

**Estudo Clínico Randomizado Placebo Controlado para  
avaliar a eficácia e segurança do Imunomodulador  
Canova na terapêutica de pacientes portadores de HIV/  
Aids em uso de antiretrovirais.**

**Maria das Graças da Mota Silveira Sasaki**

Professora do Departamento de Saúde Comunitária  
Serviço de Infectologia do Hospital de Clínicas da  
Universidade Federal do Paraná

**2001**

# ÍNDICE

Agradecimentos.....	03
<b>1. Introdução.....</b>	<b>04</b>
<b>2. Revisão da Literatura .....</b>	<b>06</b>
2-1 Imunomoduladores.....	07
2-2 Agentes Imunoterápicos da Prática Clínica.....	07
2-2.1 Imunomoduladores Estimulantes.....	07
2-3 Imunomoduladores Químicos.....	08
2-4 Anticorpos Monoclonais.....	08
2-5 Imunomoduladores Depressores.....	09
2-6 Imunomoduladores Homeopáticos.....	09
2-6.1 Imunomodulador Canova.....	09
<b>3. Material e Casuística.....</b>	<b>10</b>
3-1 Critérios de Inclusão.....	10
3-2 Critérios de Exclusão.....	10
3-3 Modelo do Estudo.....	10
3-4 Medicamento em Estudo (Canova).....	12
3-5 Avaliação Laboratorial.....	13
3-6 Análise Estatística.....	13
<b>4. Resultados.....</b>	<b>14</b>
<b>5. Discussão.....</b>	<b>23</b>
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>25</b>
<b>7. Conclusão Geral.....</b>	<b>26</b>
<b>8. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>27</b>
<b>9. Equipe Colaboradora.....</b>	<b>30</b>

## AGRADECIMENTOS

- Aos pacientes portadores de HIV/Aids que contribuíram para a realização deste trabalho.
- Canova do Brasil pelo apoio financeiro dado à esta Pesquisa.
- A Equipe Colaboradora.

***“Tristes tempos estes, onde é mais fácil fazer a fissão de um átomo que de um preconceito.”***

***Albert Einstein***

## 1- Introdução

A Aids é uma imunodeficiência causada pelo retrovírus HIV, o qual utiliza vários mecanismos de “escape” aos processos de defesa orgânica. Um dos mecanismos objeto de estudo mundial são as freqüentes mutações sofridas por seu material genético, driblando dessa maneira, parcialmente, a defesa celular e humoral. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), isolados de indivíduos que receberam terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART), baseada na associação de fármacos inibidores da transcriptase reversa (ITRNN) e dos inibidores da protease (IP), evidenciaram resistência à múltiplas drogas, levando a falência terapêutica.<sup>1</sup> Este fato tem obrigado os pesquisadores a revisar as estratégias terapêuticas, tentando bloquear a entrada do vírus nas células e aumentar a imunidade do hospedeiro. Sabe-se também que o desequilíbrio na produção de citocinas, principalmente as pró-inflamatórias, está diretamente ligado a imunopatogenia da Aids. Entre elas, está o Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), o qual pode induzir diretamente a expressão de HIV através da ativação do Fator de Necrose -  $K\beta$ , aumentando sua replicação.<sup>2</sup>

O imunomodulador Canova® é um composto medicamentoso produzido a partir de tinturas homeopáticas que figuram na farmacopéia brasileira e de ampla aplicação: *Aconitum napellus*, *Thuya occidentalis*, *Bryonia alba*, *Lachesis muta* e *Arsenicum album*. Não apresenta toxicidade e é indicado nas doenças onde o sistema imunológico se encontra deprimido, como câncer e Aids. O medicamento Canova® apresenta efeito imunomodulador, atuando diretamente sobre os macrófagos, células que influenciam direta e indiretamente o Sistema Imune (Piemonte e Buchi) mostraram que, sob a ação do Canova®, ocorria uma diminuição na produção e liberação do TNF $\alpha$

pelos macrófagos,<sup>3</sup> justificando em parte a resposta positiva evidenciada na clínica. Esta medicação tem sido utilizada pelos indivíduos portadores de HIV/Aids, principalmente os que, devido à resistência ou intolerância à medicação convencional, estão fora de possibilidade terapêutica. Com o objetivo de comprovar a real eficácia ou não deste medicamento sobre pacientes HIV/Aids, conduzimos o presente estudo.

## **2- Revisão da literatura**

A pesquisa imunológica saiu dos laboratórios experimentais para encontrar aplicação clínica prática e, hoje, já é possível dizer que a imunologia tem sido a única especialidade clínica nestes últimos anos, que, ao invés de se subespecializar, vem se generalizando, penetrando os segmentos clínicos, introduzindo novas abordagens clínicas e diagnósticas, assim como novas terapias. Especialmente no campo onde a imunologia e a infectologia se mesclam, no combate às moléstias infecto-contagiosas, a imunologia tem questionado a uma pergunta cada vez mais freqüente na infectologia moderna: O que fazer quando o antibiótico ou antiviral não bastam?

Sabe-se que a melhoria das condições de vida, proporcionaram um aumento da expectativa de vida, em consequência, um aumento da população idosa, a qual é mais suscetível a infecções, necessitando de tratamentos antibióticos e com resultados muitas vezes insatisfatórios: o aumento da população de indivíduos imunodeprimidos decorrentes de terapias imunodepressoras por transplantes ou outras situações clínicas, a pandemia da Aids, a resistência aos novos antimicrobianos e as limitações econômicas.

