridad e inmunogenicidad, determinando una dosis propuesta, el calendario de inmunización y el método de administración de la vacuna, en esta fase, se requieren más voluntarios para la investigación (cientos), siendo estudios aleatorizados, controlados e incluyen grupos placebo de control. Así mismo, el propósito de la tercera fase clínica, es evaluar la seguridad en un extenso grupo de personas (cientos a miles), con el fin de determinar, los efectos secundarios raros, que tiene probabilidad de ocurrir y determinar la eficacia de la vacuna. En cualquier fase de los ensayos clínicos, la FDA puede solicitar estudios más avanzados o suspender algunos, en los que se tengan preocupaciones significativas, sobre su seguridad y efectividad (39,41,43).

7.2 Fase I clínica

Cuando los datos de inmunogenicidad y los parámetros de eficacia, realizados en modelos animales están disponibles, se pueden iniciar los ensayos clínicos, no obstante, en caso de que no estén disponibles en el momento, se pueden realizar pruebas in vitro, como apoyo en el plan de desarrollo del ensayo clínico propuesto. Los estudios de la fase 1, se deben realizar con el fin de definir la

seguridad y reactogenicidad de una vacuna candidata, a su vez, para obtener información sobre su inmunogenicidad, evaluando las dosis y el método de administración elegido, pues estos son estudios de pequeña escala, con enfoque principal en la tolerancia clínica y la seguridad para su aplicación (42).

Estos estudios deben llevarse a cabo, con un soporte de laboratorio continuo y adecuado, monitoreados cuidadosamente. Pueden realizarse en diferentes edades o grupos de población, debido a las diferentes características dadas en dosis, esquema, vía de administración o riesgo de enfermedad, de la misma manera se deben realizar pruebas clínicas como hemograma, función hepática, entre otras, en los participantes, según sea el caso (42).

Los estudios iniciales de vacunas atenuadas, deben tener evaluaciones preliminares en dosis, respuesta inmune, signos clínicos de infección y reactogenicidad (inmediata, temprana y tardía), requiriendo investigaciones intensivas con estricta vigilancia de parámetros clínicos. Estos estudios, pueden proporcionar información inicial, sobre distribución, características de reversión, transmisión a contactos y estabilidad genética, útiles para las fases posteriores de los ensayos clínicos (42).

7.3 Fase II clínica

Estos estudios, implican un mayor número de personas participantes, los cuales son aleatorizados y controlados. El propósito es el mismo que en la fase 1, destinado a demostrar la inmunogenicidad de los componentes activos relevantes y los parámetros de seguridad de la vacuna candidata en la población objetivo, así mismo, deben definir la dosis óptima y secuencia o esquema inicial, intervalos, número de dosis y vía de administración, antes de comenzar los ensayos clínicos de la tercera fase (42).

La segunda fase, permite evaluar múltiples variables asociadas con la respuesta inmune del huésped (la edad, el origen étnico, el sexo y la presencia de anticuerpos preexistentes), como también la duración de la inmunidad, la necesidad de refuerzos y los aspectos cualitativos de la respuesta inmune. En esta fase, los estudios deben caracterizar más a fondo, la respuesta inmune provocada por un agente en particular importante para la protección, teniendo en cuenta, el nivel, clase, subclase y función de anticuerpos específicos producidos, la duración, la apariencia de los mismos y entre otros, como los anticuerpos neutralizantes, anticuerpos de reacción cruzada, formación de complejos inmunes, inmunidad mediada por células o cualquier tipo de respuesta inmune (42).

7.4 Fase III clínica

Los estudios de la fase III, son ensayos que se llevan a cabo en grandes poblaciones, para evaluar la eficacia y la seguridad de los componentes de la vacuna, inmunológicamente activos. Los datos serológicos en este tipo de estudios, generalmente se recolectan, por lo menos de un subconjunto de sujetos inmunizados, en intervalos previamente definidos. Cuando las vacunas que tiene los mismos antígenos, ya están siendo usadas o la incidencia de la enfermedad es muy baja, no es factible la realización de un estudio evaluando su eficacia protectora, por lo tanto, se limitan a la evaluación de las respuestas inmunitarias y su comparación con cualquier tipo de protección reconocida (42).

La duración del seguimiento del estudio, deber ser determinada teniendo en cuenta, el tipo de vacuna y otros factores relevantes, como la incidencia de la enfermedad, las características de la respuesta inmune y el perfil de seguridad de la vacuna. La aceptación final de la vacuna profiláctica, depende de la disponibilidad y de la evidencia clara, de que la vacuna es segura y realmente capaz de prevenir una enfermedad infecciosa, reduciendo de manera significativa las consecuencias de la enfermedad. Se debe considerar, que la eficacia de una vacuna, se mide como la reducción porcentual en la tasa de incidencia de una enfermedad específica, en individuos vacunados, en comparación con los no vacunados (42).

En esta fase, se pueden realizar estudios experimentales o estudios observacionales, siendo el método de elección para evaluar la prevención de enfermedades, el ensayo controlado aleatorizado doble ciego prospectivo, que permite controlar variables y evitar sesgos en la evaluación. Los estudios observacionales de eficacia o efectividad, hacen parte de los estudios en la cuarta fase para posterior su aprobación (42).

Para el reporte de eventos adversos, producidos por vacunas en estudio, debe haber una relación causal en cada caso, investigando y realizando una monitorización activa. Un evento adverso grave, es aquel que está asociado con la muerte, atención hospitalaria, discapacidad persistente e incapacidad, que deben ser descritos en detalle. En caso de que algún evento sea lo suficientemente importante para pensar en la suspensión de la vacuna, se haría de manera temporal, en el cual serán necesarios estudios de seguridad clínica adicionales, con el fin de confirmar la relación entre la vacuna y el evento, estableciendo una correcta incidencia (42).

7.5 Fase IV Clínica

Después de obtener la aprobación para el procesamiento de la vacuna, el propósito de esta fase, es el diseño y realización de estudios, que permitan monitorear el rendimiento de una vacuna, en una población bajo condiciones de uso rutinario, con el fin de detectar reacciones adversas y monitorear la eficacia y la efectividad de la misma en dicha población. Así mismo, con el propósito tener estimaciones más precisas que en la tercera fase, se utilizan encuestas cuidadosamente diseñadas para su evaluación (42).

En esta fase, los estándares de eficacia, seguridad y calidad, siempre deben ser definidos antes de iniciar el programa de vigilancia, que deben incluir, el impacto de la enfermedad objetivo en morbilidad y mortalidad, el potencial de la enfermedad para producir una epidemia, el área o región de aplicación a nivel nacional, regional o internacional y las acciones de importancia que dará lugar en salud pública (42).

