

RAFFAELLO POPA DI BERNARDI

**RECUPERAÇÃO DE PACIENTES COM HIV/AIDS EM BOTSWANA,
ÁFRICA, COM O USO DO MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO
CANOVA**

**Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Molecular, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.**

**Orientadora: Prof^ª. Dr.^a Dorly de F.
Buchi**

CURITIBA

2005

RAFFAELLO POPA DI BERNARDI

**RECUPERAÇÃO DE PACIENTES COM HIV/AIDS EM BOTSWANA,
ÁFRICA, COM O USO DO MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO
CANOVA**

**Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Molecular, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.**

**Orientadora: Prof^ª. Dr.^a Dorly de F.
Buchi**

CURITIBA

2005

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Departamento de Biologia Celular e Departamento de Fisiologia

Setor de Ciências Biológicas

Universidade Federal do Paraná

Instituto de Biologia Molecular do Paraná

PARECER

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, composta por:



Dr. Dorly de Freitas Buchi
Orientadora da UFPR



Dr. Sylvio Marques Zanata
UFPR



Dr. Flavio Dantas de Oliveira
Escola Paulista de Medicina-SP

após arguir o(a) mestrando(a) **Raffaello Popa Di Bernardi** em relação ao seu trabalho de dissertação intitulada: "**Recuperação de pacientes com HIV/AIDS em Botswana, África, com o uso do medicamento homeopático canova**", é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do(a) acadêmico(a), habilitando-o(a) ao título de **Mestre** em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em **BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**.

A obtenção do título de Mestre está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas nas Normas Internas deste curso de pós-graduação.

Curitiba, 06 de outubro de 2005



Sylvio Marques Zanata
Coordenador do Curso



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê Setorial de Ética em Pesquisa



Projeto: **"Ação do medicamento homeopático Canova sobre os pacientes portadores de HIV em Botswana"**

Pesquisadora: **Profa. Dra. Dorly de Freitas Buchi**

Departamento: **Biologia Molecular do Setor de Ciências Biológicas, UFPR**

Local de realização: **consultórios de médicos colaboradores e Departamento de Biologia Molecular do Setor de Ciências Biológicas, UFPR**

Data de entrada no CEP-Biológicas: **03/10/2003**

Registro CEP-Biológicas: **008/03**

Curitiba, 3 de dezembro de 2003

Prezado Profa. Dra. **Dorly de Freitas Buchi**

Em relação a projeto acima citado, venho por meio desta informá-lo de que este foi avaliado pelo CEP-Biológicas, estando de acordo com a Declaração de Helsinque (e suas atualizações) e com a resolução 196/96 do CNS (e resoluções complementares), tendo sido aprovado pelo comitê. Portanto, a partir desta data poderá ser iniciada a execução e a coleta de dados do referido projeto .

Ressalto que, de acordo com a resolução 196/96 que: (a) o pesquisador deve comunicar a este comitê qualquer alteração no protocolo experimental ou no termo de consentimento (nestas circunstâncias a inclusão deve ser temporariamente suspensa até análise do CEP das modificações propostas); (b) comunicar imediatamente ao CEP qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; (c) os dados individuais de todos indivíduos devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria; (d) apresentar relatório parcial em maio de 2004.

Contando com sua compreensão e apoio, coloco-me à disposição para maiores esclarecimentos, atenciosamente

Roberto Andreatini
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Setor de Ciências Biológicas da UFPR

The only thing necessary for the triumph of evil is for good men to do nothing.

(Para que o mal triunfe basta que as pessoas de bem nada façam).

Edmund Burke

Sonho que se sonha só

É só um sonho que se sonha só

Mas sonho que se sonha junto é realidade.

Raul Seixas em Prelúdio

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes, pois sem vocês esse estudo não seria possível. Vocês são, de fato, o grande motivo da realização desse trabalho e graças a vocês, com a sua dedicação e o seu comprometimento com o tratamento, essa dissertação é realidade, fazendo com que o Canova agora esteja um pouco mais perto de outros, que dele tanto necessitam. Muito obrigado.

À Agnes Girly Mothibedi, pelo exemplo de dedicação, liderança e cidadania. É a número um e tem orgulho disso. Esse trabalho definitivamente só foi possível pela sua ajuda. Ninguém mais teria tanta maestria ao traduzir o setswana para o inglês. O seu sorriso e a disposição para a luta do dia-a-dia muitas vezes me valeram de fonte de ânimo e ficarão para sempre na minha lembrança.

A Deus, nas suas mais variadas formas e nomes, em sua grandeza e energia que a tudo alimenta, obrigado por me dar forças e tornar tudo isso possível. Obrigado também por ter sussurrado certas coisas no ouvido do Francisco Canova.

Aos meus pais Edson e Johanna, que não só me amam, mas sempre investiram em mim tudo que podiam. Obrigado por permitirem que as oportunidades do mundo chegassem a mim e que eu pudesse usufruí-las. Obrigado pelo apoio incondicional em minhas escolhas. Desde cedo, sempre me deram todo apoio que alguém possa desejar. Amo vocês.

Ao meu amado irmão Marcello, pelo apoio e companheirismo constantes. Com quem sempre pude contar e que sabe que sempre poderá contar comigo. Obrigado por toda a força e também pelas conversas que, embaladas, iam madrugada adentro.

À Lilian, minha amada esposa e companheira que sempre esteve do meu lado, dando apoio aos meus sonhos e objetivos, mesmo quando estar ao meu lado significava me ver partir para o outro lado do Atlântico por mais de três meses.

À Dorly, minha mãe científica e orientadora, no sentido mais amplo que esse adjetivo possa assumir. Sempre soube, com delicadeza e tato, extrapolar o caráter

meramente acadêmico do termo, dando um novo sentido a palavra orientadora, ajudando-me sempre a melhorar não só como aluno, mas principalmente como ser humano. Obrigado, com muito amor e de coração.

Ao Everson, um ser humano especial que permitiu que esse trabalho se concretizasse. Obrigado pelas lições transmitidas na convivência diária em nossa aventura pela África. Fez o possível e o impossível para que tudo funcionasse nessa jornada, não permitindo que os reveses nos atingissem. Mostrou-me que a generosidade deve estar presente em nossas vidas, todos os dias.

Aos colegas de aventura Plínio e Samuel, obrigado por toda a ajuda e companheirismo nessa jornada. Graças a vocês, muitos momentos foram passados com mais alegria.

Ao Francisco Canova, *in memoriam*, e o seu espírito, obrigado pelo legado de um medicamento com tamanho potencial. Infelizmente, ainda não conseguimos compreendê-lo no todo, mas estamos tentando.

À Márcia Helena Mendonça, minha primeira professora no curso de medicina e sem dúvida uma das melhores docentes de quem tive o prazer e honra de ser aluno. Obrigado por ser a minha madrinha científica, acreditando no meu potencial e conduzindo-me ao laboratório da Dorly. Serei eternamente grato pelo gesto.

Ao Juarez e ao Nicolas, pela atenção e ajuda com as análises estatísticas dos dados.

Aos mestres que tive a honra de conhecer ao longo da vida e que de alguma maneira acabaram por contribuir comigo e com esse trabalho.

Aos amigos e amigas de laboratório Carolina, Luciana, Simone, Ana Paula, Elenice, Mônica, Fabiano, Samuel, Plínio, Sayuri, Luis Felipe, Luiz Eduardo, Lyris, Raquel, Darcy, Beatriz, Fernando e todos que conheci no laboratório, pelas festas, viagens e bagunças, afinal é isso que torna a vida boa de ser vivida.

Aos amigos do Centro de Microscopia Eletrônica, Rosângela, Ney, Matilde, Regina e Sérgio, pelo carinho e boa vontade com que sempre me atenderam e

ajudaram. Obrigado.

Ao Gabane Home Based Care, nas pessoas de Mma. Laburu e Mma. Moremie, pela ajuda com os pacientes.

Ao Governo e ao Ministério da Saúde de Botswana, na pessoa do Dr Mazonde, pela oportunidade e permissão para a realização desse trabalho.

Ao Mr. e Mrs. Murad, pelo carinho não só com o seu povo, mas também pela hospitalidade com que nos acolheram, permitindo que usássemos as suas dependências para a avaliação e acompanhamento dos pacientes.

Aos colegas da medicina em especial à Sayuri, que sempre com muita gentileza me ajudou a recuperar a matéria eventualmente perdida de algumas aulas do curso. Muito obrigado!

Aos amigos dos departamentos do Setor de Biológicas que conheci ao longo desses anos e que volta e meia me estendem a mão e me ensinam algo novo.

Ao Sebastião, que em suas rondas sempre foi gentil e atencioso comigo, especialmente quando ficava até altas horas trabalhando no citômetro de fluxo. Obrigado pelo zelo e preocupação.

A todos que me estenderam a mão, de uma forma ou de outra, fazendo com que eu pudesse ir em frente.

Aos que perguntaram, criticaram e sugeriram, a participação de vocês fez com que esse trabalho ficasse mais rico.

Aos membros da banca Prof. Flávio Dantas e Prof. Silvio Zanata, obrigado pela boa vontade e disposição de compartilharem comigo a sua experiência pessoal e profissional, colaborando para um melhor resultado final desse momento de minha vida.

Às secretárias do programa de pós-graduação e departamento de biologia celular Marlene e Gerisalda, pela atenção e prontidão em me ajudar sempre que precisei.

Ao Roberto Piraino e Glória, por trazerem o Canova para o Brasil, pela

incansável luta para que as coisas dêem certo e por perceberem que a pesquisa é fundamental.

À Luciana pela ajuda nos protocolos de microscopia eletrônica, bem como no uso do microscópio de transmissão.

Ao Wanderley de Souza e à Marlene Benchimol, pela gentileza em fornecer e explicar detalhes do protocolo de fixação de longo prazo.

Ao Francisco, o Chico, que gentilmente se dispôs a me ajudar com a edição do vídeo da BTV.

À CAPES e à SETI pelo apoio financeiro, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	X
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE GRÁFICOS	XIII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XIV
RESUMO	XVI
ABSTRACT.....	XVII
INTRODUÇÃO	1
HIV/AIDS	1
SISTEMA IMUNE.....	2
<i>Linfócitos B</i>	3
<i>Linfócitos T</i>	4
<i>Linfócitos NK</i>	7
<i>Monócitos/Macrófagos</i>	8
<i>Citocinas</i>	9
HIV E O SISTEMA IMUNE.....	10
HOMEOPATIA.....	11
O MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO CANOVA.....	12
MODIFICADORES DA RESPOSTA BIOLÓGICA.....	14
BOTSWANA, ÁFRICA.....	15
<i>Situação Geográfica</i>	15
<i>O HIV no contexto local</i>	16
<i>O sistema de saúde de Botswana</i>	18

<i>O medicamento Canova: uma nova perspectiva</i>	21
<i>THE MEASUREMENT GROUP</i>	21
JUSTIFICATIVA	22
OBJETIVOS	23
OBJETIVO GERAL.....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
AMOSTRAS.....	24
<i>Local de avaliação</i>	24
<i>Pacientes e grupos</i>	24
<i>Sangue periférico</i>	25
AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO.....	25
TRATAMENTO COM CANOVA	27
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	27
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
RESULTADOS	29
QUALIDADE DE VIDA.....	29
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	30
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS	53
ANEXOS	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Situação geográfica de Botswana.....	17
Figura 2: Prevalência do HIV e da AIDS no continente africano.....	17
Figura 3: Vista parcial de Gabane.....	19
Figura 4: Vista da propriedade de Mr. Murad.....	19
Figura 5: Habitação típica da região sul africana.....	20
Figura 6: Visão geral do interior do <i>Home Care</i>	20
Figura 7: Linfócito de paciente em T 00 com a superfície celular normal.....	38
Figura 8: Linfócito de paciente em T 00 com aparente brotamento de vírus.....	38
Figura 9: Linfócitos com brotamentos de vírus e hemáceas de pacientes em T 00.....	39
Figura 10: Linfócitos com brotamentos de vírus e hemáceas de pacientes em T 00....	39
Figura 11: Linfócito com projeções por onde brotam os vírus.....	40
Figura 12: Linfócitos com brotamentos de vírus e hemáceas de pacientes em T 00....	40
Figura 13: Brotamentos de vírus, hemáceas e célula gigante de pacientes em T 01....	41
Figura 14: Célula gigante do sangue periférico de pacientes em T 01.....	41
Figura 15: Célula gigante do sangue periférico de pacientes em T 01.....	42
Figura 16: Linfócito mostrando brotamento de vírus na superfície.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Sensação de Dor.....	31
Gráfico 2: Apetite.....	32
Gráfico 3: Capacidade de Realizar Pequenos Esforços.....	33
Gráfico 4: Absenteísmo.....	34
Gráfico 5: Qualidade de Vida.....	35
Gráfico 6: Qualidade de Vida.....	36
Gráfico 7: Qualidade de Vida.....	37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BTV – Botswana television.

HIV – Vírus da imunodeficiência humano.

HIV-1 – Vírus da imunodeficiência humano tipo 1.

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida.

T 00 – Tempo imediatamente antes do início do tratamento.

T 01 – Tempo após um mês de tratamento.

T 18 – Tempo após dezoito meses de tratamento.

kb – Quilo-base.

TCD4 – Linfócito T *helper* ou auxiliar.

CD – *Cluster of differentiation* ou grupo de diferenciação.

kDa – Quilo Dalton.

CTL – Linfócito T citotóxico ou citolítico.

TCR – Receptor do linfócito T.

MHC – Complexo principal de histocompatibilidade.

APC – Célula apresentadora de antígenos.

IL – Interleucina.

IFN – Interferon.

TNF – Fator de necrose tumoral.

NK – Linfócito *Natural Killer*.

LAK – Células destruidoras ativadas por linfocinas.

ICAM – Molécula de adesão intercelular.

LGG – Linfócito grande granular.

ADCC – Citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

MAF – Fatores de ativação de macrófagos.

GM-CSF – Fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos.

BCG – *Bacillus Calmett-Guerin*.

TCD8 - Linfócito T citotóxico ou citolítico.
dH – Potência decimal.
MRB – Modificadores de resposta biológica.
UNAIDS – Programa das Nações Unidas em HIV e AIDS.
EUA – Estados Unidos da América.
SCB– Setor de Ciências Biológicas.
UFPR – Universidade Federal do Paraná.
SD – Grupo de pacientes Severamente Doentes.
NSD – Grupo de pacientes Não Severamente Doentes.
pH – Potencial de hidrogênio.
M – Molar.
CO₂ – Dióxido de carbono.
ANOVA – Análise de variância.
d.m.s. – Diferença mínima significativa.
QMR – Quadrado médio do resíduo ou do erro.
DP – Desvio padrão.
p – Probabilidade de ocorrência de erro tipo I.
MEV – Microscopia eletrônica de varredura.
NO – Óxido Nítrico.
ARV – Antirretroviral.
PBS – Salina fosfato tamponada.
BSA – Soro-albumina bovina.

RESUMO

Introdução: Canova é um medicamento homeopático usado como imunomodulador. Botswana apresenta a maior prevalência de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) do mundo. **Objetivos:** Avaliar a evolução longitudinal da qualidade de vida de pacientes com HIV/AIDS, que apenas utilizaram o Canova. Este estudo foi concebido para ser um estudo prospectivo. **Métodos:** Os pacientes foram avaliados *in loco* antes do início (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com o Canova. Para tanto, utilizou-se um questionário específico para qualidade de vida em HIV/AIDS. Além disso, leucócitos do sangue periférico foram coletados em T 00 e T 01 para serem analisados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). **Resultados:** Os dados obtidos indicam que o tratamento foi altamente efetivo na redução da sintomatologia e na melhora da qualidade de vida daqueles com HIV/AIDS uma vez que recuperou parâmetros como percepção geral de dor, apetite, capacidade para a realização de pequenos esforços e absenteísmo. Adicionalmente, os estudos em MEV revelaram um tipo celular que só foi encontrado nas amostras de T 01. **Conclusões:** Os resultados mostram uma mudança significativa em cada parâmetro de qualidade de vida avaliado já no primeiro mês de tratamento, sendo que esses ganhos se mantiveram durante os dezoito meses de tratamento. Os pacientes atingiram um melhor estado de qualidade de vida através do uso do Canova. Além disso, os estudos em MEV sugerem que o tratamento induziu a presença na circulação de um tipo celular não encontrado anteriormente.

ABSTRACT

Background: *Canova* is a homeopathic complex medicine used as an immune modulator. Botswana has the highest prevalence of Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) in the world. **Objective:** Evaluate the longitudinal evolution in HIV/AIDS patients' quality of life, which only use *Canova*. This work was intended to be a prospective study. **Methods:** Patients were assessed on site, prior to (T 00) and at the completion of one (T 01) and eighteen (T 18) months period of *Canova* treatment, using a specific quality of life in HIV/AIDS questionnaire. Besides, leukocytes from peripheral blood were collected at T 00 e T 01 for scan electron microscopy (SEM) studies. **Results:** The data indicate that the treatment is highly effective in reducing symptomatology and improving quality of life in individuals with HIV by recovering parameters like general pain feeling, appetite, capability to do small efforts and absenteeism. Moreover, the studies conducted trough SEM revealed a type of cell which is present only in T 01 samples. **Conclusions:** The results show a significant change in every evaluated parameter just after the first month of treatment. Furthermore, those changes were sustained after the eighteen months period. Patients achieved a better quality of life status with *Canova*. Besides, the SEM studies suggest that the treatment induces the occurrence on circulation of a cell type which were not observed before.

INTRODUÇÃO

HIV/AIDS

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS – *Acquired Immune Deficiency Syndrome*) foi reconhecida como epidemia em 1981, sendo que somente em 1984 o agente causador, o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV – *Human Immunodeficiency Virus*) foi identificado (SNELL, 2003). Desde então, a AIDS tornou-se a forma mais comum de imunodeficiência no mundo (GOLDSBY; KINDT & OSBORNE, 2000).

À medida que a infecção pelo HIV/AIDS se dissemina pelo mundo, percebe-se que a epidemia não segue a mesma trajetória nas populações, apresentando-se de maneira distinta em cada área geográfica e afetando diferenciados segmentos populacionais em momentos diversos (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO AIDS, 2002).

O HIV é um lentivírus da família dos retrovírus e apresenta um genoma RNA contido em um capsídeo e um envelope lipídico. O vírus HIV-1 tem forma esférica e o envelope viral contém duas glicoproteínas virais, que são as maiores glicoproteínas, a gp41 e a gp120. Estas se originam da pré-proteína gp160. O core do HIV é composto de três estruturas protéicas: a p24, p16 e p19. (CHINEN; SHEARER, 2002.).

O genoma apresenta aproximadamente 10.000 nucleotídeos (10 kb) e consiste nos genes *gag*, *pol* e *env* que são características de todos os retrovírus. O gene *gag* codifica as proteínas estruturais do core, *env* contém as proteínas do envelope gp120 e gp41, essenciais para a fixação e o ingresso do vírus na célula, e *pol* que codifica as enzimas virais como a transcriptase reversa, integrases e proteases. Dois outros genes são *tat* e *ver*, importantes para a replicação viral. Ainda há genes acessórios como *nef*, *vpu*, *vpr* e *vif* (SLEASMAN; GOODENOW, 2003).