Esses fatos levaram à conclusão de que, principalmente em relação ao HIV, na possibilidade de se restaurar o equilíbrio agente-hospedeiro apenas com anti-

retrovirais seja devido ao custo, à eficácia, à toxicidade, está se tornando cada vez mais necessário o desenvolvimento de alternativas viáveis. Neste ponto se insere o desenvolvimento dos agentes imunoterápicos, cuja função na Infectologia é ajudar a restaurar o equilíbrio agente-hospedeiro, permitindo a cura. Entretanto esses agentes, não agem destruindo diretamente o agente infeccioso, porém dando condições ao próprio organismo de fazê-lo, estimulando os sistemas responsáveis por isto ou corrigindo determinada situação que esteja prejudicando a ação dos mesmos. Sabe-se que futuramente a imunoterapia poderá substituir a terapia antimicrobiana, porém, no momento atual a associação de uma terapia antimicrobiana adequada, potencializada através da imunoterapia, poderá obter resultados positivos<sup>4</sup>

## **2-1 Imunomoduladores:**

Conceito:

Define-se como imunomodulador uma droga capaz de normalizar uma resposta imunológica deficiente, inadequada ou hiperativa, restaurando assim um bom funcionamento dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Por exemplo: o macrófago não pode destruir as micobactérias no meio intracelular sem a presença do  $IFN\gamma$ , citocina esta, produzida pelo organismo. Na sua ausência, o macrófago servirá de reservatório para a micobactéria disseminando assim a infecção. Neste caso a presença do  $IFN\gamma$  agiria como imunomodulador corrigindo o defeito imunológico.

Outro exemplo é a meningite bacteriana, que é responsável por uma intensa resposta inflamatória do organismo, causando lesões neuronais, às vezes irreversíveis, que podem ser moderadas na presença de esteroide, diminuindo a intensidade da resposta inflamatória do hospedeiro. Podemos observar que o

papel da droga foi estimular uma função no primeiro caso e desestimular no segundo. Ambos são considerados imunomoduladores.<sup>4</sup>

## **2-2 Agentes Imunoterápicos na Prática Clínica:**

### **2-2.1 Imunomoduladores Estimulantes:**

Alguns estudos estão em andamento para determinar a eficácia dos hormônios tímicos, com a função de aumentar a população de células T, ampliando a resposta imune em Aids. Representantes deste grupo são: Timosina  $\alpha$  I, Timopoiatina, Fator Humoral Tímico e Citocinas, as quais já têm grande aplicação clínica. Entre elas IL-2, ponto chave da resposta imunológica, apresentando bons resultados em pacientes portadores de Aids.<sup>5,6</sup>

O IFN $\alpha$  que ativa a resistência celular antiviral individual, dificulta a propagação intercelular do vírus. Também retarda a replicação do HIV em até 90% *in vitro*. Pincus e Wehrly estudaram recentemente o efeito de vários agentes antivirais e imunomoduladores em cultura de células CD4 infectadas com HIV, concluindo que a combinação mais eficaz na supressão do HIV foi a zidovudina (AZT) com IFN  $\alpha$ .<sup>7</sup>

IFN $\gamma$  atua sobre as células *Natural Killer* (NK), com potente efeito estimulador sobre as citocinas, tem a capacidade de ativar macrófagos e aumentar a resposta imunológica do indivíduo. Sua principal indicação são nas doenças granulomatosas como hanseníase, leishmaniose. O GM-CSF (Granulocyto-Macrophage Colony-Stimulating Factor) é uma citocina que restaura a contagem de polimorfonucleares em pacientes neutropênicos, principalmente pós-quimioterapia, reduzindo a incidência de infecções oportunistas. Recentes estudos têm demonstrado que o GM-CSF tem

atividade na supressão da carga viral em indivíduos infectados pelo HIV, diminuição da resistência viral e aumento da contagem de CD4. <sup>8</sup>

### **2-3 Imunomoduladores Químicos:**

Imidazólicos (levemisole) Tióis (N-acetilcisteína), análogos de Ácidos Nucleicos.

### **2-4 Anticorpos Monoclonais:**

São anticorpos com afinidade única, com o objetivo de neutralizar o antígeno.

### **2-5 Imunomoduladores Depressores:**

Corticóides

### **2-6 Imunomodulador Homeopático**

#### **2-6.1 Canova**

Os medicamentos do complexo homeopático imunomodulador Canova® promovem uma ação reguladora do sistema imunológico, através da estimulação do macrófago. Sua atividade imunomoduladora provoca alteração morfológica em macrófagos, os quais passam a apresentar estrutura característica de células ativadas, como citoplasma frouxo, com projeções celulares mais numerosas, núcleo rico em eucromatina e um aumento substancial do volume citoplasmático. Além disso há redistribuição de algumas moléculas como integrinas  $\alpha$  e  $\beta 1$ , filamentos de actina e receptores Fc. Alterações fisiológicas são detectadas em apenas 48 horas, quando os macrófagos mostraram uma produção diminuída de  $\text{TNF}\alpha$ .<sup>3</sup> (Piemonte, M. 2000).



O Canova®, também estudado na Universidade Federal do Pará, comprovou que este medicamento homeopático não é mutagênico, não apresenta toxicidade, genotoxicidade ou mitogenicidade <sup>9</sup> em linfócitos humanos e, conforme estudos *in vitro* e *in vivo*, é capaz de aumentar a resposta imune através de alterações funcionais e estruturais em macrófagos. <sup>10</sup> (dados de Tese de Mestrado). Estudos na Universidade Federal do Paraná mostraram que o Canova®, ativa macrófagos alveolares humanos em 24 horas, mesmo de pacientes extremamente debilitados. <sup>10</sup> Na Universidade Estadual do Rio de Janeiro, detectou-se atividade da enzima NADH-oxidase em macrófagos tratados com o Canova® enzima que, caracteriza macrófagos ativados. Comprovou-se ainda, uma redução significativa na taxa de penetração do parasita *Toxoplasma gondii* em macrófagos tratados com este medicamento. (Tese de Mestrado, outubro/2001).

### **3- Método e casuística**

Entre setembro de 2000 e junho de 2001 foram selecionados e acompanhados cerca de 46 indivíduos portadores de HIV/Aids, com idade entre 18 e 55 anos, de ambos os sexos, moradores em Curitiba, atendidos no Ambulatório de Infectologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, que apresentassem diagnóstico de Aids segundo os critérios do CDC (Centro de Controle de Doenças e Prevenção) de 1998.

#### **3-1 Critérios de Inclusão:**

- Contagem de linfócitos T CD4 < 300 células/mm<sup>3</sup>.
- Uso de anti-retrovirais há 6 meses.
- Consentimento livre esclarecido do paciente para ser incluído nesse estudo.

