

FACULDADE DE JUAZEIRO DO NORTE - FJN
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

HUEFFERSON LIMA SILVA

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA PELO COMPLEXO
HOMEOPÁTICO CANOVA®, EM MODELO MURINO – *Plasmodium berghei*.**

JUAZEIRO DO NORTE – CE

2016

HUEFFERSON LIMA SILVA

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMALARICA PELO COMPLEXO
HOMEOPÁTICO CANOVA, EM MODELO MURINO – *Plasmodium berghei*.**

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia da
Faculdade de Juazeiro do Norte -
FJN como requisito para obtenção
da nota final da disciplina de
Trabalho de conclusão de Curso II.
Orientadora: Profa. Ma. Magaly
Lima Mota.

JUAZEIRO DO NORTE – CE

2016

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMALARICA PELO COMPLEXO
HOMEOPATICO CANOVA, EM MODELO MURINO – *Plasmodium berghei*.**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, da Faculdade de Juazeiro do Norte, como objetivo para obtenção da nota final da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

MONOGRAFIA APROVADA EM: 21 / 12 / 2016.

Banca Examinadora:



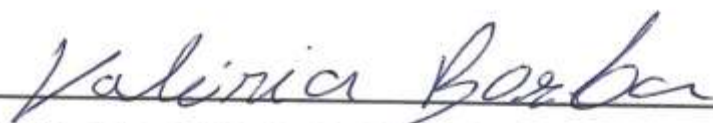
Profa. Ma. Magaly Lima Mota (Orientadora)

Farmácia – FJN



Profa. Dra. Sâmia Neves (Membro Interno)

Farmácia - FJN



Profa. Ma. Valeria Borba (Membro Interno)

Farmácia - FJN

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente,

A minha orientadora, MAGALY LIMA MOTA, por sua dedicação e paciência na realização desse trabalho;

Ao Dr. WALTER BARBOSA FILHO, da UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE (UFRN), por gentilmente disponibilizar os parasitos e o modelo de inóculo padrão;

Ao coordenador e professor do curso de farmácia da FACULDADE DE JUAZEIRO DO NORTE (FJN), ALBERTO MALTA JUNIOR, por todo apoio prestado à realização desse trabalho;

A Dra. SÂMIA NEVES, coordenadora do biotério da FACULDADE DE MEDICINA DE JUAZEIRO DO NORTE (FMJ), por ter cedido gentilmente os camundongos para a pesquisa;

As discentes do 4º semestre do curso de Farmácia da FACULDADE DE JUAZEIRO DO NORTE:

E a empresa CANOVA BRASIL, por ter disponibilizado gratuitamente o medicamento CANOVA® e por todo apoio prestado a realização desse trabalho.

RESUMO

A malária ou paludismo é causada por quatro espécies de *Plasmodium* das quais o *P. falciparum* é a mais perigosa, ainda é a infecção parasitária humana mais devastadora do mundo. Fármacos, inseticidas e vacinas práticos, baratos, eficazes e seguros ainda são necessários para combater a malária. Na década de 1950, as tentativas de erradicar esse protozoário da maior parte do mundo fracassaram, principalmente pelo desenvolvimento de resistência aos inseticidas e aos fármacos antimaláricos. A busca por novas alternativas terapêuticas é de suma importância para o desenvolvimento e combate da malária. Sendo assim, esta pesquisa trata-se de um estudo experimental utilizando cepas de *Plasmodium berghei* para avaliação de eventual efeito antimalárico de um composto homeopático imunomodulador, o Canova, cujo principal objetivo foi analisar uma possível redução do nível de parasitemia em camundongos infectados intencionalmente. Após 4 dias de tratamento, com dose de 0,3ml de Canova® via intraperitoneal foi determinada a parasitemia e avaliado o nível de redução parasitária dos camundongos do grupo teste, obtendo como resultado uma redução de 57,5% da carga parasitária após 5 dias do início do tratamento. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que o imunomodulador Canova possui atividade frente ao *Plasmodium berghei* com redução de 57,5% do nível parasitológico. No entanto há necessidade de mais estudos para avaliar sua eficácia clínica frente à malária em seres humanos.

Palavras-chave: Malária. *Plasmodium*. Canova. Homeopatia. Imunomodulador.

ABSTRACT

Or Malaria is caused by four species of *Plasmodium* which *P. falciparum* is the most dangerous, is still the most devastating human parasite infection in the world. Drugs, insecticides and vaccines practical, cheap, effective and safe are still needed to fight malaria. In the 1950s, attempts to eradicate this protozoan most of the world have failed, mainly due to development of resistance to insecticides and antimalarial drugs. The search for new therapeutic alternatives is of paramount importance for the development and combating malaria. Thus, this research it is an experimental study using *Plasmodium berghei* strains for appraisal of any antimalarial effect of a homeopathic immunomodulatory compound, Canova, whose main objective will be to analyze a possible reduction of the parasitemia level in mice infected intentionally. After 4 days of treatment with 0.3 ml dose of Canova® intraperitoneal route the parasitemia was determined and the level of parasite reduction of the mice of the test group was evaluated, obtaining as a result a reduction of 57.5% of the parasite load after 5 days of treatment. According to the results obtained, it is concluded that the immunomodulator Canova has activity against the *Plasmodium berghei* with a reduction of 57.5% of the parasitological level. However, further studies are needed to assess its clinical efficacy against malaria in humans.

Keywords: Malária. *Plasmodium*. Canova. Homeopathy. Immunomodulator.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécies de <i>Plasmodium</i> causadores da Malária	16
Figura 2. Mosquito <i>Anopheles</i> , vetor da Malária	16
Figura 3. Ciclo evolutivo do <i>Plasmodium</i> sp.....	18
Figura 4. Macrófagos tratados com o Canova®	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMB	Associação médica brasileira
AMHB	Associação médica homeopática brasileira
CFM	Conselho federal de medicina
CH	Centesimal hahnemanniana
DH	Decimal hahnemanniana
FJN	Faculdade de Juazeiro do norte
FPT	Fora de possibilidade terapêutica
HIV/AIDS Adquirida	Vírus da imunodeficiência humana/Síndrome da Imunodeficiência Humana
ML	Mililitro(s)
OMS	Organização mundial de saúde
RNA	Ácido Ribonucléico
SD	Sistemas Dinamizados
TNF α	Fator de Necrose Tumoral
μ L	Microlitro(s)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3.REFERENCIALTEÓRICO	14
3.1.Histórico da malária.....	14
3.2.Histórico da malária no Brasil	15
3.3. Agente etiológico.....	16
3.4. Vetores.....	17
3.5. Ciclo evolutivo do <i>Plasmodium</i>	18
3.6. Homeopatia.....	19
3.7. Bioterapicos e isoterapicos	20
3.8. Principio da similitude.....	21
3.9. Complexo homeopático Canova.....	22
3.10. Evidencias clinicas da eficácia do Canova	23
4. METODOLOGIA.....	25
4.1. Tipo de estudo	25
4.2. Obtenção e manutenção do inóculo padrão através de cepas de <i>Plasmodium berghei</i>	25
4.3. Animais e aprovação do comitê de ética	25
4.4. Obtenção do composto homeopático Canova	26
4.5. Ensaio antimaláricos	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31
APÊNDICES	34

1. INTRODUÇÃO

A malária ou paludismo também conhecida por impaludismo, febre palustre, febre intermitente ou, em suas formas específicas, febre terçã benigna, febre terçã maligna e febre quartã, recebe no Brasil nomes populares como maleita, sezão, tremedeira, bateadeira ou simplesmente febre (REY, 2013).

Causada por quatro espécies de *Plasmodium* das quais o *P.falciparum* é a mais perigosa, ainda é a infecção parasitária humana mais devastadora do mundo. Fármacos, inseticidas e vacinas práticos, baratos, eficazes e seguros ainda são necessários para combater a malária. Na década de 1950, as tentativas de erradicar esse protozoário da maior parte do mundo fracassaram, principalmente pelo desenvolvimento de resistência aos inseticidas e aos fármacos antimaláricos (GOODMAN e GILMAN, 2005).

É o principal problema de saúde pública em mais de 100 países, habitados por uma média de 2,4 bilhões de pessoas, ou 1/3 da população mundial. Em muitos países em desenvolvimento da África a malária representa um fardo, devido ao custo médico e dias de trabalho perdidos com pessoas doentes (SILVA, 2000).

Uma alternativa bastante promissora consiste na descoberta de novos compostos antimaláricos. Sabe-se que as primeiras drogas antimaláricas foram descobertas a partir de plantas, como a quinina oriunda de espécies do gênero *Cinchona* e artemisinina que foi isolada da *Artemisia annua* L, entre outras (MOTA, 2009).