A transmissão do HIV-1 se dá por contato sexual, transmissão vertical de mãe para criança, exposição a produtos contaminados com sangue (SLEASMAN; GOODENOW, 2003), transmissão parenteral do HIV (usuários de drogas por via endovenosa e receptores de transfusão de sangue) e transmissão através do leite (COTRAN; KUMAR & COLLINS, 2000). O HIV infecta, primeiramente, macrófagos e células TCD4, mas esses vírus podem ser transmitidos, (CHINEN; SHEARER, 2002), pois é encontrado como um vírus livre no sangue, sêmen, líquido vaginal e leite (ROITT, 1999). Uma vez internalizado, o genoma viral sofre transcrição reversa pela enzima chamada transcriptase reversa, o DNA pró-viral é integrado ao genoma do hospedeiro e as partículas do vírion completo brotam da superfície celular (COTRAN; KUMAR & COLLINS, 2000).

A infecção com HIV resulta em depleção de linfócitos TCD4. Contudo, o dano às células TCD4 é mais dramático durante a progressão para AIDS (CLERICI e LUCEY, 1994). Entretanto, torna-se cada vez mais evidente que a evolução da doença pode variar amplamente. Assim, embora a maioria das pessoas evolua para a AIDS e finalmente morra de infecções oportunistas ou câncer, isso não é verdadeiro para todos os indivíduos (ROITT, 1999).

SISTEMA IMUNE

O sistema imune se constitui em um sofisticado meio de vigilância do organismo. Composto por células e proteínas, tanto circulantes como de superfície das membranas celulares, vem tendo um melhor entendimento do seu funcionamento nesses últimos 20 anos, em grande parte, por conta do avanço nas pesquisas para o combate da epidemia de HIV/AIDS.

Três grupos de células participam da defesa do hospedeiro contra corpos estranhos; dois deles - os neutrófilos e os monócitos/macrófagos - são células fagocíticas. O terceiro grupo é constituído pelos linfócitos, que têm pouca capacidade

endocítica, mas participam de outras reações de proteção, coletivamente conhecidas como resposta imune adaptativa. Esses grupos se originam de células pluripotentes (*stem cells*) da medula óssea, que produzem duas linhagens progenitoras diferenciadas: a linhagem linfóide, que produz os linfócitos; e a linhagem mielóide, que produz os granulócitos e os monócitos. Os neutrófilos, os monócitos e os linfócitos passam uma parte de suas vidas circulando pelo sangue, para chegar nos órgãos de maturação ou locais de atuação (STITES, 1992)

Linfócitos B

Uma classe de linfócitos é constituída pelos linfócitos B (células B) que iniciam maturação na medula óssea. Eles são classicamente definidos pela presença de imunoglobulinas de membrana, produzidas pelas próprias células e inseridas na membrana da superfície celular, que atuam como receptores específicos de antígenos. As células B e os plasmócitos são as únicas células capazes de produzir anticorpos. Entre os vários antígenos expressos na superfície dessas células, os CD19, CD20 e CD22, são atualmente os principais marcadores utilizados na identificação de células B humanas e em camundongos (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1999; LAI; ALAVERDI; MALTAIS *et al.*, 1998).

O CD19 é uma glicoproteína transmembrânica de 95 kDa, um membro da superfamília das imunoglobulinas, que é expressa durante todo o desenvolvimento do linfócito B a partir da célula pré-B, nos estágios de maturação da célula B e deixa de se expressar no plasmócito. Na superfície desta célula B, a molécula CD19 associa-se com o CD21 (CR-2) e o CD81 (TAPA-1), e esse complexo multimolecular sinergiza com imunoglobulinas da superfície para promover ativação celular. O CD19 participa no desenvolvimento e ativação do linfócito B, na maturação dos linfócitos B de memória e na regulação da tolerância (KROP; SHAFFER; FEARON *et al.*, 1996; SATO; MILLER; HOWARD *et al.*, 1997).

Linfócitos T

Uma segunda classe de linfócitos é formada pelos linfócitos T, cujos precursores originam-se na medula óssea, depois migram pela corrente sanguínea para o timo e aí amadurecem. Os linfócitos T se subdividem em populações funcionalmente distintas, das quais as mais bem definidas são as células T auxiliares ou *helper* (T_A ou T_H) e as células T citotóxicas ou citolíticas (T_C ou CTLs). Essas células T reconhecem e respondem aos antígenos associados à superfície celular e não aos solúveis, de tal modo que o seu receptor de antígenos (TCR - constituído de polipeptídios α e β) reconhece somente antígenos peptídicos ligados às proteínas codificadas por genes no complexo de histocompatibilidade principal (MHC) e expressas na superfície de outras células (ABBAS; LICHTMAN; PORBER, 2000).

A função de reconhecimento de antígenos no organismo não está restrita somente às imunoglobulinas, mas é realizada também pelos receptores de células T (TCR), que se ligam aos peptídios antigênicos. Em um determinado evento das respostas imunes, esses fragmentos antigênicos são apresentados para as células T no contexto das moléculas do MHC. O reconhecimento do antígeno/MHC pelo TCR é a interação biológica fundamental, responsável para iniciar e perpetuar a resposta imune, como ativar a proliferação e diferenciação das células T, assim como o desempenho de suas funções efetoras (FRAZER; CAPRA, 1999).

Os linfócitos T maduros encontrados no sangue periférico e em órgãos linfóides secundários expressam CD3 em sua superfície. O CD3 é um complexo de 4 diferentes polipeptídios transmembrânicos de superfície, que se associa aos receptores de célula T (TCR), servindo de transmissor de sinais dos receptores para o citoplasma e necessário para que os receptores possam ser transportados para a superfície celular (PARSLOW, 2000).

As subpopulações de células T podem ser distinguidas pela presença de diferentes marcadores, de tal modo que as células T *helper*, com função de auxiliar ou

induzir respostas imunes, apresentam o marcador CD4; e as células T citotóxicas, com função de lisar células, apresentam o marcador CD8. Tanto o CD4 como o CD8 são membros glicoprotéicos transmembrânicos da superfamília das Ig (imunoglobulinas), mas estruturalmente distintos. A molécula CD4 é uma cadeia polipeptídica simples (monômero) de 55 kDa (homem, ratos, camundongos e outros). Em humanos, Wood e Moscicki, em 1983, identificaram CD4 também nos monócitos e nos macrófagos (PARNES, 1989).

Estudos realizados por Cantor e Boyse (1976) e Reinherz *et al.* (1980), mostraram que células T periféricas, que expressam CD4 são T_H, e aquelas que expressam CD8 são CTLs. Desse modo, as células CD4 reconhecem ou são restritas às moléculas classe II do MHC (MHC II) e as células CD8 às moléculas classe I do MHC (MHC I), como demonstram Swain, (1981), Engleman (1981), Meuer (1982), Krensky (1982) e Dialynas (1983). Mas nem todas as CTLs são específicas à proteína do MHC I e expressam CD8; algumas delas são específicas para proteína do MHC II e expressam CD4, fatos esses verificados por Moreta (1981), Spits (1982), Meuer (1982), Krensky (1982), Biddison (1982) e Dialynas (1983). Similarmente, há exemplos de clones de célula T, fenótipo *helper*, que expressam CD8 e são específicos para proteína do MHC I, observados por Swain, (1983) e Swain *et al.* (1984). Rosenstein *et al.* (1988) e Doyle e Strominger (1987) que demonstraram que o CD8 e o CD4 são receptores para um domínio não polimórfico da molécula classe I e classe II do MHC, respectivamente (PARNES, 1989; ABBAS; LICHTMAN; PORBER, 2000).

Uma das funções do CD4 e do CD8 é promover a adesão das células T, restritas pelo MHC às células apresentadoras de antígenos (APCs) ou às células alvos, em razão da sua afinidade específica para as moléculas do MHC. Rosenstein *et al.* (1988) e Webers (1993) mostraram que o CD4 e o CD8, expressos na superfície das respectivas células T, participam na adesão TCR/MHC, uma interação de baixa afinidade; aumentando a avidez dessa interação, funcionam como "co-receptores" dos

TCRs (FRAZER; CAPRA, 1999). Uma outra função do CD4 e CD8 é a participação nos eventos de transdução inicial dos sinais que ocorrem após o reconhecimento dos complexos peptídicos-MHC nas APCs pelas respectivas células T. Ambos os antígenos sinergizam-se com o complexo CD3/TCR na geração de sinais que conduzem para a ativação das células T. A região citoplasmática do CD4 e CD8 interage com p56^{lck}, uma tirosino quinase da família do src que pode fosforilar subunidades do CD3, pela existência de uma associação entre o CD3 com o complexo CD4. Desta forma, presume-se que o p56^{lck} pode fosforilar caudas complexas do TCR e desencadear a cascata de ativação na seleção tímica e a ativação das células T (VEILLETTE; BOOKMAN; HORAK *et al.*, 1988; BARBER; DASGUPTA, SCHLOSSMAN *et al.*, 1989; RUDD; BARBER; BURGESS *et al.*, 1991; WALLACE; PENNINGER; MAK, 1983; JANEWAY, 1992).

No sangue humano ou nos tecidos linfóides secundários, aproximadamente 70% das células T consistem em células CD4+CD8- (denominadas células CD4), enquanto 25% são de CD4-CD8+ (denominadas células CD8), ambas conhecidas como linfócitos positivos simples e são as que estão mais envolvidas nas respostas imunológicas. Do restante, 4% são linfócitos duplo negativo CD4-CD8-, que expressam uma forma alternativa de TCR com polipeptídios γ e δ . Podem produzir linfocinas, exibem ação citolítica, e, *in vitro*, algumas dessas células podem reconhecer antígenos não peptídicos derivados de micobactérias. Foram observados aumentos dessas células em pacientes com tuberculose ou outras infecções micobacterianas. E, finalmente, cerca de 1% das células encontradas fora do timo consiste de células duplo-positivas CD4+CD8+, cuja função é desconhecida (PARSLOW, 2000).

A diversidade funcional das células T foi demonstrada por análises de clones de células T *helper* para os padrões de secreção de citocinas. Em camundongos e humanos foram identificados dois grupos de clones T CD4. O grupo T_{H1}, que secreta IL-2 e IFN- γ , e o grupo T_{H2}, que produz IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. As células T_{H1} determinam funções associadas à citotoxicidade e às reações inflamatórias. As células

T_{H2} são mais eficazes na estimulação da proliferação e da produção de anticorpos pelas células B (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1999).

Linfócitos NK

Uma terceira classe de linfócitos que não expressa marcadores para células T e B, designados *Natural Killer* - NK, são grandes linfócitos (linfócitos grandes granulares - LGG) derivados da medula óssea. Apresentam numerosos grânulos citoplasmáticos, contendo perforinas, granzimas e proteoglicanas (como as células T_C). A exocitose desses grânulos pode lisar osmoticamente as células alvos e induzir a morte apoptótica pelas vias perforina/granzima B. A ausência de CD3 e presença de CD56 e CD16, ou ambos, são características atualmente empregadas como marcadores definitivos de células NK humanas, embora ambos os marcadores possam ser encontrados em uma minoria de linfócitos T (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1999; ABBAS; LICHTMAN; PORBER, 2000).

Células NK são uma subpopulação distinta de linfócitos que, sem sensibilização prévia e sem necessidade de restrição ao MHC podem matar células tumorais e células normais infectadas por vírus. O mecanismo pelo qual as células NK preferencialmente reconhecem e lisam alvos transformados, em vez de normais, não é bem claro (GREENBERG, 1994). Mas células tumorais que falham na expressão de pelo menos um alelo da classe I do MHC são mais efetivamente atacadas pelas células NK (SCHREIBER, 1999). Monócitos e principalmente as células NK são importantes células efetoras na morte de células tumorais pela citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC), *in vitro*. (ABDULLAH; GREENMAN; PIMENIDOU *et al.*, 1999) A atividade citotóxica das células NK pode ser aumentada *in vitro* e *in vivo* com linfocinas IL-2 e IFN, originando as células LAK (células matadoras ativadas por linfocinas). As células LAK matam as células tumorais resistentes para as células NK e não atingem as células normais, *in vitro*. Assim, a

atividade das células NK pode ser intensificada pelas respostas imunes de célula T. Portanto, células NK podem representar uma defesa inicial do hospedeiro contra o crescimento de células transformadas (GREENBERG, 1994 e SCHREIBER, 1999).

Monócitos/Macrófagos

Os monócitos são células produzidas na medula óssea e então liberadas para o sangue, onde correspondem a 1-6% das células sanguíneas nucleadas. Eles circulam no sangue por aproximadamente um dia, antes de passarem para dentro de um sítio permanente de residência em um tecido. Uma vez estabelecidos no tecido, os monócitos são chamados de macrófagos ou histiócitos (STITES, 1992).

O antígeno Mac-1 (CD11bCD18 ou $\alpha_M\beta_2$ Integrina ou Receptor de Complemento 3 ou CR3) é um marcador comumente usado para linhagem monócito/macrófago, mas ele não é restrito, pois é detectado em neutrófilos, células NK, linfócitos B-1 e células T CD8 ativadas e de memória (LEENEN; BRUIJN; VOERMAN *et al.*, 1994; LAI; ALAVERDI; MALTAIS *et al.*, 1998; MCKNIGHT; GORDON, 1998). O Mac-1 ou CR3 é um receptor que está envolvido em processos de adesão com diferentes ligantes. O CR3 medeia o reconhecimento de microorganismos opsonizados pela ligação do iC3b e C3b, interage com proteínas da matriz extracelular, tal como o fibrinogênio, e com ICAM-1 (CD54), molécula da superfície celular no endotélio inflamado, que neste caso está envolvido com o recrutamento de células mielomonocíticas em respostas a vários estímulos inflamatórios (LEENEN; BRUIJN; VOERMAN *et al.*, 1994).

Macrófagos são células importantes na imunidade como células apresentadoras de antígenos, para iniciar a resposta imune, e como células potencialmente efectoras, para mediar lise tumoral. Macrófagos residentes não são citolíticos para células tumorais *in vitro*, mas eles tornam-se citolíticos se ativados com fatores de ativação de macrófagos (MAF). As células T secretam o MAF após a

estimulação antígeno-específico; assim a participação do macrófago como célula efetora pode ser dependente de imunidade de célula T. Tal afirmação é suportada por estudos os quais mostram que macrófagos isolados de tumores imunogênicos sofrendo regressão exibem atividade tumoricida, enquanto macrófagos isolados de tumores que sofrem progressão e não são imunogênicos, geralmente não apresentam atividade citotóxica. Linfocinas de células T, com atividade MAF, inclui IFN- γ , TNF, IL-4 e GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) (GREENBERG, 1994).

Os macrófagos são células eficazes na destruição de células alteradas. Dados *in vitro* e *in vivo* mostram que macrófagos ativados lisam células cancerosas por meio da produção de Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α), pela liberação de espécies reativas tanto de oxigênio como de nitrogênio ou por citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC). Vários fatores aumentam o poder citotóxico dos macrófagos, como o IFN- γ (derivados de linfócitos T), componentes do BCG (*Bacillus Calmett-Guerin*) e do *C. parvum*, polímeros artificiais, endotoxinas de bactérias Gram-negativas ou produtos de alguns protozoários (*T. cruzi*, *T. gondii*) (BRASILEIRO FILHO, 1998).

Citocinas

As respostas imunes são mediadas por uma variedade de células e por moléculas solúveis, como as citocinas, que essas células secretam. As citocinas constituem um grupo extenso de moléculas representadas por proteínas, peptídeos ou glicoproteínas, responsáveis na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1999). São pequenas moléculas secretadas por uma determinada célula que alteram o seu próprio funcionamento ou o funcionamento de outras células. O efeito biológico depende da citocina, da quantidade secretada e da célula receptora envolvida, mas geralmente

estas moléculas efetuam ativação celular, divisão, apoptose ou movimento (PARKIN; COHEN, 2001).

Citocinas produzidas por linfócitos são também conhecidas como linfocinas, enquanto aquelas produzidas por monócitos ou macrófagos são chamadas monocinas (STITES, 1992). As linfocinas são grosseiramente divididas em categorias, as quais incluem as Interleucinas, os Interferons, os Fatores de Crescimento das Células B e de Diferenciação e outros fatores (HENRY, 1995). Os linfócitos T medeiam a imunidade celular e regulam a função das células B, produtoras de anticorpos, bem como a dos macrófagos e das células NK. O significado fisiológico dessas interações é freqüentemente evidente quando uma doença, genética ou adquirida, destrói seletivamente apenas um componente dessa “orquestra” afinada com precisão, como é observado na AIDS. Neste distúrbio, a destruição de um subgrupo das células T pelo HIV produz uma cascata de efeitos que eventualmente invalida quase todo o aparelho de defesa do hospedeiro (COTRAN; KUMAR & COLLINS, 2000).

HIV E O SISTEMA IMUNE

A primeira resposta específica para o HIV ocorre durante a viremia aguda com aparecimento de linfócitos T citotóxicos (TCD8), seguido pelo aparecimento de anticorpos anti-HIV, normalmente de 6 a 8 semanas após a exposição. Há baixa dos sintomas clínicos e decréscimo dos níveis virais no plasma com o aparecimento de uma resposta específica ao HIV. Um dos grandes paradoxos da infecção do HIV é a aparente inabilidade dos anticorpos para atenuar ou proteger contra a infecção. A determinação da extensão da supressão imune é principalmente baseada em avaliação da contagem de TCD4 (SLEASMAN; GOODENOW, 2003) e a evolução da infecção pelo HIV leva ao desenvolvimento de doenças oportunistas graves e letais, além de neoplasias. Apesar da alta potência que os medicamentos atuais oferecem, a falência terapêutica também ocorre. Essa falência é consequência da persistência e

mutagenicidade viral. Apesar de eficazes, muitos efeitos adversos têm sido relatados, além da intolerância a essas drogas, que os pacientes muitas vezes apresentam, contribuindo para a não aderência à medicação.

Sabemos que o objetivo da comunidade científica internacional em relação ao tratamento dos portadores de HIV/AIDS consiste em: redução da carga viral, prevenção e tratamento das infecções oportunistas, alívio dos sintomas, reconstituição do sistema imune e melhoria da qualidade de vida.

HOMEOPATIA

O sistema da homeopatia, a ciência baseada na lei da semelhança, foi criado por Samuel Christian Hahnemann (1755-1843). Hahnemann desenvolveu essa abordagem no decorrer de um período de cinquenta anos. Era um pensador progressista, um crítico mordaz da medicina da sua época. Abandonou a prática da medicina várias vezes antes da descoberta da homeopatia, especificamente porque não considerava ético o uso de doses múltiplas e muitas vezes tóxicas dos medicamentos, o método normal de tratamento. Hahnemann sugeriu, basicamente que uma droga atua de forma terapêutica quando produz em uma pessoa saudável, sintomas semelhantes aos de uma pessoa doente. Portanto, nasceu um sistema para o desenvolvimento científico da “escola da semelhança”, que orientaria a descoberta de outros medicamentos usados na homeopatia.

Vale-se, portanto, de premissas opostas da alopatia, a qual consiste na aplicação de recursos terapêuticos medicamentosos baseados no princípio dos contrários, como por exemplo o uso de analgésicos que cortam o ciclo bioquímico da dor, antagonistas que bloqueiam reações inflamatórias ou imunológicas, antibióticos que atuam eliminando ou inibindo a reprodução de bactérias, entre outros. O uso convencional da terapêutica alopática medicamentosa na prática médica - com sua ênfase dominante em antagonização, bloqueio, eliminação ou destruição do inimigo

(imagem particularmente usada no âmbito das doenças infecciosas, parasitárias ou de causa imunológica) - reflete-se na alusão a termos bélicos frequentemente relatados no jargão médico convencional (e.g. arsenal terapêutico) em diferentes culturas e idiomas. Cabe diferenciar claramente a alopatia dos demais recursos terapêuticos médicos - como cirurgia, psicoterapia, reposição de substâncias biológicas necessárias ao normal funcionamento do organismo, etc. - os quais integram o quadro das terapêuticas médicas sem que possam ser classificados como condutas alopáticas, mas sim como condutas médicas. Neste contexto, torna-se claro que o uso destas terapêuticas pode ser indicado em associação com o uso da terapêutica alopática ou homeopática. (OLIVEIRA, 1997).