#### **3-2 Critérios de Exclusão:**

- Presença de infecção oportunista em atividade.
- Presença de neoplasias.
- Uso prévio de imunomoduladores ou Canova®.

#### **3-3 Modelo do Estudo**

Estudo randomizado placebo controlado, com objetivo de estudar a eficácia do imunomodulador Canova® em pacientes portadores de Aids, durante 6 meses, em uso de anti-retrovirais com duas ou três drogas e profilaxia para pneumonia *P.Carinii* nos casos que apresentasse CD4 <200 cels/mm<sup>3</sup>. Foram utilizadas as apresentações do Canova®: gotas sub-linguais (10 gotas, 4 vezes ao dia) mais a via inalante (4 ml, 3 vezes ao dia, durante 4 minutos), utilizando inalador ultra-sônico. O grupo controle ou placebo teve o mesmo

procedimento, mas os frascos (com o mesmo aspecto) continham água destilada mais álcool de cereais a 0,01%. Os pacientes eram orientados a agitar os frascos dos medicamentos antes de utilizá-los, conforme princípio da Homeopatia. Nem o pesquisador e nem os participantes do estudo tinham conhecimento do conteúdo do frasco. O tratamento anti-retroviral era considerado como falência ou sucesso terapêutico segundo as normas de “recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV produzido pelo Ministério da Saúde, ano 2000”.<sup>11</sup> Deve-se considerar como sucesso terapêutico uma grande redução nos seus valores,  $\geq$ log ou 90% da carga viral nas primeiras 4 a 6 semanas, assim se mantendo. E a falência terapêutica é definida como a ocorrência de deterioração clínica e /ou piora dos parâmetros laboratoriais ou aumento da carga viral.

As avaliações clínicas e laboratoriais foram realizadas no momento da admissão e, semanalmente, até completar as 4 primeiras semanas e a seguir, mensalmente, até completar 6 meses. Foram utilizados parâmetros da função renal, hepática, hematológica, carga viral, contagem de linfócitos T CD4 e CD8. Foram preenchidas fichas de identificação onde eram coletados dados relativos ao fator de risco, início de doença, infecções oportunistas anteriores e início do uso das drogas anti-retrovirais.

### **3-4 Medicamento em Estudo**

#### **Imunomodulador Canova®**

O imunomodulador Canova® consiste em um medicamento homeopático, portanto altamente diluído e dinamizado, que não apresenta toxicidade, indicado nas doenças onde o sistema imunológico se encontra

deprimido. O Canova® é um medicamento resultante da combinação dos princípios ativos citados abaixo:

Componentes	Diluição
<i>Aconitum napellus</i>	11 DH (inalante) ou 11 DH (gotas)
<i>Thuya occidentalis</i>	19 DH (inalante) ou 19 DH (gotas)
<i>Bryonia alba</i>	18 DH (inalante) ou 18 DH (gotas)
<i>Arsenicum album</i>	19 DH (inalante) ou 19 DH (gotas)
<i>Lachesis muta</i> *	18 DH (apenas no inalante)

**\*Obs.: *Lachesis muta*, encontra-se somente na forma de inalante.**

Esta formulação homeopática é diluída em água destilada, contendo na diluição final 0,01 % de álcool de cereais. A combinação e a sequência de dinamização é essencial para se chegar ao produto final. O medicamento é manipulado para o tratamento de pacientes com câncer e outras enfermidades imunodepressivas como a Aids e envasado com rígido controle de qualidade, inocuidade, toxicidade e pirogênio.

### **3-5 Avaliação laboratorial**

Os linfócitos T CD4 e CD8 foram avaliados no momento da admissão, 4 semanas após e no final de 6 meses. A determinação quantitativa da subpopulação dos linfócitos T foi realizado pela técnica de citometria de fluxo por imunofluorescência direta, equipamento FACSVantage® (Becton Dickinson), utilizando anticorpos monoclonais CD8 FITC/CD4 RD1/ CD3 PECY5 (CYTO-STAT triCHROME® (COULTER), CD45 FITC (Becton

Dickinson), no Laboratório de Imunofenotipagem do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná .

A determinação da carga viral de cada paciente foi realizada no momento da admissão, 4 semanas após e no final de 6 meses. Foi utilizado o NASBA, Organon-Teknika® HIV-RNA Q (um teste de amplificação do ácido nucleico para determinação quantitativa do RNA de HIV-1 em plasma e soro humano) cujo limite de detecção é de 80 cópias/ml. Estes exames foram realizados no Setor de Biologia Molecular do Laboratório Geral do Estado do Paraná (LACEN).

### **3-6 Análise Estatística**

Os dados levantados nos grupos que usaram placebo mais anti-retrovirais (P+ARV) e o medicamento Canova® mais anti-retrovirais (MC+ARV) foram analisados pelo teste  $\chi^2$  seguido do teste Z para resíduos padronizados e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparações de médias. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

#### 4- RESULTADOS

Durante o período do estudo a amostra foi reduzida de 46 para 40 pacientes pelos seguintes motivos: 1) 4 pacientes mudaram a residência para outra cidade; 2) a esposa e a filha de um dos pacientes morreram, tendo este paciente entrado em depressão profunda, vindo a falecer em seguida; 3) um dos pacientes teve o quadro agravado. Foi necessário interná-lo na UTI, por apresentar um quadro de septicemia. Optou-se então por abrir o protocolo, tendo sido identificado como pertencente ao grupo placebo+ARV. Foi então acrescentado o Canova® nas apresentações injetável, via oral e nebulização e o paciente evoluiu com melhora do quadro séptico. Recebeu alta da UTI e persiste em acompanhamento ambulatorial. Após a abertura do protocolo foi retirado do grupo de estudo. Os 40 indivíduos eram compostos de 21 homens e 19 mulheres com idade média de 37,28 anos, os quais foram randomizados a receber (20 indivíduos) o Canova Gotas, 10 gotas sub-lingual 4 vezes ao dia e nebulização com 4 ml do Canova Inalante durante 4 minutos, três vezes ao dia, ou placebo (20 indivíduos) mais os anti-retrovirais. 5 (25%) pacientes do grupo controle e 10 (50%) do grupo MC apresentaram redução da carga viral no primeiro mês de tratamento >90%, assim se mantendo. A redução da carga viral <90% foi de 3 (15%) pacientes no grupo controle e 6 (30%) no grupo MC, sendo que, desses 6 do grupo MC, 50% sofreu uma redução da carga viral >90% no 6º mês. A falência terapêutica ocorreu em 9 (45%) dos pacientes do grupo controle (aumentaram a carga viral) e 4 (20%) do grupo MC.

