

---

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

---

# EFEITOS DE ULTRADILUIÇÕES DE DROGAS CARCINOGENICAS INICIADORAS E DA DEXAMETASONA NA CARCINOGENESE HEPÁTICA DE RATOS

**MICHELLE RIBEIRO DEJUSTE**

**Orientadora: Profa. Dra. MARIA IZABEL  
CAMARGO MATHIAS**

**Co-orientadora: Profa. Dra. LEONI VILLANO  
BONAMIN**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular)

Fevereiro 2006

“A mente que se abre a uma nova idéia, jamais volta ao seu tamanho original”.

(Albert Einstein)

“É preciso manter o pensamento flexível, a fim de que as idéias preconcebidas e convicções antigas não roubem a oportunidade de obter conhecimentos novos e mais amplos. Devemos estar sempre prontos a expandir a mente e a descartar qualquer idéia, mesmo que firmemente enraizada se, sob uma experiência mais ampla, surgir uma verdade maior”.

(Dr. Edward Bach)

“A cura da doença pode ser encontrada descobrindo o errado dentro de nós, e erradicando esta falha pelo desenvolvimento pleno da virtude oposta. Não lutando contra o errado, mas permitindo que a virtude oposta inunde o nosso ser e ilumine a falha da nossa natureza”.

(Dr. Edward Bach)

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais*

*Pela atenção;  
Pelo incentivo;  
Pela força;  
Pelo carinho;  
Pela vida.*

*Maria do Carmo Ribeiro Dejuste  
Geraldo Luiz Dejuste*

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Maria Izabel Camargo Mathias pela amizade, capacidade e coragem de assumir a orientação desse trabalho que abordou um tema inédito para o Instituto de Biociências.

À Profa. Dra. Doralice Maria Cella por ter acreditado no meu potencial e aberto as portas para a concretização desse trabalho.

Ao meu namorado Alexandre Romero Inforzato pela grande ajuda, cumplicidade e paciência com a digitação, fotos e síntese dos gráficos e tabela.

Ao amigo Gerson Mello Souza, técnico do Laboratório de Histologia da UNESP, pela ajuda e paciência na realização de todos os trabalhos laboratoriais.

À amiga Dra. Marina Franceschini pela coragem em manipular os animais durante a aplicação das drogas.

À farmacêutica Dra. Elisa Ratihe Uehara Shimizu pela compreensão, vontade e ajuda na preparação de todas as ultradiluições.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Simões Pião do Departamento de Estatística, Matemática Aplicada e Computação da UNESP, pelo auxílio na realização dos testes estatísticos.

Ao amigo Pablo Henrique Nunes pela coragem e ajuda na manipulação dos ratos durante aplicação dos carcinógenos e preparo dos animais (anestesia e assepsia) para cirurgia.

Aos meu gatos Shilly e Garfield pela companhia e carinho.

## RESUMO

Várias pesquisas têm sido, até o presente, realizadas para o melhor entendimento do efeito das ultradiluições e seu uso em diferentes tratamentos. Essas pesquisas estão relacionadas aos fundamentos da homeopatia, que nada mais são do que o efeito inverso que os medicamentos apresentam quando diluídos de uma maneira específica, como nas propriedades biofísicas do processo de transferência de informações. As substâncias, ou tinturas-mãe, são altamente diluídas a ponto de nenhuma molécula original estar presente no medicamento homeopático e exercendo efeitos através da bio-informação molecular transduzida via água. Bonamin *et al* (2000) mostraram o efeito da droga Dexametasona ultradiluída (em ultradiluição 7CH-Centesimal Hahnemanniano) e do carcinógeno iniciador Acetilaminofluoreno (em ultradiluição 7CH) em vários modelos experimentais os quais responderam com efeito inverso a sua ação em concentração farmacológica. No presente trabalho, um modelo homeopático foi utilizado para detectar, através do comportamento de ratos durante trinta dias totais do experimento, bem como da histologia e citologia hepática, a influência de ultradiluições 30 CH das drogas Dexametasona, Dietilnitrosamina (DEN) e Acetilaminofluoreno (AAF), aplicadas em animais induzidos a carcinogênese, através das drogas carcinogênicas iniciadoras Dietilnitrosamina e Acetilaminofluoreno. Após doze dias da hepatectomia parcial (30%) e trinta dias do início do tratamento dos animais com as drogas carcinogênicas iniciadoras, os animais foram sacrificados, seus fígados totais retirados e uma pequena parte próxima da região da hepatectomia parcial retirada para processamento, segundo rotina histológica.