8 Homeopatía y reacción inmunológica

El objetivo de la vacunación, se centra en prevenir ciertas enfermedades infecciosas, que ocasiona millones de muertes, especialmente en la población infantil por año, la cual consiste en la administración de un agente específico relativamente inofensivo, con componentes antigénicos que pueden producir un efecto protector inmunológico contra dicho agente infeccioso (20).

Se debe destacar, que la mayoría de vacunas autorizadas, previenen infecciones al generar anticuerpos neutralizantes u opsonizantes, con la contribución de las células T-helper, que ayudan a la eficiente activación de las células B, influenciando el intercambio isotopo-anticuerpo y la activación de células blanco, como macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. Por otro lado, se activa de manera directa la inmunidad celular, por medio de células T citotóxicas CD4 y CD8, que han mostrado tener una participación en las vacunas vivas y atenuadas (44). Sin embargo, el desafío es mayor, debido a que algunas infecciones son causadas por patógenos muy variables, que no son prevenibles con anticuerpos, requiriendo la combinación correcta y la respuesta inmune humoral – celular adecuada. La falta de entendimiento de la patogénesis de los organismos infectantes, la ausencia de modelos animales apropiados y la falta de correlación de la protección inmune, contribuyen a la dificultad en el desarrollo de las vacunas (44).

Según los principios de la homeopatía y la farmacopea homeopática, para las sustancias utilizadas en diluciones sucesivas a partir de la tintura madre, estas generan una acción positiva sobre la energía vital en órganos y sistemas, especialmente en el sistema inmunológico, lo que ayuda a restablecer el estado de salud en el organismo (45). De acuerdo a esto, se han encontrado varios mecanismos de acción de sustancias altamente diluidas con activación inmunológica, uno de estos en la regulación de basófilos, mastocitos y células de inflamación aguda, desencadenada por su unión a anticuerpos de IgE, unidos a receptores de antígenos de alta afinidad, como resultado de la sensibilización, lo que implica, cambios en el flujo de iones de membrana (iones calcio), cambios en polaridad eléctrica de la membrana celular y otros mecanismos que conducen a la exocitosis y liberación de mediadores. Uno de los principales mediadores es la histamina, el cual es producido por la descarboxilación de la histidina, almacenada en forma de gránulos en los basófilos y mastocitos, que es liberada segundos después de la activación. La histamina ocasiona una acción vasodilatadora y de permeabilización, con formación de pápulas y edema (45).

Estudios realizados con diluciones homeopáticas de Apis mellifica y Lung histaminun, en la activación de basófilos, encontraron un efecto pro inflamatorio y propiedades irritativas, cuando dichas sustancias son usadas a dosis normales, no obstante, en una dosis diferente puede realizar una acción inhibitoria celular a los procesos inflamatorios, pudiendo ilustrar el principio de similaridad. En otro estudio se pudo observar, la degranulación de basófilos con el uso de anticuerpos anti – IgE, a dosis habituales y diluciones extremadamente altas (con concentraciones más bajas), cuyos resultados de dosis-respuesta mostraron la desaparición de la actividad, seguida de la reaparición de la misma, como una alternancia de actividad e inactividad, incluso en diluciones extremadamente altas donde las concentraciones de anticuerpos eran prácticamente de cero. La actividad de las altas diluciones solo se evidencio, cuando la dilución fue seguida de una fuerte suscusión o dinamización (45).

Por otro lado, estudios realizados hace varios años, han demostrado los efectos in vitro, de las diluciones medias de plantas utilizadas en medicamentos homeopáticos en los linfocitos, en los que se evidencio, el efecto de la Phytolacca sobre la proliferación de linfocitos, la cual contiene una glucoproteína (el Pokeweed mitogénico) que induce la transformación linfoblástica en los linfocitos B cultivados. Sin embargo, las diluciones de Phytolacca de 5C, 7C y 15C no tienen efecto mitogénico sobre los linfocitos en reposo, pero en linfocitos estimulados con dosis ponderales de fitohemaglutinina, puede inhibir la mitosis en un 28 a 73%, siendo útil en enfermedades que implican linfadenopatías, como la mononucleosis infecciosa y la enfermedad viral otorrinolaringológica. Otro estudio releva, que el aceite esencial (Thujone), tiene propiedades fotoquímicas en acción antiviral e inmunofarmacológica, como los efectos estimuladores y co-estimuladores de las citoquinas, la producción de anticuerpos, la activación de células y macrófagos inmuno-competentes, dichos efectos in vitro, se han dado a dosis ponderales (bajas diluciones) del extracto de la planta y de su principio activo (45).

Otros estudios in vitro, realizados sobre el metabolismo oxidativo en neutrófilos cultivados, evidenciaron que algunos medicamentos homeopáticos a diluciones bajas, tienen un efecto inhibitorio y otros tienen un efecto potenciador sobre el metabolismo oxidativo, en el cual Phosphorus y Magnesium phosphoricum mostraron un efecto inhibitorio incluso en altas diluciones, no obstante, este resultado no es constante en todas las diluciones utilizadas. Estos estudios demuestran, que diluciones medias y altas pueden tener ciertos efectos sobre las células sanguíneas, interfiriendo en los mecanismos regulatorios celulares (intercambio de iones, procesos de fosforilación y oxidación-reducción) (45).

En los sistemas biológicos, se debe recordar que no existe linealidad en dosis y efecto, por tal motivo en términos de hormoligosis y hormesis, se puede dar la estimulación de sistemas biológicos por medio de toxinas a dosis bajas y a su vez un efecto inhibitorio. El concepto de hormesis viene del año 1877, cuando Schulz demostró que los venenos tienen un efecto de estímulo al ser utilizados a bajas dosis, acción observada mientras estudiada el metabolismo de la levadura (46). Posteriormente con Arndt, desarrollaron el principio o "ley de Arndt-Schulz", en la cual determinan, que los estímulos débiles aumentan ligeramente las respuestas biológicas, los estímulos medianamente fuertes incrementan estas respuestas, los fuertes las suprimen y los muy fuertes las contrarrestan. Estos efectos horméticos pueden observarse en forma de U inversa (curvas dosis-respuesta), varias sustancias han mostrado tener un efecto estimulante o inhibitorio, a dosis bajas o altas, un ejemplo de este efecto, se da en la medida de niveles de anticuerpos, en ratones inoculados con antígenos (albumina sérica bovina), en la que a dosis bajas o altas de antígenos la respuesta es deprimida (inmunotolerancia), mientras que a dosis intermedia de antígeno hay una respuesta positiva en la producción de anticuerpos (46).