**No final do 6º mês de tratamento a eficácia terapêutica com redução da carga viral >90% foi estatisticamente significativa com  $p < 0,05$ , apresentando 13 (65%) no grupo MC+ARV contra 5 (25%) do placebo + ARV ( $\chi^2=8,46$ ; gl=2; P=0,014). A falência terapêutica caracterizada pelo aumento da**

carga viral, a níveis superiores ou iguais aos iniciais foi de 45% no grupo controle e 20% do grupo MC (tab. 2).

As análises estatísticas feitas com os dados obtidos sobre as células T CD4 e T CD8, não resultaram em diferenças significantes. Apesar das baixas taxas destas células nos dois grupos, apenas um paciente (5%) da amostra tratada com Canova® mais anti-retrovirais apresentou doença oportunista (tuberculose peritoneal) o qual foi internado, mantendo-se dentro do estudo, enquanto 7 pacientes (35%) do grupo controle apresentaram infecções oportunistas, dado que, quando comparado ao grupo que tomou Canova mais anti-retrovirais, mostrou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). As doenças detectadas na amostra placebo + ARV durante o período foram: tuberculose pulmonar, dermatite seborreica, infecções de vias aéreas superiores, pneumonia, infecções intestinais (diarréias), *Herpes zoster* e piodermites. (Tab. 5 e 6).

Os testes que avaliaram VHS (velocidade de hemossedimentação), TGP (transaminase glutamil-pirúvica), LEU (leucócitos), HB (hemoglobina), EOS (eosinófilos), TRIG (triglicerídeos) e HDL (lipoproteínas de alta densidade) mostraram diferença significativa entre as amostras que usaram Placebo mais anti-retrovirais e Canova mais anti-retrovirais, como evidenciado na Tabela 4. Os resultados no hemograma quanto a ausência de anemia, neutropenia foram melhores no grupo que usou anti-retrovirais mais Canova do que o grupo controle.

## RESULTADOS

**TABELA 1 - Características da Amostra Estudada**

Características	P+ARV n=20	MC+ARV n=20	p
Média de idade	39,38 (+\-8,47)	35,8 (+\-8.47)	NS
Homens	13 (65%)	8 (40%)	NS
Mulheres	7 (35%)	12 (60%)	NS
MédiaCD4(/ul)	164,25 ( 17-419)	147,27 (21-611)	NS
Média CD8(/ul)	829,23	712,66	NS
Média RNA viral(Cop/ml)	38.408(80-800.000)	50.166(80-1.100.000)	NS
%CD4 50-100	5/20 (25%)	4/20 (20%)	NS
I.Os(Prévia) %	9 (45%)	14 (70%)	S
IOs(Durante) %	7 (35%)	1 (5%)	S
Terapia anti-retroviral			NS
2N+1NN	4 (20%)	8 (40%)	
2N+1IP	14 (70%)	10 (50%)	
2N	2 (10%)	2 (10%)	

Nota: NS (não significativa) S (significativo) IOs (infecções oportunistas) 2N+1NN (2 nucleosídeos análogos + 1 não nucleosídeos) 2N+1IP (2 nucleosídeos análogos + 1 inibidor de protease).



**TABELA 2 -AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO QUANTO À REDUÇÃO EM PORCENTAGEM DA CARGA VIRAL**

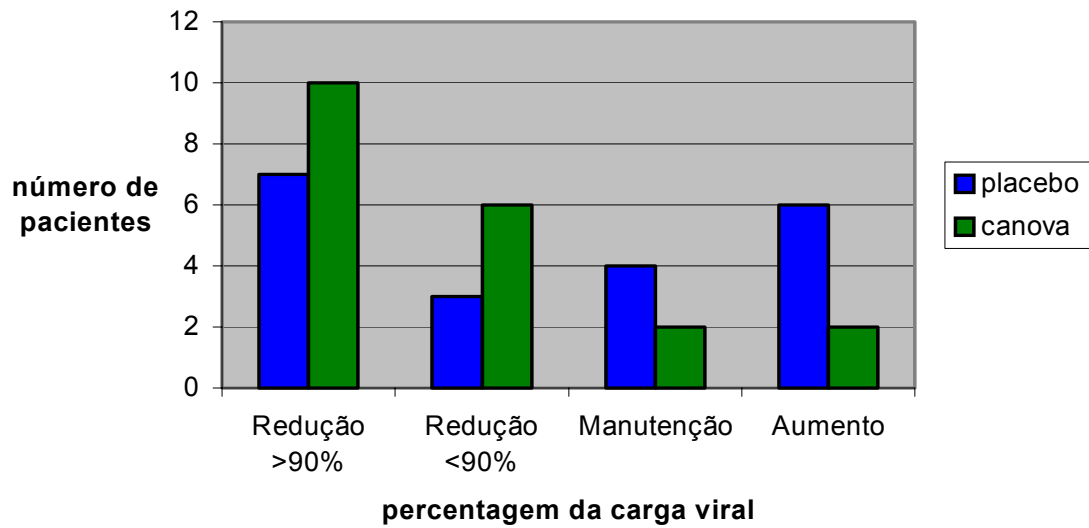
<b>Placebo + antiretroviral</b>		<b>MC + antiretroviral</b>			
<b>1mês</b>	<b>6 meses</b>	<b>1mês</b>	<b>6 meses</b>		
Pcte 1	94,66	94,66	Pcte 1	-22,33	-18,36
Pcte 2	90,71	57,14	Pcte 2	68,90	90,26
Pcte 3	-36,36	-19,09	Pcte 3	68,27	-27,31
Pcte 4	-38,46	-49,77	Pcte 4	0	0
Pcte 5	-16,5	-36,88	Pcte 5	-15,86	61,29
Pcte 6	78,9	78,9	Pcte 6	0	0
Pcte 7	99,84	99,84	Pcte 7	96,8	96,8
Pcte 8	-19,00	-26,4	Pcte 8	54,1	-34,41
Pcte 9	98,04	-14,66	Pcte 9	99,46	99,46
Pcte 10	-82,9	-17,3	Pcte 10	99,3	99,88
Pcte 11	0	-88,75	Pcte 11	97,13	98,86
Pcte 12	99,99	99,99	Pcte 12	83,75	99,99
Pcte 13	15,78	15,78	Pcte 13	94,32	99,78
Pcte 14	99	96,8	Pcte 14	99,63	99,63
Pcte 15	19,4	89,61	Pcte 15	87,55	92,22
Pcte 16	0	-20	Pcte 16	49,49	-8,48
Pcte 17	0	0	Pcte 17	98,9	90,26
Pcte 18	99,3	99,41	Pcte 18	99,3	99,88
Pcte 19	0	0	Pcte 19	98,8	99,22
Pcte 20	-84,8	-18,3	Pcte 20	94,3	99,35