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 a seguir:

<i>Aconitum napellus</i>	DH 20
<i>Arsenicum album</i>	DH 17
<i>Apis mellifica</i>	DH 19
<i>Asa foetida</i>	DH 20
<i>Barita carbonica</i>	DH 20
<i>Bryonia alba</i>	DH 14
<i>Calcarea carbonica</i>	DH 20
<i>Conium maculatum</i>	DH 16
<i>Ipecacuanha</i>	DH 13
<i>Lycopodium clavatum</i>	DH 20
<i>Lachesis muta</i>	DH 18
<i>Pulsatilla nigricans</i>	DH 13

<i>Rhus toxicodendrum</i>	DH 17
<i>Ricinus communis</i>	DH 14
<i>Silicea</i>	DH 18
<i>Thuya occidentalis</i>	DH 16
<i>Veratrum álbum</i>	DH 20

Dentre as protozoonoses distribuídas mundialmente, a malária ou paludismo é a mais importante doença parasitária do mundo, atingindo um número significativo de 300 a 500 milhões de pessoas por ano nas áreas tropicais e subtropicais do planeta (OMS, 2012).

Apesar de muito antiga, a malária continua sendo um dos principais problemas de saúde pública e de considerável impacto econômico. No Brasil foram registrados cerca de 600 mil casos de malária em 2005, sendo 99,7% deles na Amazônia brasileira com uma mortalidade anual estimada de ≥ 300 pessoas, entre adultos e crianças. Em 2006, o último balanço divulgado aponta o registro de 124.284 casos (BRASIL, 2012).

O arsenal profilático e terapêutico para malária está bastante restrito, pois todos os medicamentos utilizados correntemente estão se tornando ineficientes, pela multirresistência do *Plasmodium falciparum* a estas drogas, faz-se necessário e urgente à busca por novas drogas antimaláricas (MOTA, 2009).

Hoje, além da cloroquina, o *P. falciparum* apresenta resistência aos diversos antimaláricos usados correntemente (amodiaquina, mefloquina, quinina e sulfadoxina – pirimetamina, proguanil) (GAY et al., 1990; RINGWALD et al., 1990; BARNES et al., 1991; WERNSDORFER, 1991; TRAPE et al., 1998; MOTA., 2009).

Na última década, com o aumento de escala dos aspectos preventivos, de diagnóstico e medidas de tratamento, um progresso significativo foi alcançado na redução do fardo do paludismo. No entanto, durante 2012, foram estimados que 3,4 milhões de pessoas mantiveram-se em risco de malária, a maioria deles na África subsaariana. As medidas existentes podem não ser suficientes para atingir um controle eficaz e a possível eliminação. Estas medidas são limitadas ao menos por uma execução inadequada das políticas da Organização Mundial de Saúde (OMS) e tem como consequências: aumento da resistência dos mosquitos aos inseticidas e fármaco-resistência dos parasitas da malária. (ISABELLE et al., 2015).

Infelizmente, dois estudos realizados em 2008 e 2009 no Camboja ocidental mostrou inequivocamente que *P. falciparum* desenvolveu resistência à artemisinina (NOEDL et al, 2008; DONDORP et al, 2009), e até à data, resistência à artemisinina parcial está se espalhando por todo o Sudeste do continente Asiático (ASHLEY et al., 2014). A possível extensão da resistência à artemisinina na África teria um efeito devastador sobre a mortalidade infantil e poderia acabar com os sucessos alcançados nesta década na luta contra a malária (MICHELA et al., 2016).

Segundo Teixeira (2011), a homeopatia foi fundamentada em 1796 pelo médico alemão Samuel Hahnemann. Essa linha de tratamento baseia-se na cura pelo princípio da semelhança, onde uma substância que causa sintomas comuns de uma determinada doença em um indivíduo sadio, pode cura um enfermo com os mesmos sintomas. Esse fenômeno é chamado de efeito rebote ou paradoxo das drogas.

O CANOVA® é um imunomodulador com ação central na ativação de monócitos a macrófagos com fagocítica e secretória de citocinas. Macrófagos tratados com o Canova® mostram alterações fisiológicas e morfológicas de ativação, com grande núcleo, muita consequente aumento de atividade eucromatina, maior espraiamento, citoplasma vesicular e muitas projeções. Após análise foi constatado a presença de IL-2, produção de IFN- γ e TNF- α , integrinas $\alpha 5\beta 1$ e distribuição de filamentos de actina em macrófagos peritoneais de camundongos tratados com medicamento homeopático Canova®. Piemonte et al (2002).

Pereira et al (2005) avaliaram o efeito do Canova sobre cepas de *L. (L.) amazonenses*, seus resultados sugeriram que o medicamento Canova limitou a disseminação e progressão da infecção.

Portanto esse trabalho objetivou a busca por protótipos de medicamentos antimaláricos com o intuito de assegurar a continuidade do arsenal terapêutico contra essa patologia. Além disso, esse trabalho pode eventualmente contribuir para uma desmitificação da linha terapêutica homeopática, podendo constituir-se em mais uma evidência científica sólida e confiável para a comprovação da real eficácia de medicamentos dinamizados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar se o complexo CANOVA® possui propriedade antimalárica frente ao *Plasmodium berghei*.

2.2. Objetivos específicos

- Implementar na rotina do Laboratório de Parasitologia - FJN o modelo murino-*Plasmodium berghei*;
- Testar *in vivo* o composto homeopático em estudo, contra o *P. berghei*;
- Determinar as possíveis dosagens que apresentam propriedades antimaláricas;
- Constatar a via de administração mais eficaz do composto com melhor ação antimalárica.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Histórico da Malária

Também conhecida como paludismo, febre palustre, impaludismo, maleita ou sezão, a malária foi primeiramente citada na era pré-Cristã, por Hipócrates. Foi ele quem descreveu as suas características de ocorrência sazonal e de febre com padrão paroxístico e intermitente. Entretanto, foi somente no início do século XIX que o termo malária teve origem. Escritores italianos defendiam a tese de que a doença era causada por vapores nocivos exalados dos pântanos tiberianos, designando-a "mal aria", cujo sentido literal é "mau ar" (NEVES et al., 2004a).

Apenas em 1880, um médico francês, Charles Louis Alphonse Laveran, conseguiu observar organismos em movimento ao examinar, a fresco, o sangue de um paciente com malária. A descoberta de que a malária era uma hemoparasitose foi posteriormente confirmada por Gerhardt, em 1884, que conseguiu reproduzir a doença a partir de transfusão de sangue infectado. Em 1885, Golgi e cols. Descreveram o ciclo assexuado do parasito (por isso denominado ciclo de Golgi) e, em 1891, a morfologia dos parasitos sanguíneos foi demonstrada através do método de esfregaços corados, desenvolvido por Romanowsky. NEVES et al. (2004b)

A transmissão, no entanto, só foi conhecida numa sucessão de descobertas. Em 1894, Manson, ao estudar a transmissão de *Wuchereriabancrofti* por mosquitos, aventou a hipótese de que os mesmos poderiam ser os transmissores da malária. Ronald Ross, em 1897, trabalhando na Índia descobriu oocistos no estômago de mosquitos que haviam se alimentado sobre um paciente malarígeno. No ano seguinte, e ainda na Índia, Ross conseguiu transmitir a malária aviária, passando o plasmódio de ave a ave através de um mosquito do gênero *Culex*. Esses estudos permitiram que os pesquisadores italianos Grassi, Bastianelli e Bignami, em 1898 e 1899, tivessem a glória de descobrir o desenvolvimento completo das três espécies de plasmódio humano em anofelinos (NEVES et al., 2004c).

3.2. Histórico da malária no Brasil

Os primeiros relatos de casos autóctones de malária no Brasil, datam do século XVI, como uma consequência natural da colonização Européia (revisado por COURA et al., 2006). No fim do século XIX, a malária estava presente em todo o território nacional, poupando apenas alguns estados do sul do país (revisado por CAMARGO, 2003), onde explodiu uma grande epidemia na Amazônia. A borracha tornara-se matéria-prima preciosa e as perspectivas de extração do látex e de riqueza imediata, levaram para a Amazônia legiões de nordestinos, dentre outros. Essa migração maciça deu origem a primeira grande epidemia amazônica de malária. Ainda em função da borracha, o Brasil se comprometeu a construir uma estrada de ferro que desse vazão ao látex boliviano: a Estrada de Ferro Madeira-Mamoré (PINTO, 1993). Foi a segunda grande epidemia amazônica de malária, de horrível memória, testemunhada por Oswaldo Cruz e Carlos Chagas (CFIAGAS, 1913), neste período (MOTA, 2009).

Estima-se que no início do século XX, em todo o mundo, a incidência e a mortalidade por malária fossem, em percentagem, cerca de 10 vezes maior que a atual. Em 1900, a maior parte do planeta era afligida pela malária, que só poupava as regiões polares e subpolares. Nem os países mais avançados da Europa estavam a salvo desta importante doença parasitária (revisado por CAMARGO, 2003).

Nas duas primeiras décadas do século XX a malária estava presente em todas as capitais brasileiras, sendo endêmica em todo o país. Duas grandes epidemias explodiram no Brasil, uma no Rio Grande do Norte e outra no Ceará. No início da década de 30, em Natal, franceses que faziam, a cada quatro dias, a rota postal França-Natal, via Dakar, provavelmente trouxeram para cidade o transmissor da malária na África, até então ausente do país: o *Anopheles gambiae* (SOPER e WILSON, 1943; DEANE, 1988), que ocupou imediatamente as imediações da estrada de ferro e os canais próximos à foz do rio Potengi e se disseminando por Natal, em poucos meses, ocupando um território de 6 mil km².