A homeopatia é um sistema de tratamento que usa substâncias especialmente preparadas e altamente diluídas para colocar em ação os mecanismos de cura do próprio corpo, de forma abrangente. Utiliza uma série de substâncias derivadas de plantas, animais, minerais, substâncias químicas sintéticas ou drogas convencionais, todas em quantidades mínimas, usando um processo de preparação especial. Esse processo de preparação compreende a diluição em etapas com agitação entre elas (JONAS & JACOBS, 1996). Já que estimula a autocura, é uma das terapias suaves ou naturais e funciona dentro do processo natural do corpo, produzindo pouco ou nenhum efeito colateral. A meta da terapia homeopática é promover e orientar a reação de autocura inata do corpo. Não é o medicamento em si que cura a doença, mas a reação dos mecanismos de cura do corpo ao medicamento que leva à melhora.

No Brasil a homeopatia é reconhecida como especialidade médica desde 1980. Nessa década o Governo Federal reconheceu sua Farmacopéia colocando ao alcance de médicos e pacientes produtos de relativo baixo custo e baixa toxicidade.

O MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO CANOVA

O medicamento conhecido como Canova foi utilizado pela primeira vez há

50 anos, na Argentina, pelo então, estudante de medicina, Francisco Canova, quando este manipulava tinturas homeopáticas na tentativa de encontrar alívio para sua mãe que era portadora de câncer. Atualmente é manipulado pela farmácia homeopática “A Homeoterápica”, em Curitiba. A empresa “Canova do Brasil” está situada na Rua Doutor Faivre nº 93, Curitiba, Paraná, fone (0xx41) 3362-3969, a qual detém a patente internacional do medicamento e fornece dados necessários sobre o mesmo e seu uso (www.canovado brasil.com.br). O medicamento Canova representa um produto resultante da combinação de princípios ativos, a maioria obtidos de plantas medicinais. A extração e a seqüência de combinação de seus componentes é essencial ao processo de ação deste composto medicamentoso. O produto final, usado como imunomodulador, é um complexo homeopático (SATO et al, 2005) e, como tal, se caracteriza por utilizar técnicas farmacêuticas da homeopatia clássica no seu preparo, isto é, diluições sucessivas com dinamização. A solução final é aquosa, inodora e incolor, sendo o resultado de: *Aconitum napellus* (Ranunculaceae) 11dH, *Bryonia alba* (Cucurbitaceae) 18dH, *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) 19dH, *Arsenicum album* (Arsenious trioxide) 19dH, *Lachesis muta* (Viperidae) 18dH e menos de 1% (um por cento) de álcool etílico em água destilada (SATO et al, 2005). O medicamento é apresentado nas formas de gotas, inalante e intravenoso além de ser vendido somente sob prescrição médica.

Apesar de trabalhos prévios com o medicamento apresentarem resultados positivos, inclusive quando usado em doenças em que o sistema imune está deprimido (SASAKI, 2001), ainda há espaço para outros de estudos científicos que ampliem o conhecimento sobre esse medicamento. Contudo, o Canova parece incrementar a resposta imunológica do organismo em diversos estados patológicos (SATO et al, 2005). O medicamento não é tóxico e tão pouco mutagênico (SELIGMANN et al, 2003). Além do que, estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a resposta de ativação de macrófagos ocorre tanto em nível celular, quanto molecular; diminuindo significativamente a produção do TNF- α (PIEMONTE; BUCHI, 2002).

MODIFICADORES DA RESPOSTA BIOLÓGICA

As limitações observadas pelo emprego das terapêuticas convencionais como cirurgia, radio e quimioterapia, muitas vezes não permitem a total erradicação das doenças. Assim, outras alternativas têm sido propostas, como a terapia biológica, que leva em consideração os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro e que constitui o resultado de uma melhor compreensão dos mecanismos básicos da defesa (ROSEMBERG, 1993).

A terapia biológica descreve o uso de um grupo heterogêneo de agentes (citocinas recombinantes, fatores de crescimento e anticorpos monoclonais) que, ou são mediadores normais de mamíferos, ou conseguem efeitos positivos por mecanismos endógenos de defesa do hospedeiro. Esses agentes biológicos também têm sido chamados de “modificadores de resposta biológicas” (MRB) (SALMON; BERTINO, 1997).

Um agente pode ser classificado como modificador de resposta biológica se atuar através de pelo menos um dos seguintes mecanismos: a) aumento direto da resposta imune do hospedeiro, promovendo o aumento de número ou atividade das células efetoras, ou da produção de mediadores solúveis, como as citocinas; b) redução dos mecanismos supressores, promovendo desta forma, o aumento direto da resposta imune do hospedeiro ao tumor; c) aumento das defesas do hospedeiro através de seu efeito como mediador natural ou sintético das respostas imunes e d) modificação das características da membrana das células alteradas, de forma a aumentar sua imunogenicidade, alterar seus padrões de disseminação, ou torná-las mais suscetíveis à destruição por mecanismos ou por agentes citotóxicos (MITCHELL, 1988).

Na terapia biológica, tanto o ramo celular quanto o humoral da imunidade podem ser explorados. Nas defesas celulares incluem-se as várias células citotóxicas, como as NK, as células LAK, linfócitos infiltrantes de tumores (TIL) e linfócitos T citolíticos (T_C), bem como os macrófagos (SALMON; BERTINO, 1997).

Entre os agentes humorais com atividade citotóxica incluem-se as citocinas, tais como os interferons e interleucinas, bem como os anticorpos específicos. A maioria desses agentes humorais interage com células efetoras imunes específicas, de modo coordenado e sinérgico. Entre as citocinas utilizadas na terapia biológica temos o IFN- γ , que é uma citocina peptídica com propriedades antivirais, utilizado no tratamento de algumas neoplasias (algumas leucemias, linfoma e outros), mas que causa efeitos colaterais variados, desde febre e calafrios até arritmias cardíacas e disfunção hepáticas, e ainda não tem o tipo de efeito de amplo espectro, que foi inicialmente esperado. A infusão de células LAK causa relativamente poucos efeitos colaterais, a IL-2 induz consideráveis efeitos tóxicos. As vacinas baseadas em agentes bacterianos específicos ou extratos de bactérias podem ativar inespecificamente o sistema imune do hospedeiro. (SALMON; BERTINO, 1997). Embora o mecanismo de ação não esteja completamente esclarecido, existem evidências de que a citotoxicidade alcançada esteja relacionada com a produção endógena de IFN- γ , TNF- α e IL-2 (FIELDS; KOELLER, 1993).

BOTSWANA, ÁFRICA

Situação Geográfica

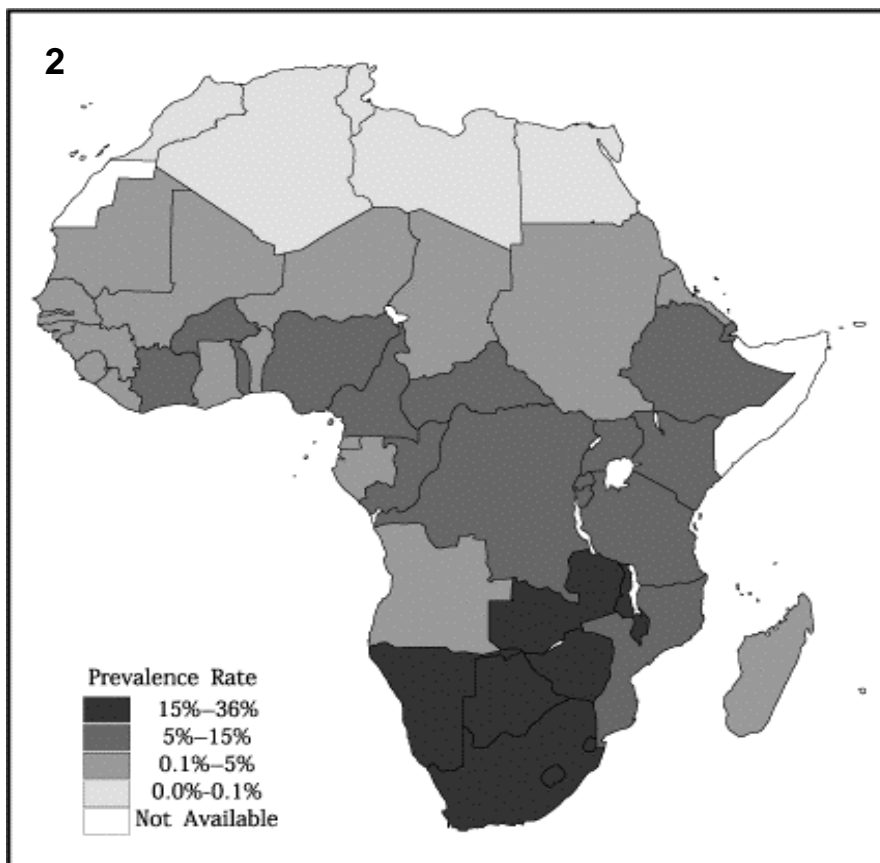
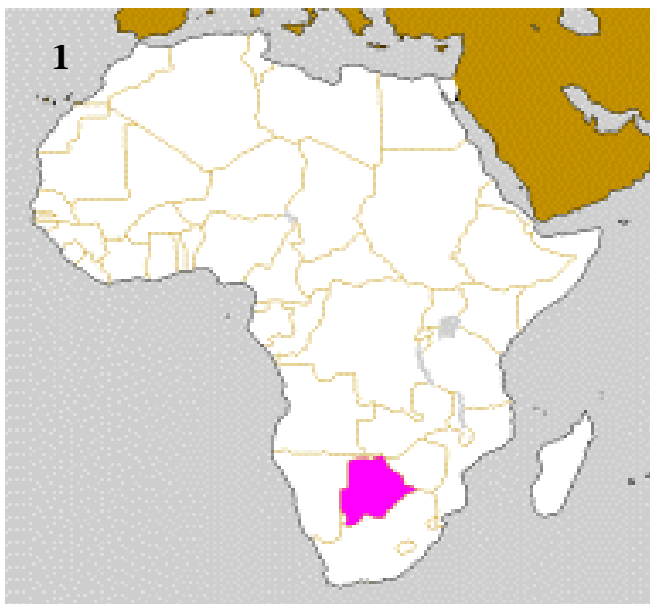
Sem saída para o mar, Botswana está localizado em uma região semi-árida no sul da África (fig.1). A maior parte de seu território fica no deserto de Kalahari e está sujeita a secas que podem durar anos. A importância da chuva é tão grande no país que a moeda nacional se chama Pula (chuva, em língua setswana). Graças à abundância de animais selvagens e à boa administração das reservas de proteção da natureza, o Estado atrai muitos turistas. É rico em níquel, cobre e diamante - do qual é o quarto produtor mundial. (ALMANAQUE ABRIL, 1999).

O HIV no contexto local

Atualmente, o HIV e a AIDS se tornaram uma pandemia global sem tratamento efetivo (ROZMAN et al, 1996), resultando em um sério problema de saúde pública em vários países do mundo. A UNAIDS (Programa de HIV/AIDS da ONU) estimou que no ano de 2002, 3,1 milhões de pessoas morreram de AIDS. O impacto social do grande número de pessoas infectadas é de grande significância. Apesar da África sub-saariana ser o lar de apenas 10% da população mundial, a região tinha no final de 2003 aproximadamente 25 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS, conferindo-lhe o triste título de região com a maior prevalência de HIV/AIDS do mundo. O HIV/AIDS tornou-se a principal causa de morte na África, sendo responsável por uma em cada cinco mortes (20%), o que é duas vezes mais do que a causada por infecções respiratórias, a segunda causa de morte no continente (ANABWANI; NAVARIO, 2005).

O presidente da República de Botswana declarou o HIV/AIDS uma emergência nacional. Apesar da infecção ser desconhecida em Botswana até os meados da década de 80, este país relativamente próspero da África sub-saariana detém uma das mais altas, senão a mais alta, prevalência do HIV/AIDS, no mundo (ANABWANI; NAVARIO, 2005) (fig.2). O grande número de pessoas infectadas em Botswana fez surgir o inusitado concurso de Miss HIV que anualmente, desde 2003, elege dentre 12 competidoras, todas portadoras do HIV, a “Miss HIV Livre do Estigma” com o intuito de desestigmatizar os portadores e difundir a idéia que a vida continua mesmo com o diagnóstico da infecção e que o povo deve buscar tratamento (AGÊNCIA REUTERS, 2005).

O tratamento desses indivíduos tem um custo extraordinário para qualquer país atingido pela epidemia. Além disso a manutenção do tratamento é difícil, requerendo controles de laboratório e não sendo totalmente eficiente no controle das doenças oportunistas.



Adult HIV/AIDS rates in Africa (adapted from UNAIDS, 2000)

Figuras 1 e 2: Mapas do continente africano, mostrando a localização de Botswana na fig. 1 e locais de maior incidência de AIDS na fig. 2.

O sistema de saúde de Botswana

Botswana é dividido em distritos sanitários, que abrangem as principais *villages* do país. A maioria das cidades e vilas são atendidas por um sistema de *home care*, com pessoas trabalhando principalmente como voluntárias. Havia poucos hospitais em todo o país e nenhum curso universitário na área da saúde. A maioria dos cursos eram da área tecnológica, principalmente por causa dos diamantes. A precariedade da formação de profissionais da área da saúde se refletia na dificuldade de aquisição dos mais simples medicamentos. Poucas farmácias na capital e nenhuma em Gabane. Tanto os medicamentos de uso contínuo, como as cestas básicas balanceadas para os soropositivos eram distribuídas pelo Governo através dos *home care*. O *home care* era interligado à uma rede nacional de grupos que, inclusive, recebem ajuda internacional através de organizações como BONEPWA (*Botswana Network for People With AIDS*) e BONASSO (*Botswana Network of AIDS Service Organizations*). O *Gabane Home Based Care* funcionava em um barracão, contava com o trabalho voluntário de habitantes locais e possuía duas Vans, uma doada pela Noruega e outra pela Nova Zelândia.



Figuras 3 e 4: vista parcial de Gabane, vila onde ocorreu o estudo na fig. 3 e propriedade de Mr. Murad, local onde se situava o *Home Care*, na fig. 4.



Figuras 5 e 6: na fig. 5 vê-se uma habitação típica da região sul africana e na fig. 6 uma visão geral do interior do *Home Care*, onde os pacientes eram avaliados.

O medicamento Canova: uma nova perspectiva

O medicamento homeopático Canova vem sendo comercializado nos últimos 50 anos e, como a maioria dos produtos que utilizam técnicas homeopáticas no seu preparo, tem sua utilização baseada apenas em evidências clínicas. Resultados prévios com o medicamento homeopático Canova, mais relatos clínicos, sugeriam que esse medicamento poderia ser útil na redução da carga viral, diminuição de doenças oportunistas e na proteção contra os efeitos colaterais das medicações convencionais. Resultados prévios com o Canova em Botswana demonstraram que essa medicação poderia ser uma alternativa para os países africanos e esse trabalho pretendeu demonstrar os resultados clínicos do uso desse medicamento em pacientes de Botswana, com o acompanhamento de médicos indicados pelo Ministério da Saúde de lá. A rápida recuperação na qualidade de vida, o custo reduzido e a possibilidade dos pacientes retornarem ao trabalho, tornam o Canova uma melhor escolha para o tratamento do HIV/AIDS na África.

THE MEASUREMENT GROUP

The measurement group é um grupo consultor situado em Los Angeles, Califórnia, Estados Unidos da América (EUA), especializado em avaliação para programas sociais e de saúde, pesquisa aplicada, coleta de dados, bem como no desenvolvimento de métodos e meios de compilação de dados a fim de mensurar o sucesso de programas.

Os formulários de avaliação, bem como os outros instrumentais disponíveis, têm sido utilizados nos EUA em estudos de avaliação tanto em nível federal quanto local e são resultados da experiência do *The Measurement Group* em mais de 50 trabalhos em todo o país. Tais ferramentas podem ser utilizadas para avaliação de HIV/AIDS, serviços humanos, abuso de substâncias e programas de saúde (www.themeasurementgroup.com).

JUSTIFICATIVA

No final de 2001 elaborou-se um grande projeto, apresentado ao Paraná Tecnologia para compra de equipamentos e reagentes, tornando-nos mais independentes. Projeto aprovado, recursos liberado durante 2002, reagentes adquiridos, equipamentos instalados para uso de toda a comunidade científica. Equipamentos para uso de qualquer pesquisador de qualquer unidade de pesquisa do Estado do Paraná.

Nas revistas científicas encontram-se conclusões paradoxais sobre a homeopatia. Tema polêmico que, de maneira geral, não agrada às crenças estabelecidas e gera controvérsias, é frequentemente rotulada como terapia alternativa, contudo não o é, pois trata-se de especialidade médica desde 1980, reconhecida pela Associação Médica do Brasil. Mesmo assim, ainda é considerada por muitos como tal. Revisões sistemáticas tem mostrado que a homeopatia é de fato uma opção de tratamento segura e o fato é que, independente da discussão acadêmica, as pessoas portadoras de doenças com mau prognóstico, como câncer e AIDS, em número cada vez maior utilizam terapias coadjuvantes menos agressivas e que lhes permitam suportar melhor o tratamento convencional. O HIV é um retrovírus que atua diretamente no sistema imunológico, ficando muitas vezes latente. Muitos dos pacientes acabam por apresentar resistência à quase todas as drogas utilizadas. Trabalhos prévios com o Canova sugerem que o tratamento em pacientes com HIV/AIDS pode apresentar efeitos positivos (SASAKI, 2001). Portanto, é de fundamental importância estudos voltados diretamente aos pacientes, permitindo, talvez, que se obtenham respostas, possibilitando aos pacientes HIV/AIDS viverem mais plenamente, melhorando a qualidade de vida.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estudar os efeitos do composto homeopático Canova em pacientes de Botswana, África, portadores de HIV/AIDS, com acompanhamento médico e coletar dados para avaliação de qualidade de vida segundo o instrumental desenvolvido por *The Measurement Group*, que é específico para avaliação de HIV/AIDS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Antes, após 01 e 18 meses do uso do medicamento CANOVA:

- Avaliar a qualidade de vida segundo o instrumental desenvolvido por *The Measurement Group*, que é específico para avaliação de HIV/AIDS.
- Correlacionar os dados obtidos nas avaliações clínicas com os resultados prévios já obtidos pelo Laboratório de Células Neoplásicas e Inflamatórias.
- Formular hipóteses que justifiquem os resultados encontrados.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAS

Local de avaliação

O medicamento foi apresentado às autoridades do Ministério da Saúde de Botswana em 2001. No final de 2003, iniciou-se o estudo prospectivo observacional não controlado de pacientes HIV/AIDS+ através do *Home Based Care Centre* de *Gabane* (o “g” tem som de “r” na língua setswana, logo pronuncia-se “rabane”), uma *village* perto de *Gaborone* (pronuncia-se “raborone”), a capital do país, que serve de cidade-dormitório. Esse trabalho havia sido previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, sob o número SCB-UFPR-008/03. O Departamento de Saúde do Ministério da Saúde de Botswana indicou essa unidade e tem acompanhado todo o projeto.

Pacientes e grupos

Foi acompanhada a evolução longitudinal dos pacientes que iniciaram o tratamento com o medicamento Canova. A amostra foi heterogênea, constituída de pacientes em diversos estágios da doença.