Os resultados das análises comportamentais permitiriam classificar os tipos de comportamento em: normal, agressivo e depressivo. Verificou-se que os indivíduos do grupo tratado com carcinógenos ultradiluídos apresentaram-se mais

agressivos quando comparados aos dos grupos controle e tratados com Dexametasona ultradiluída, que apresentaram-se mais deprimidos.

Através de preparações histológicas e citológicas dos fígados de todos os ratos aqui estudados, mostrou-se o efeito das ultradiluições no tecido hepático, através da contagem diferencial de células hepáticas com núcleos picnótico, hipertrofiado e de células binucleadas. Áreas de necrose e de fibrose também foram medidas e calculadas. Assim, observou-se nos indivíduos tratados com os carcinógenos ultradiluídos maior quantidade de núcleos hipertrofiados e menor área de necrose e fibrose quando comparados aos fígados dos animais dos grupos controle e tratados com Dexametasona ultradiluída, mostrando o efeito hepatoprotetor dos carcinógenos ultradiluídos. Os indivíduos tratados com Dexametasona ultradiluída apresentaram fígados com maior número de núcleos picnóticos e maior área de necrose e fibrose quando comparados aos fígados dos grupos tratados com carcinógenos ultradiluídos e aos do grupo controle. O aumento de resposta celular ao tecido lesado nos indivíduos do grupo tratado com Dexametasona ultradiluída confirma o efeito inverso dessa droga, mostrando que o organismo é capaz de reconhecer a informação contida no medicamento homeopático.

## ABSTRACT

Many researches have been conducted, until now, to better understand the effects of ultradilutions and their use in different treatments. Those researches are related to the basis of homeopathy, which is the opposite effect that medicines produce when diluted in a specific manner, as in the biophysical properties of the information transference process. The substances (or mother tinctures) are highly diluted until none of the original molecules remain in the homeopathic medicine exerting their effects through bio-information transmitted via water. Bonamin *et al* (2000) showed the effects of ultradiluted Dexamethazon (in ultradilution 7 CH) and of the carcinogenesis initiators Acetylaminofluorene (in ultradilution 7 CH) in several experimental models that responded with the opposite effect of their actino in pharmacological concentration. In this research, a homeopathic model was employed to detect – through the behavior of lab rats during the period of 30 days of the experiment, as well as through hepatic cytology and histology – the influence of ultradilutions 30 CH of Dexamethazon, Diethylnitrosamine (DEN) and Acetylaminofluorene (AAF) applied in animals with previously induced carcinogenesis by the carcinogenic drugs Diethylnitrosamine and Acetylaminofluorene. Twelve days after the partial hepatectomy (30%) and thirty five days past the beginning of the treatment with the carcinogenesis-initiating drugs, the animals were put down, their whole livers removed and a small part next to the partial hepatectomy was extracted for processing, following histological routine.

The results from the behavioral analysis allowed the classification of the types of behavior under the following categories: normal, aggressive and depressive. It was verified that the individuals from the group treated with ultradiluted carcinogens behaved more aggressively in comparison to the ones



from the control group and the ones treated with ultradiluted Dexamethazon, which displayed traces of depression.