Getúlio Vargas, com a ajuda da Fundação Rockefeller, resolveu enfrentar a epidemia. Juntos, investiram US\$ 350 mil formando um verdadeiro exército de médicos e técnicos, muitos deles já experimentados no combate ao mosquito transmissor da febre amarela. A luta contra o *A. gambiae* foi intensa.

Não sobrou um único criadouro na região que não fosse tratado com larvicida. Em 1940, o *Anopheles gambiae* viria a ser completamente erradicado do Brasil (revisado por CAMARGO, 2003).

A malária não foi erradicada da Terra e, em algumas regiões (como na África), nem foi tocada. Em outras, regrediu por algum tempo, mas voltou com o vigor de antes. Porém, naquelas regiões já dotadas de facilidades sanitárias, com disponibilidade de medicamentos e serviços médicos, e onde os serviços especiais de combate se mostraram eficientes, a malária foi consideravelmente reduzida nos anos 50. No Brasil, sob o comando inicial de Mário Pinotti e conduzida pelo recém-criado Serviço de Combate à Malária, sucessor do Serviço de Combate à Febre Amarela, a campanha contra a doença atingiu o objetivo de controlar, mas não de erradicá-la. A malária sumiu das cidades e se concentrou na Amazônia. Os 6 milhões de casos do início do século, viraram apenas 50 mil em 1970 (CAMARGO, 2003).

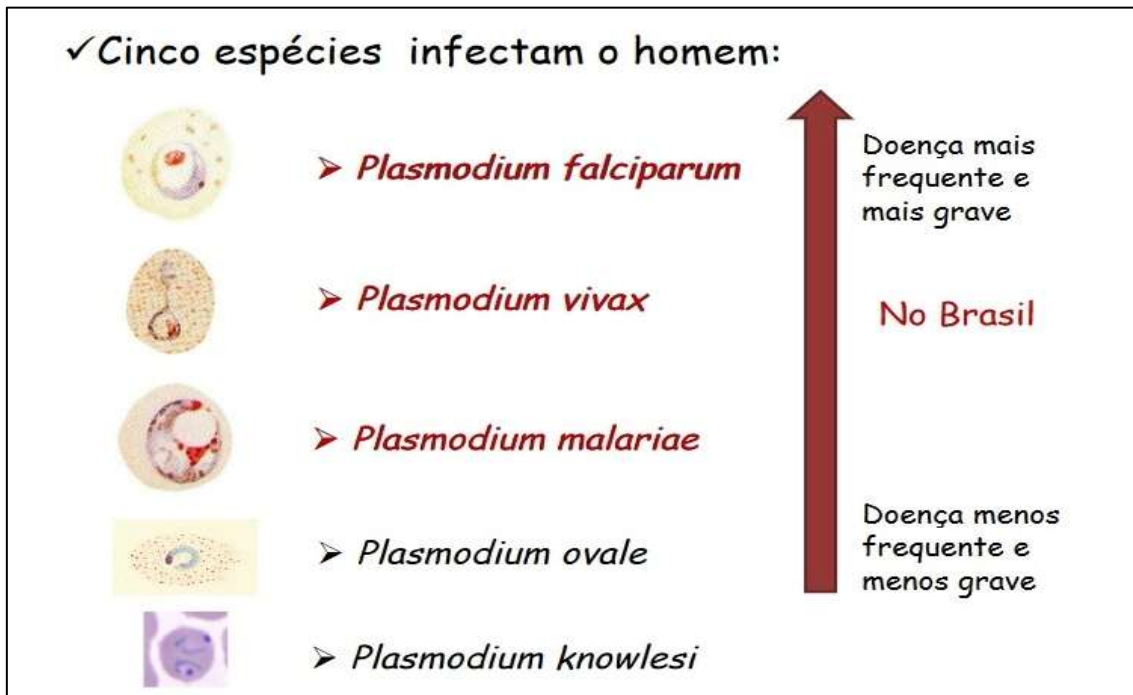
3.3. O agente etiológico

Os parasitos de malária são protozoários eucariotos unicelulares (SNOW et al., 2004), pertencem ao filo Apicomplexa, família *Plasmodiidae* e ao gênero *Plasmodium*. Atualmente são conhecidas cerca de 150 espécies causadoras de malária em diferentes hospedeiros vertebrados. As cinco espécies que parasitam o homem, *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. Knowlesi* (Figura 1) diferem morfológicamente, em aspectos imunobiológicos, em sua distribuição geográfica, em seus padrões de recaída e em suas respostas a drogas. O *P. falciparum* é o agente causador da malária grave, potencialmente fatal e é a principal causa de mortes em crianças na África (SNOW et al., 2004).

O *P. falciparum*, espécie mais prevalente e mais letal do mundo, tem como peculiaridade em infecções graves, o fato de poder evoluir para a malária cerebral, uma complicação que é frequentemente fatal, particularmente em jovens e crianças. O *P. ovale* e o *P. vivax* têm estágios de vida latentes chamados hipnozoítos que podem permanecer neste estado por semanas a- muitos anos após o aparecimento de um novo ciclo de esquizogonia pré- eritrocítica, resultando nos relapsos de infecção de malária (recrudescência). Em alguns casos, *P. malariae* pode produzir prolongada fase de

infecções no sangue, que, se mantiver não tratado, pode persistir assintomaticamente no hospedeiro humano por várias décadas (TUTEJA, 2007).

Figura 1: Espécies de *Plasmodium* causadores da Malária

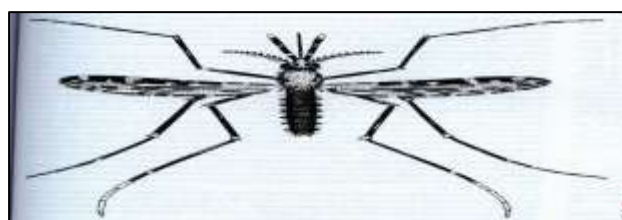


Fonte: (USP, 2013)

3.4. Vetores

A transmissão do *Plasmodium* ocorre através da picada da fêmea do mosquito *Anopheles* infectado. Das aproximadamente 400 espécies de *Anopheles* existentes no mundo, 60 são vetores da malária sob condições naturais, 30 das quais são de maior importância epidemiológica (Figura 2)(SNOW et al., 2004; VANDERBERG & FREVERT, 2004; AMINO et al., 2006).

Figura 2: Mosquito *Anopheles*, vetor da malária.



Fonte: (SÓ BIOLOGIA, 2016)

Os transmissores da malária humana no Brasil podem ser classificados como vetores primários e secundários. Os principais vetores primários são: *Anopheles darlingi*, *A. aquasalis*, *A. albitarsis*, *A. deaneorum*, *A. braziliensis*, *A. nuneztovari*, *A. triannulatus triannulatus* e *A. oswaldoi*, merecendo destaque no Brasil, *A. darlingi*, que só não é encontrado nas áreas secas do Nordeste, no extremo Sul e nas áreas de elevada altitude. A malária humana na Amazônia é transmitida pelo *A. darlingi*, no peridomicílio e no início da noite.

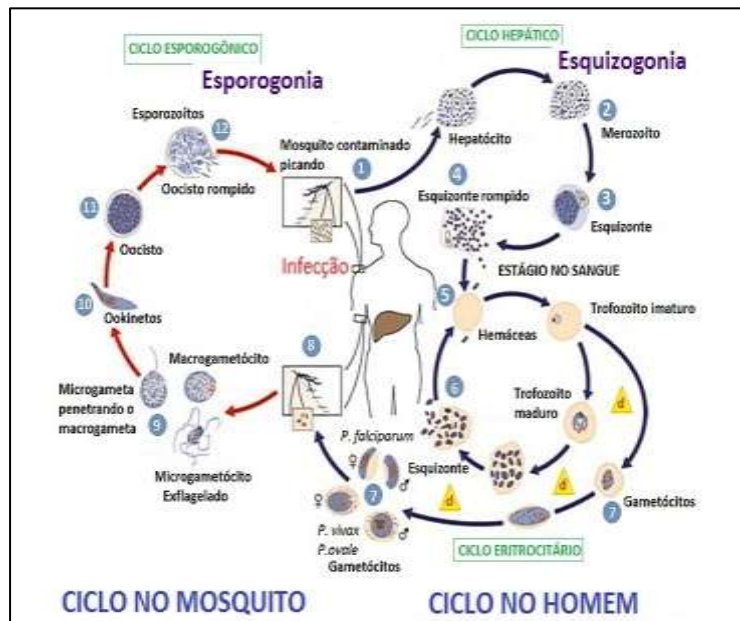
É o único anofelino brasileiro no qual foram detectadas infecções naturais pelas três espécies que causam malária humana nas Américas: *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae*. Outro vetor, *A. aquasalis* é um transmissor da malária nas zonas áridas do - Nordeste, em Belém e Amapá, na Amazônia, além de ter sido várias vezes detectado com infecção natural nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, sendo comum em áreas litorâneas (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Anopheles deaneorum, *A. braziliensis*, *A. nuneztovari*, *A. oswaldoi*, *A. triannulatus triannulatus*, *A. strodei*, *A. evansae* e *A. galvaoi* são considerados vetores secundários ou vetores potenciais por terem sido achados naturalmente infectados em alguma área endêmica, particularmente na Amazônia (CONSOLI e LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