Dos diferentes mecanismos son responsables de la reactividad de las células T, la alta concentración de antígenos propios causa un agotamiento celular, mientras que las dosis bajas causan una inhibición específica. Dicha regulación a dosis bajas, puede ser usada para explicar el efecto de algunos de medicamentos homeopáticos. Un estudio realizado sobre péptidos bacterianos (formil-metionil-leucil-fenilalanina, fMLP), tuvo la capacidad de inducir un marcado incremento en la adhesión de leucocitos humanos, mientras que dosis 100 veces más bajas, inhibían y revertían la adhesión por endotoxinas bacterianas o por migración dentro del exudado migratorio (46).

De manera que los medicamentos homeopáticos, los cuales son altamente diluidos, presentan una acción inicial en el sistema inmunológico; generando su activación, la cual es cual es potenciada por

las sucusiones dadas al medicamento, requiriendo el uso de bajas dosis y evitando afectos secundarios que podrían afectar otros órganos y sistemas (46).

Otro de los estudios destacados, muestra que la inmunoterapia específica de alérgeno, utilizada como único tratamiento inmunomodulador en enfermedades alérgicas, previniendo su desarrollo, consiste en inyectar cantidades crecientes de alérgenos dañinos en pacientes sensibles, disminuyendo así su nivel de sensibilidad a los mismos y ejerciendo su efecto mediante la inducción de anticuerpos bloqueantes, creando un cambio de una célula T helper (Th)₂ a una respuesta más específica de alérgeno Th₁ y la inducción de anergia, probablemente a través del desarrollo de células T reguladoras específicas de alérgenos (47).

En los últimos años, se han desarrollado varios estudios, sobre el efecto antiinflamatorio y celular de Arnica montana, en uno de los cuales se evaluó el efecto antiinflamatorio por medio de modelos de inflamación aguda y crónica, que mostro un efecto significativo en la reducción de la respuesta inflamatoria de Arnica montana a una potencia 6CH, en la cual el tratamiento oral tres veces al día con la misma, fue asociado, con una reducción significativa de la permeabilidad vascular inducida por histamina (48). En otro ensayo realizado, con el fin de observar la modulación de la respuesta inflamatoria aguda por Arnica montana 6CH, en ratas, se encontró una reducción en la degranulación de los mastocitos y el incremento del diámetro en los vasos linfáticos, contribuyendo a la reducción del edema macroscópico, siendo la histamina y las prostaglandinas probablemente las que modulan este proceso en el edema tardío. Por otro lado, se evidencio que la expresión de moléculas de adhesión CD54 (ICAM-1) por células endoteliales, que participan en la unión de leucocitos al endotelio, fue más grande en los animales tratados con Arnica montana 6CH en inflamación temprana, relacionado con un porcentaje mayor de células mastocito, degranulados en el tejido inflamado (49).

Al estudiar el mecanismo de acción del efecto del Arnica montana, sobre los macrófagos, con el uso de cultivo de línea celular monocítica humana de leucemia THP-1, mostro, que la actividad metabólica de los macrófagos en reposo y después de la diferenciación de IL-4, se incrementó ligeramente después de la incubación con Arnica montana en diluciones 2c y 3c. Así mismo, se evidencio un efecto estimulador en un grupo de genes y el efecto de regulación positiva sobre los mismos, que se mantuvo en todas las diluciones, permitiendo identificar un grupo de genes regulado de manera positiva en macrófagos, los cuales esta involucrados en el proceso de remodelación y regeneración del tejido conectivo (50). Otro ensayo realizado, con el fin de observar el efecto de Arnica montana en un modelo in vitro, con citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, usando diferentes potencias de la misma, mostro la activación de las vías de señalización y de los factores de transcripción, permitiendo la proliferación de células mononucleares y producción de citoquinas – IFN γ , con el uso de diluciones que superan el número de Avogadro (mayor de 15CH), de igual manera, la viabilidad celular de las células mononucleares fue más alta, a una dilución 1000CH y 6CH en tiempo de exposición diferentes (51).

Con el fin de esclarecer la acción central que tienen los macrófagos, así como su capacidad de defensa en la inmunidad innata y adquirida, se realizó una investigación para demostrar los efectos de una sustancia toxica como Mercurius solubilis altamente diluida, en macrófagos, con la activación o modulación de su función. En la cual, por medio de la cuantificación de las citoquinas, después del tratamiento de macrófagos in vitro con Mercurius solubilis, se evidencio la inducción en la producción de INF γ , a bajas diluciones (6CH y 12 CH) y la estimulación en la producción de IL-4, a altas diluciones (200CH)(52). Demostrando, que los macrófagos tratados, además de presentar

características morfológicas de activación, también mejoran significativamente la liberación de NO (óxido nítrico), como parte del mecanismo de defensa inmune no específica, contra microorganismos invasores, generado durante la respuesta inmune e inflamatoria. Lo que a su vez, promueve la defensa y la respuesta inflamatoria del huésped vía NO, a diluciones 6CH, 12CH y 200CH, pudiendo también activar el factor de transcripción nuclear (NF- κ B), cuya activación parece esencial para la expresión de un gran número de citoquinas, quimiocinas y genes de adhesión, que son mediadores críticos para las reacciones inflamatorias (52).

Por otro lado, la exploración del efecto de la *Phytolacca americana*, a altas diluciones en linfocitos humanos, realizada por medio de un ensayo experimental con cultivos de células mononucleares de sangre periférica, con la exposición de estos a dinamizaciones de *Phytolacca americana* 6CH, 15CH, 30CH y a una dilución 6CH no sucusionada, permitió encontrar una actividad linfoproliferativa o mitogénica sobre los linfocitos T a diluciones sucusionadas y una actividad de inmunosupresión selectiva o disminución en la liberación de Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α), Interleuquina (IL)10 e interleuquina (IL)6, con respecto al nivel basal, al realizar la cuantificación de las citoquinas por el efecto de la *Phytolacca americana* dinamizada (53). De igual manera, la evaluación de la respuesta inmunomoduladora de la *Echinacea angustifolia* homeopatizada, en cultivo de células mononucleares de sangre periférica humana, llevada a cabo, por medio de la medición de la viabilidad celular y la cuantificación de citoquinas en el cultivo de células mononucleares, previamente tratadas con el medicamento homeopático a la potencia 30CH sucusionado, permitió evidenciar, un efecto proliferativo o mitogénico del 40.9% de las células mononucleares con respecto al control y la falta de asociación de los mecanismos inmunomoduladores de la *Echinacea* homeopatizada, con las citoquinas (IL1B, IL, 6, IL 8, IL 10 y FNT) a esta potencia (54).