Ao todo 65 pessoas foram encaminhadas pelo *Gabane Home Based Care* para inclusão no programa. No momento em que os pacientes chegavam ao *home care*, recebiam informações sobre o medicamento Canova em inglês (língua oficial) e setswana (língua nativa). Esses indivíduos foram entrevistados para verificar se os mesmos se encaixavam nos critérios de inclusão e, portanto, poderiam ser elegíveis

como pacientes. Os critérios de inclusão abrangiam a apresentação de registros médicos que comprovassem o status de soropositividade para o HIV, bem como a condição dos mesmos não estarem em uso de outras terapêuticas, além de terem idade entre 15 e 55 anos por ocasião do estudo. Dos 65, 56 pessoas preencheram os critérios e após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido, em duas vias, foram incluídos no programa. Ao final de um mês (T 01), 44 pacientes com idades entre 17 e 54 anos (média \pm desvio padrão: 36,44 \pm 9,24 anos), completaram na íntegra o programa para o primeiro mês. Entre eles, 14 eram homens e 30 mulheres. Para fins estatísticos os pacientes foram divididos em dois grupos: Severamente Doentes (SD), abrangendo aqueles com dificuldades de locomoção e/ou cachexia, e Não Severamente Doentes (NSD) que reunia os demais pacientes em estado de saúde não tanto comprometido.

	T 00			T 01			T 18		
	SD	NSD	Total	SD	NSD	Total	SD	NSD	Total
Masculino	5	9	14	5	9	14	3	4	7
Feminino	7	23	30	7	23	30	3	18	21
Total	12	32	44	12	32	44	6	22	28

TABELA 01: DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR SEXO, GRUPO E TEMPO DE TRATAMENTO.

Sangue periférico

Foi coletado sangue periférico dos pacientes nos seguintes tempos: antes do início e após 01 mês de tratamento. O sangue foi fixado com paraformaldeído 8% e glutaraldeído 0,5%, centrifugado, coletado o soro em alíquotas para se estudar as citocinas e coletados os leucócitos para as análises celulares.

AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO

Os pacientes foram avaliados *in loco* imediatamente antes do início (T 00) e ao final dos períodos de 01 (T 01) e dezoito meses (T 18) de tratamento com Canova através do formulário 17 do *The Measurement Group*, o qual é específico para avaliar

qualidade de vida na infecção pelo HIV e na AIDS. No decurso do primeiro mês, os pacientes também foram avaliados clinicamente, através de anamnese e exame físico, em média, semanalmente. Contudo, aqueles que estavam em piores condições eram acompanhados em períodos de tempo menores. Esse cuidado visava basicamente, além do acompanhamento da evolução do paciente, suprir uma segunda fonte de dados, servindo de controle interno do formulário 17, já que as informações deste foram comparadas com aquelas, a fim de garantir a exclusão de um eventual erro de preenchimento dos questionários. A grande maioria dos pacientes recebeu a medicação apenas na forma de gotas sublingual e uns poucos receberam ambas as formas, oral e inalante. Como muitos dos pacientes estavam severamente acometidos de AIDS (tanto que na terça-feira em que começamos o estudo, soubemos que estavam “encomendados cinco funerais” para o sábado), no estudo prospectivo, os pacientes foram divididos em dois grupos: SD e NSD. O formulário 17 compila as informações subjetivas fornecidas pelo paciente. Esse fato deve ser ressaltado, pois a pontuação obtida reflete como os próprios pacientes estavam se sentindo. Essa análise subjetiva foi sempre confirmada pela avaliação clínica, que provê dados objetivos. Contudo, o questionário não foi aplicado a população “normal” e os resultados, tão pouco, foram comparados aos de uma amostra controle. O objetivo foi analisar a evolução ao longo do tempo de cada paciente, servindo o indivíduo, em sua avaliação inicial, como próprio controle.

No início havia dúvidas sobre a viabilidade de se realizar uma nova avaliação com os pacientes após um período relativamente longo de um ano e meio (T 18). Entretanto, para a nossa agradável surpresa, 29 indivíduos, 7 homens e 21 mulheres com idades entre 18 e 56 anos ($36,88 \pm 9,16$) puderam comparecer a essa última avaliação.

TRATAMENTO COM CANOVA

O medicamento Canova é produzido nas formas de gotas, inalante e injetável, contudo esta última forma não é utilizada no tratamento do HIV/AIDS. Conseqüentemente, no tratamento dos pacientes só foram utilizadas as formas gotas e inalantes, sendo esta última empregada apenas para os pacientes do grupo SD. Os pacientes do grupo NSD foram tratados com 05 gotas sublinguais, seis vezes ao dia, enquanto aqueles em pior estado, os do grupo SD, foram submetidos a 05 minutos de inalação com o Canova, 03 vezes ao dia, além da mesma posologia de gotas.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Células do sangue periférico dos pacientes foram coletadas nos T 00 e T 01 e fixadas segundo protocolo de fixação de longo prazo, fornecido gentilmente pelo grupo do Prof. Dr. Wanderley de Souza. Tal protocolo consiste em fixação em glutaraldeído 0,5%, paraformaldeído 8% em tampão cacodilato de sódio pH 8,0; 0,1 M. Após essa etapa, as células foram aderidas a lamínulas de vidro, lavadas no mesmo tampão e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, diluído no mesmo tampão, durante 30 minutos, no escuro e à temperatura ambiente. Lavadas em tampão, desidratadas em série crescente de álcool 50%, 70%, 90% e 100%, de 1 a 2 minutos cada. Desidratadas em ponto crítico de CO₂, metalizadas em ouro e observadas no Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol JSM – 6360 LV, do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos através do formulário 17 para os tempos T 00 e T 01 foram confrontados com as avaliações clínicas, com o intuito de verificar possíveis discrepâncias oriundas de má coleta ou preenchimento dos dados. Uma vez checadas as informações, as respostas qualitativas de 05 perguntas, versando sobre a

propriocepção de dor, apetite, capacidade de realização de pequenos esforços e comparecimento às obrigações diárias, foram analisadas através do método do Qui-quadrado a fim de se determinar existência de diferenças significativas para os grupos em decorrência do tratamento.

Uma vez verificado que havia diferenças antes e após o tratamento, os dados foram todos parametrizados em uma escala de escores de 0 a 10, respectivamente o pior e o melhor estado possível para cada atributo. Esses escores foram considerados tanto em seus subconjuntos, representando itens importantes para a mensuração da qualidade de vida, quanto na totalidade do questionário, originando a pontuação total atingida pelo entrevistado. A soma final tem correspondência direta com o nível de qualidade de vida vivenciado nas quatro semanas anteriores a avaliação.

Os escores obtidos foram submetidos ao teste de Análise de Variância (ANOVA) com classificação cruzada e delineamento inteiramente ao acaso, no esquema fatorial 2x3 e, quando necessário para a realização de comparação entre as médias, o ANOVA foi complementado com o teste de Tukey, onde a diferença mínima significativa (d.m.s.) foi calculada a partir da seguinte equação:

$$d.m.s. = q\sqrt{QMR/m}$$

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) e o nível de significância estatístico estabelecido em 5% (* $p < 0,05$) ou 1% (** $p < 0,01$).

RESULTADOS

QUALIDADE DE VIDA

Os pacientes atualmente estão sendo acompanhados por um homeopata de Botswana, por enfermeiras e voluntários. Na época do estudo, além desses, os pacientes também eram acompanhados pela equipe do Canova, juntamente com estudantes de pós-graduação e graduação da UFPR.

Alguns dados de interesse geral foram tabulados e transformados em gráficos, para melhor expressar a evolução da qualidade de vida: dores em geral, capacidades de realizar pequenos esforços, como caminhar, cozinhar, limpar a casa, pegar “kombi” (transporte coletivo), energia para ir trabalhar e a capacidade de obter energia, o apetite.

Como já comentado, o formulário 17 avalia a qualidade de vida através de questões que versam sobre percepção da saúde geral, sentimento de dor, apetite, capacidade de realizar atividades de alta, média e baixa intensidade, comparecimento ao trabalho, escola e outras obrigações diárias, bem como outros parâmetros. O questionário resulta em uma série de escores que no conjunto fornecem um valor único, que reflete a qualidade de vida do entrevistado.

Apesar de todos os quesitos avaliados terem demonstrado diferenças importantes em relação aos períodos pré e intra-tratamento, concentramos a discussão dos resultados naqueles provenientes dos grupos de questões que avaliavam a sensação geral de dor, o apetite, a capacidade de realização de pequenos esforços e o absenteísmo, uma vez que esses parâmetros fornecem uma melhor percepção de como vai a qualidade de vida de uma pessoa. Também foi considerado o resultado proveniente do questionário como um todo.

Os pacientes em ambos os grupos relataram menos dor (gráfico 01) e apetite

aumentado (gráfico 02) após o início do tratamento. A capacidade de realização de pequenos esforços, como subir alguns degraus de uma escada, caminhar em um pequeno aclave, alimentar-se, fazer sozinho a sua higiene ou vestir-se foi significativamente melhorada se comparada à condição inicial (gráfico 03) além do que os índices de absenteísmo foram extremamente reduzidos (gráfico 04). Alguns pacientes relataram inclusive que conseguiram emprego.

Todas as variáveis sofreram alterações positivas após o início de uso do Canova (gráficos 01, 02, 03 e 04) para os dois grupos. Não foram apenas os pacientes do grupo NSD que se beneficiaram do tratamento (gráfico 05 e 06), mas também aqueles alocados no grupo SD alcançaram melhores escores em cada parâmetro avaliado (gráfico 05 e 07). Cabe aqui a lembrança que no grupo SD estavam aqueles pacientes em piores condições, muitos já caquéticos e por conseguinte com as piores avaliações iniciais.

Outro resultado importante é proveniente da última avaliação, T 18, pois mostra que a manutenção do tratamento com o Canova manteve as melhoras obtidas já no primeiro mês (gráficos de 01 a 07).

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

O principal resultado dos estudos realizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi a observação de um tipo celular que não ocorre antes do início do tratamento com o Canova, T 00 (Fig. 7 a 12). Esse novo tipo celular só foi observado nos materiais provenientes da coleta realizada após um mês de tratamento, T 01 (Fig. 13 a 15).

Outro resultado dramático é a observação, tanto em T 00 quanto em T 01, de células com morfologia de linfócitos sendo destruídas pelo brotamento de novos vírus (Fig. 8 a 13 e Fig. 15 e 16).

Sensação de Dor

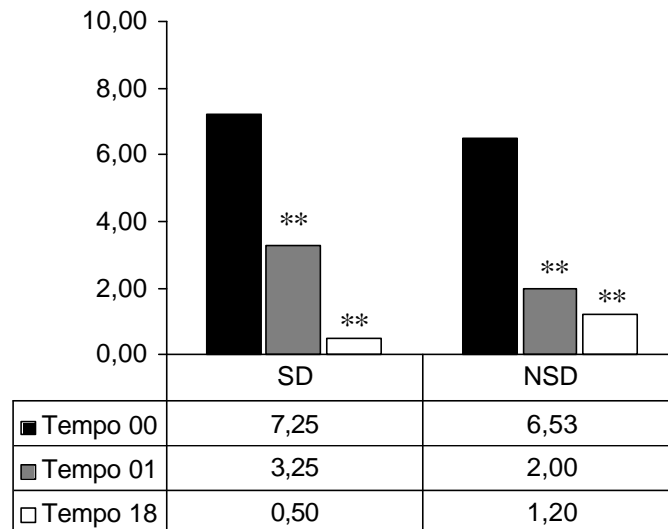


Gráfico 1: Acompanhado de tabela, mostra o nível de dor relatado pelos pacientes imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. SD = grupo de pacientes severamente doentes; NSD = grupo de pacientes não severamente doentes. A ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias foi realizado. ** = $p < 0,01$.

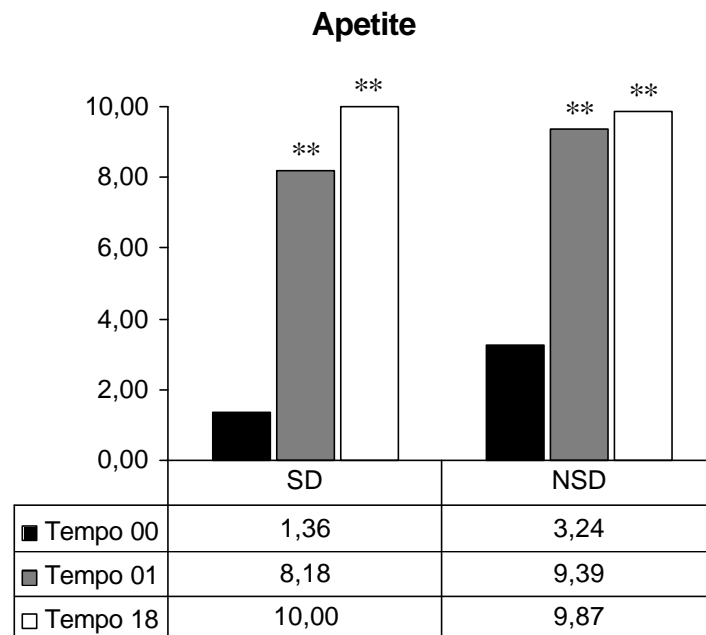


Gráfico 2: Acompanhado de tabela, mostra o nível de apetite relatado pelos pacientes imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. SD = grupo de pacientes severamente doentes; NSD = grupo de pacientes não severamente doentes. A ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias foi realizado. ** = $p < 0,01$.

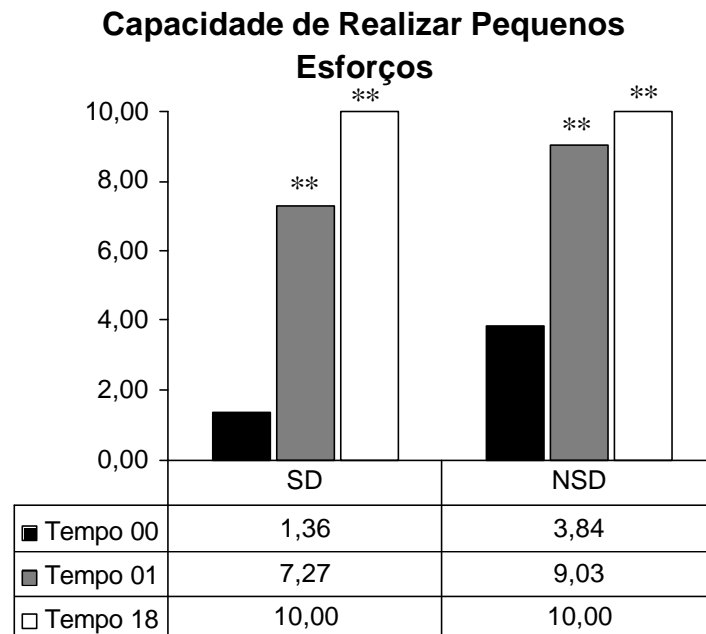


Gráfico 3: Acompanhado de tabela, mostra a capacidade de realização de pequenos esforços relatada pelos pacientes imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. SD = grupo de pacientes severamente doentes; NSD = grupo de pacientes não severamente doentes. A ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias foi realizado. ** = $p < 0,01$.

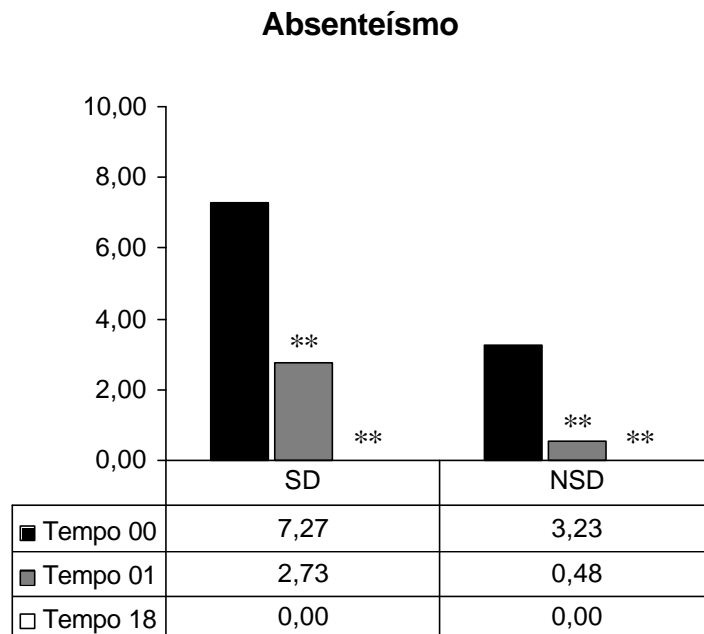


Gráfico 4: Acompanhado de tabela, mostra o nível de absenteísmo relatado pelos pacientes imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. SD = grupo de pacientes severamente doentes; NSD = grupo de pacientes não severamente doentes. A ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias foi realizado. ** = $p < 0,01$.

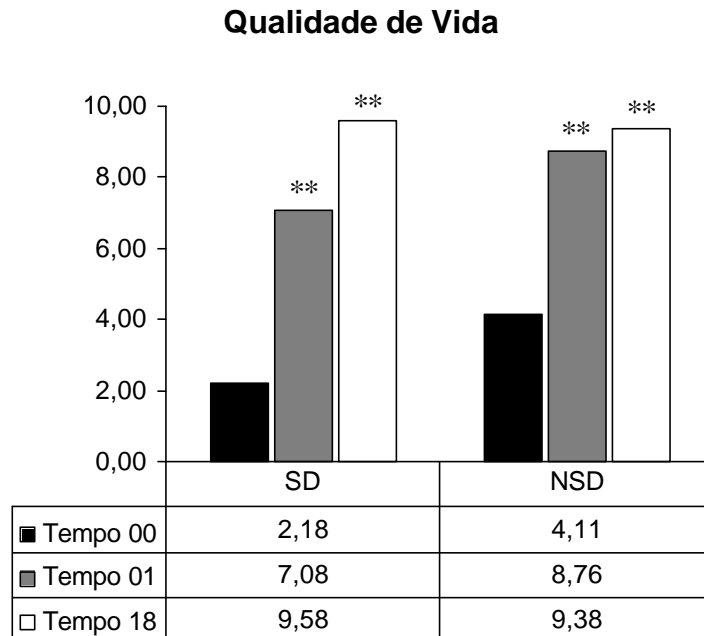


Gráfico 5: Acompanhado de tabela, mostra o nível de qualidade de vida dos pacientes imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. SD = grupo de pacientes severamente doentes; NSD = grupo de pacientes não severamente doentes. A ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias foi realizado. ** = $p < 0,01$.