3.5. Ciclo evolutivo do *Plasmodium*

A infecção malárica em vertebrados ocorre pela inoculação de esporozoítas de *plasmodium* spp., por insetos vetores do gênero *anopheles*, sendo a inoculação realizada por fêmeas durante o repasto sanguíneo. Após a inoculação nos vasos sanguíneos da pele os parasitas são levados pela corrente sanguínea até o hepatócito, onde desenvolvem-se por esquizogonia dando origem a formas merozoítas, que infectam os eritrócitos, iniciando assim todo o processo fisiopatológico da doença (GOODMAN e GILMAN; NEVES et al; REY, 2003, 2004, 2005). O ciclo vital da malária está representado na Figura 3 abaixo:

Figura 3: ciclo evolutivo do *Plasmodium sp.*



Fonte: (TANOS, 2008)

3.6. Homeopatia

Fundamentada em 1796 pelo médico alemão Samuel Hahnemann, homeopatia é um modelo terapêutico empregado mundialmente e que vem despertando o interesse crescente de usuários, estudantes de medicina e médicos, por propiciar uma prática segura e eficiente, propondo-se a compreender e tratar o binômio doente-doença segundo uma abordagem antropológica globalizante e humanística, valorizando os diversos aspectos da individualidade enferma (TEIXEIRA, 2001a).

Reconhecida como especialidade médica pelo Conselho Federal de Medicina (CFM) desde 1980 (Resolução CFM 1000/80) e com título de especialista conferido pela Associação Médica Brasileira (AMB) desde 1990, a homeopatia desenvolve suas atividades de forma concomitante ao movimento científico hegemônico, divulgando sua episteme em cursos de pós-graduação *latu sensu* (1.200 horas-aula) oferecidos por entidades formadoras vinculadas à Associação Médica Homeopática Brasileira (AMHB) (TEIXEIRA, 2011b).

Empregada como opção terapêutica há mais de dois séculos em diversos países, a homeopatia permanece marginalizada perante a racionalidade científica moderna, por estar fundamentada em conceitos pouco ortodoxos (princípio da similitude, experimentação no indivíduo sadio, medicamento dinamizado e medicamento individualizado) que desafiam a racionalidade dominante. O modelo de tratamento homeopático emprega o princípio de cura pela similitude, administrando doses infinitesimais de substâncias que, ao terem sido experimentadas previamente em indivíduos sadios, apresentaram sintomas semelhantes aos dos indivíduos enfermos. Para se tornar um medicamento homeopático, a substância deve ser submetida a protocolos específicos de experimentação em indivíduos humanos e ter seus efeitos patogénicos (mentais, gerais e particulares) descritos na *Matéria Médica Homeopática (MMH)*(TEIXEIRA,2011c).

Sistemas dinamizados (SD) têm sua origem através da interação entre dois processos: diluição e agitação. Alguns autores têm sugerido que o processo de preparação é capaz de alterar as propriedades físicas e químicas da água, como veremos. Entretanto, nos dias de hoje, pouco se conhece acerca dos SD, em parte porque a própria dinâmica da água, assim como suas propriedades físico-químicas, não são completamente compreendidas (HOLANDINO, 2009a).

Esse fato vem dificultando a consolidação da homeopatia como ciência nos parâmetros tradicionais, tanto no meio acadêmico quanto entre os leigos. A homeopatia foi criada há mais de 200 anos pelo médico alemão Cristiano Frederico Samuel Hahnemann, sendo considerada por este a mais perfeita forma de curar. Entretanto, ele afirma, no parágrafo 28º do seu principal livro, *O Organon da Arte de Curar*: “[...] pouco importa qual seja a explicação científica de como ele [o fenômeno homeopático] ocorra e dou pouca importância às tentativas para explicá-lo” (HOLANDINO, 2009b).

3.7. Bioterápicos ou Isoterápicos

Os bioterápicos ou nosódios são medicamentos preparados a partir de excreções, Secreções, tecidos e órgãos de animais e vegetais, fisiológicos ou patológicos, ou ainda microrganismos(BOERICKE, 1993), podendo ser aplicados com aspectos preventivos, uma vez que poderá ser utilizado o agente etiológico de uma determinada doença

(PITCAIRN, 1993). Auto-isoterápicos são produzidos utilizando produtos patológicos do próprio organismo (FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA, 2002).

Nos últimos anos, a homeopatia se estabeleceu na medicina veterinária, tanto para animais de estimação quanto para produção (CASTRO, 1999), em consequência das limitações do uso de substâncias farmacologicamente ativas em animais que produzem alimentos, especialmente no que diz respeito a resíduos de antibióticos (FAGUNDES, 2003).

3.8. Princípio da similitude

A Homeopatia Clássica fundamenta-se em quatro princípios básicos, que a diferencia das demais atividades médicas, a saber: princípio da similitude, experimentação no, homem são,, medicamento dinamizado (doses mínimas) e medicamento único. Nenhuma outra técnica terapêutica segue a totalidade destes fundamentos (TEIXEIRA, 1998a).

Quanto ao princípio da similitude, cinturão primário do conjunto de hipóteses que liga o modelo homeopático aos fenômenos experimentais observados, HAHNEMANN enunciava que para um medicamento curar um conjunto de sintomas num indivíduo doente, deveria despertar estes mesmos sintomas nos indivíduos sadios que o experimentassem (*similia similibus curantur*) (TEIXEIRA, 1998b).

Utilizando-se, inicialmente, de substâncias medicinais em doses ponderais, HAHNEMANN buscou uma forma de diminuir a toxicidade das mesmas, observando que ao diluí-las e agitá-las vigorosamente conseguia efeitos iguais ou superiores aos obtidos com doses massivas. A partir de então, passou a utilizar as doses mínimas (infinitesimais), fundamentando o método farmacotécnico da dinamização, através do qual são produzidos os medicamentos homeopáticos. (TEIXEIRA, 1998c).

Como quarto princípio, o emprego de medicamento único torna-se mais do que evidente, pois se as experimentações nos indivíduos sadios são realizadas com substâncias únicas, estando naquelas o referencial que possuímos para encontrar o medicamento que apresente a capacidade de despertar os sintomas semelhantes aos do paciente, curando-os, ao misturarmos substâncias diversas não saberemos quais serão os efeitos promovidos no paciente, abandonando o alicerce experimental que fundamenta a terapêutica homeopática. (TEIXEIRA, 1998d).

3.9. Complexo homeopático CANOVA®

O Imunomodulador CANOVA® é um composto medicamentoso produzido a partir de tinturas homeopáticas que figuram na Farmacopéia Homeopática Brasileira, Farmacopéia Homeopática Alemã e Farmacopéia Homeopática Norte Americana e de ampla aplicação: *Aconitum napellus*, *Apis mellifica*, *Arsenicum album*, *Asa foetida*, *Barita carbonica*, *Bryonia alba*, *Calcarea carbonica*, *Conium maculatum*, *Ipecacuanha*, *Lachesis muta*, *Lycopodium clavatum*, *Pulsatilla nigricans*, *Rhus toxicodendrum*, *Ricinus communis*, *Silicea*, *Thuja occidentalis* e *Veratrum álbum*. 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. Sasaki, (2001). Piemonte et al (2003) mostraram que, sob a ação do Canova, ocorria uma diminuição na produção e liberação do TNF α pelos macrófagos, justificando em parte a resposta positiva evidenciada na clínica.

As Figuras 4a e 4b apresentam macrófagos tratados com o Canova® que mostram alterações fisiológicas e morfológicas de ativação, com grande núcleo, muita eucromatina, maior espreadimento, citoplasma vesicular e muitas projeções.

Figura 4 a. Macrófagos reticulares de camundongos tratados com Canova®.