Un estudio realizado, para la prevención de enfermedades, en el Irish Homeopathic Research Institute, Midleton, Cork- Irlanda, comparo el uso de medicamentos homeopáticos como profilaxis homeopática (siguiendo el protocolo de EOLAS), con el esquema de vacunación regular, en un seguimiento durante 5 años, en el cual se tomó un grupo de 112 niños lactantes entre 1 a 2 meses de edad, divididos en dos grupos de 61 participantes para cada tratamiento, prescribiendo el medicamento homeopático según el protocolo, a dosis de 200CH en una sola dosis o en repetición de tres veces al día, para un grupo y el esquema de vacunación inyectable convencional para el otro (55). Utilizando como Criterios de evaluación, la respuesta a la vacunación (sin respuesta, respuesta leve, fuerte respuesta sistemática y reacción severa), los grados de reacción a la vacuna (intensidad de los síntomas manifestados después de la vacunación) y el tratamiento posterior a la vacuna. Estudio que permitió evidenciar, el desarrollo de formas leves de sarampión, varicela, rubéola, paperas y tos ferina, en el 22% de los pacientes, en el grupo con profilaxis homeopática, a diferencia de lo ocurrido en el grupo de vacunación regular, en el cual, el 84% de los pacientes desarrollaron formas fuertes y / o severas de sarampión, varicela, rubéola, paperas, tos ferina entre otras enfermedades (55). Los estudios descritos anteriormente, permiten reforzar la importancia en el uso de protección inmunológica con medicamentos ultra diluidos, como la homeopatía, con el fin de prevenir enfermedades infecciosas, sin riesgo a generar graves efectos adversos.

9 Metodología

Los conceptos y estudios citados anteriormente, son la base para el desarrollo metodológico inicial, en la búsqueda de una evidencia más concluyente, que enfatice la aplicación de la homeopatía como una estrategia de reforzamiento inmunológico y protección inmunitaria. Para lo cual se realiza un diseño experimental en animales.

1. Se toma, un grupo inicial de 54 animales (ratones), el cual se divide en tres grupos de 18 ratones cada uno. A su vez esos subgrupos se dividen en dos grupos de 6 ratones cada uno. Un grupo control de 3 ratones.
2. Se utilizarán nosodes - medicamentos homeopáticos, preparados a partir de agentes infecciosos según la farmacopea homeopática; como: *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* – tosferina, sarampión- *paramixovirus*, en potencias de 15CH, 200CH y 1000CH. Se elegirá el agente específico de acuerdo a la línea, de investigación a realizar.
3. Se toman los tres grupos de 6 ratones (A, B, C), se dividen en subgrupos de 6 ratones cada uno (A1-A2-A3, B1-B2-B3, C1-C2-C3). A cada subgrupo se realiza la administración oral en gotas, de profilaxis homeopática con los nosodes preparados a partir de cada agente infeccioso en potencia de 15CH, 200CH y 1000CH de la siguiente manera; (grupo A1-potencia de 15CH, grupo A2 – potencia 200CH, grupo A3 – potencia 1000CH; grupo B1-potencia de 15CH, grupo B2 – potencia 200CH, grupo B3-potencia 1000CH; grupo C1-potencia de 15CH, grupo C2 – potencia 200CH, grupo C3-potencia 1000CH). Se administra en posología de 4 gotas 4 veces al día durante 4 semanas.
4. Se realizará la medición de anticuerpos específicos para cada antígeno (nosode) a los 7, 14, 21, 28 días posteriores de la exposición, por medio de inmunoensayo ELISA.

5. Posteriormente al tratamiento homeopático, un vez verificados los niveles de anticuerpos, se exponen los ratones de cada grupo a los diferentes agentes infecciosos, como: *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* – tosferina, sarampión- *Paramixovirus*; por medio de la inoculación de cada cepa infecciosa.
6. A los 5 o 7 días posteriores de la exposición del agente infeccioso en cada ratón, se debe observar el desarrollo de la enfermedad en cada animal. Y la detección del mismo, por medio de técnicas habituales como; la detección de IgM, con inmunoensayo ELISA para el sarampión, hemocultivo o técnica de aglutinación en latex para la detección de *Haemophilus influenzae*, cultivo de las secreciones faríngeas o aún más específico y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Bordetella pertussis*; a su vez evaluando signos clínicos de enfermedad que aparezcan durante la primera semana.
7. Al grupo control de ratones, establecido mediante técnicas estadísticas, se les aplicara placebo en gotas cada día con la misma posología durante 2 semanas, con posterior inoculación del agente infeccioso (*Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* – tosferina, sarampión - *Paramixovirus*) a cada ratón respectivamente. A los 3-5 días posteriores a la inoculación se observa el desarrollo de la enfermedad con signos clínicos y se les realizan las pruebas para identificar el agente infeccioso.
8. Se plantea la posibilidad, de establecer un tercer grupo de intervención en ratones de experimentación, en los cuales se tratará de identificar la individualidad e cada uno de ellos, mediante el análisis elaborado por un veterinario con formación de homeopatía, para adicionarles un medicamento constitucional, además del nosode escogido, con el fin de comparar el resultado con el grupo no individualizado.

10 Discusión

En la búsqueda de una estrategia homeopática, con el fin de generar un reforzamiento inmunológico, capaz fortalecer el sistema inmune, como alternativa, diferente de la inoculación de agentes infecciosos atenuados o inactivados, se desarrolló el presente protocolo de investigación experimental, en el cual, de manera inicial se hizo una revisión extensa sobre la historia de las preparaciones biológicas llamadas vacunas, generadas a partir de agentes infecciosos capaces de producir una respuesta inmune protectora en un ser vivo, contra dicho agente específico causante de enfermedad.

En La historia de la vacunación, el proceso de investigación en vacunas, se desarrolló como resultado, de la consideración de un mecanismo capaz de generar una respuesta defensiva en el organismo, mediante la inoculación de pequeñas cantidades o partes de los agentes biológicos, buscando generar una reacción protectora, lo cual se ha venido perfeccionado, por medio técnicas de investigación científica, ancladas en la evaluación de la generación de anticuerpos protectores contra dichas enfermedades (7). La evolución en los procesos de investigación, dados en su desarrollo, permiten conocer los diferentes tipos de vacunas, su forma de fabricación, sus componentes, el desarrollo de nuevas tecnologías, los posibles efectos secundarios y controversias generadas.