Em azul = redução da carga viral >90% (ÊXITO TERAPÊUTICO),  
verde = redução <90%, preto = manutenção  
e vermelho = aumento da carga viral.(sugere falência terapêutica)

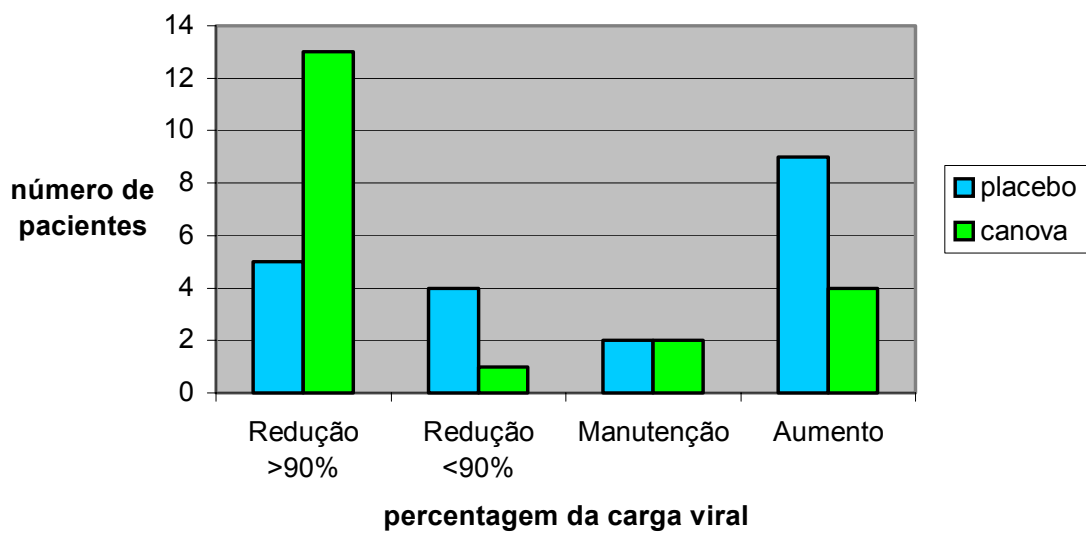
Existe diferença significativa da redução da carga viral entre início e final de tratamento, entre os grupos de pacientes que usaram placebo + anti-retrovirais e pacientes tratados com o medicamento Canova + anti-retrovirais.

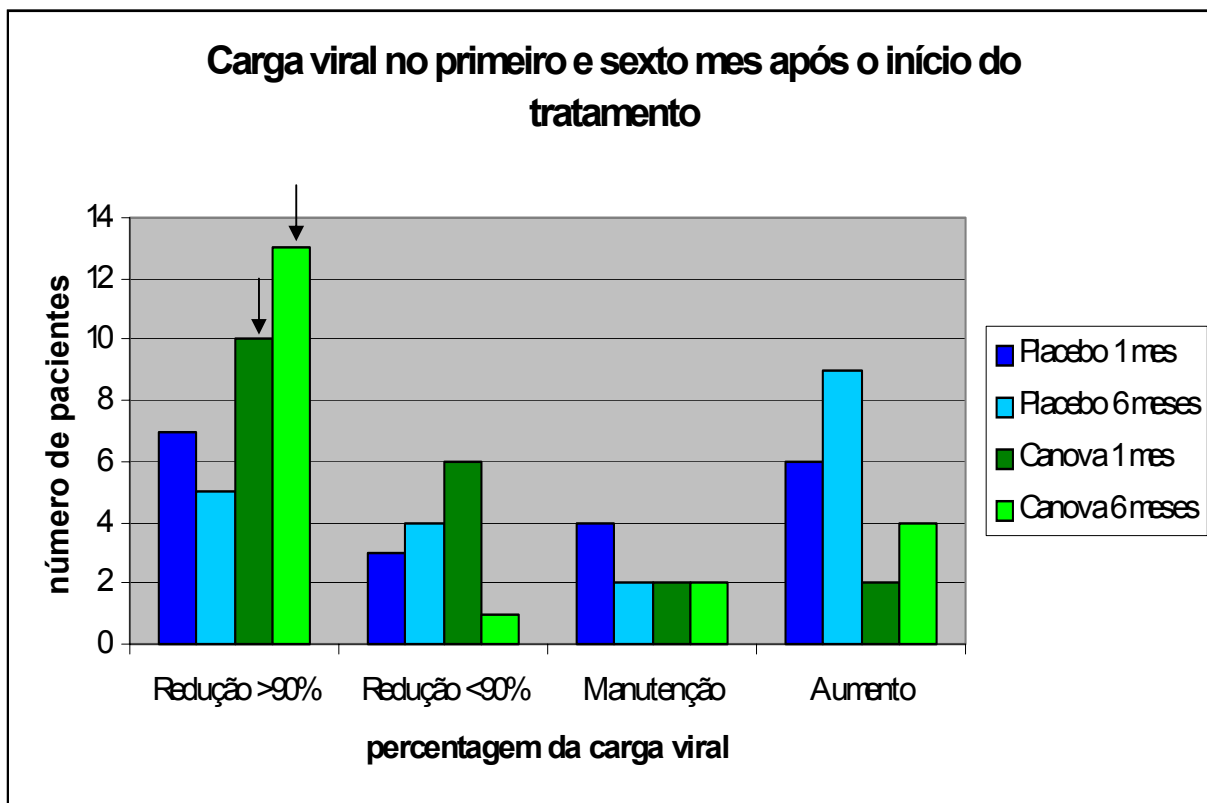
( teste  $\chi^2$  ,  $p < 0,05$  e teste Z para resíduos padronizados).