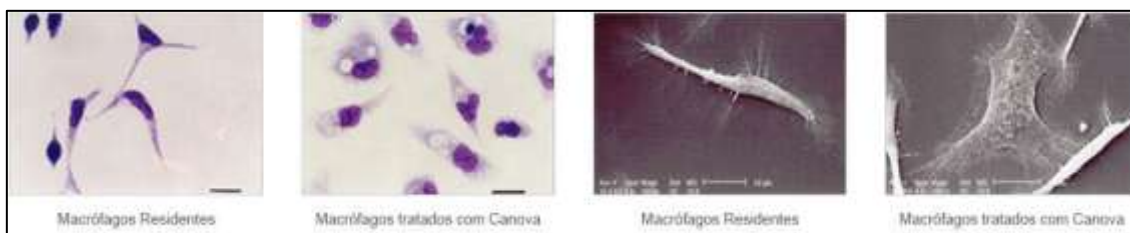
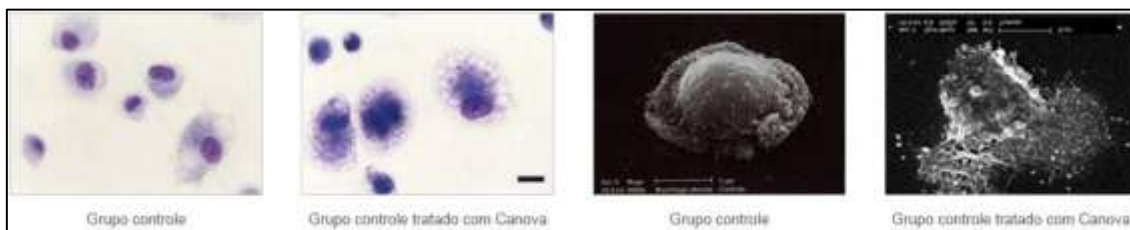


Figura 4b. Macrófagos Alveolares Humanos.



Fonte: (CANOVA BRASIL, 2015)

3.10. Evidências clínicas da eficácia do CANOVA®

Sato et al. (2005) avaliaram o desenvolvimento de sarcoma em camundongos tratados com o Canova e concluíram que os tumores no grupo tratado com o medicamento Canova tiveram uma baixa taxa de crescimento com um atraso no aparecimento de uma massa palpável. A redução da produção do TNF-a no grupo tratado com o Canova explicou o porquê do grupo de animais tratados não perdeu peso.

O tamanho do tumor foi significativamente menor e, em 30% dos animais houve regressão total do tumor após 20 dias de tratamento. Sasaki (2001) realizou um 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 antirretrovirais. Constatou que o medicamento Canova demonstrou eficácia terapêutica ao reduzir os níveis plasmáticos de RNA viral em pacientes com Aids em uso de antirretrovirais. A carga viral caiu para < 80 cópias em 65% dos pacientes tratados com o imunomodulador CANOVA® mais antirretrovirais, quando comparado com o grupo controle que apresentou 25% da redução da viremia com o uso dos antirretrovirais.

Cabral et al. (2002) realizou um Estudo clínico para avaliação do Imunomodulador Canova® na terapêutica de pacientes oncológicos considerados FPT — Fora de Possibilidade Terapêutica e constataram que o medicamento CANOVA® mostrou-se uma arma de utilização bastante útil na instituição dos cuidados paliativos, por suas ações, observadas neste estudo, quanto à melhora significativa do estado geral, ganho de peso, redução de náuseas e vômitos, diminuição da astenia e aumento do bem estar dos pacientes devido ao novo ânimo observado a partir do momento em que eles próprios percebem sua melhora clínica, além de não terem sido evidenciados efeitos adversos.

Castanheira et al. (2008) avaliaram a qualidade de vida e tratamento de câncer ou aids com imunomodulador Canova® e concluíram que após o início do tratamento com o CANOVA® identificou-se que todos os pacientes pesquisados foram unânimes em afirmar que houve melhora acentuada em sua condição de vida:

- O Canova é minha vida, pois quando iniciei o tratamento já não suportava mais os efeitos colaterais de meu tratamento convencional, não podia alimentar, caminhava com esforço. Agora sinto-me bem. [SML – 45 anos]

- *O tratamento significou saúde, mudança de vida para melhor, Ele trouxe tudo o que eu precisava: saúde, disposição, felicidade.* [ASA – 52 anos]

-... *Significou uma melhora muito grande em minha vida. Trouxe muitas mudanças: desde a melhora da saúde até os retornos constantes ao hospital.* [RL – 32 anos]

Castanheira (2006) avaliou a eficácia de imunomoduladores modernos no tratamento de asma. O presente estudo teve como conclusão que o medicamento CANOVA®um dos imunomoduladores avaliados no referido estudo é eficaz em crianças e adolescentes com asma persistente, seja ela leve, moderada ou grave. Por aumentar a quantidade de anticorpos antiidiótipos que ligam-se a IgE, removendo-a da circulação.

4. METODOLOGIA

4.1. Tipo de estudo

Esse estudo caracteriza-se como experimental.

4.2. Obtenção e manutenção do inóculo padrão através de cepas de *Plasmodium berghei*.

Cepas de *Plasmodium bergheide* linhagem NK-65 foram fornecidas gentilmente pelo Dr. Valter Ferreira de Andrade Neto, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, e, foi mantido rotineiramente no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Juazeiro do Norte, através de passagem do sangue infectado com parasito, retirado de camundongos anteriormente infectados, e inoculados 200 µL em camundongos saudáveis, por via intraperitoneal, usando 3,8% de citrato de sódio como anticoagulante, semanalmente, que corresponde ao tempo necessário para se obter uma parasitemia em torno de 10% nos camundongos infectados para inoculação em camundongos saudáveis. Sendo esta a porcentagem de parasitemia ideal para se inocular novos animais. (APÊNDICE A).

Essa manutenção fez-se necessária para que quando fossem realizados os experimentos antimaláricos tivesse a disposição camundongos nesta porcentagem de parasitemia para que se pudesse preparar o inóculo padrão e infectar os animais dos referidos experimentos (MOTA, 2009).

4.3. Animais e aprovação do comitê de ética

Os animais utilizados para os testes antimaláricos, consistiram de três grupos de 3 camundongos albinos swiss adultos, fêmeas, com 20 ± 2 g de peso, o qual foram fornecidos gentilmente pela Dra. Samia Neves da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-Ce. Os animais receberam água e comida *ad libitum*.

Para isso, o presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa em Animais da Faculdade de Medicina para aprovação (APÊNDICE B).

4.4. Obtenção do complexo homeopático CANOVA®

O complexo homeopático Canova foi fornecido gratuitamente pela Empresa Canova do Brasilna forma de apresentação líquida.

4.5. Ensaios antimaláricos

Inicialmente, camundongos albinos Swiss adultos, pesando 20 ± 2 g, foram inoculados por rota intraperitoneal com 1×10^5 de eritrócitos infectados com *Plasmodium berghei*. Os camundongos foram randomicamente divididos em 3 grupos de 3 animais por gaiola, constituindo assim: um grupo controle positivo: tratado com a droga de referência – Cloroquina - solubilizada em água destilada e usada como droga controle, na dose de 10 mg/kg/peso, administrada oralmente, por dia, durante um período de 4 dias consecutivos; um grupo controle negativo: que não recebeu nenhum tratamento específico; e, um grupo teste: que recebeu 0,3 mL de solução CANOVA®(por animal), por dia, durante um período de 4 dias consecutivos, via intraperitoneal. No 5º e 7º dia após inoculação do parasito, esfregaços sanguíneos foram preparados de todos os camundongos, corados com panótico e examinados microscopicamente (com magnificação de 1000 x)(MOTA, 2009).

A parasitemia de todos os experimentos foi determinada através de leitura dos esfregaços ao microscópio por contagem randômica de vários campos nos esfregaços, totalizando 3.000 eritrócitos (CARVALHO et al., 1991; MOTA 2009).

A inibição do crescimento do parasito no grupo tratado com o CANOVA®foi calculada como segue: parasitemia no grupo controle não tratado menos parasitemia no grupo controle tratado, dividido pela parasitemia no grupo controle não tratado, expressado em porcentagem. O CANOVA®é considerado ativo se a parasitemia for reduzida em 30% ou mais. Valores próximos a 30% são designados como “borderline” (CARVALHO et al., 1991; MOTA, 2009). A mortalidade foi monitorada em todos os grupos durante um período de quatro semanas seguinte à inoculação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tratamento aplicado aos camundongos infectados com *P. berghei* durante quatro dias consecutivos, foram realizados esfregaços sanguíneos e leituras dos mesmos, no 5° e 7° dia de experimento, determinando a parasitemia deste e do grupo controle não tratado, através de contagem randômica de 3000 hemácias por vários campos, obtendo-se os seguintes resultados: parasitemia do grupo tratado com CANOVA = 8,5% e a parasitemia do grupo controle não tratado = 20%, Assim, aplicando os referidos valores de parasitemia na fórmula abaixo, obteve-se o percentual de redução da parasitemia no 5° dia de experimentação:

$$\%R = \left(\frac{PMGCNT - PMGT}{PMGCNT} \right) * 100 = \frac{20 - 8,5}{20} * 100 = 57,5\%$$

Legenda: PMGCNT= Parasitemia Média do Grupo Controle Não-Tratado; PMGT= Parasitemia Média do Grupo Tratado.

Dessa forma obteve-se no 5° dia de experimentação, uma redução de 57,5% do nível de parasitemia dos camundongos do grupo teste em relação ao grupo controle não tratado.