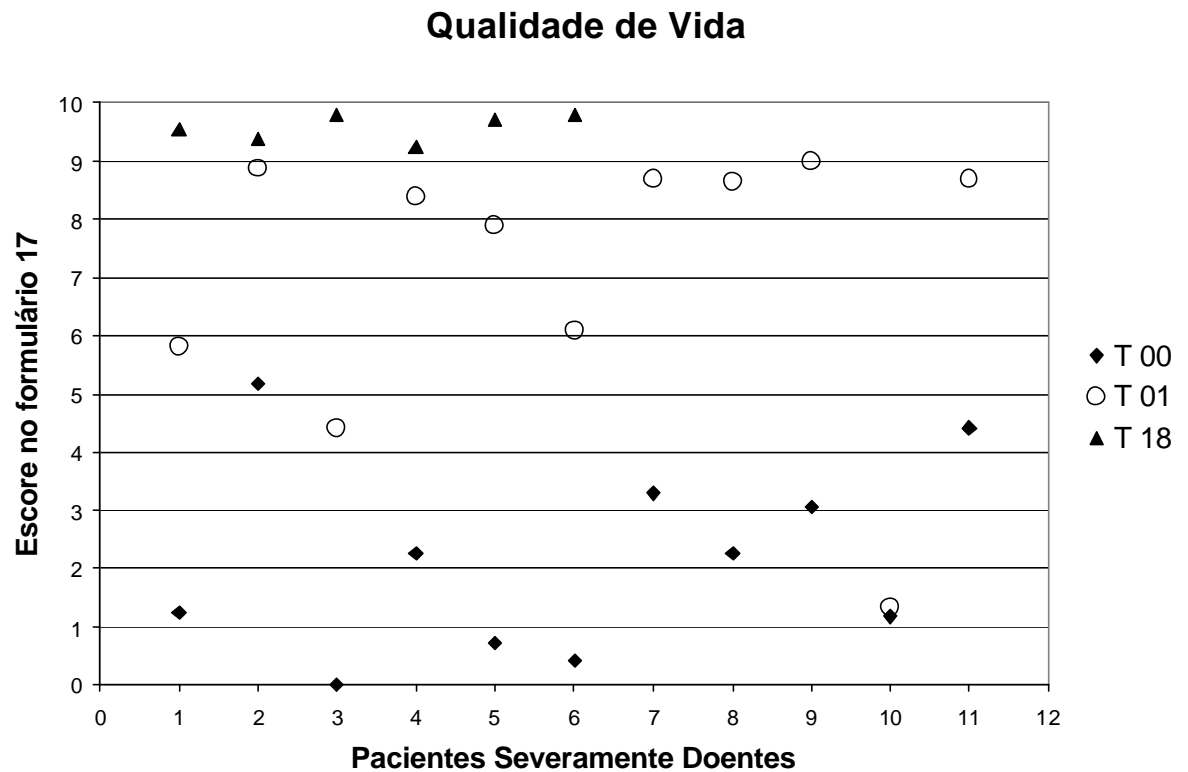


Gráfico 6: Mostra o nível de qualidade de vida de cada paciente do grupo Severamente Doente apurado através do questionário 17 do *The Measurement Group* imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. Nessa avaliação 0 (zero) é a pontuação mais baixa, significando a pior condição em termos de qualidade de vida e 10 (dez) é a mais alta, correspondendo a melhor qualidade de vida.

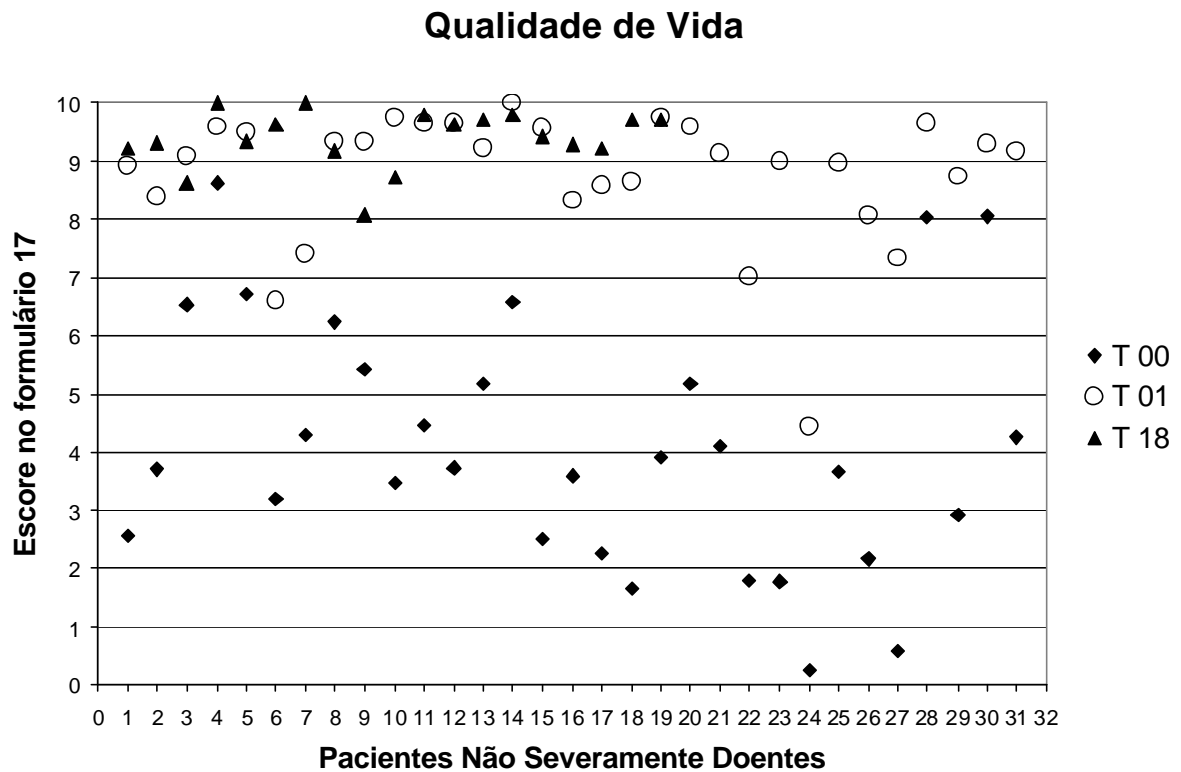
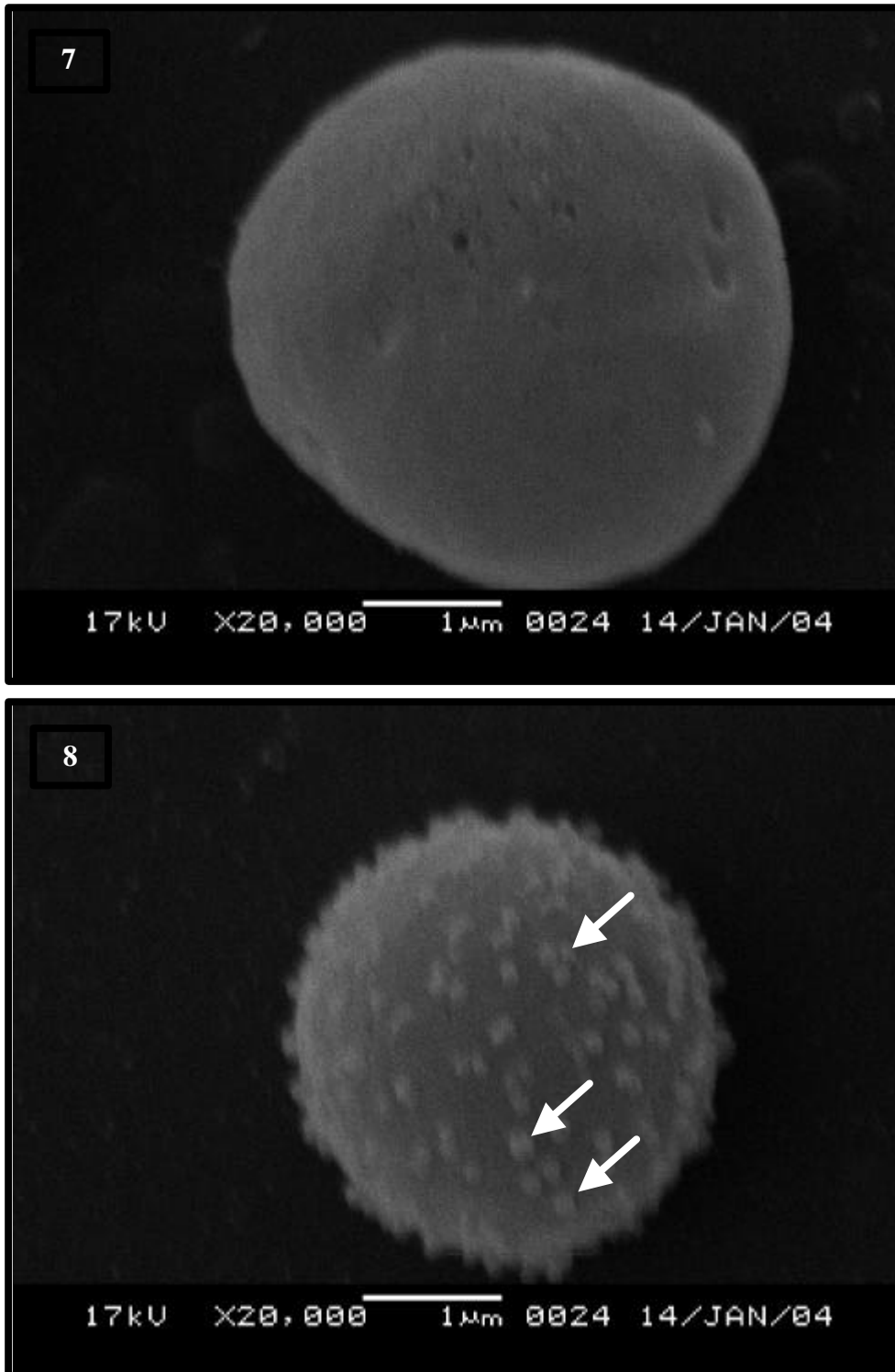
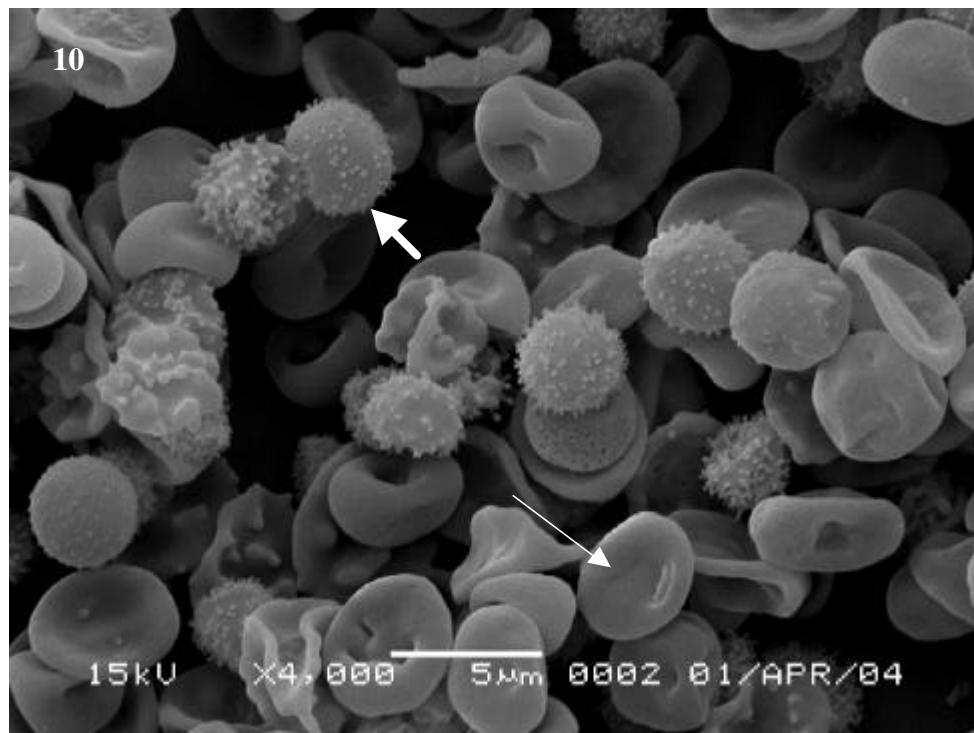
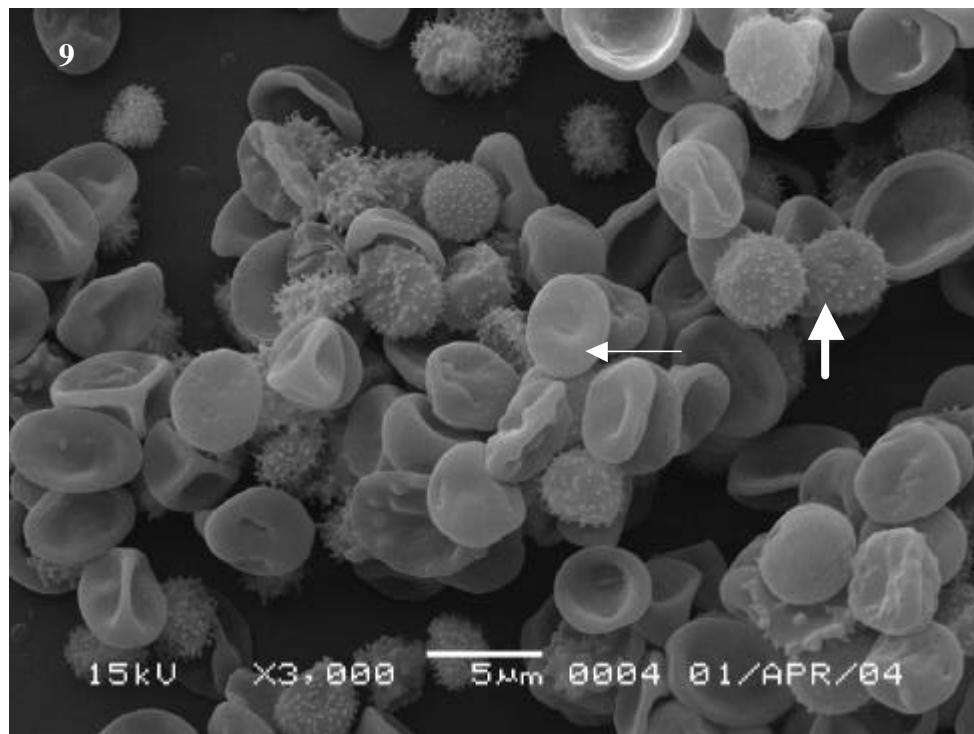


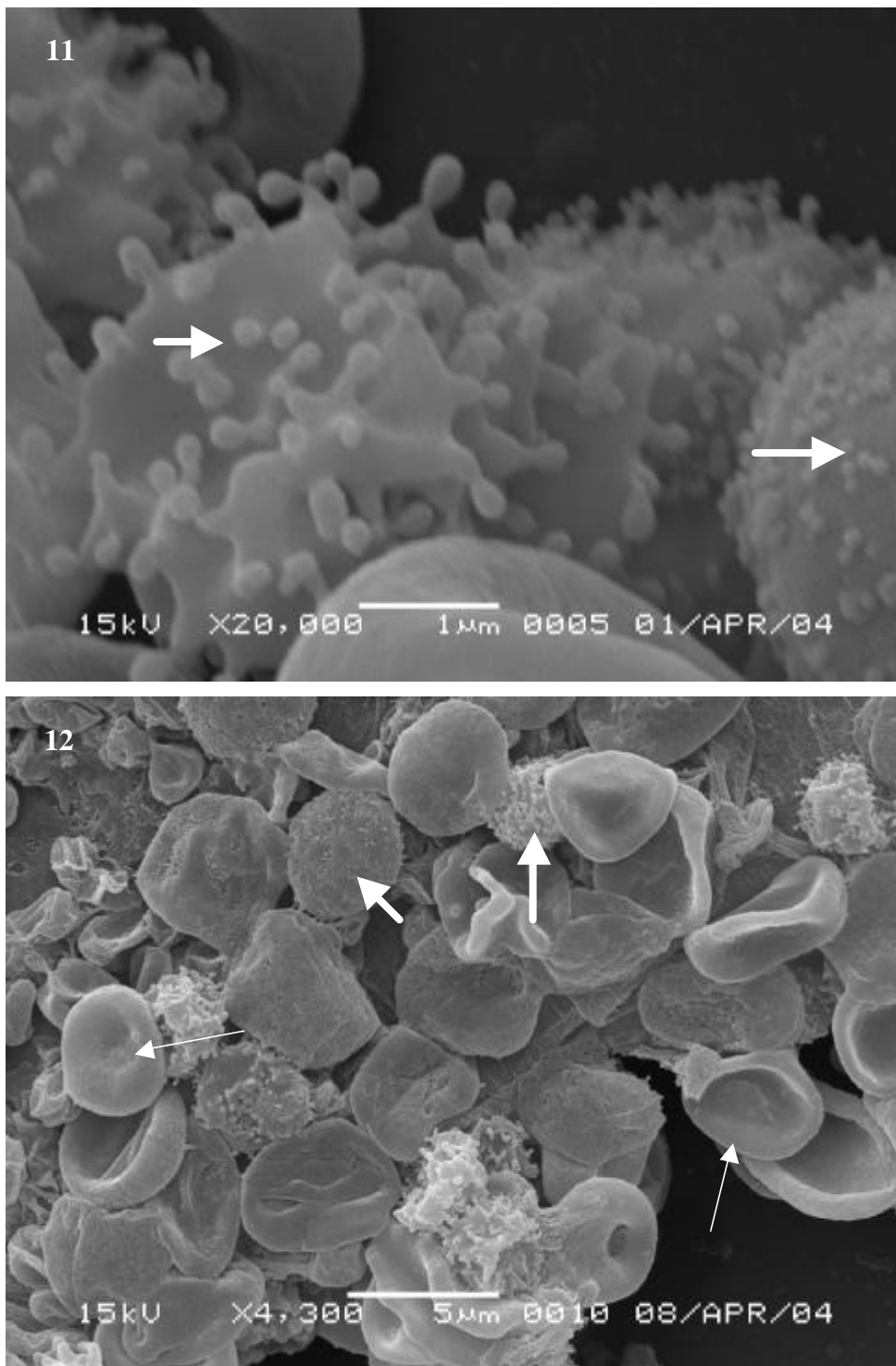
Gráfico 7: Mostra o nível de qualidade de vida de cada paciente do grupo Não Severamente Doente apurado através do questionário 17 do *The Measurement Group* imediatamente antes (T 00), após um (T 01) e dezoito (T 18) meses de tratamento com Canova. Nessa avaliação 0 (zero) é a pontuação mais baixa, significando a pior condição em termos de qualidade de vida e 10 (dez) é a mais alta, correspondendo a melhor qualidade de vida.