### Avaliação da carga viral após o primeiro mes de tratamento



### Avaliação da carga viral após 6 meses de tratamento





Gráficos representativos da distribuição das percentagens de carga viral, a fim de melhor visualização das diferenças nos resultados obtidos nas duas amostras de pacientes (teste  $\chi^2$  e teste Z para resíduos padronizados,  $p < 0,05$ ).

**TABELA 4- Análise comparativa entre os resultados de avaliações laboratoriais do grupo Placebo + anti-retrovirais e Canova + anti-retrovirais**

	P+ARV				MC+ARV				p
	Limite de Confiança				Limite de Confiança				
	N	Média	-95%	95%	N	Média	-95%	95%	
VHS	126	43,51	34,57	52,45	124	30,20	26,36	34,04	<b>0,008 S</b>
CREA	127	0,72	0,70	0,74	126	0,73	0,70	0,75	0,866 NS
TGP	126	19,53	16,43	22,62	126	24,89	21,81	27,97	<b>0,003 S</b>
TGO	127	21,94	20,76	23,13	126	25,65	23,45	27,85	0,198 NS
LEU	168	5723,62	5447,49	5999,74	161	5409,32	5075,43	5743,20	<b>0,010 S</b>
HEM	169	3,80	3,70	3,91	161	3,84	3,70	3,99	0,986 NS
HT	167	39,46	38,58	40,34	161	39,33	38,77	39,88	0,068 NS
HB	169	13,66	13,17	14,15	161	13,24	13,04	13,43	<b>0,039 S</b>
BT	160	5,29	4,75	5,83	161	5,98	5,39	6,56	0,057 NS
EOS	160	6,04	5,27	6,80	161	4,89	3,98	5,79	<b>0,001 S</b>
SEG	162	50,07	47,96	52,17	161	50,11	48,15	52,07	0,874 NS
MON	153	7,38	6,97	7,79	151	7,68	7,18	8,17	0,537 NS
NEU	81	55,36	52,25	58,46	89	57,37	54,94	59,81	0,407 NS
LIN	161	30,40	28,45	32,34	161	29,42	27,91	30,92	0,764 NS
COLES	69	194,45	184,69	204,20	66	203,36	187,86	218,87	0,281 NS
TRIG	69	201,65	166,73	236,58	66	134,45	118,17	150,74	<b>0,001 S</b>
LDL	26	156,34	129,76	182,92	15	124,93	87,52	162,34	0,074 NS
HDL	67	42,30	31,36	53,24	66	47,64	39,16	56,12	<b>0,000 S</b>
GLI	73	99,40	92,08	106,71	66	93,83	90,76	96,91	0,152 NS

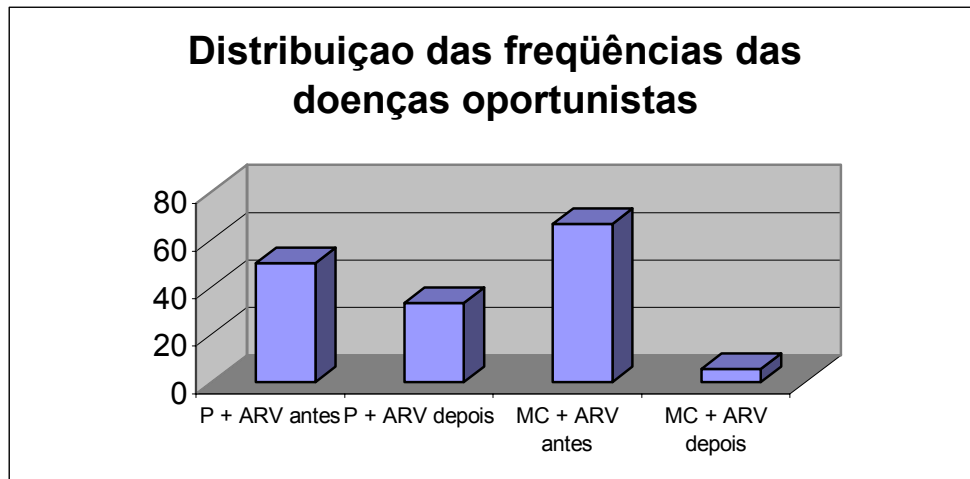
Teste não paramétrico para comparações de médias Mann-Whitney.

**TABELA 5 -Análise das doenças oportunistas presentes nos pacientes das amostras, antes e depois de entrarem no protocolo.**

	c/ doença	s/doença
P+ARV antes	9	11
P+ARV depois	7	13
MC+ARV antes	14	6
MC+ARV depois	1	19

Em percentagem

	c/ doença
P+ARV antes	45%
P+ARV depois	35%
MC+ARV antes	70%
MC+ARV depois	5%



**Legenda:** P+ARV= placebo mais anti-retrovirais, MC+ARV= medicamento Canova mais anti-retrovirais, antes e depois de entrarem no protocolo.

Diminuição da presença de doenças oportunistas entre os pacientes do grupo que foi tratado com medicamento Canova mais anti-retrovirais comparada com o grupo que usou Placebo mais anti-retrovirais é **significante** (teste  $\chi^2$ , p 0,0 5).