Con el avance de la medicina, estas técnicas se han venido depurando mediante la utilización de agentes antigénicos, cada vez menos agresivos, con el fin de disminuir los efectos secundarios, que han sido uno de los factores importantes en su desarrollo. Sin embargo, a pesar de estos avances,

se continúan describiendo algunos efectos indeseables en la vacunación, especialmente en grupos identificados de pacientes, como los inmunosuprimidos, pacientes en tratamiento de fármacos inmunosupresores o pacientes en periodos de convalecencia de enfermedades infecciosas. Dichos efectos adversos o no deseados, se conocen homeopáticamente como *vacunosis*.

Posteriormente, con el fin de esclarecer las bases científicas para la realización de un diseño metodológico adecuado, que permita estudiar e investigar un método complementario o alternativo, con la capacidad de generar una protección inmunológica, se realizó la investigación en la historia de la homeopatía, fundamentos científicos, principios y mecanismos de acción propuestos.

A nivel mundial, la homeopatía es considerada como sistema médico complejo, el cual lleva más de 200 años de aplicación clínica, con resultados evidentes en la respuesta terapéutica, fundamentada en el principio de la similitud, que posee la capacidad de generar respuestas en el organismo, dentro de las cuales podrían considerarse las respuestas de tipo inmunológico (21). Este y otros principios de la homeopatía, como la experimentación pura, la potenciación, el uso de dosis mínimas y la investigación de los componentes estructurales de los medicamentos homeopáticos, conocidos como nanopartículas, concepto actualmente asociado al desarrollo de nuevas tecnologías en vacunación, así mismo, el conocimiento de la respuesta inmunológica de algunos medicamentos homeopáticos, permite tener el conocimiento y las bases científicas, para la elaboración de una hipótesis promisorias y la apertura de una nueva alternativa en el reforzamiento inmunológico.

Teniendo en cuenta estos principios de la homeopatía se considera, que es posible utilizar informaciones homeopáticas de los agentes infecciosos, obtenidos mediante técnicas de dilución y dinamización, los cuales se denominan *nosodes* que, incorporados a pacientes sanos, pudieran generar respuestas protectoras, apropiada para cada individuo.

El principio de las dosis mínimas utilizada en la homeopatía, siempre se ha cuestionado en la medicina occidental, sin embargo, desde la década de los 70s, se comienza a analizar el concepto de la nanotecnología, mediante el cual, en estudios científicos realizados en medicina occidental, se han generado y confirmado respuestas terapéuticas adecuadas. Por lo tanto, al analizar los principios de la nanotecnología y los principios de la homeopatía, se encuentran coincidencias fundamentales.

En la literatura, se encuentran algunas publicaciones en donde se ha intentado utilizar agentes biológicos homeopatizados, con la intención de generar respuesta defensiva, sin tener aun conclusiones valederas. Es posible, que esta ambigüedad, se deba a que no se ha identificado, la dosis adecuada, la frecuencia de intervenciones o las características individuales en su experimentación.

En el diseño de los estudios preclínicos para el desarrollo de una vacuna, los modelos animales son muy útiles, ya que poseen la similaridad y la complejidad biológica del sistema inmune, que puede ser predictiva, de la respuesta inmune en humanos y de los posibles efectos adversos que se pueden generar (56,57). La selección de la especie animal para cualquier estudio debe ser basada sobre la respuesta inmune deseada, por ejemplo, el ratón C57BL/6 es usado para replicar la respuesta inmune celular Th1 y el conejo es usado para reproducir una respuesta inmune humoral. Para el desarrollo de las vacunas mucosas, también es necesario un modelo animal apropiado, ya que la protección contra la enfermedad generada, por una variedad de patógenos que invaden a través de

las superficies mucosas, puede llevarse a cabo, por medio de la vacunación vía mucosa, sin embargo, estas pueden tener dificultades asociadas a la administración eficiente de la vacuna y una respuesta inmune débil (56).

Para la elección de este modelo animal (huésped) en el desarrollo de las vacunas, se debe tener en cuenta los siguientes criterios, desarrollo de órgano inmune, transporte de anticuerpos por mucosa (IgA), ruta de administración, duración de la memoria inmune, receptores, fisiología para la administración específica, acceso a la mucosa y al sistema inmune, transferencia de inmunidad pasiva vía placentaria, leche materna y calostro. En este caso el ratón es un excelente modelo animal para realizar ensayos in vivo, ya que permite elucidar aspectos de la fisiología inmune, aun que puede tener una limitación en la patogénesis de la enfermedad (56).

En cuanto a las dosis más adecuadas, para un estudio no clínico, una dosis que sobrepase la dosis humana en base de mg/kg y que induzca una respuesta inmune en el modelo animal puede ser usada, el número de dosis en estos animales, debe ser igual o más que la cantidad de dosis propuestas en humanos y en intervalos de dosificación en tiempos definidos, basándose en la respuesta de anticuerpos primarios y secundarios del modelo animal. Así mismo, la ruta de administración de la vacuna, debe corresponder a la prevista usada en los ensayos clínicos en humanos, considerando un grupo de control negativo o control activo, con el fin de evaluar la respuesta inicial de tratamiento o en este caso, incluir un grupo de tratamiento adicional de animales a ser sacrificados, con el fin de investigar la reversibilidad de cualquier reacción adversa, durante el periodo de tratamiento y detectar los posibles efectos adversos retrasados (57).

Es importante tener en cuenta, que la evaluación preclínica de una vacuna es un requisito previo para la iniciación de ensayos clínicos, durante la cual se deben seleccionar cuidadosamente el antígeno y las tecnologías apropiadas, realizando pruebas tanto in vitro como in vivo. Dicha evaluación de laboratorio, debe continuar a lo largo de la fases preclínica y clínica de una vacuna en desarrollo, cuyo propósito principal, es probar que la vacuna es adecuada para su estudio en humanos y definir las características (físico, químicas y biológicas), incluyendo los indicadores de seguridad e inmunogenicidad en un modelo animal apropiado (42).

Para un estudio preclínico, debe haber siempre una razón clara para hacer pruebas en animales, de acuerdo con las buenas pautas de práctica de laboratorio y con las directrices nacionales sobre experimentación animal. De esta manera, se deben considerar los estudios de toxicidad en animales, evaluando los posibles efectos tóxicos de una vacuna en órganos diana - sistemas hematopoyético e inmunitario y toxicidad sistémica (encontrada en EMEA Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines). No obstante, un modelo animal puede no estar disponible para los estudios toxicológicos de las vacunas candidatas y pueden no ser predictivos de la respuesta en humanos (42). Por tal motivo el presente estudio, pretende realizar un ensayo experimental preclínico, con el uso de agentes infecciosos homeopatizados y no con la realización experimental preclínica de una vacuna específica.