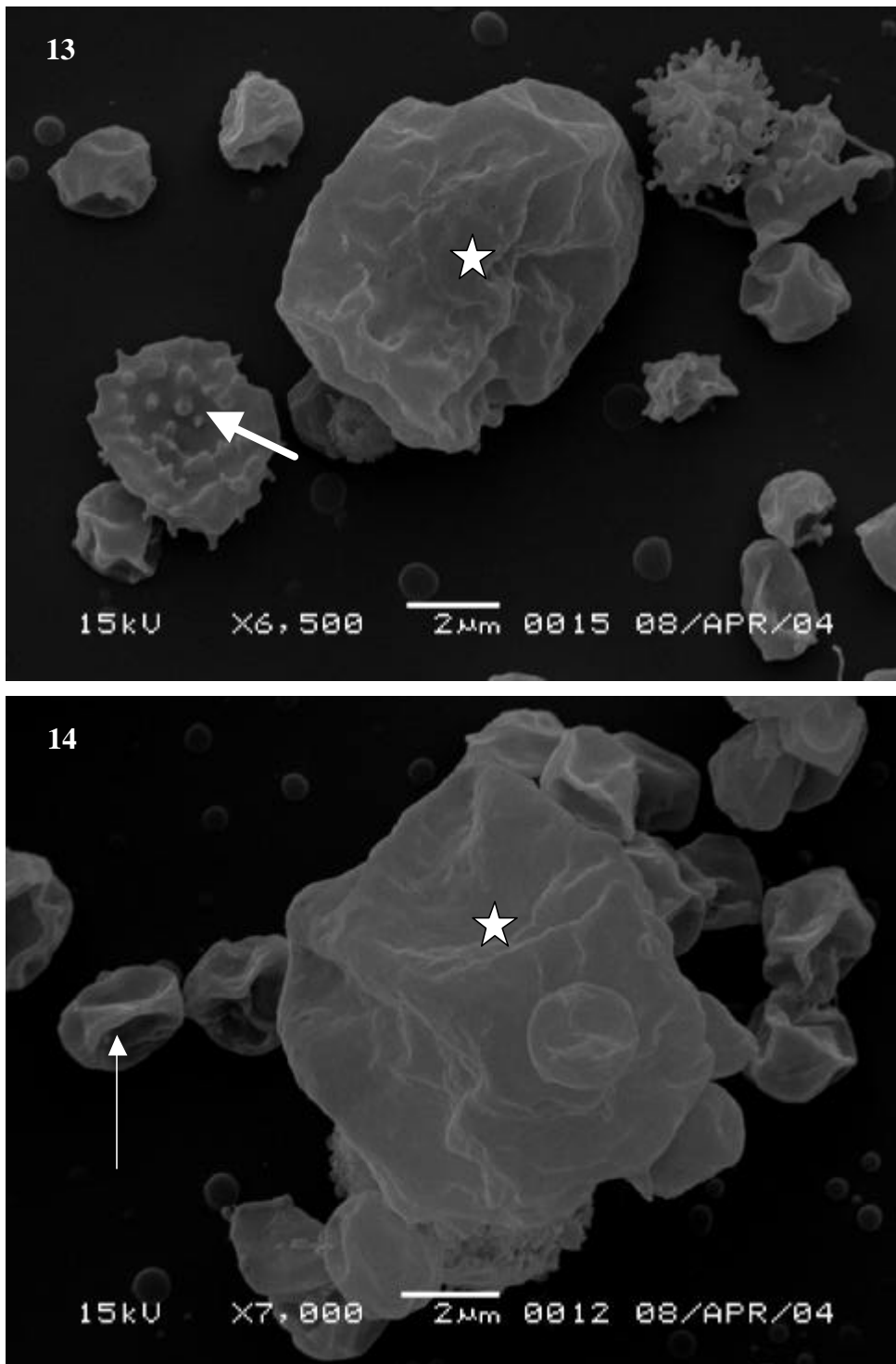
Figuras 7 e 8: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura. Células de pacientes em T 00. Dois linfócitos, na imagem 7 com a superfície celular normal e na imagem 8 com aparente brotamento de vírus (setas).



Figuras 9 e 10: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura. Vista geral do sangue periférico de pacientes em T 00, com hemáceas (seta estreita) e linfócitos, mostrando brotamento de vírus na superfície (seta larga).

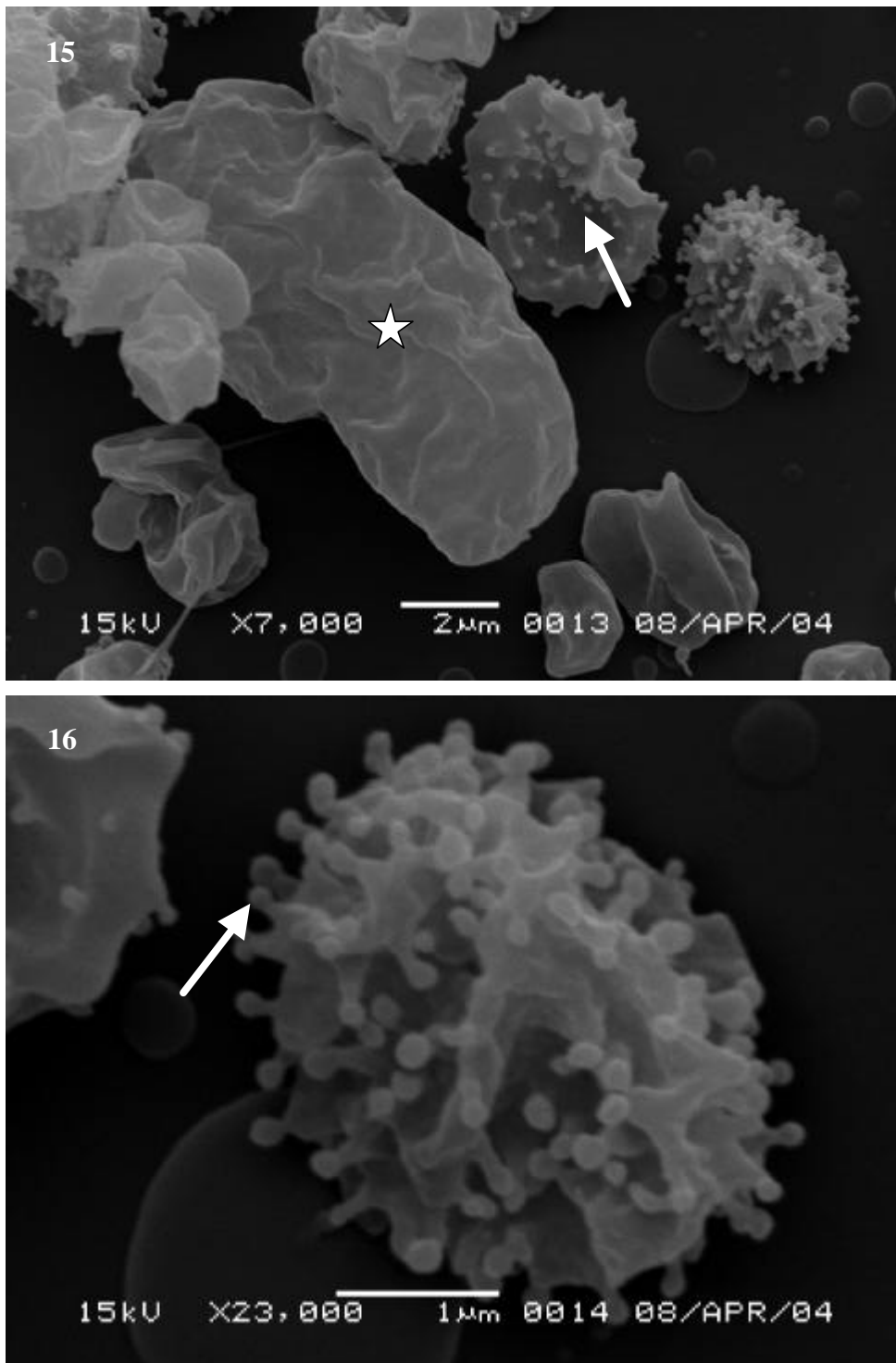


Figuras 11 e 12: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura. Fig. 11, imagem aumentada de linfócito com projeções por onde brotam os vírus. Fig. 12, vista geral do sangue periférico de pacientes em T 00, com hemáceas (seta estreita) e linfócitos, mostrando brotamento de vírus na superfície (seta larga).



Figuras 13 e 14: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Vista geral do sangue periférico de pacientes em T 01, com hemáceas (seta estreita), linfócitos, mostrando brotamento de vírus na superfície (seta larga) e, principalmente, células gigantes com aspecto de ativadas (estrela).



Figuras 15 e 16: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Vista geral do sangue periférico de pacientes em T 01, com linfócitos, mostrando brotamento de vírus na superfície (seta larga) e, principalmente, células gigantes com aspecto de ativadas (estrela).

DISCUSSÃO

Tanto as respostas clínicas quanto os resultados em relação à qualidade de vida obtidos nesse estudo estão em consonância com achados anteriores de outros trabalhos com o Canova. Já se sabe que este imunomodulador homeopático atua nos macrófagos (SASAKI et al, 2001; SATO et al, 2005; SELIGMANN et al, 2003; PIEMONTE; BUCHI, 2002), ativando-os em menos de 48 horas (PIEMONTE; BUCHI, 2002). Esses macrófagos por sua vez apresentam um aumento na sua capacidade endocítica (LOPES et al, *in press*), além de terem a sua produção de TNF- α reduzida (PIEMONTE; BUCHI, 2002). Essa redução se deve a uma conversão da via metabólica dessa citocina (OLIVEIRA et al, *in press*), que resulta no aumento da produção de Óxido Nítrico (NO) (OLIVEIRA et al, *in press*; PEREIRA et al, 2005). O conjunto dessas ações pode justificar a observação clínica de que os pacientes que estavam acometidos por candidíase oral apresentaram uma redução da infecção fúngica logo no primeiro retorno, ou seja, em média uma semana após o início do tratamento.

A caquexia consiste em um estado de elevada autoconsumpção do organismo, caracterizado pelo emagrecimento severo e altas taxas de catabolismo muscular. A sua relação com o TNF- α é tamanha que essa citocina no passado já foi denominada de caquexina. Na literatura não faltam exemplos da ligação dos altos níveis plasmáticos de TNF- α e caquexia (ZHAO; ZENG, 1997; ARGILES; WILLIAMSOM, 1989; MAHONY; TISDALE, 1988; OLIFF, 1988; FLORES et al, 1989), até mesmo em doenças como insuficiência cardíaca (ZHAO; ZENG, 1997). O TNF- α é uma das várias substâncias produzidas pelos macrófagos, especialmente quando esses estão ativados. Elevados níveis plasmáticos dessa citocina têm sido observados em pacientes com doenças neoplásicas, infecciosas ou do colágeno, sendo que em muitas o emagrecimento severo é uma das características (ZHAO; ZENG, 1997; ARGILES; WILLIAMSOM, 1989; MAHONY; TISDALE, 1988; OLIFF, 1988;

FLORES et al, 1989).

Os portadores de doenças infecciosas, como a infecção pelo HIV e a AIDS, terão, em algum momento, o seu metabolismo voltado ao consumo do tecido muscular, como resultado do nível plasmático cronicamente alto de TNF- α . Isso se deve ao fato de que os macrófagos, nesse caso, produzem a citocina com o intuito de combater a infecção. Contudo, na infecção pelo HIV a resposta natural do sistema imune não é efetiva para a erradicação do vírus (LU et al, 2004). Conseqüentemente, essa estratégia não terá sucesso e submeterá cronicamente o indivíduo a uma exposição de TNF- α em níveis elevados. Ao final, é essa citocina e o processo metabólico decorrente, que são responsáveis pela anorexia e emagrecimento severo presentes nesses pacientes.

O catabolismo severo normalmente leva os indivíduos a experimentarem estágios de muita dor, que podem ser explicados pela degradação da musculatura e perda de massa magra corporal. Os grupos musculares que estão fornecendo proteínas e aminoácidos para o consumo do próprio organismo apresentam quantidades diminuídas de unidades de actina e miosina. Como conseqüência, uma atividade que costumava ser percebida como de baixa intensidade passa a ser experimentada como moderada ou até mesmo vigorosa. Esse desafio à musculatura faz com que algumas unidades musculares se rompam, causando dor. Esse processo de desafio muscular é bem conhecido pelos freqüentadores de academias de ginástica e musculação, locais em que organismos bem nutridos lançam mão de exercícios físicos com a intenção de fortalecer e aumentar a musculatura, em um processo que, mesmo sendo anabólico, é dolorido.

Apesar disso, não é apenas o catabolismo muscular que pode justificar a dor sentida pelos pacientes. Os próprios níveis do TNF- α que originam esse catabolismo têm o seu papel. Atualmente, vários trabalhos em diversas áreas e, em especial, em reumatologia e ortopedia têm cada vez mais, demonstrado a relação entre essa citocina e a dor (DAVIS JR., 2004; MULLEMAN et al, *in press*; KAST, *in press*). Essa

substância tem sido apontada como a principal responsável pela cialgia em pacientes com hérnia de disco, sendo mais importante até do que o tamanho da hérnia em si (MULLEMAN et al, *in press*). Esse nexos também foi demonstrado pela diminuição no quadro doloroso após o emprego de substâncias que bloqueiam a citocina, como o anticorpo monoclonal específico anti-TNF- α , o infliximab (DAVIS JR., 2004; MULLEMAN et al, *in press*; KAST, *in press*).

No entanto o emprego de tais substâncias tem enormes efeitos colaterais em decorrência da imunossupressão que causam ao bloquearem o TNF- α , afinal essa citocina é uma poderosa substância para a proteção do organismo. Nessas situações, acaba-se saindo de um extremo e indo para o outro, pois tem-se uma quantidade elevada de citocina que, no entanto, não funciona pois está bloqueada. Os efeitos colaterais decorrentes dessa estratégia terapêutica são facilmente compreendidos.

Se ao invés de ter um organismo saudável e bem “ajustado”, controlando e regulando a produção de moléculas em sua necessária e suficiente quantidade, tem-se um sistema que secreta essas substâncias em uma quantidade extraordinariamente elevada, no ímpeto de debelar a agressão, a tática de usar um bloqueador, por mais apurada que seja, sempre será uma maneira imperfeita de simular o controle do organismo, já que se limita a tentar reduzir a ação de uma substância que já foi produzida. Melhor seria ter um agente terapêutico que promova o ajuste pelo próprio organismo, restabelecendo-o ao seu estado normal de funcionamento e permitindo que o mesmo se auto-ajuste, em toda a sutileza que isso implica.

Traz-se isso à discussão, principalmente porque o Canova faz um pouco disso. Ao desviar a via metabólica de produção do TNF- α para a produção do NO no macrófago, o medicamento abre uma possibilidade de ataque à infecção totalmente nova, e diga-se a verdade, ainda não bem compreendida. O NO é uma molécula com maior poder de combate se comparada com o TNF- α e que, no entanto, parece demonstrar menores efeitos colaterais. Além disso, faz com que os níveis de TNF- α reduzam na circulação, retirando o organismo do ciclo vicioso que se encontrava.

Tudo isso sem falar na possibilidade de outras substâncias, que ainda não foram identificadas, estarem sendo produzidas e servirem de sinalizadores, desencadeando uma outra estratégia de combate ao vírus, por parte do organismo.

Há ainda a questão das doenças oportunistas, que ocorrem com frequência diminuída após o início do uso do Canova. Os resultados prévios demonstrando o aumento no índice endocítico (LOPES et al, *in press*), bem como a redução, *in vivo* e *in vitro*, da infecção pela *Leishmania amazonensis* em macrófagos de camundongos tratados com o medicamento (PEREIRA et al, 2005), aliados às alterações na produção de citocinas, fazem pensar que o sistema imune consegue reagir mais adequadamente a essas afecções em virtude da resposta ter sido desencadeada por macrófagos previamente ativados.

Não se pode esquecer que o trabalho duplo-cego, placebo controlado, realizado por SASAKI e cols. (2001), mostrou uma diminuição na carga viral e nas doenças oportunistas em pacientes com HIV/AIDS que fizeram uso do medicamento Canova. Tão pouco, pode-se deixar de lado o fato que nas amostras submetidas à MEV foi observado um novo tipo celular somente nos pacientes tratados (Fig. 13 a 15). Essas células, com fenótipo leucocitário, têm aspecto de célula efetora ativada, principalmente devido ao seu tamanho em relação às demais em sua volta (Fig. 13 a 15). É importante também perceber que não é uma célula da qual estejam brotando novos vírus. Como no trabalho com Sarcoma 180, SATO e cols. (2005) evidenciaram um aumento significativo no número de células NK, de 0,023 para 0,130 ($10^3/\text{mL}$), no sangue periférico de camundongos tratados com Canova, podemos supor que há uma forte possibilidade de essa célula ser uma NK.

Essas observações incitam e reforçam a formulação da hipótese de que o organismo põe em ação uma outra estratégia de combate à infecção, mobilizando inclusive outros sítios como a medula óssea. É possível e tentador aventar a possibilidade que células efetoras e não suscetíveis a infecção pelo vírus estejam sendo postas em ação pelo simples fato da ativação dos macrófagos, principalmente se

lembrarmos que grande parte do estroma da medula óssea é constituída por macrófagos. E que esses macrófagos produzem grande parte dos fatores de crescimento e de diferenciação das células hematopoiéticas.

No final de 2004, o grupo do Recife demonstrou através de um raciocínio extremamente simples, e por isso mesmo altamente elegante, a importância fundamental das células apresentadoras de antígenos no combate ao HIV-1 e conseqüente redução sustentada da carga viral. O modelo empregado consistiu em fornecer às células dendríticas, derivadas de monócitos periféricos do próprio paciente, alíquotas do vírus autólogo inativado, de tal forma que este não podendo infectar a célula foi processado em informação imunogênica precisa e que culminou em uma resposta imune efetiva contra o HIV (LU et al, 2004).

Os resultados desse estudo também mostram que após 30 dias de tratamento com o Canova, os pacientes, que estavam sentindo dor em quantidades consideráveis, reduziram essa percepção a níveis que podem ser encontrados na população dita “normal”. Mais do que isso, essa redução se manteve na avaliação de dezoito meses, T 18. Então cabe o raciocínio de que a diminuição da dor se deveu a ativação dos macrófagos, que por sua vez tiveram a sua produção de TNF- α reduzida em menos de 48 horas (PIEMONTE; BUCHI, 2002), diminuindo dessa maneira os níveis circulantes de citocina ao qual o paciente esteve exposto. Ocorrendo isso, o aumento do apetite seria uma conseqüência lógica. De fato, um dos primeiros sintomas relatados pelos pacientes após o início do tratamento foi que o apetite voltou. A maioria fez referências a esse fato já na primeira consulta de revisão semanal após o início do uso do medicamento.

O decréscimo do TNF- α combinado a um melhor estado nutricional do organismo em decorrência da volta do apetite acabam por converter o metabolismo de um estado catabólico para um estado anabólico. Essa mudança leva a uma menor quebra de miofibrilas, o que diminuí o desafio muscular e a sensação de dor. Também explica porque a capacidade de realização de atividades de baixa intensidade

aumentou.

Indivíduos que sentem menos dor, que se alimentam melhor, uma vez que voltaram a ter apetite, podendo realizar atividades de maior intensidade, podem por sua vez voltar a trabalhar e recomeçar a ganhar dinheiro, não só para o sustento próprio, mas também para o de seus familiares. Como consequência o absenteísmo reduziu. Ao final, tudo isso considerado em conjunto faz com que a qualidade de vida aumente. É por isso que todos os pacientes, em ambos os grupos, atingiram um melhor estado de qualidade de vida (gráficos 05, 06 e 07).

Além disso, o fato de que os ganhos em qualidade de vida obtidos no primeiro mês persistiram enquanto os pacientes mantiveram o tratamento com o Canova, mesmo após um ano e meio, não pode ser ignorado. Esse fato levanta, com grande veemência, a hipótese de que os resultados obtidos já no primeiro mês não ocorreram por um eventual efeito placebo ou outra causa, mas sim devido ao tratamento.

Entretanto, uma importante consideração deve ser feita. Como foi enfatizado anteriormente, a viabilidade de se realizar a avaliação dos dezoito meses era incerta e, nesse meio tempo, o programa de terapia anti-retroviral (ARV) se tornou disponível em Gabane. Conseqüentemente, os pacientes que apresentavam indicação formal para receber medicamentos ARV foram orientados a procurar o programa. Contudo, se o paciente desejasse, ele poderia usá-los mantendo a terapêutica homeopática com o medicamento Canova. No momento da avaliação T 18, 42,86% dos pacientes estavam usando o Canova em conjunto com os ARVs, enquanto 57,14% permaneceram com o tratamento exclusivamente homeopático. O fato de que mais da metade dos pacientes, após um ano e meio, continuarem optando por continuar apenas com o tratamento homeopático é de extrema relevância.