With histological and cytological preparations of livers from all the rats involved in this study, the effects of ultradilution on the hepatic tissue are shown through the differential counting of hepatic cells with pycnotic or hypertrophied nuclei and binuclear cells. Areas with necrosis and fibrosis were also measured and calculated. Thus, it was observed that the liver cells of individuals treated with ultradiluted carcinogens displayed a larger quantity of hypertrophied nuclei and smaller necrosis and fibrosis areas when compared to the ones extracted from the control group or from individuals treated with ultradiluted Dexamethazon, attesting the hepatic-protective effect of ultradiluted carcinogens. The individuals treated with ultradiluted Dexamethazon provided liver cells with larger number of pycnotic nuclei and larger necrosis and fibrosis areas when compared to the ones from the control group and from the individuals treated with ultradiluted carcinogens. The increase in cellular response in the harmed tissue for the individuals from the group treated with ultradiluted Dexamethazon confirms the opposite effect of this drug, showing that the organism is capable of recognizing the information contained in the homeopathic medication.

## ÍNDICE

<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	01
I.1. A homeopatia .....	02
I.2. Ultradiluições homeopáticas .....	08
I.3. Dinamização .....	10
I.4. Hormesis e isoterapia .....	13
I.5. Carcinógenos iniciadores .....	15
 <b>II. OBJETIVO</b> .....	 17
 <b>III. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	 19
III.1. Material .....	20
III.1.1. Caracterização do experimento e equipamentos .....	20
III.1.2. Preparações das ultradiluições (UHD) .....	22
III.2. Métodos .....	24
III.2.1. Tratamento dos animais .....	24
III.2.2. Modelo experimental .....	25
III.2.3. Modelo do hepatócito resistente .....	25
III.2.4. Hepatectomia parcial .....	26
III.2.5. Protocolo para preparação do material em historesina .....	27
III.2.6. Técnicas de colorações .....	28
III.2.7. Análise estatística .....	28
 <b>IV. RESULTADOS</b> .....	 31
IV.1. Análise comportamental .....	32
IV.1.1. Comportamento agressivo .....	32
IV.1.2. Comportamento depressivo .....	33
IV.2. Análise histológica do tecido hepático .....	34
IV.2.1. Análise do tecido hepático de ratos não intoxicados .....	34
IV.2.2. Análise após intoxicação pelo DEN e AAF .....	36
IV.3. Análise morfométrica .....	37
IV.3.1. Área de fibrose .....	37
IV.3.2. Área de necrose .....	37
IV.3.3. Contagem diferencial das células do fígado .....	38
 <b>V. DISCUSSÃO</b> .....	 50
V.1. Comportamento dos animais .....	52
V.2. Citologia hepática .....	53

V.3. Histologia hepática .....	56
<b>VI. CONCLUSÕES</b> .....	60
<b>VII. REFERÊNCIAS</b> .....	62

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Acondicionamento dos ratos em caixas de polietileno e mantidas em laboratório.....**21**
- Figura 2:** Tecido hepático de rato sadio.....**35**
- Figura 3:** Gráfico demonstrando comportamento agressivo e não agressivo, incluindo comportamento normal e depressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com DEN e AAF ultradiluídos.....**40**
- Figura 4:** Gráfico demonstrando comportamento agressivo e não agressivo, incluindo comportamento normal e depressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com Dexametasona.....**41**
- Figura 5:** Gráfico demonstrando comportamento não depressivo, incluindo comportamento normal e agressivo, nos indivíduos dos grupos controle e tratado com AAF e DEN ultradiluídos.....**42**
- Figura 6:** Gráfico demonstrando comportamento depressivo e não depressivo, incluindo comportamentos normal e agressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com Dexametasona.....**43**
- Figura 7:** Alterações teciduais e celulares observadas nos fígados de ratos após intoxicação pelos carcinógenos DEN e AAF.....**44**
- Figura 8:** Gráfico demonstrando a média das áreas de fibrose dos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona....**45**
- Figura 9:** Gráfico demonstrando a média das áreas de necrose dos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona....**46**

- Figura 10:** Gráfico demonstrando a média de células apresentando características de hipertrofia nuclear proliferativa nos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona.....**47**
- Figura 11:** Gráfico demonstrando a média de células apresentando núcleos com característica degenerativa nos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona.....**48**