Se debe considerar, que los nosodes son preparaciones homeopáticas de amplio espectro, a partir de materiales biológicos, como cultivos o muestras clínicas de microorganismos, bacterias, virus, hongos, parásitos, tejidos cancerosos y de productos de descomposición en humanos o en animales. Cerca de 45 tipos de nosodes, han sido utilizados desde el año 1830, como el psorinum, el primer nosode preparado a partir de material infectado y probado por Hering en el mismo año, la mayoría de nosodes fueron realizados entre el año 1875 y 1925, sin ser estandarizados en términos de

calidad, cantidad, pureza, morfología, caracterización y seguridad (58). Por esta razón, se desarrolló un estudio, con el fin de estandarizar la preparación de nosodes, en el cual se debe realizar la identificación y obtención del material de origen (cepa autentica, recuento del organismo y consideraciones éticas), se debe determinar la naturaleza del material (si los organismos son capaces de producir endotoxinas, exotoxinas, a partir de toxinas purificadas, microbios y muestras clínicas de sujetos enfermos), la eliminación de la contaminación o purificación del material de origen, la separación o filtración de otros componentes, la caracterización o genotipificación del material de origen, la seguridad o bioseguridad del nosode y a su vez, determinar la potenciación (sucusión y trituración) que depende la naturaleza del material original y comprobar su seguridad para el uso en humanos (test de ADN, microscopia ultra-electrónica, reacción en cadena de polimerasa – transcriptasa reversa RT-PCR, con control positivo y negativo). Estos parámetros de estandarización y el uso de nuevas tecnologías, permiten garantizar la reproducibilidad, seguridad y las futuras investigaciones para el desarrollo de los mismos (58).

La aplicación de estos conceptos y la aproximación a los ensayos preclínicos en el desarrollo de las vacunas, en un modelo de investigación, con la aplicación de nosodes como posibles antígenos de protección inmune, permitirán estudiar un nuevo método alternativo, diferente al uso de agentes infecciosos capaces de producir posibles efectos nocivos en el organismo de un individuo. Los resultados esperados durante el ensayo experimental y en su fase final, se basan en la respuesta inmunológica de defensa apropiada y oportuna, que pueda evidenciarse en cada modelo animal, evitando el desarrollo de la enfermedad causada por el agente infeccioso y comprobando su respuesta inmune con la producción de anticuerpos o con la negativización de las pruebas diagnósticas para cada agente infeccioso a la semana de su inoculación.

11 Conclusiones

- La vacunación y el avance investigativo de las vacunas, de acuerdo al concepto vigente en medicina, ha tenido una motivación preventiva, con el fin de evitar el desarrollo de enfermedades graves, que ponen en riesgo la vida de las personas.
- Las vacunas y las técnicas utilizadas en vacunación, permiten observar su efectividad, considerando la disminución de la frecuencia de las patologías, lo que se ha podido demostrar estadísticamente.
- Una de las consideraciones en esta estrategia terapéutica, ha sido la presencia de efectos adversos en pacientes sanos y la limitación de su utilización, en grupos particulares de pacientes, en condiciones de inmunosupresión.
- El concepto de *vacunosis*, reafirma la comprensión de los posibles efectos adversos presentados, a través de la historia, con el uso de agentes biológicos, de manera aguda y crónica, resaltando la importancia de la homeopatía en la resolución de los mismos y generando a su vez una respuesta inmune protectora.
- La descripción del desarrollo histórico de la homeopatía, sus fundamentos, el concepto de nosode como medicamento homeopático o antígeno homeopático, la comprensión de la acción del medicamento homeopático por nanopartículas y el conocimiento de la respuesta inmune generada a nivel celular, descrita en varios estudios realizados, promueven el desarrollo investigativo de una nueva metodología, capaz de producir un reforzamiento inmunológico.
- La homeopatía, cuando se utiliza de acuerdo a sus principios fundamentales, ha podido demostrar resultados terapéuticos favorables. Por consiguiente, es posible generar una respuesta inmune protectora, utilizando estrategias terapéuticas fundamentadas en la

homeopatía, la cual es equiparable a la nanotecnología, con el fin de obtener una alternativa a los sistemas clásicos de vacunación.

- Se deben realizar procesos de investigación rigurosa, con el fin de lograr establecer las dosis y las estrategias de incorporación, de las informaciones adecuadas en los pacientes, para obtener una respuesta favorable.
- El entendimiento de las fases de desarrollo de las vacunas, el estudio de los requisitos y pasos a seguir en la fase preclínica, llevaron al desarrollo de una metodología experimental inicial, que permita evaluar la respuesta inmune protectora, con el uso de antígenos homeopáticos o *nosodes*.
- En el diseño de los estudios preclínicos, para el desarrollo de una vacuna, los modelos animales son muy útiles, ya que poseen la similaridad y la complejidad biológica del sistema inmune, cuya respuesta puede ser predictiva en humanos, por tal motivo, la propuesta del desarrollo metodológico debe ajustarse al diseño de los mismos, con el uso de un modelo animal.
- En la descripción de los ensayos preclínicos, se han estudiado diferentes modelos animales para la aplicación de antígenos biológicos, siendo el ratón el más adecuado por su similaridad de respuesta inmune al ser humano, por lo tanto, este modelo animal se pretende usar en el presente protocolo.
- Se debe considerar, que la seguridad en la fabricación e investigación en *nosodes*, con un adecuada practica de manufactura, es un requerimiento necesario para la aplicación de los mismos, ya que son agentes infecciosos homeopatizados, los cuales deben generar una respuesta inmune protectora y no un riesgo de infección.
- Para el presente protocolo, se debe tener en cuenta, que la evaluación preclínica de una vacuna, es un requisito previo para la iniciación de ensayos clínicos, en la cual se deben seleccionar cuidadosamente el antígeno y las tecnologías apropiadas, realizando pruebas tanto in vitro como in vivo. Esto con el fin de probar, si la vacuna en desarrollo es conveniente para su aplicación en humanos, definiendo las características (físicas, químicas y biológicas), incluyendo los indicadores de seguridad e inmunogenicidad en un modelo animal apropiado. De acuerdo a esto, el presente estudio, pretende realizar un ensayo preclínico experimental, con el uso de agentes infecciosos homeopatizados (nosodes) y no con la realización experimental preclínica de una vacuna específica, tratando de individualizar el estímulo homeopático mediante medicamentos homeopáticos adicionales que reflejen la totalidad sintomática de cada paciente.
- En caso de obtener una respuesta similar, entre un nosode a una potencia inferior y otro a una potencia superior al número de Avogadro, se escogerá el nosode que esté por encima de la dinamización 12CH.