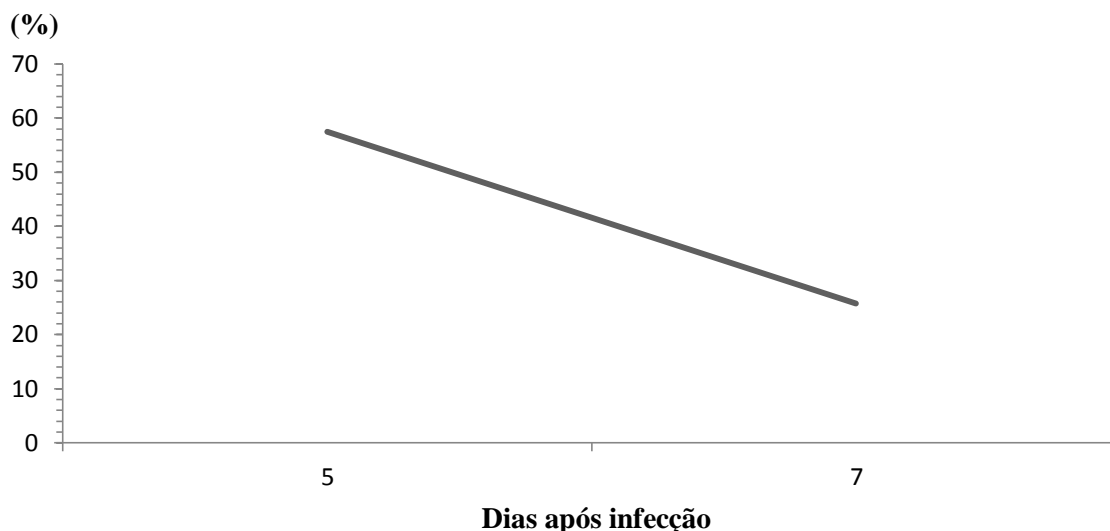
No 7° dia de experimento foi avaliada novamente a parasitemia dos dois grupos e determinado o percentual médio do nível parasitário, obtendo-se os seguintes resultados: parasitemia média do grupo teste= 26%; Parasitemia média do grupo controle não tratado= 35 %,

$$\%R = \left(\frac{PMGCNT - PMGT}{PMGCNT} \right) * 100 = \frac{35 - 26}{35} * 100 = 25,7\%$$

No 7° dia, obteve-se uma redução de 26% do nível da parasitemia dos camundongos do grupo teste tratados com CANOVA em relação ao grupo controle não tratado.

Os valores de redução parasitária referentes ao 5° e 7° dia do experimento estão descritos no gráfico abaixo:

Gráfico 1. Percentual de redução da parasitemia pelo homeopático Canova.



No experimento realizado a Cloroquina reduziu de 98 a 100% a parasitemia, não sendo observada mortalidade nesse grupo até 30 dias de observação.

Segundo Carvalho et al. (1991) e Mota(2009)um medicamento será considerado ativo se a parasitemia for reduzida em 30% ou mais. Valores próximos a 30% são designados como “borderline”.

Nesse estudo, foi avaliada pela primeira vez a propriedade antimalárica do composto homeopático CANOVA, em dose única de 0,3 mL por animal, via intraperitoneal. E, de acordo com os resultados, constata-se que o CANOVA apresentou significativa ação antiparasitária, com uma maior redução no 5º dia de infecção (redução de 57,5% do nível de parasitemia), constituindo assim, um medicamento ativo, pois o valor foi superior ao estabelecido na literatura (CARVALHO et al., 1991) para convalidar a eficácia do Canova frente ao *Plasmodium berghei*.

No 7º dia após infecção, ocorreu diminuição significativa da ação do CANOVA, o qual reduziu em 26% do nível da parasitemia, considerado efeito “borderline” (MOTA, 2009).

Um fato observado de extrema relevância foi à eficácia significativa do medicamento no 5º dia após o tratamento e sua respectiva redução no 7º dia. Esse fenômeno pode está diretamente relacionado a fatores farmacológicos como a farmacocinética do composto (GOLAN et al., 2009).

Parâmetros como via de administração, grau de absorção e biodisponibilidade da droga podem ter contribuído para a redução do efeito do Canova no 7º dia após o tratamento, pois a via intraperitoneal não é tão eficaz quanto à via intravenosa no que tange a taxa de droga que chega efetivamente a corrente sanguínea, dessa forma, possivelmente no intervalo de tempo em que os animais não receberam a droga, uma quantidade significativamente menor do medicamento entrou em contato com as células do sistema imune dos animais, explicando eventualmente uma menor redução da carga parasitária.

O medicamento avaliado possui atividade em ativar monócitos à macrófagos, dessa forma no intervalo de tempo em que a medicação não entrou em contato com tais células, não houve ativação das mesmas e conseqüentemente não ocorreu uma citotoxicidade significativa nas células dos parasitos.

Pereira et al (2005) avaliaram o efeito do Canova sobre cepas de *L. (L.) amazonenses*, observaram uma diminuição da carga parasitaria nos períodos de 24 e 48h após a infecção dos roedores de 16,8 e 11,4%, respectivamente, em relação ao grupo controle negativo que não recebeu nenhum tipo de tratamento. Concluíram que esses resultados sugerem que a medicação Canova pode estimular a atividade de macrófagos leishmanicidas.

No presente trabalho, pode-se verificar elementos semelhantes aos resultados do trabalho acima mencionado, como uma redução parasitária maior na primeira avaliação e uma redução significativa do nível parasitário em ambos os trabalhos. O tempo de avaliação também pode refletir valores diferentes, mas em consonância, sendo que os roedores foram submetidos a 4 dias de tratamento diário com a medicação no presente trabalho, obtendo-se um nível de redução maior em relação a redução observada no trabalho citado, avaliada após 24 e 48h à infecção.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que o imunomodulador Canova possui atividade frente ao *Plasmodium berghei* com redução significativa de 57,5% do nível parasitológico.

No entanto há necessidade de mais estudos para avaliar sua eficácia clínica frente à malária em seres humanos. Também se deve proceder a realização de estudos histopatológicos e citológicos, para avaliar como o medicamento interfere nos mecanismos fisiopatológicos da doença, e assim, obter resultados mais detalhados do possível mecanismo de ação do medicamento supracitado.

Apesar dos mecanismos de ação de medicamentos homeopáticos ainda não poderem ser explicados, as evidências mostram a eficácia dos mesmos em produzir alterações bioquímicas e fisiológicas no organismo, levando a fenômenos clinicamente significativos.

Este trabalho constitui em mais uma evidência documentada da real eficácia dos medicamentos homeopáticos em estudos clínicos e experimentais.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C.; SOARES, TAIS. M. P.; SILVA, D. B.; SILVEIRA, A. L. FIORINI, J. E.; FONSECA, Y.M. **Eficácia de tratamento homeopático no controle da mastite Subclínica em bovinos.** Uberlândia, revista de veterinária v. 11, n. 2, p. 53-59, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. Casos de malária no Brasil. **Brasil/Funasa**, 2006.

CASTANHEIRA, PAULO DE TARSO. **imunomoduladores modernos que podem ser úteis para o tratamento da asma.** Riachinho/MG, 2006.

Cabral, MP; Soffritti, EM; Nader, JR. **Estudo clínico para avaliação do Imunomodulador Canova® na terapêutica de pacientes oncológicos considerados FPT — Forade Possibilidade Terapêutica.** Juiz de Fora MG, 2002.

CONSOLI, R. A. G. B. & LOURENÇO –DE – OLIVEIRA, R. “ principais mosquitos de importância sanitária no brasil.” Editora fundação instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, 1994.

CAMARGO, E.P. malária, maleita, paludismo. *Ciência e cultura*, 55(1): 26-30, 2003.

CANOVA BRASIL. **Medicamentos.** 2015. Disponível em:<<http://www.canovado brasil.com.br/medicamentos.html>>. Acesso em: 04 de junho. 2015, 18h22min à 18h30min.

DYO Sato, R Wal, CC de Oliveira, RII Cattaneo, M Malvezzi, J Gabardo and D de F Buchi. **Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated with a complex homeopathic medication.** UFP, 2005.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 12a. ed. Rio Janeiro, Guanabara Koogan, 2012. GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 10ª ed. Rio de Janeiro. Mc Graw Hill, 2005.

GOLAN, David E. **Princípios de farmacologia:** a base fisiopatológica da farmacoterapia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

HOLANDINO, CARLA. **A Homeopatia e os Modelos Experimentais para a Compreensão das Propriedades Físico-Químicas e Biológicas dos Sistemas Dinamizados.** *Revista de Homeopatia* 2009; 72(3/4): 15-18.

MOTA, MAGALY LIMA. **Atividade antimalárica de plantas medicinais da biorregião do Araripe-CE em modelo murino - *Plasmodium berghei*.** Natal/RN. UFRN, 2009.

MICHELA MENEGON, ABDUSELAM M. NURAHMED, ALBADAWI A. TALHA, BAKRI Y.M. NOUR, CARLO SEVERINI. **Molecular surveillance of antimalarial drug resistance related genes in *Plasmodium falciparum* isolates from Eritrea.** Roma/Italia. Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 2016.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana.** 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

REY, Luís. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais.** 4ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SILVA, J. R. R. **MALÁRIA.** Brasília/DF. Centro Universitário de Brasília. 2000.