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Resumo dos resultados comportamental, morfométrico e histológico obtidos de ratos submetidos à aplicação de: carcinógenos DEN e AAF, sem tratamento, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona....**49**

## *I. INTRODUÇÃO*

### **1.1.A HOMEOPATIA**

A homeopatia surgiu há pouco mais de 200 anos quando o médico alemão, Samuel Hahnemann, usou um princípio de Hipócrates, o pai da medicina, que dizia que uma das formas de curar seria através dos semelhantes. Então, o princípio se definiria em: semelhante cura semelhante, ou seja, uma mesma substância seria capaz de curar o que ela mesma provocaria no organismo sadio. Hahnemann estabeleceu um método terapêutico fundamentado em quatro princípios: lei da semelhança, experimentação no homem sadio, administração de medicamento em doses mínimas e indicação de medicamento único. O princípio básico da homeopatia seria então a lei da semelhança.

Com o objetivo de diminuir a toxicidade de algumas substâncias, Hahnemann começou a diluí-las e agitá-las vigorosamente, obtendo efeitos iguais ou superiores àqueles obtidos com doses puras. Não está muito claro na história, mas possivelmente, ao mesmo tempo em que ele diluía, passou também a agitar suas diluições. O método, de Hahnemann, do qual participam diluição e agitação, foi aperfeiçoado durante o desenvolvimento do seu trabalho, e recebeu o nome de “dinamização”. Através dele são produzidos os medicamentos homeopáticos (TEIXEIRA, 1998).

Hahnemann criou a homeopatia como uma ciência desenvolvida através da experimentação. Ele administrou, diariamente, substâncias em indivíduos saudáveis, em pequenas quantidades, até que estes manifestassem uma série de



sinais e sintomas causados pelas substâncias. Os sinais obtidos da administração de cada uma delas foram listados em compêndios denominados “Matérias Médicas”. Até a sua morte, Hahnemann realizou a experimentação de 99 substâncias, trabalho continuado por seus seguidores até nossos dias (LUZ, 1996; CEZAR, 1999). Hahnemann experimentou seus medicamentos nele próprio, em seus alunos, discípulos e familiares, incluindo os filhos.

O funcionamento psíquico, para os homeopatas, é coordenado por uma forma de energia que interliga todas as suas partes, a chamada energia vital, força vital ou princípio vital. Quando estamos em perfeito estado de saúde, nossa energia vital vibra harmoniosamente, mantendo a homeostase interna de todas as funções normais do corpo. Quando ocorre uma desarmonia da energia vital, os sintomas físicos e psíquicos logo aparecem, embora, na maioria das vezes, nem sempre os percebamos (GUEDES, 2003).

Segundo Pustiglione (2001), “Toda força que atua sobre a vitalidade, todo medicamento, afeta a força vital em maior ou menor grau, causando certa alteração no estado de saúde do Homem, por um período de tempo maior ou menor”. A isso dá-se o nome de ação primária.

“A força vital sempre procura opor-se à ação primária; é a “ação resistente” uma propriedade da força vital para preservar a vida e recebe o nome de ação secundária ou reação secundária” (HAHNEMANN, 1996).

A reação secundária ocorre se houver uma condição de saúde oposta (pronta na “memória” do organismo) em grau tão elevado quanto o da ação exercida pelo agente mórbido artificial ou potência medicinal.

Não havendo na Natureza um estado exatamente oposto à ação primária, a força vital tenta utilizar seu predomínio, neutralizando ou extinguindo a ação extrínseca do medicamento que incide sobre ela, restabelecendo seu estado normal. Isso é denominado “ação secundária curativa” (HAHNEMANN, 1996; PUSTIGLIONE, 2001).