12

CRONOGRAMA	04_2016	05_2016	06_2016
Elección de Tema de investigación o trabajo de grado a desarrollar.			
Reunión con Tutor para aprobación y sugerencias en el desarrollo de proyecto de investigación			
Revisión de trabajo realizado (marco teórico) para su continuación. Inicio de búsqueda bibliográfica para su desarrollo.			
Entrega de avances a tutor para su aprobación.			

CRONOGRAMA	08_2017	09_2017	10_2017	11_2017
Continuación en el desarrollo de protocolo de investigación y búsqueda de artículos.				
Reunión con Tutor para aprobación y correcciones en el desarrollo del protocolo de investigación.				
Entrega de avances de protocolo de investigación a tutor para correcciones.				
Entrega avance protocolo de investigación a comité de la maestría con carta de aprobación de tutor.				
Evaluación de avance en el protocolo de investigación.				

CRONOGRAMA	01_2018	02_2018	03_2018	04_2018	05_2018	06_2018
Continuación en el desarrollo de protocolo de investigación y diseño metodológico.						
Reunión con Tutor para aprobación y correcciones en protocolo de investigación.						

Entrega de protocolo de investigación a tutor para correcciones.						
Entrega final de protocolo de investigación a comité de la maestría con carta de aprobación de tutor.						
Aprobación por parte del comité de la Maestría de la monografía.						

Bibliografía

- Schuchat A, Jackson LA. Immunization Principles and Vaccine Use. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine, 19e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. Available from: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1120795755>
- Kimberlin, DW, Brady, MT, Jackson, MA, Long S. Prólogo-Inmunización activa. In: Larry K, Pickering M F, editor. Libro Rojo [Internet]. Comite sob. Northwest Point Blvd; 2005. p. 1–7. Available from: <https://redbook.solutions.aap.org/chapter.aspx?sectionid=88186958&bookid=1484>
- Merrell WC, Shalts E. Homeopathy. Complementary And Alternative Medicine. 2002;86(1):47–62.
- Jonas W. Do homeopathic nosodes protect against infection? An experimental test. Alternative Therapies In Health And Medicine. 1999;5(5):36–40.
- Zhang L, Gu F, JM Chan. Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. clinical pharmacology & therapeutics. 2008;83(5):761–9.
- Upadhyay RP, Nayak C. Homeopathy emerging as nanomedicine. International Journal of High Dilution Research. 2011;10(37):299–310.

7. Payette P, Davis H. History of Vaccines and Positioning of Current Trends. *Current Drug Target -Infectious Disorders*. 2001;1(3):241–7.
8. Saroja, CH, Lakshmi P, Bhaskaran S. Recent trends in vaccine delivery systems: A review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2011;1(2):64–74.
9. Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: How the past led to the future. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2011;9(12):889–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2668>
10. Mäkelä PH. Vaccines, coming of age after 200 years. *FEMS Microbiology Reviews*. 2000;24(1):9–20.
11. O’Hagan DT, Rappuoli R. The safety of vaccines. *Drug Discovery Today*. 2004;9(19):846–54.
12. Ferraro B, Morrow MP, Hutnick NA, Shin TH, Lucke CE, Weiner DB. Clinical applications of DNA vaccines: Current progress. *Clinical Infectious Diseases*. 2011;53(3):296–302.
13. Nossal GJV. Vaccines of the future. *Vaccine* [Internet]. 2011;29(SUPPL. 4):D111–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.089>
14. Calderon E. Revisión no sistemática del tratamiento homeopático en los efectos nocivos post-vacúnales. *Fundación Universitaria Escuela Colombiana de Medicina Homeopática*. Luis G Páez; 2015.
15. Segura M, Catalá R, Huerta C. Evaluación de la seguridad de las vacunas por su contenido en timerosal. *Pharm Care Esp*. 2000;2:432–9.
16. Who.int. Inmunización, Vacunas y Productos Biológicos. Thiomersal - preguntas y respuestas [Internet]. WHO. Octubre. 2011 [cited 2018 Apr 8]. Available from: http://www.who.int/immunization/newsroom/thiomersal_questions_and_answers/es/
17. Fda.gov. Vaccines, Blood & Biologics. Thimerosal and Vaccines [Internet]. U.S. FDA. Febrero. 2018 [cited 2018 Apr 8]. Available from: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/VaccineSafety/UCM096228#table>
18. Malik B, Rath G, Goyal AK. Are the anatomical sites for vaccine administration selected judiciously? *International Immunopharmacology* [Internet]. 2014;19(1):17–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.12.023>
19. Cerqueiro CX. Vacunas. Cuando la evidencia es lo que cuenta. *Principia Ciencia Ilustrada* [Internet]. 2015 Jun [cited 2016 Oct 8]; Available from: <http://principia.io/2015/06/06/vacunas-cuando-la-evidencia-es-lo-que-cuenta.ljEzMil/>
20. Who. Vaccine-preventable diseases and vaccines-2017 update. *International travel and health*. 2012. 1-63 p.
21. Bailey P. Homeopathy. In: Academic Press I, editor. *Handbook of Complementary and Alternative Therapies in Mental Health* [Internet]. San Diego-California (USA); 2002. p. 401–29. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780126382815500206>