**TABELA 6 - Frequência de infecções oportunistas (IOs) tipo e hospitalizações**

<b>Evento Clínico</b>	<b>Placebo+AR</b>	<b>M.Canova+AR</b>	<b>P</b>
<b>IOs durante estudo</b>	<b>7 (20) 35%</b>	<b>1 (20) 5%</b>	<b>0,05</b>
<b>História de IOs prévias</b>	<b>9 (20) 45%</b>	<b>14 (20) 70%</b>	<b>0,05</b>
<b>CD4 50-100 cels</b>	<b>5 (20) 25%</b>	<b>4( 20) 25%</b>	<b>NS</b>
<b>Categoria da IOs</b>			<b>0,05</b>
<b>Tuberculose ganglionar</b>	<b>2</b>	<b>1*</b>	
<b>Pneumonia P.carinii</b>	<b>1</b>		
<b>Herpes Zoster</b>	<b>2</b>		
<b>Diarréia infecciosa</b>	<b>1</b>		
<b>Nenhuma infecção durante o estudo</b>	<b>13(65%)</b>	<b>19(95%)</b>	<b>0,05</b>

\*Paciente hospitalizado

## 5- Discussão

Este é o primeiro estudo clínico de um medicamento homeopático imunomodulador realizado em Aids, que demonstrou eficácia terapêutica ao reduzir os níveis plasmáticos de RNA viral em pacientes com Aids em uso de anti-retrovirais. A carga viral caiu  $< 80$  cópias em 65% dos pacientes tratados com o imunomodulador Canova mais anti-retrovirais quando comparado com o grupo controle que apresentou 25% da redução da viremia com o uso dos anti-retrovirais. Sabe-se que estes agentes produzem uma rápida queda da carga viral durante as 4 primeiras semanas até 10 semanas de tratamento, seguido de um aumento do RNA viral plasmático, devido ao desenvolvimento de fenótipo resistente ou a falta de aderência ao tratamento.<sup>12</sup> Em contraste, o Canova® produziu um declínio da carga viral e manteve a resposta sustentada durante o seu uso. Estudos *in vitro* têm demonstrado que o imunomodulador Canova® pode influenciar na diminuição da produção Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  pelos macrófagos.<sup>3</sup> Sabe-se que esta citocina tem importante papel na replicação viral e que níveis elevados de TNF $\alpha$  estão associados a progressão da doença.<sup>13,14</sup> Por outro lado os pacientes portadores de Aids tem várias infecções com múltiplos agentes, não apenas com o vírus HIV, o que eleva os níveis de TNF $\alpha$ . Alguns autores consideram a dosagem dos níveis de TNF $\alpha$  como um marcador de prognóstico de doença.<sup>15</sup> As análises estatísticas feitas com os dados obtidos sobre as células TCD4 e TCD8 não resultaram em diferenças significantes. Apesar das baixas taxas destas células nos dois grupos, apenas 1 paciente (5%) da amostra tratada com o medicamento Canova® mais anti-retrovirais, apresentou presença de doença oportunista (tuberculose peritoneal) o qual foi internado mantendo-se dentro do estudo. Enquanto 7 pacientes (35%) do grupo controle apresentaram

infecções oportunistas, dado que, quando comparado ao grupo de estudo, mostrou diferença estatisticamente significativa. As doenças oportunistas detectadas na amostra placebo mais anti-retrovirais durante o período foram: tuberculose pulmonar, pneumonia, infecções intestinais, candidíase, *Herpes zoster*. O imunomodulador Canova® parece oferecer uma melhor proteção na prevenção das infecções oportunistas, considerando ainda que o número de infecções oportunistas prévias era de 70% no grupo Canova® contra 45% do grupo placebo. Setenta por cento dos pacientes do grupo controle usavam esquema terapêutico com três drogas (2N+1IP) enquanto 50% dos pacientes do grupo Canova® usavam o mesmo esquema (2N+1IP) considerados como associações de melhores resultados em termos de eficácia terapêutica quando comparadas com outras associações.<sup>16</sup> A falência terapêutica caracterizada pelo aumento da carga viral a níveis superiores ou iguais aos iniciais, foi maior no grupo placebo com 45% enquanto o grupo MC foi 20%. As alterações das transaminases, do colesterol, triglicerídeos, HDL e anemia, foram mais evidentes no grupo controle quando comparados com o grupo que usou o Canova® com resultados estatisticamente significativos, mostrando uma menor toxicidade dos anti-retrovirais. Este estudo demonstrou que o medicamento homeopático imunomodulador Canova não tem efeitos colaterais, nem toxicidade, que possui ação imunomoduladora, podendo ser um novo agente biológico natural para tratamento da doença do HIV. Contudo estudos serão necessários para avaliar e compreender melhor seu mecanismo de ação.



## 6- Conclusões

1. **A REDUÇÃO DA CARGA VIRAL** entre os pacientes do grupo que usou o medicamento imunomodulador Canova® juntamente com os anti-retrovirais, dentro dos parâmetros considerados **ÊXITO TERAPÊUTICO** pelo Ministério da Saúde, foi **significante**.
2. **A DIMINUIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE DOENÇAS OPORTUNISTAS**, entre os pacientes do grupo que usou o medicamento imunomodulador Canova® mais a medicação convencional, foi **significante**.
3. **A DIMINUIÇÃO DA TOXICIDADE DOS ANTI-RETROVIRAIS** mostrou-se **significante** através da diminuição das taxas de **TGP, Triglicerídeos, HDL e hemoglobina**, quando utilizados com o medicamento imunomodulador Canova®.
4. Face a diminuição da carga viral, das doenças oportunistas, dos efeitos da toxicidade e melhora orgânica geral, houve uma **MELHORA NA QUALIDADE DE VIDA**.