Alguns exemplos conhecidos sobre as ações primária e secundária:

**a)** a mão banhada em água quente, que fica muito mais quente que a outra, é a ação primária. Após ser retirada da água e completamente enxuta, em pouco tempo esfria, ficando, posteriormente, muito mais fria do que a outra. Essa é a ação secundária responsiva da força vital;

**b)** uma pessoa aquecida por exercício físico intenso (ação primária) é, mais tarde, tomada de frio e tremores (ação secundária );

**c)** um braço que tenha sido conservado, demoradamente, em água muito fria, fica, primeiro, muito mais pálido e frio do que o outro (ação primária); porém, retirado da água e enxuto, torna-se não apenas mais quente como também vermelho e inflamado (ação secundária);

**d)** à ingestão de café forte segue-se excitação excessiva (ação primária), porém, mais tarde, sobrevem certo relaxamento e sonolência, que permanecem por algum tempo (ação secundária), a não ser que esse estado seja dissipado, de novo e por curto tempo, com novas doses de café (ação primária);

Após a ação primária de um medicamento, que em grandes doses provoca significativa modificação no estado de saúde de uma pessoa sadia, ocorre o seu oposto exato, representando a ação secundária da força vital (HAHNEMANN, 1996; PUSTIGLIONE, 2001).

Efeitos primários e secundários no organismo humano de centenas de fármacos clássicos foram analisados através de um estudo sistemático. Para isso foram utilizados o United States Pharmacopea Dispensing Information (USPDI) e o American Hospital Formulary Service (AHFS), identificando o efeito secundário causado por centenas de drogas aí citadas (TEIXEIRA, 1999).

Os salicilatos (NSAIDs, nonsteroidal anti-inflammatory drugs) experimentados em indivíduos saudáveis ou doentes, em doses farmacológicas clássicas, apresentaram, como efeito primário, a propriedade de atuar como “antiagregante plaquetário”, sendo utilizados geralmente na prevenção de complicações cardiovasculares. Após a suspensão do medicamento verificou-se, como efeito secundário, um aumento rebote da agregação plaquetária, propiciando a formação

de trombos e tromboembolismo (AGUEJOF *et al.*, 1998; AGUEJOUF *et al.*, 2000 a; BEVING *et al.*, 1996; FATAH *et al.*, 1996; VALESINI e PITTONI, 2000).

Trabalhos utilizando doses ultradiluídas de salicilatos em indivíduos sadios constataram um aumento da agregação plaquetária, evidenciando semelhança entre a farmacologia das substâncias ponderais e ultradiluídas (AGUEJOUF *et al.*, 2000b; DOUTREMEPUCH *et al.*, 1987).

Agentes citostáticos (quimioterápicos) que, como efeito primário, promoveram uma imunossupressão, apresentaram, logo após o término do tratamento, uma imunoestimulação como efeito secundário (De La PENA *et al.*, 1996; MARTIN *et al.*, 1985).

Foram encontrados, na literatura, procedimentos terapêuticos de drogas modernas em dosagens ponderais com o objetivo de utilizar o mesmo princípio da homeopatia, ou seja, o efeito secundário como resposta curativa. Pode-se citar, por exemplo, o caso de 38 mulheres que apresentavam anovulação crônica com um contraceptivo oral. Após a suspensão e subsequente tratamento com indutor de ovulação, foram obtidas 22 gestações (BRANIGAN; ESTES, 1999).

O digitálico, um dos principais medicamentos alopáticos, é utilizado como medicamento de princípio homeopático. É uma planta tóxica que provoca diversos tipos de patologias, incluindo arritmias, quando a pessoa sadia é medicada com altas doses. Em doses ponderais, o digitálico é utilizado em várias patologias cardíacas, como a insuficiência cardíaca congestiva, por exemplo.

A homeopatia estimula o organismo a reagir contra o desequilíbrio que o afeta, buscando a cura através da reação do próprio organismo contra o efeito primário dos medicamentos. É o próprio efeito secundário do organismo contra os medicamentos homeopáticos que leva o paciente à cura. Um exemplo clássico é o do veneno da abelha que, preparado homeopaticamente, é um bom remédio para doenças de pele semelhantes a picadas de abelha. O quadro do paciente é comparado com o efeito de uma substância experimentada pela homeopatia. O médico receita a substância bem diluída para não intoxicar ainda mais o paciente e espera que o próprio organismo reaja e cure a doença.