SASAKI, M. das G. da M. S. **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.** Paraná. UFP, 2001.

SNOW, R.W.; KORENKROMP, E.E. & GOUWS, E. **Pediatric mortality in Africa: *plasmodium falciparum* malaria as a cause or risk.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 71(suppl.2), 16-24, 2004.

SÓ BIOLOGIA. **Vetores da malária.** Disponível em: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/Malaria.php>. Acesso em: 30 de maio. 2016.

TEIXEIRA, M. Z. **Evidências científicas da episteme homeopática.** São Paulo, n. 74, p.33-56, 2011.

TEIXEIRA, MARCUS ZULIAN. **Semelhante Cura Semelhante: O principio de cura homeopatico fundamentado pela racionalidade médica e científica.** 2ª ed. são paulo: marcus zulian teixeira, 2013. Disponível em: <http://www.homeozulian.med.br/>.

TUTEJA, R. **Malária- na overview**. The FEBS Journal, 274: 4670-4679, 2007.

TANOS C. C. FRANÇA; MARTA G. DOS SANTOS; JOSÉ D. FIGUEROA-VILLAR.
MALÁRIA: aspectos históricos e quimioterapia. Quím. Nova vol.31 no.5 São Paulo 2008.

TEIXEIRA, MARCUS ZULIAN. **Semelhante cura semelhante: o princípio de cura Homeopático fundamentado pela racionalidade médica científica** / Marcus Zulian Teixeira. - São Paulo : Editorial Petrus, 1998.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP) **Instituto de medicina tropical, farmácia.**
Malária. Acesso em: 30/05/2016, disponível em:
http://lineu.icb.usp.br/~farmacia/ppt/Malaria_2013.pdf.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Protocolo de inóculo padrão do *P. berghei*.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE - UFRN
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA - DMP
LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DA MALÁRIA E TOXOPLASMOSE - LaBMat

Passagem do cepa *P. berghei* (NK65)

Reagentes e Equipamentos	Materiais
Citrato de sódio 3,8% pH 7,2	Seringa descartável de 1ml
PBS 0,14M pH 7,4	Tesoura
Giemsa	Eppendorf
Câmara de Neubauer	Pipeta volumétrica
Microscópio	Becker
	Lâmina

- Faz um corte na extremidade da cauda do animal, coloca uma gota na lâmina, faz o esfregaço, cora com Giemsa e conta a parasitemia.
- Retira duas gotas de sangue da extremidade da cauda, pingando em um eppendorff, adiciona 100µl de citrato de sódio e 1ml de PBS.
- Coloca 10µl na câmara de neubauer e conta o total de hemácias.

$N^{\circ} \text{ hácias/ml} = n \times 100 \times 10 \times 5 \times 10^3$

n = número de hemácias contadas
 100 = inverso da diluição
 10 = inverso da profundidade da câmara
 10³ = conversão de mm³ para ml
 5 = área contada (5mm²)

- Para saber o número de hemácias parasitadas, multiplica-se o número total de hemácias, pela parasitemia e divide por 100.
- Deve-se administrar 200µl de solução por animal, com 1 x 10⁵ hemácias infectadas, via intraperitoneal. Para isso, deve-se fazer uma diluição.
 - Calcula-se quanto vai precisar no total para a quantidade de animais (Ex: 200µl x 20 animais = 4ml)
 - Para calcular o fator de diluição, dilui-se o número de hemácias parasitadas por 1 x 10⁵, que é o número de hemácias parasitadas que se quer inocular por animal.
 - Divide-se o volume total pelo fator de diluição para saber quando de solução vai pegar, e dilui em PBS, em volume suficiente para completar o colume final. (Ex: se o fator de diluição fosse 20, dividiria 4ml/20, tendo como resultado 200µL. Então, pega-se esse volume de solução contendo as hemácias parasitadas e dilui em 3,8ml de PBS.
- Após a diluição, administra-se 200µl dessa solução, via intraperitoneal, com o auxílio de uma seringa de 1ml.

APÊNDICE B:**PEDIDO DE AUTORIZAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
FACULDADE DE MEDICINA DE JUAZEIRO DO NORTE-CE.****FORMULÁRIO UNIFICADO PARA SOLICITAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO
PARA USO DE ANIMAIS EM ENSINO E/OU PESQUISA****PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS****USO EXCLUSIVO DA COMISSÃO**

PROTOCOLO Nº

RECEBIDO EM: ____/____/____

No campo "fármaco", deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

Lista das DCBs disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/dcb/lista_dcb_2007.pdf.

1. FINALIDADE

Ensino	<input type="checkbox"/>
Pesquisa	<input checked="" type="checkbox"/>
Treinamento	<input type="checkbox"/>

Início:01../..02../.2016...

Término: .01.../.12.../.2016..

2. TÍTULO DO PROJETO/AULA PRÁTICA/TREINAMENTO

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMALARICA PELO COMPLEXO HOMEOPÁTICO
CANOVA, EM MODELO MURINO – *Plasmodium berghei*.**

Área do conhecimento: CIÊNCIAS DA SAÚDE

Lista das áreas do conhecimento disponível em: <http://www.cnpq.br/areasconhecimento/index.htm> .

3. RESPONSÁVEL

Nome completo	HUEFFERSON LIMA SILVA
Instituição	FACULDADE DE JUAZEIRO DO NORTE
Unidade	1. SÃO MIGUEL
Departamento / Disciplina	PARASITOLOGIA CLINICA

Experiência Prévia:

Não
Sim

Quanto tempo? _____

Treinamento:

Não
 Sim

Quanto tempo? _____ 6 MESES _____

Vínculo com a Instituição:

Docente/Pesquisador
 Téc. Nível Sup.
 Jovem pesquisador/Pesquisador visitante

Telefone	(88) 99614-5466
E-mail	huefferson@hotmail.com

4. COLABORADORES

Nome completo	MAGALY LIMA MOTA
Instituição	UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
Nível acadêmico	MESTRADO
Experiência prévia (anos)	10 ANOS
Treinamento (especificar)	
Telefone	(88) 99904-0108
E-mail	magalymota@hotmail.com

Utilize esta tabela para o preenchimento de um colaborador. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os colaboradores sejam contemplados.

5. RESUMO DO PROJETO/AULA

A malária ou paludismo é causada por quatro espécies de *Plasmodium* das quais o *P. falciparum* é a mais perigosa, ainda é a infecção parasitária humana mais devastadora do mundo. Fármacos, inseticidas e vacinas práticos, baratos, eficazes e seguros ainda são necessários para combater a malária. Na década de 1950, as tentativas de erradicar esse protozoário da maior parte do mundo fracassaram, principalmente pelo desenvolvimento de resistência aos inseticidas e aos fármacos antimaláricos. A busca por novas alternativas terapêuticas é de suma importância para o desenvolvimento e combate da malária. Sendo assim, esta pesquisa trata-se de um estudo experimental utilizando cepas de *Plasmodium berghei* para avaliação de eventual efeito antimalárico de um composto homeopático imunomodulador, o Canova, cujo principal objetivo será analisar uma possível redução do nível de parasitemia em camundongos infectados intencionalmente. Portanto esse trabalho pretende apresentar um novo protótipo de medicamento antimalárico com o intuito de assegurar a continuidade do arsenal terapêutico contra essa patologia. Além disso, esse estudo pode eventualmente contribuir para uma desmitificação da linha terapêutica homeopática, podendo constituir-se em mais uma evidência científica sólida e confiável para

a comprovação da real eficácia de medicamentos dinamizados.

6. OBJETIVOS (na íntegra)

Objetivo Geral

Avaliar se o composto Canova possui propriedade antimalárica frente ao *Plasmodium berghei*.

Objetivos específicos

- Implementar na rotina do Laboratório de Parasitologia - FJN o modelo murino-*Plasmodium berghei*;
- Testar *in vivo* o composto homeopático em estudo, contra o *P. berghei*;
- Determinar as possíveis dosagens que apresentam propriedades antimaláricas;
- Constatar a via de administração mais eficaz do composto com melhor ação antimalárica.

7. JUSTIFICATIVA

Hoje, além da cloroquina, o *P. falciparum* apresenta resistência aos diversos antimaláricos usados correntemente (amodiaquina, mefloquina, quinina e sulfadoxina – pirimetamina, proguanil) (GAY et al., 1990; RINGWALD et al., 1990; BARNES et al., 1991; WERNSDORFER, 1991; TRAPE et al., 1998; MOTA., 2009).

8. RELEVÂNCIA

Esse trabalho objetiva a busca por protótipos de medicamentos antimaláricos com o intuito de assegurar a continuidade do arsenal terapêutico contra essa patologia. Além disso, esse trabalho pode eventualmente contribuir para uma desmitificação da linha terapêutica homeopática, podendo constituir-se em mais uma evidência científica sólida e confiável para a comprovação da real eficácia de medicamentos dinamizados.