22. Rodrigues Galhardo JE. Iniciação Homeopática [Internet]. homeoint.org. Monterrey N. L. México: Centro de Homeopatía Flores; 2001. Available from: <http://www.homeoint.org/books3/hahnemann2/index.htm>
23. Kirtsos WE. The beginning of the american institute of homeopathy [Internet]. American Institute of Homeopathy. 2007 [cited 2016 Sep 12]. Available from: <https://homeopathyusa.org/about-aih-2/our-heritage-our-future.html>
24. D'Huyvetter K, Cohrssen A. Homeopathy. Primary care. 2002;29(2):407–418, viii.
25. Vithoulkas G. The Vital Force in Disease. In: The Science of Homeopathy. New Delhi: B. Jain; 1998. p. 75.
26. Bernal GG. How does homoeopathy cure?. A brief history of its causal hypotheses. British Homoeopathic Journal. 1995;84(1):40–5.
27. Wyllie M. British Homeopathic Association United Kingdom [Internet]. Regulation Regulated practitioners. 2016 [cited 2016 Sep 13]. Available from: <http://www.britishhomeopathic.org/find-a-homeopathic-practitioner/regulation/>
28. Little D. Nosodes in Homoeopathy [Internet]. Homoeopathic Online Education. [cited 2016 Sep 13]. Available from: <http://www.simillimum.com/education/little-library/constitution-temperaments-and-miasms/nih/article.php>
29. Medhurst R. ISOPATHY PART 2: NOSODES. Journal of the Australian Traditional-Medicine Society. 2000;6(2):1–4.
30. Morrell P. La Teoría Hahnemaniana de los miasmas y los remedios miasmáticos. In: Hanheman y la Homeopatía. New Delhi, India: B. Jain; 2005. p. 143–6.
31. Saxton JGG. Do we truly understand vaccine reactions and vaccinosis? Homeopathy. 2005;94(3):200–1.
32. Smits T. BASIC DESCRIPTION OF THE 'POST-VACCINATION SYNDROME'. In: THE POST - VACCINATION SYNDROME DIAGNOSIS TREATMENT PREVENTION [Internet]. Holland; 1997. p. 5–12. Available from: <http://www.post-vaccination-syndrome.com/3924/the-post-vaccination-syndrome.aspx>
33. Vithoulkas G. Vacunación. In: Las Leyes y Principios de la Homeopatía, es su aplicación práctica. 1ra. Buenos Aires; 1997. p. 142–8.
34. WU A, OU P, ZENG L. Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles. Nano [Internet]. 2010;05(05):245–70. Available from: <http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S1793292010002165>
35. Danhier F, Ansorena E, Silva JM, Coco R, Le Breton A, Préat V. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. Journal of Controlled Release [Internet]. 2012;161(2):505–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043>
36. Bellavite P, Marzotto M, Oliosio D, Moratti E, Conforti A. High-dilution effects revisited. 1. Physicochemical aspects. Homeopathy [Internet]. 2014;103(1):4–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.homp.2013.08.003>

37. Pulendran B, Ahmed R. Immunological mechanisms of vaccination. *Nature Immunology*. 2011;12(6):509–17.
38. The College of Physicians of Philadelphia. Vaccine Development, Testing, and Regulation [Internet]. The History of Vaccines. 2017 [cited 2017 Sep 15]. Available from: <https://www.historyofvaccines.org/content/articles/vaccine-development-testing-and-regulation>
39. Pasteur A. The History of Vaccine Development. Canadian Public Health Association. 2003.
40. European Vaccine Initiative - UniversitätsKlinikum Heidelberg. Stages of vaccine development [Internet]. Vaccines and diseases of poverty. 2017 [cited 2017 Sep 15]. Available from: <http://www.euvaccine.eu/vaccines-diseases/vaccines/stages-development>
41. Committee on the Children’s Vaccine I. Stages of Vaccine Development. In: Sanford, Editors:Violaine S. Mitchell NMP, editor. The Children’s Vaccine Initiative: Achieving the Vision [Internet]. Washington, D.C.; 1993. p. 111–4. Available from: <http://www.nap.edu/catalog/2224.html>
42. WHO. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. WHO Technical Report [Internet]. 2004;(924):35–102. Available from: http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/clinical_evaluation/en/
43. CDC. Ensuring the Safety of Vaccines in the United States [Internet]. Hhs. 2011. Available from: <http://www.cdc.gov/vaccines>
44. Delany I, Rappuoli R, De Gregorio E. Vaccines for the 21st century. *EMBO Molecular Medicine*. 2014;6(6):708–20.
45. Bellavite P, Conforti A, Pontarollo F, Ortolani R. Immunology and homeopathy. 2. Cells of the immune system and inflammation. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2006;3(1):13–24.
46. Bellavite P, Ortolani R, Pontarollo F, Pitari G, Conforti A. Immunology and homeopathy. 5. The rationale of the ‘Simile’. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2007;4(2):149–63.
47. Bellavite P, Ortolani R, Conforti A. Immunology and homeopathy. 3. Experimental studies on animal models. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2006;3(2):171–86.
48. Macêdo SB, Ferreira LR, Perazzo FF, Tavares Carvalho JC. Anti-inflammatory activity of *Arnica montana* 6cH: Preclinical study in animals. *Homeopathy*. 2004;93(2):84–7.
49. Bonamin LV, Kawakami AP, Sato C, Cardoso TN. Inflammatory process modulation by homeopathic *arnica montana* 6CH: The role of individual variation. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;2011.
50. Marzotto M, Bonafini C, Olioso D, Bellavite P. Study of the action mechanisms of *Arnica montana* effects on macrophages. *International Journal of High Dilution Research*. 2016;15(4):32–5.

51. Gaona Fernández LA. Efecto de Arnica en un modelo in vitro con citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias. Fase II [Internet]. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina, Medicina Alternativa; 2011. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/5179/>
52. de Oliveira SM, de Oliveira CC, Abud APR, Guimarães F de SF, Di Bernardi RP, Coletto ELO, et al. Mercurius solubilis: Actions on macrophages. *Homeopathy*. 2011;100(4):228–36.
53. Rojas Quintero JC. Exploración del efecto de altas diluciones sucusionadas (medicamento homeopático) de phytolacca americana sobre linfocitos humanos. Fase III [Internet]. 2011. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/5316/>
54. Fula Cobos MC. Evaluación de la respuesta inmunomoduladora de la “Echinacea angustifolia” homeopatizada en cultivo de células mononucleares en sangre periférica humana [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA FACULTAD DE MEDICINA; 2011. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/5235/1/magdacarolinafulacobos.2011.pdf>
55. De Rosa C, O’Reilly C. Homeopathic prophylaxis: suggestion for Vaccination Homeopathic Protocol. *European Journal of Integrative Medicine*. 2012;4(1):36.
56. Green MD, Hussain Al-Humadi N. Preclinical Toxicology of Vaccines1. In: (CBER) C for BE and R, (FDA) F and DA, editors. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development*. Rockville, Maryland; 2013. p. 619–45.
57. Gruber, M, Homma, A, Kreeftenberg JG, van der Laan JW, Griffith E KI. Annex 1 WHO guidelines on nonclinical. *WHO Technical Report*. 2005;(927):45–7.
58. Shah R. Scientific method of preparing homoeopathic nosodes. *Indian Journal of Research in Homoeopathy* [Internet]. 2014;8(3):166. Available from: <http://www.ijrh.org/text.asp?2014/8/3/166/141740>