Em pesquisa realizada por Neto *et al.* (2004), a solução concentrada de *Causticum*, utilizada como substância inflamatória, administrada em patas de ratos produziu uma reação inflamatória com formação de edema. Essa mesma substância inflamatória preparada em ultradiluições de 6CH, 12CH, 30CH e 200CH foi administrada em ratos pré-induzidos à inflamação e ao edema por outra substância indutora, e mostrou significativa diminuição da inflamação e do edema pré-induzido. Essa pesquisa mostra o efeito do princípio da semelhança e do efeito secundário produzido através da administração do *Causticum* ultra diluído, levando à diminuição significativa dos sinais de inflamação e edema.

Outro princípio da homeopatia é o emprego do medicamento único, que significa experimentações em indivíduos saudáveis, realizadas com um único medicamento, e, a partir dele, anotados todos os sinais e sintomas. Para o caso de indivíduos doentes com os mesmos sinais e sintomas anotados pelo experimentador seria, então, receitado esse medicamento único, que apresentaria a totalidade de sintomas característicos de cada medicamento e, através do efeito secundário, induziria o paciente à cura, pelo princípio da similitude. A sintomatologia observada pelos voluntários seria o referencial para encontrar o medicamento homeopático com a capacidade de despertar no paciente os mesmos sintomas. Ao serem misturadas substâncias diversas, não seria possível saber os efeitos de uma determinada substância no paciente, o que significa abandonar o alicerce experimental que fundamenta a terapêutica homeopática. Como a expressão dos sintomas diz respeito a todo o corpo e à mente, o princípio da totalidade é considerado básico na homeopatia (TEIXEIRA, 2001).

Alguns pesquisadores estudaram os efeitos do uso clínico homeopático do RNA (HDP®), por meio de registro de sintomas, a partir de critérios pré-estabelecidos, comparados com estudo anteriormente realizado por Julian (1978). Concluíram que o uso do RNA homeopático, em situações clínicas específicas, seria conveniente a indivíduos em que o remédio poderia ser indicado, segundo o método hahnemanniano do medicamento único. A informação obtida pela

experimentação do RNA homeopático poderia ser utilizada em clínica futura (RILEY *et al.*, 2004).

Trabalho realizado por Sena *et al.* (2003) mostrou a eficácia do tratamento da ceratoconjuntivite primaveril com o uso do tratamento homeopático, por meio da administração de dose única e de medicamento único, baseado na totalidade sintomática do paciente.

Linde *et al.* (1997), revisando o assunto em 186 artigos, identificaram 89 deles com dados adequados para a realização de uma meta-análise. Os trabalhos foram classificados em quatro tipos principais de homeopatia: a) **clássica**, quando um medicamento único era selecionado de acordo com o quadro sintomatológico do paciente; b) **clínica**, quando um ou vários medicamentos únicos eram administrados para situações clínicas padrão ou diagnósticos convencionais; c) **complexa**, quando medicamentos múltiplos eram misturados em uma fórmula padrão, com o objetivo de englobar todos os sintomas do indivíduo; d) **isopatia**, quando as diluições seriadas e agitadas eram manipuladas a partir do agente causador de uma infecção ou de uma condição toxicológica. No modelo homeopatia clássica se enquadraram 15% dos experimentos, na clínica 55%, na complexa 22% e na isopatia 8%. Na referida meta-análise, os autores concluíram que os efeitos clínicos nos tratamentos homeopáticos não eram equivalentes aos obtidos pelo emprego do placebo. Entretanto, naquele momento, evidências encontradas eram insuficientes para confirmar a eficácia da homeopatia em qualquer condição clínica.

## 1.2. ULTRADILUIÇÕES HOMEOPÁTICAS

Na homeopatia, substâncias submetidas a diluições seriadas, normalmente centesimais, e a succussões (agitações ritmadas, processo também chamado de dinamização) conservariam o poder curativo contra doenças de sintomas semelhantes aos que seriam produzidos pela mesma substância. Tal técnica, também recebe os nomes de ultradiluição, diluição ultra-molecular ou UHD.