Uma vez que esse estudo foi concebido para ser um estudo prospectivo observacional, a hipótese de realização de um grupo de controle, sujeito a um tratamento placebo não nos pareceu adequada, uma vez que já existe um estudo duplo-

cego, placebo controlado, demonstrando que o tratamento com o Canova reduz a ocorrência de doença oportunistas, a carga viral e os efeitos colaterais da terapia convencional para HIV/AIDS (SASAKI et al, 2001). Sabíamos que a ausência do controle implicaria em resultados na forma de hipóteses levantadas que só podem ser transformadas em evidências com a realização de estudos controlados. Contudo, pareceu-nos antiético privar pessoas em tamanha necessidade de um tratamento potencialmente efetivo. Isso é bem claro para nós.

CONCLUSÕES

Podemos concluir que a qualidade de vida dos pacientes tratados apenas com Canova melhorou de maneira significativa já ao final do primeiro mês de uso do mesmo. Os pacientes, todos portadores de HIV/AIDS, apresentaram mudanças clinicamente positivas, reflexos de alterações em cada um dos parâmetros avaliados. Essas mudanças afetam não apenas os pacientes em si, mas também os seus familiares e a comunidade em que vivem. Além disso, o tratamento fez surgir na circulação sanguínea dos pacientes um tipo celular não observado antes do seu início.

Finalmente, sabemos nitidamente que, infelizmente, o tratamento com o Canova não é uma cura para o HIV/AIDS, mas pelo menos ajuda em muito a melhorar a qualidade de vida daqueles infectados e, por que não dizer, dos também afetados por esse terrível vírus.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Se este trabalho fosse um filme, provavelmente haveria um *making of*, portanto creio que cabe bem destinar esse espaço para alguns registros importantes.

Ir para a África soa sempre como uma aventura, principalmente pelas imagens marcadas no ideário popular e pelos programas da *National Geographic*. Quando nos surgiu a oportunidade de realizar um trabalho de pesquisa com um medicamento que já vem mostrando resultados promissores, apesar de ser tão controverso, pois se trata de um medicamento homeopático, a expectativa foi enorme. Sabíamos que se tratava de uma oportunidade única. A população que receberia o medicamento era completamente virgem de qualquer tratamento, fato que possibilitaria a observação dos efeitos resultantes unicamente do tratamento com o Canova. Além disso, aliado às observações clínicas, bem como aos resultados dos questionários de qualidade de vida, foi coletado material biológico para que se processassem análises em citômetro de fluxo, tais como imunofenotipagem e quantificação de citocinas Th₁ e Th₂. Contudo, também sabíamos das implicações desses fatos. Não poderíamos trazer essas amostras em suas condições ótimas para análise, ou seja, frescas. Havia a necessidade de fixá-las, afinal, ninguém seria irresponsável o suficiente para trazer material biológico vivo de um continente para outro. Esse erro já foi cometido muitas vezes no passado e não estávamos dispostos a repetí-lo. Mas isso trazia uma implicação lógica: havia o risco de perdermos as amostras. Isso de fato aconteceu. A fixação se mostrou inefetiva para conservar as citocinas integras para a posterior análise. É por esse fato que, como em todo projeto, muitas coisas desejávamos fazer, contudo poucas puderam de fato serem levadas a termo. Por outro lado, pior do que não conseguir fazer algo é nem tentá-lo. Fomos agraciados com as amostras que foram submetidas à MEV, pois essas não se perderam e tamanha foi a nossa alegria ao constatarmos que somente nas amostras após o tratamento observamos um tipo celular que não estava presente na circulação dos

pacientes anteriormente. Nem tudo havia se perdido! Esse fato, descortinou uma série de novas possibilidades, tanto é que temos em nosso grupo colegas que pesquisam a medula óssea, outros pesquisando a expressão gênica e as alterações na biologia molecular, além de também haver aqueles que expandiram as pesquisas para além do Canova, investigando outros compostos homeopáticos. Acredito que nenhum trabalho acadêmico e, em especial esse, no nível que se encontra, deve ter a pretensão de esgotar um assunto profundo e fascinante como o que aqui se apresenta. Deve sim regozijar-se da honra de ser um pedacinho que colabora para o eventual entendimento do todo. Esse trabalho me fez aprender muitas coisas que jamais esquecerei. Levou-me a ver coisas que não imaginei serem possíveis e a estar em lugares em que nunca pensei que iria. Enfim, abriu as portas para um mundo novo. Aprendi muita medicina no contato diário com os paciente de Gabane, lições que levarei, com certeza, para o resto da vida. Mas não aprendi só isso. Aprendi a ver melhor o meu próximo, a conviver com o outro e com culturas diferentes, por mais custoso que isso às vezes possa ser. Aprendi que fazer pesquisa séria, de qualidade, diz mais respeito a como se faz do que sobre o que se faz. E finalmente aprendi que há aqueles que concordam com o jeito que você vê as coisas e há aqueles que não. O que é bom, pois assim somos obrigados a tentar abordar a realidade com uma outra ótica. Algumas vezes estaremos certos e em outras não. É assim que o conhecimento avança. E, ao final, se as coisas não saíram exatamente do jeito que você imaginou, ainda assim, poderá haver grandes e boas surpresas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PORBER, J.S. **Imunologia celular & molecular**. 3. ed. RJ.: Revinter, 2000. 486p.

ABDULLAH, H.; GREENMAN, J.; PIMENIDOU, A.; TOPPING, K.P., MONSON, J. The role of monocytes and natural killer cells in mediating antibody-dependent lysis of colorectal tumour cells. **Cancer Immunol.Immunother**, v. 48, p. 517-524, 1999.

AGÊNCIA REUTERS, <http://br.news.yahoo.com/050226/5/s257.html>, acessado em 01 de março de 2005.

ALMANAQUE ABRIL – 6.ed, CD-ROM, Editora Abril, São Paulo, 1999.

ANABWANI, G. & NAVARIO, P.. Nutrition and HIV/AIDS in sub-Saharan Africa: an overview. **Nutrition** 2005; 96-99.

ARGILES, J. M. & WILLIAMSON, D. H.. Metabolic effects of tumor necrosis factor and interleukin-1. **Clin Sci** 1989; 357-364.

BARBER, E.K.; DASGUPTA, J.D.; SCHLOSSMAN, S.F.; TREVILLYAN, J.M.; RUDD, C.E. The CD4 and CD8 antigens are coupled to a protein-tyrosine kinase (p56^{lck}) that fosforilates the CD3 complex. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 86, p. 3277-3281, 1989.

BRASILEIRO FILHO, G. BOGLIOLO – **Patologia Geral**. RJ: Guanabara Koogan, 1998.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO AIDS. Ano XV, número 02. Ministério da Saúde, Programa de DST/AIDS, Brasil, 2002.

CHINEN, J. AND SHEARER, W. T., Molecular virology and immunology of HIV infection. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 110, p. 189 – 198, 2002.

CLERICI, M. AND LUCEY, D. R., **Cytokines and HIV infection**, v. 5, p. 449, 1994.)

COTRAN, R.S.; KUMAR, V. & COLLINS, T. **Robbins Patologia Estrutural e Funcional**. RJ: Guanabara Koogan, 2000.

DAVIS JR., J. C., Understanding the Role of Tumor Necrosis Factor Inhibition in Ankylosing Spondylitis. **Semin Arthritis Rheum**, 34:668-677; 2004.

FIELDS, S.M.; KOELLER, J.M. Biologic agents. In: WEIS, G.R. (ed.) **Clinical oncology**. New Jersey: Printice Hall, 1993. p. 119-128.

FLORES, E. A.; BISTRAN, B. R.; POMPOSELLI, J. J. et al. Infusion of tumor necrosis factor produces muscle catabolism in the rat: asynergistic effect with interleukin-1. **J Clin Invest** 1989; 1614-1621.

FRAZER, J.K.; CAPRA, J.D. Immunoglobulins: struture and function. In: PAUL, W. (ed) **Fundamental immunology**. 4 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. p. 37-74.

GOLDSBY, R. A.; KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A. **Kuby Immunology**. 4th. Ed. USA. W. H. Freeman and Company, 2000.

- GREENBERG, P.D. Mechanisms of tumor immunology. In: STITES, D.P.; TERR, A.I.; PARSLow, T.G. **Basic & clinical immunology**. 8. ed. London: Printice-Hall International Inc., 1994. p. 567-577.
- HENRY, J.B.; 1995 – **Diagnósticos Clínicos e Tratamento – Por Métodos Laboratoriais** – 18 Edição, Editora Manole Ltda, pg.929, 930, 1080
- JANEWAY, C.A.. The T cell receptor as a multicompetent signaling machine: CD4/CD8 coreceptors, and CD45 in T cell activation. **Annu. Ver. Immunol.**, v. 10, p. 645-674, 1992.
- JONAS, W.B.; JACOBS, J. – **A Cura através da Homeopatia, O Guia Completo**, Editora Campus, 1998, Rio de Janeiro, pag XV a XII
- KAST, R.E.. Evidence of a mechanism by which etanercept increased TNF-alpha in multiple myeloma: New insights into the biology of TNF-alpha giving new treatment opportunities – the role of bupropion. **Leuk Res** 2005, *in press*.
- KROP, I.; SHAFFER, A.L.; FEARON, D.T.; SCHLISSEL, M.S. The signaling activity of murine CD19 is regulated during B cell development. **J. Immunol.**, v. 157, p. 48-56, 1996.
- LAI, L.; ALAVERDI, N.; MALTAIS, L.; MORSE III, H. C. Mouse cell surface antigens: nomenclature and immunophenotyping. **J. Immunol.**, v. 160, n. 8, p. 3861-8, 1998.
- LEENEN, P.J.M.; BRUIJN, M.F.T.R. de; VOERMAN, J.S.A.; CAMPBELL, P.A.; EWIIK, W. Van. Markers of mouse macrophage development detected by monoclonal antibodies. **J. of Immunological Methods.**, v. 174, p. 5-19, 1994.
- LOPES, L.; GODOY, L. M. F.; OLIVEIRA, C. C.; GABARDO, J.; SCHADECK, R. J. G. & BUCHI, D. F.. Phagocytosis, endosomal/lysosomal system and other cellular aspects occurring during macrophage activation by Canova medication. **Micron** 2005, *in press*.
- LU, W.; ARRAES, L. C.; WYLLA, T. F. & ANDRIEU, J. M.. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection. **Nat Med** 2004; 1359-1365.
- MAHONY, S. M. & TISDALE, M. J.. Induction of weight loss and metabolic alteration by human recombinant TNF. **Br J Cancer** 1988; 345-349.
- MCKNIGHT, A. J.; GORDON, S.. Membrane molecule as differentiation antigens of murine macrophages. **Advances in Immunology**, v. 68, p. 271-314, 1998.
- MITCHELL, M.S. Combining chemotherapy with biological response modifiers in treatment of cancer. **J. Nat. Cancer Inst.**, Bethesda, v. 80, p. 1445-1450, 1988.
- MULLEMAN, D.; MAMMOU, S.; GRIFFOUL, I.; HERVÉWATIER; GOUPILLE, P.. Pathophysiology of disk-related sciatica. I. – Evidence supporting a chemical component. **Joint Bone Spine** 2005, *in press*.
- MULLEMAN, D.; MAMMOU, S.; GRIFFOUL, I.; HERVÉWATIER; GOUPILLE, P.. Pathophysiology of disk-related low back pain and sciatica. II. – Evidence supporting treatment with TNF- α antagonists. **Joint Bone Spine** 2005, *in press*.
- OLIFF, A.. The role of tumour necrosis factor in cachexia. **Cell** 1988; 141-143.
- OLIVEIRA, C. C.; OLIVEIRA, S. M.; GODOY, L. M. F.; GABARDO, J. & BUCHI, D. F.. Canova, a brazilian medical formulation, alters oxidative metabolism of mice macrophages. **J Infect** 2005, *in press*.

OLIVEIRA, F. J. D. M.. **Avaliação da eficácia e efetividade do método terapêutico homeopático no contexto da prática clínica em serviços públicos de saúde.** The Royal London Homoeopathic Hospital NHS Trust, 1995-1996. Relatório técnico.

PARKIN, J AND COHEN, B., An overview of the immune system, **The Lancet**, v. 357, p. 1777 – 1789, 2001

PARNES, J.R. Molecular biology and function of CD4 and CD8. **Advances in Immunology**, v. 44, p. 265-311, 1989.

PARSLOW, T. Linfócitos e tecidos linfóides. In: STITES,D.P.; TERR, A.I.; PARNSLOW, T.G. **Imunologia médica**. 9. ed. RJ: Guanabara Koogan, 2000. p. 33-56.

PEREIRA, W. K. V.; LONARDONI, M. V.C.; GRESPAN, R.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N. & BERSANI-AMADO, C. A.. Immunomodulatory effect of Canova medication on experimental *Leishmania amazonensis* infection. **J Infect** 2005; 157-164.

PIEMONTE, M.R.; BUCHI, D.F. - "Analysis of Il-2, IFN γ and TNF α production, $\alpha 5$, $\beta 1$ integrins and actin filament distribution in intraperitoneal mouse macrophages treated with homeopathic medicament", **J.Submicro.Cytol.Pathol.**, v. 34, n. 3, 2002.

ROITT,I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. SP.: Manole, 1999, 423 p.

ROSEMBERG, S. A. (eds.) **Cancer: principles & practice of oncology**. 4. ed. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1993. p. 276-292.

ROZMAN, D.; WHITAKER, R.; BECKMAN, T. & JONES, D.. A pilot intervention program that reduces psychological symptomatology in individuals with human immunodeficiency virus. **Complement Ther Med** 1996; 226-232.

SALMON, S.E.; BERTINO, J.R. Fundamentos da terapia do câncer. In: BENNETT, J.C.; PLUM,F. **CECIL – Tratado de medicina interna**. 20. ed. RJ.: Guanabara Koogan, 1997. p.1145-1160.

SASAKI, M. G. M. et al. Estudo clínico randomizado placebo controlado para avaliar a eficácia e segurança do Método Canova na terapêutica de pacientes portadores de HIV/AIDS em uso de anti-retrovirais. **Braz J. Infectious Diseases**, 5, supplement 1, 58, 2001.

SATO, D. Y. O., WAL, R., OLIVEIRA, C. C., CATTANEO, R. I. I., MALVEZZI, M.,GABARDO, J., BUCHI, D. F. Histopathological and Immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated with a complex homeopathic medication. **Homeopathy**. vol. 94. p. 26-32. 2005.

SATO, S.; MILLER, A.S.; HOWARD, M.C.; TEDDER, T.F. Regulation of B lymphocyte development and activation by the CD19/CD21/CD81Leu 13 complex requires the cytoplasmic domain of CD19. **J. Immunol.**, v. 159, p. 3278-3287, 1997.

SELIGMANN, I.C.; LIMA, P.D.L.; BAHIA, M.O.; KHAYAT, A.S.; BUCHI, D.F., BURBANO, R.R. The anticancer composite “Canova Method” is not genotoxic for human lymphocytes *in vitro*. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 2 p. 223-228, 2003.

SLEASMAN, J. W. AND GOODENOW, M. M., HIV-1 Infection, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, p. 582 - 592, 2003

SNELL, N. J. C., Examining unmet needs in infectious disease, **Drug Discovery Today**, v. 8, p. 22 – 30, 2003.

STITES, D.P., 1992 **Imunologia**. Rio de Janeiro: Prentice/Hall do Brasil, 1992.

VEILLETTE, A.; BOOKMAN, M.A.; HORAK, E.M.; BOLEN, J.B. The CD4 and CD8 T cell surface antigens are associated with the internal membrane tyrosine-protein kinase p56^{lck}. **Cell.**, v. 55, p. 301-308, 1988.

WALLACE, V. A.; PENNINGER, J.; MAK, T.W.. CD4, CD8 and tyrosine kinases in thymic selection. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 5, p. 235-240, 1983.

ZHAO, S-P. & ZENG, L-H.. Elevated plasma levels of tumour necrosis factor in chronic heart failure with cachexia. **Int J Cardiol** 1997; 257-261.

ANEXOS

COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

Material:

- 1) Seringa de 10 ml;
- 2) Agulha 25x08 ou 25x07;
- 3) Garrote;
- 4) Tubo do Vacutainer[®];
- 5) Canhão do Vacutainer[®];
- 6) Agulha do Vacutainer[®];
- 7) Estante para tubos de citometria;
- 8) Algodão;
- 9) Álcool;
- 10) Curativo;
- 11) Folha de identificação do paciente com número e data da coleta;
- 12) Máscara;
- 13) Óculos;
- 14) Luvas;
- 15) Guarda-Pó.

PROTOCOLO DE FIXAÇÃO DE LONGO PRAZO

- 1) Fixar em paraformaldeído 8% + glutaraldeído 0,5% + Tampão Cacodilato 0,1 M, pH 7,2 + CaCl₂ 5mM;
- 2) Permitir que as células permaneçam no fixador em temperatura ambiente pelo menos a 1^a hora (mínimo 1 hora e no máximo overnight);
- 3) Armazenamento em geladeira a 5° Celcius.

PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA
(MEV)

- 1) Lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1M, por 10 minutos;
- 2) Realizar re-fixação de rotina com glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1M, ph 7,2 por 2 horas em temperatura ambiente;
- 3) Lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1M, 3 vezes 10 minutos cada;
- 4) Pós-fixação com tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, por 15 minutos, no escuro e à temperatura ambiente;
- 5) Lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1M, 3 vezes;
- 6) Adesão em lamínulas redondas de 01 cm de diâmetro;
- 7) Desidratação em bateria de álcool 50%, 70%, 90% e 100%, de 10 a 20 minutos cada;
- 8) Processamento no ponto crítico de CO₂;
- 9) Metalização com ouro;
- 10) Observação no microscópio eletrônico de varredura.