9. MODELO ANIMAL

Espécie (nome vulgar, se existir): _____ camundongos albinos swiss

Justificar o uso dos procedimentos e da espécie animal

Essa linhagem de camundongos é a mais utilizada em experimentos por conta da sua alta adaptação. Os procedimentos utilizados mimetizam com significância os processos naturais

9.1. PROCEDÊNCIA

Biotério, fazenda, aviário,
etc.

BIOTÉRIO

Animal silvestre

NÃO

Número de protocolo SISBIO: _____

Outra procedência?

NÃO

Qual? _____

O animal é geneticamente modificado?

NÃO

Número de protocolo CTNBio: _____

9.2. TIPO E CARACTERÍSTICA

Espécie	Linhagem	Idade	Peso aprox.	Quantidade		
				M	F	M+F
Anfíbio						
Ave						
Bovino						
Bubalino						
Cão						
Camundongo heterogênico						
Camundongo isogênico						
Camundongo <i>Knockout</i>	SWISS	3-4meses	20+- 2g		15	

Camundongo transgênico						
Caprino						
Chinchila						
Cobaia						
Coelhos						
Equídeo						
Espécie silvestre brasileira						
Espécie silvestre não-brasileira						
Gato						
Gerbil						
Hamster						
Ovino						
Peixe						
Primata não-humano						
Rato heterogênico						
Rato isogênico						
Rato <i>Knockout</i>						
Rato transgênico						
Réptil						
Suíno						
Outra						
					TOTAL:	15

9.3. MÉTODOS DE CAPTURA (somente em caso de uso de animais silvestres)

9.4. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO/DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

9.5. GRAU DE INVASIVIDADE*: GL 1.

Os materiais biológicos destes exemplares serão usados em outros projetos? Quais? Se já aprovado pela CEUA, mencionar o número do protocolo.

9.6. CONDIÇÕES DE ALOJAMENTO E ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

- Alimentação
- Fonte de água
- Lotação - Número de animais/área
- Exaustão do ar: sim ou não

Comentar obrigatoriamente sobre os itens acima e as demais condições que forem particulares à espécie

Os animais receberão água e comida *ad libitum*. Todos os dias, em três horários durante o dia. A água será proveniente das instalações da faculdade de juazeiro do norte, sendo a mesma do tipo mineral. O local de alojamento possui sistema de exaustão de ar. Serão mantidos 3 animais por compartimento. (gaiola específica para camundongos).

Local onde será mantido o animal: _____laboratório_____ (biotério, fazenda, aviário, etc.).

Ambiente de alojamento:

Gaiola	x
Jaula	
Baia	
Outros	

Número de animais por gaiola/galpão: 3

Tipo de cama (maravalha, estrado ou outro): maravalha

10. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS DO PROJETO/AULA

10.1. ESTRESSE/DOR INTENCIONAL NOS ANIMAIS

Não	x	Curto	
Sim		Longo	

(Se "sim", JUSTIFIQUE.)

ESTRESSE:

DOR:

RESTRIÇÃO HÍDRICA/ALIMENTAR:

OUTROS:

10.2. USO DE FÁRMACOS ANESTÉSICOS

Sim	
Não	x

Fármaco	
Dose (UI ou mg/kg)	
Via de administração	

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

(Em caso de não-uso, JUSTIFIQUE.) a finalidade do experimento em questão não objetiva efeitos nociceptivos. Os animais não serão submetidos a condições de provocar dores significativas.

10.3. USO DE RELAXANTE MUSCULAR

Sim
 Não

Fármaco	
Dose (UI ou mg/kg)	
Via de administração	

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.4. USO DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS

Sim
 Não

Justifique em caso negativo:

Os animais não serão submetidos a condições de provocar dores significativas.

Fármaco	
Dose (UI ou mg/kg)	
Via de administração	
Frequência	

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.5. IMOBILIZAÇÃO DO ANIMAL

Sim
 Não

Indique o tipo em caso positivo:

Serão imobilizados manualmente para a coleta da matriz biológica

10.6. CONDIÇÕES ALIMENTARES

10.6.1. JEJUM:

Sim
 Não

Duração em horas: _____

10.6.2. RESTRIÇÃO HÍDRICA:

Sim
 Não

Duração em horas: _____

10.7. CIRURGIA

Sim
 Não

Única
 Múltipla

Qual(is)?

--

No mesmo ato cirúrgico ou em atos diferentes? _____

10.8. PÓS-OPERATÓRIO

10.8.1. OBSERVAÇÃO DA RECUPERAÇÃO

Sim
 Não

Período de observação (em horas): _____

10.8.2. USO DE ANALGESIA

Sim
 Não

Justificar o NÃO-uso de analgesia pós-operatório, quando for o caso:

--

Fármaco	
Dose (UI ou mg/kg)	
Via de administração	
Frequência	

Duração	
---------	--

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo "fármaco", deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.8.3. OUTROS CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Sim

Não

Descrição:

--

10.9. EXPOSIÇÃO / INOCULAÇÃO / ADMINISTRAÇÃO

Sim

Não

Fármaco/Outros	Solução CANOVA
Dose	1 MILILITRO
Via de administração	ORAL
Frequência	UMA VEZ POR DIA, DURANTE 6 DIAS.

No campo "fármaco", deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

11. EXTRAÇÃO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

Sim

Não

Material biológico	SANGUE TOTAL
Quantidade da amostra	05 ml
Frequência	DUAS VEZES DURANTE O EXPERIMENTO. UMA PARA ANALISE INICIAL E OUTRA PARA ANALISE FINAL
Método de coleta	PUNÇÃO VENOSA

Utilize esta tabela para o preenchimento de um material biológico. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os materiais sejam contemplados.

12. FINALIZAÇÃO**12.1. MÉTODO DE INDUÇÃO DE MORTE**

Descrição	INTOXICAÇÃO
Substância, dose, via	ETER VIA NASAL, QUANTIDADE NECESSARIA ATE ATINGIR O FEITO.

Caso método restrito, justifique:

--

12.2. DESTINO DOS ANIMAIS APÓS O EXPERIMENTO

INCINERAÇÃO

12.3. FORMA DE DESCARTE DA CARÇAÇA

APÓS A MORTE DOS ANIMAIS OS MESMOS SERAO ACONDICIONADOS EM RECIPIENTES PROPRIOS PARA MATERIAL BIOLOGICO E SERAO RECOLHIDOS PELA EMPRESA, FLAMAX, NAS DEPENDENCIAS DO LABORATORIO PARA POSTERIOR INCINERAÇÃO.
--

13. RESUMO DO PROCEDIMENTO (relatar todos os procedimentos com os animais)

TODOS OS PROCEDIMENTOS REALIZADOS COM OS ANIMAIS ESTAO DESCRITOS NO PROJETO DE PESQUISA EM ANEXO A ESSE DOCUMENTO. TÓPICO: METODOLOGIA.

14. TERMO DE RESPONSABILIDADE

(LEIA CUIDADOSAMENTE ANTES DE ASSINAR)

<p>Eu, _____ (nome do responsável), certifico que:</p> <p>a) li o disposto na Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais em ensino e/ou pesquisa, especialmente as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA;</p> <p>b) este estudo não é desnecessariamente duplicativo, possuindo mérito científico e a equipe participante deste projeto/aula foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos neste protocolo;</p> <p>c) não existe método substitutivo que possa ser utilizado como uma alternativa ao projeto.</p> <p>Assinatura: _____</p> <p>Data: ____ / ____ / ____</p>
--

Encaminhar em 2 vias.

A critério da CEUA, poderá ser solicitado o projeto, respeitando confidencialidade e conflito de interesses.

Quando cabível, anexar o termo de consentimento livre e esclarecido do proprietário ou responsável pelo animal.

15. RESOLUÇÃO DA COMISSÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de ____ / ____ / ____ , APROVOU os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo.

Assinatura
Coordenador da Comissão

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de ____ / ____ / ____ , emitiu o parecer em anexo e retorna o Protocolo para sua revisão.

Assinatura
Coordenador da Comissão

* **GRAU DE INVASIVIDADE (GI) - definições segundo o CONCEA**

GI1 = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse (ex.: observação e exame físico; administração oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, ou intramuscular de substâncias que não causem reações adversas perceptíveis; eutanásia por métodos aprovados após anestesia ou sedação; privação alimentar ou hídrica por períodos equivalentes à privação na natureza).

GI2 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade (ex.: procedimentos cirúrgicos menores, como biópsias, sob anestesia; períodos breves de contenção e imobilidade em animais conscientes; exposição a níveis não letais de compostos químicos que não causem reações adversas graves).

GI3 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de intensidade intermediária (ex.: procedimentos cirúrgicos invasivos conduzidos em animais anestesiados; imobilidade física por várias horas; indução de estresse por separação materna ou exposição a agressor; exposição a estímulos aversivos inescapáveis; exposição a choques localizados de intensidade leve; exposição a níveis de radiação e compostos químicos que provoquem prejuízo duradouro da função sensorial e motora; administração de agentes químicos por vias como a intracardíaca e intracerebral).

GI4 = Experimentos que causam dor de alta intensidade (ex.: Indução de trauma a animais não sedados).