## **Conclusão geral**

**O presente estudo clínico, randomizado, placebo-controlado, demonstrou a efetividade do medicamento imunomodulador Canova® na terapêutica de pacientes portadores de Aids, em uso de anti-retrovirais. Contudo mais estudos deverão ser conduzidos para melhor conhecimento do medicamento.**

*“The History will judge us harshly if we fail to do so now, and right now.”*

*Nelson Mandela*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Finzi D, Hermankova M, Pierson T, et al. **Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy.** *Science*, 1997. 278: 1295-1300.
2. Cohen. O; Weissman D.; Fauci, A; **Immunopathogenesis of HIV Infection. Fundamental Immunology..** Raven. Lippincott, 1999.
3. Piemonte MR & Buchi DF. – **Analyses of IL-2, IFN  $\gamma$  and TNF  $\alpha$  production,  $\alpha 5$ ,  $\beta 1$  integrins and actin filament distribution in peritoneal mouse macrophages treated with a homeopathic medicament,** *J Submicro Cytolopathol*, in press, 2001.
4. Finger E.; Schinberg M<sup>a</sup>, **Agents Immunoterapicos, Tratado de Infectologia** , S. Paulo, Atheneu, 1996
5. Katlama C, Duvivier C, Chouquet C, et al. ILSTIM (ANRS 082) – **A randomized comparative open-label study of Interleukin  $\gamma$  (IL-2) in patients with CD4 > 200/mm<sup>3</sup> despite effective HAART. Program and abstracts of the 7<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections .** January 30- February 2, 2000; San Francisco, Calif. Abstract 543.
6. Kovacs JA, Vogel S, Albert JM. **Controlled trial of interleukin-2 infusion in patients infected with the human immunodeficiency virus.** *N Engl J Med* 1996, 335: 1350-6.
7. Pincus S H & Wehrly K. **AZT demonstrates Anti-HIV-1 activity in persistently infected cell lines: Implications for combination Chemotherapy and Immunotherapy.** *J Infect. Dis.* 162: 1233, 1990.
8. Brite C, Badaro R, Sasaki, MGM, et al. **A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor and Nucleoside Analogue Therapy in AIDS.** *J. Infect. Dis.* 2000;182:1531-5.
9. Seligmann, I.C., Lima, P.D.L., Bahia, M. O., Khayat, A . S., Bushi, D. F. & Burbano, R. R. – **Departamento de Biologia do CCB- Universidade Federal do Pará. Departamento de Patologia do CCB – UFPA. Departamento de Biologia Celular do SCB-UFPr. Ausência de efeitos genotóxicos do composto medicamentoso Método Canova em linfócitos humanos estimulados pela**

- fitohemaglutinina. **46° Congresso Nacional de Genética, setembro de 2000, Águas de Lindóia/SP. Genetics and Molecular Biology**, vol. 23- 3 – supplement
10. Azambuja A P; Telles G ; Buchi, DF.; **Efeito Método Canova em Macrófagos Alveolares Humanos; Departamento de Biologia Celular SCB-UFPR; 2000.**
  11. **Recomendações para Terapia Anti-retroviral em Adultos e Adolescentes infectados pelo HIV-2000 MS.**
  12. UIP, DE. **Perspectivas no Tratamento da AIDS. JBM, 2000. 1: 27-30.**
  13. Juahani Lähdevirta, M.D., C.P.J. Maury, M.D., Anna-Maija Teppo, M.S., Heikki Repo, M.D., Helsinki Finland. **Elevated Levels of Circulating Cachectin / Tumor Necrosis Factor in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. The American Journal of Medicine**, vol. 85, 289-291, setembro 1998.
  14. Bruce Beutler, MD, Dallas, Texas. **The Presence of Cachectin/Tumor Necrosis Factor in Human Disease States. The American Journal of Medicine**, september 1988, vol. 85 – 287:288.
  15. Pal Aukrust, Nina-Beate Liabakk, Fredrik Müller, Egil Lien, Terje Espevik, and Stig S. Froland. **Serum Levels of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) and TNF Receptors in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection – Correlations to Clinical, Immunologic, and Virologic Parameters. The Journal of Infections Diseases**, 1994; 169:420-4. University of Chicago.
  16. Bhiva Writing Committee on Behalf of the Bhiva Executive Committee British HIV Association (BHIVA). **Guidelines for the treatment of HIV. Infected Adults with Anti-retroviral therapy**. January 28, 2000.
  17. Azevedo, N.L.; Borges, S.G.; Stumbo, C.A.; Maia, S.F.; **Estudo da interação entre macrófagos tratados pelo Método Canova® e *Toxoplasma gondii***. Dept° de Histologia e Embriologia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Tese de Mestrado, outubro/2001.

## **Equipe colaboradora:**

- **Mariester Malvezzi – Médica hematologista- Chefe do Laboratório de Imunofenotipagem do Hospital de Clínicas da UFPR.**
  - **Mirian Beltrame – Bioquímica do Laboratório de Imunofenotipagem do Hospital de Clínicas da UFPR.**
  - **Rosana Cattaneo – Bioquímica do Laboratório de Imunofenotipagem do Hospital de Clínicas da UFPR.**
  - **Leila de Oliveira – Bioquímica do Laboratório de Imunofenotipagem do Hospital de Clínicas da UFPR.**
  - **Cláudia Helena Zen – Bioquímica do Laboratório de Retrovírus do Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN)**
  - **Helena Leiko Misugi – Bioquímica do Laboratório de Retrovírus (LACEN)**
  - **Sueli M. Nakatani – Bioquímica do Laboratório de Retrovírus (LACEN)**
  - **Luciene da Silva – Técnica em Patologia do Laboratório Geral de Análises Clínicas do H. C. – UFPR.**
  - **Yara Lis Nunes – Assistente Social do Serviço de Infectologia do H.C. – UFPR.**
  - **Silas da Silva Moreira – Assistente Social do Serviço de Infectologia do H.C. – UFPR.**
  - **Fernando Mariano – Acadêmico de Medicina (PIBIC/CNPq)**
  - **Nelson Chiminácio Neto - Acadêmico de Medicina**
  - **Patrícia Gurgel B. Leite – Acadêmica de Medicina (PIBIC/UFPR)**
  - **Sabrina Probst – Acadêmica de Medicina**
  - **Mariana R. Piemonte – Doutoranda em Bioquímica (CAPES)**
-