SPNS Program Cooperative Agreement Evaluation - Page 2 of 2
Module 17: Brief Health and Functioning Questionnaire
National Evaluation by The Measurement Group

ID Letters		ID Numbers				Site		Sub-Provider		Date		
										Month	Day	Year
Staff Code		Client Gender		12. Last week, were you: <input type="radio"/> Working full time <input type="radio"/> Working part time <input type="radio"/> With a job, but not at work because of illness, vacation, or strike <input type="radio"/> Unemployed, laid off, or looking for work <input type="radio"/> Retired, disabled, or no longer working <input type="radio"/> In school <input type="radio"/> Keeping house <input type="radio"/> None of the above				13. How many hours did you work last week, at all jobs? <input type="radio"/> None <input type="radio"/> 36-45 hours <input type="radio"/> 1-20 hours <input type="radio"/> 46-60 hours <input type="radio"/> 21-35 hours <input type="radio"/> More than 60 hours How many? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>				
		<input type="radio"/> Male <input type="radio"/> Female										
11. How many days during the past 4 weeks did your own illness, treatment, or a personal problem (like feeling depressed) cause you to do any of the following things?				14. Approximately what was your own personal income from all sources before taxes last month? <input type="radio"/> No income last month <input type="radio"/> \$1501-\$2000 last month <input type="radio"/> \$1-\$500 last month <input type="radio"/> \$2001-\$3000 last month <input type="radio"/> \$501-\$1000 last month <input type="radio"/> \$3001-\$4000 last month <input type="radio"/> \$1001-\$1500 last month <input type="radio"/> \$4001 or more How much? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>				15. In the past 4 weeks, how many visits have you made to doctors, nurses, or other health professionals you saw at a private office, a clinic, or hospital emergency room? <input type="radio"/> No visits <input type="radio"/> 5-8 visits <input type="radio"/> 1 visit <input type="radio"/> 9-14 visits <input type="radio"/> 2 visits <input type="radio"/> 15-28 visits <input type="radio"/> 3-4 visits <input type="radio"/> 29 or more visits				
11A. Cut down on your usual activities (such as housework, school, leisure) for 1/2 day or more? <input type="radio"/> Did not cut down on activities <input type="radio"/> 5-8 days <input type="radio"/> 1 day <input type="radio"/> 9-14 days <input type="radio"/> 2 days <input type="radio"/> 15-28 days <input type="radio"/> 3-4 days												
11B. Stay in bed for a half day or more? <input type="radio"/> Did not stay in bed <input type="radio"/> 5-8 days <input type="radio"/> 1 day <input type="radio"/> 9-14 days <input type="radio"/> 2 days <input type="radio"/> 15-28 days <input type="radio"/> 3-4 days				16. During the past 4 weeks, how many visits have you had from a doctor, nurse, or other paid health professional who came to your home or where you live now? (For example, a visiting nurse drawing blood or giving a shot.) <input type="radio"/> No visits <input type="radio"/> 5-8 visits <input type="radio"/> 1 visit <input type="radio"/> 9-14 visits <input type="radio"/> 2 visits <input type="radio"/> 15-28 visits <input type="radio"/> 3-4 visits <input type="radio"/> 29 or more visits				17. During the past 4 weeks, how many telephone contacts have you had with a doctor, nurse, or other health professional about your own health care? Do not count contacts that were only for making or changing appointments. <input type="radio"/> No contacts <input type="radio"/> 5-8 contacts <input type="radio"/> 1 contact <input type="radio"/> 9-14 contacts <input type="radio"/> 2 contacts <input type="radio"/> 15-28 contacts <input type="radio"/> 3-4 contacts <input type="radio"/> 29 or more contacts				
11C. Miss work for a half day or more? <input type="radio"/> Employed; Did not miss work <input type="radio"/> 5-8 days <input type="radio"/> 1 day <input type="radio"/> 9-14 days <input type="radio"/> 2 days <input type="radio"/> 15-28 days <input type="radio"/> 3-4 days <input type="radio"/> Not employed												
18. In the past 4 weeks, how many nights did you stay overnight or longer in a hospital? <input type="radio"/> No nights <input type="radio"/> 1 night <input type="radio"/> 2 nights <input type="radio"/> 3-4 nights <input type="radio"/> 5-8 nights <input type="radio"/> 9-14 nights <input type="radio"/> 15-28 nights												
19. Have you had any of the following symptoms in the past 4 weeks?				FOR EACH SYMPTOM YOU HAD: How much did it interfere with your normal activity in the past 4 weeks? (4 weeks = 28 days) I HAD IT AND IT INTERFERED:								
19a. Trouble with thinking, concentrating, or memory				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19b. Depressed or sad; trouble sleeping				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19c. Aches, fatigue, lightheadness, weak-all-over				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19d. Fevers, chills, sweats				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19e. Poor appetite, weight loss				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19f. Trouble with eyes or ears				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19g. Trouble with nose or sinuses; headache				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19h. Trouble with mouth or swallowing				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19i. Nausea, vomiting, diarrhea, abdominal pain				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19j. Coughing, wheezing, or chest pain; trouble breathing				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19k. Rash, itch, herpes, or other skin trouble				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19l. Numbness, tingling, or pain in an arm or leg				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						
19m. Other symptoms Which? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>				<input type="radio"/> I did not have it at all		<input type="radio"/> Not at all <input type="radio"/> Very little <input type="radio"/> Moderately <input type="radio"/> Quite a bit <input type="radio"/> Extremely						

PLANILHAS DE RESULTADOS

Atividades Sociais
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	550,93	110,19	24,30	0,00%
G	1	59,48	59,48	13,12	0,05%
T	2	408,20	204,10	45,01	0,00%
GxT	2	83,25	41,63	9,18	0,02%
Erro	105	476,08	4,53		
Total	110	1058,91			

Percepção de Dor
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	482,61	96,52	20,69	0,00%
G	1	4,17	4,17	0,89	34,68%
T	2	468,19	234,09	50,17	0,00%
GxT	2	10,26	5,13	1,10	33,67%
Erro	105	489,88	4,67		
Total	110	1161,57			

Energia
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	367,90	73,58	18,68	0,00%
G	1	33,98	33,98	8,63	0,41%
T	2	332,53	166,27	42,21	0,00%
GxT	2	1,39	0,69	0,18	83,88%
Erro	105	413,62	3,94		
Total	110	947,17			

Percepção do Estado Geral de Saúde
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	383,37	76,67	17,50	0,00%
G	1	8,06	8,06	1,84	17,80%
T	2	358,85	179,43	40,94	0,00%
GxT	2	16,47	8,23	1,88	15,79%
Erro	106	464,54	4,38		
Total	111	967,28			

Absenteísmo
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	485,63	97,13	14,07	0,00%
G	1	80,78	80,78	11,71	0,09%
T	2	354,50	177,25	25,68	0,00%
GxT	2	50,35	25,18	3,65	2,94%
Erro	106	731,52	6,90		
Total	111	1272,99			

Capacidade de Realização de Grandes Esforços
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	774,77	154,95	18,48	0,00%
G	1	50,55	50,55	6,03	1,57%
T	2	678,27	339,13	40,44	0,00%
GxT	2	45,95	22,98	2,74	6,91%
Erro	106	888,91	8,39		
Total	111	1887,28			

Capacidade de Realização de Médios Esforços
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	391,15	78,23	7,84	0,00%
G	1	30,95	30,95	3,10	8,11%
T	2	324,41	162,21	16,26	0,00%
GxT	2	35,79	17,89	1,79	17,14%
Erro	106	1057,59	9,98		
Total	111	1549,78			

Capacidade de Realização de Pequenos Esforços
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	777,51	155,50	17,57	0,00%
G	1	37,02	37,02	4,18	4,33%
T	2	720,28	360,14	40,70	0,00%
GxT	2	20,22	10,11	1,14	32,30%
Erro	105	929,18	8,85		
Total	110	1952,70			

Fadiga e Cansaço
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	891,43	178,29	33,81	0,00%
G	1	24,32	24,32	4,61	3,40%
T	2	851,35	425,68	80,72	0,00%
GxT	2	15,75	7,88	1,49	22,93%
Erro	106	559,00	5,27		
Total	111	1770,64			

Apetite
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	861,70	172,34	23,50	0,00%
G	1	18,07	18,07	2,46	11,95%
T	2	831,12	415,56	56,66	0,00%
GxT	2	12,51	6,26	0,85	42,91%
Erro	106	777,45	7,33		
Total	111	1993,11			

Afeções Dermatológicas
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	512,25	102,45	11,39	0,00%
G	1	0,05	0,05	0,01	93,89%
T	2	482,86	241,43	26,85	0,00%
GxT	2	29,34	14,67	1,63	20,06%
Erro	106	953,30	8,99		
Total	111	1873,21			

Afeções do Sistema Nervoso Periférico
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	891,88	178,38	22,87	0,00%
G	1	18,66	18,66	2,39	12,49%
T	2	848,91	424,46	54,42	0,00%
GxT	2	24,31	12,16	1,56	21,52%
Erro	105	818,90	7,80		
Total	110	2098,90			

Resultado Geral do Questionário
ANOVA: Classificação cruzada

FV	GL	SQ	QM	F	P(F)
Tratamentos	5	565,49	113,10	42,84	0,00%
G	1	24,46	24,46	9,26	0,30%
T	2	525,76	262,88	99,58	0,00%
GxT	2	15,27	7,63	2,89	6,00%
Erro	103	271,92	2,64		
Total	108	1024,94			

DOR - 1

		OBSERVADO		NSD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
Not at all Slightly	Low	7	24	22	53
Moderately	Medium	8	6	0	14
Quite a Bit Extremely	High	16	1	0	17
Total		31	31	22	84

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
Not at all Slightly	Low	19,55952	19,55952	13,88095	53
Moderately	Medium	5,166667	5,166667	3,666667	14
Quite a Bit Extremely	High	6,27381	6,27381	4,452381	17
Total		31	31	22	84

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif^2	Dif^2/Esp
Low T 00		7	19,55952	-12,5595	157,7416	8,064697
Medium T 00		8	5,166667	2,833333	8,027778	1,553763
High T 00		16	6,27381	9,72619	94,59878	15,07836
Low T 01		24	19,55952	4,440476	19,71783	1,008093
Medium T 01		6	5,166667	0,833333	0,694444	0,134409
High T 01		1	6,27381	-5,27381	27,81307	4,433202
Low T18		22	13,88095	8,119048	65,91893	4,748877
Medium T18		0	3,666667	-3,66667	13,44444	3,666667
High T18		0	4,452381	-4,45238	19,8237	4,452381
Dist Qui =	9,6762E-09	0,000%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			43,14045

		OBSERVADO		SD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
Not at all Slightly	Low	1	9	6	16
Moderately	Medium	2	0	0	2
Quite a Bit Extremely	High	8	2	0	10
Total		11	11	6	28

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
Not at all Slightly	Low	6,285714	6,285714	3,428571	16
Moderately	Medium	0,785714	0,785714	0,428571	2
Quite a Bit Extremely	High	3,928571	3,928571	2,142857	10
Total		11	11	6	28

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif^2	Dif^2/Esp
Low T 00		1	6,285714	-5,28571	27,93878	4,444805
Medium T 00		2	0,785714	1,214286	1,47449	1,876623
High T 00		8	3,928571	4,071429	16,57653	4,219481
Low T 01		9	6,285714	2,714286	7,367347	1,172078
Medium T 01		0	0,785714	-0,78571	0,617347	0,785714
High T 01		2	3,928571	-1,92857	3,719388	0,946753
Low T18		6	3,428571	2,571429	6,612245	1,928571
Medium T18		0	0,428571	-0,42857	0,183673	0,428571
High T18		0	2,142857	-2,14286	4,591837	2,142857
Dist Qui =	0,00126476	0,126%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			17,94545

DOR - 2

		OBSERVADO		NSD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
None	Low	1	22	15	38
Very Mild					
Mild	Medium	15	9	6	30
Moderate					
Severe	High	15	0	0	15
Very Severe					
Total		31	31	21	83

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
None	Low	14,19277	14,19277	9,614458	38
Very Mild					
Mild	Medium	11,20482	11,20482	7,590361	30
Moderate					
Severe	High	5,60241	5,60241	3,795181	15
Very Severe					
Total		31	31	21	83

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
Low T 00		1	14,19277	-13,1928	174,0492	12,26323
Medium T 00		15	11,20482	3,795181	14,4034	1,285464
High T 00		15	5,60241	9,39759	88,3147	15,7637
Low T 01		22	14,19277	7,807229	60,95282	4,294639
Medium T 01		9	11,20482	-2,20482	4,861228	0,433852
High T 01		0	5,60241	-5,60241	31,38699	5,60241
Low T18		15	9,614458	5,385542	29,00406	3,016713
Medium T18		6	7,590361	-1,59036	2,52925	0,333219
High T18		0	3,795181	-3,79518	14,4034	3,795181
Dist Qui =	1,6878E-09	0,000%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			46,78841

		OBSERVADO		SD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
None	Low	3	5	5	13
Very Mild					
Mild	Medium	2	5	1	8
Moderate					
Severe	High	6	1	0	7
Very Severe					
Total		11	11	6	28

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
None	Low	5,107143	5,107143	2,785714	13
Very Mild					
Mild	Medium	3,142857	3,142857	1,714286	8
Moderate					
Severe	High	2,75	2,75	1,5	7
Very Severe					
Total		11	11	6	28

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
Low T 00		3	5,107143	-2,10714	4,440051	0,869381
Medium T 00		2	3,142857	-1,14286	1,306122	0,415584
High T 00		6	2,75	3,25	10,5625	3,840909
Low T 01		5	5,107143	-0,10714	0,01148	0,002248
Medium T 01		5	3,142857	1,857143	3,44898	1,097403
High T 01		1	2,75	-1,75	3,0625	1,113636
Low T18		5	2,785714	2,214286	4,903061	1,760073
Medium T18		1	1,714286	-0,71429	0,510204	0,297619
High T18		0	1,5	-1,5	2,25	1,5
Dist Qui =	0,02774803	2,775%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			10,89685

APETITE

		OBSERVADO		NSD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
I did not have it at all	Low	6	27	21	54
Not at all					
Very Little	Medium	7	4	1	12
Moderately					
Quite a Bit	High	18	0	0	18
Extremely					
Total		31	31	22	84

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
I did not have it at all	Low	19,92857	19,92857	14,14286	54
Not at all					
Very Little	Medium	4,428571	4,428571	3,142857	12
Moderately					
Quite a Bit	High	6,642857	6,642857	4,714286	18
Extremely					
Total		31	31	22	84

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif^2	Dif^2/Esp
Low T 00		6	19,92857	-13,9286	194,0051	9,735023
Medium T 00		7	4,428571	2,571429	6,612245	1,493088
High T 00		18	6,642857	11,35714	128,9847	19,41705
Low T 01		27	19,92857	7,071429	50,0051	2,509217
Medium T 01		4	4,428571	-0,42857	0,183673	0,041475
High T 01		0	6,642857	-6,64286	44,12755	6,642857
Low T18		21	14,14286	6,857143	47,02041	3,324675
Medium T18		1	3,142857	-2,14286	4,591837	1,461039
High T18		0	4,714286	-4,71429	22,22449	4,714286
Dist Qui =	4,96193E-10	0,000%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			49,33871

		OBSERVADO		SD	
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
I did not have it at all	Low	1	8	6	15
Not at all					
Very Little	Medium	1	1	0	2
Moderately					
Quite a Bit	High	9	2	0	11
Extremely					
Total		11	11	6	28

		ESPERADO			
Agrupamento		T 00	T 01	T18	Total
I did not have it at all	Low	5,892857	5,892857	3,214286	15
Not at all					
Very Little	Medium	0,785714	0,785714	0,428571	2
Moderately					
Quite a Bit	High	4,321429	4,321429	2,357143	11
Extremely					
Total		11	11	6	28

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif^2	Dif^2/Esp
Low T 00		1	5,892857	-4,89286	23,94005	4,062554
Medium T 00		1	0,785714	0,214286	0,045918	0,058442
High T 00		9	4,321429	4,678571	21,88903	5,06523
Low T 01		8	5,892857	2,107143	4,440051	0,753463
Medium T 01		1	0,785714	0,214286	0,045918	0,058442
High T 01		2	4,321429	-2,32143	5,389031	1,247048
Low T18		6	3,214286	2,785714	7,760204	2,414286
Medium T18		0	0,428571	-0,42857	0,183673	0,428571
High T18		0	2,357143	-2,35714	5,556122	2,357143
Dist Qui =	0,002476439	0,248%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			16,44518

PQ ESFORÇOS

	OBSERVADO		NSD	
	T 00	T 01	T18	Total
Limited a Lot	15	1	0	16
Limited a Little	8	4	0	12
Not Limited at all	8	26	21	55
Total	31	31	21	83

ESPERADO				
	T 00	T 01	T 18	Total
Limited a Lot	5,975904	5,975904	4,048193	16
Limited a Little	4,481928	4,481928	3,036145	12
Not Limited at all	20,54217	20,54217	13,91566	55
Total	31	31	21	83

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
Limited a Lot T 00		15	5,975904	9,024096	81,43432	13,62711
Limited a Little T 00		8	4,481928	3,518072	12,37683	2,761498
Not Limited at all T 00		8	20,54217	-12,5422	157,306	7,657711
Limited a Lot T 01		1	5,975904	-4,9759	24,75962	4,143242
Limited a Little T 01		4	4,481928	-0,48193	0,232254	0,05182
Not Limited at all T 01		26	20,54217	5,457831	29,78792	1,450087
Limited a Lot T 18		0	4,048193	-4,04819	16,38786	4,048193
Limited a Little T 18		0	3,036145	-3,03614	9,218174	3,036145
Not Limited at all T 18		21	13,91566	7,084337	50,18784	3,606572
Dist Qui =	3,61E-08	0,000%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			40,38238

	OBSERVADO		SD	
	T 00	T 01	T18	Total
Limited a Lot	8	2	0	10
Limited a Little	3	2	0	5
Not Limited at all	0	7	6	13
Total	11	11	6	28

ESPERADO				
	T 00	T 01	T18	Total
Limited a Lot	3,928571	3,928571	2,142857	10
Limited a Little	1,964286	1,964286	1,071429	5
Not Limited at all	5,107143	5,107143	2,785714	13
Total	11	11	6	28

	Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
Limited a Lot T 00		8	3,928571	4,071429	16,57653	4,219481
Limited a Little T 00		3	1,964286	1,035714	1,072704	0,546104
Not Limited at all T 00		0	5,107143	-5,10714	26,08291	5,107143
Limited a Lot T 01		2	3,928571	-1,92857	3,719388	0,946753
Limited a Little T 01		2	1,964286	0,035714	0,001276	0,000649
Not Limited at all T 01		7	5,107143	1,892857	3,582908	0,701548
Limited a Lot T 18		0	2,142857	-2,14286	4,591837	2,142857
Limited a Little T 18		0	1,071429	-1,07143	1,147959	1,071429
Not Limited at all T 18		6	2,785714	3,214286	10,33163	3,708791
Dist Qui =	0,00101	0,101%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =			18,44476

TRABALHO

	OBSERVADO		NSD	
	T 00	T 01	T18	Total
No	15	28	22	65
Yes, for Some of the Time	12	3	0	15
Yes, for All of the Time	4	0	0	4
Total	31	31	22	84

ESPERADO				
	T 00	T 01	T18	Total
No	23,9881	23,9881	17,02381	65
Yes, for Some of the Time	5,535714	5,535714	3,928571	15
Yes, for All of the Time	1,47619	1,47619	1,047619	4
Total	31	31	22	84

Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
No T 00	15	23,9881	-8,9881	80,78586	3,367748
Yes, for Some of the Time T 00	12	5,535714	6,464286	41,78699	7,548618
Yes, for All of the Time T 00	4	1,47619	2,52381	6,369615	4,3149
No T 01	28	23,9881	4,011905	16,09538	0,670974
Yes, for Some of the Time T 01	3	5,535714	-2,53571	6,429847	1,161521
Yes, for All of the Time T 01	0	1,47619	-1,47619	2,179138	1,47619
No T18	22	17,02381	4,97619	24,76247	1,454579
Yes, for Some of the Time T18	0	3,928571	-3,92857	15,43367	3,928571
Yes, for All of the Time T18	0	1,047619	-1,04762	1,097506	1,047619
Dist Qui =	5,1E-05	0,005%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =		24,97072

	OBSERVADO		SD	
	T 00	T 01	T18	Total
No	1	7	6	14
Yes, for Some of the Time	4	2	0	6
Yes, for All of the Time	6	2	0	8
Total	11	11	6	28

ESPERADO				
	T 00	T 01	T18	Total
No	5,5	5,5	3	14
Yes, for Some of the Time	2,357143	2,357143	1,285714	6
Yes, for All of the Time	3,142857	3,142857	1,714286	8
Total	11	11	6	28

Qui-quadrado	Observ	Esper	Diferença	Dif ²	Dif ² /Esp
No T 00	1	5,5	-4,5	20,25	3,681818
Yes, for Some of the Time T 00	4	2,357143	1,642857	2,69898	1,145022
Yes, for All of the Time T 00	6	3,142857	2,857143	8,163265	2,597403
No T 01	7	5,5	1,5	2,25	0,409091
Yes, for Some of the Time T 01	2	2,357143	-0,35714	0,127551	0,054113
Yes, for All of the Time T 01	2	3,142857	-1,14286	1,306122	0,415584
No T18	6	3	3	9	3
Yes, for Some of the Time T18	0	1,285714	-1,28571	1,653061	1,285714
Yes, for All of the Time T18	0	1,714286	-1,71429	2,938776	1,714286
Dist Qui =	0,006388	0,639%	Soma (Qui-quadrado, 4 graus de lib) =		14,30303