Segundo Hahnemann, 1996:

“A arte de curar homeopática, mediante um procedimento que lhe é próprio e nunca antes tentado, desenvolve, para seus fins específicos, os poderes medicamentosos internos e não materiais das substâncias em estado cru, em um grau até então jamais observado, pelo qual todas elas se tornam incomensuravelmente penetrantes eficazes e benéficas, mesmo aquelas que, no estado cru, não demonstram a menor ação medicamentosa sobre o organismo humano. Essa notável mudança nas qualidades do corpo mediante ação mecânica em suas menores partes por atrito e succussão (partes estas que, por sua vez, são separadas umas das outras, através de um diluente), desenvolve os poderes dinâmicos latentes e, até então, despercebidos, que afetam especialmente o princípio vital. Esse preparo, por conseguinte, é chamado dinamizar ou potencializar (desenvolvimento do poder medicamentoso) e os produtos são dinamizações ou potências em diferentes graus” (HAHNEMANN, 1996).

Com a finalidade de efetuar ao máximo esse desenvolvimento da força, uma pequena parte da substância a ser dinamizada, digamos, um grão, é submetido a três horas de trituração com três vezes 100 grãos de açúcar de leite (usado como diluente do grão), até à milionésima parte em forma pulverizada. Um grão desse pó é primeiramente dissolvido em 500 gotas de uma mistura constituída de uma parte de álcool e quatro de água destilada, sendo uma só gota colocada em um frasco. A isso acrescentam-se 100 gotas de álcool puro, aplicando-se ao frasco vedado 100 fortes succussões com a mão contra um amortecedor. Este é o medicamento no primeiro grau de dinamização, com o qual se podem, então, umidecer

pequenos glóbulos de açúcar e distribuí-los sobre papel de filtro, a fim de secar, guardando-os em um frasco com o sinal (I) do primeiro grau de potência. Para utilizar um desses glóbulos numa nova dinamização, coloca-o em um novo frasco (com uma gota de água para dissolvê-lo), dinamizando-o, então, com 100 gotas de álcool puro, do mesmo modo, mediante 100 fortes sucussões. Com esse líquido medicamentoso alcoólico, os glóbulos são novamente umedecidos, distribuídos sobre papel de filtro e secos rapidamente, posto em frasco fechado e protegido da luz solar com o sinal (II) da segunda potência. E assim se continua procedendo, até que, mediante o mesmo processo, um glóbulo XXIX dissolvido com 100 gotas de álcool, mediante 100 sucussões tenha formado um líquido alcoólico com o qual glóbulos de açúcar secos devidamente umedecidos recebem o grau XXX de dinamização” (HAHNEMANN, 1996).

Muitas pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de comprovar o mecanismo de ação das ultradiluições, utilizando-se da racionalidade científica moderna. Por estar fundamentada em pressupostos distintos do conhecimento científico clássico, a classe homeopática recebe severas críticas ao seu modelo terapêutico.

A comunidade científica moderna exige da homeopatia e de seus pesquisadores um embasamento segundo os ditames da atual “medicina baseada em evidências”. Esta é a linguagem utilizada em qualquer ambiente acadêmico e, para a homeopatia se aproximar dos mesmos, deve evidenciar as importantes pesquisas homeopáticas existentes e fomentar novos trabalhos científicos, buscando validar os pressupostos homeopáticos tanto na área clínica quanto nas áreas básicas da ciência (TEIXEIRA, 2001).

### 1.3. DINAMIZAÇÃO

As diluições homeopáticas facilmente ultrapassam o número de Avogadro, e portanto, torna-se estatisticamente improvável encontrar um única molécula do soluto (princípio ativo) na solução. Dessa forma o medicamento homeopático é constituído somente do solvente utilizado nas ultradiluições e impregnado com informações do soluto. Com base nas leis da física e nas propriedades da água, a grande maioria da comunidade científica não aceita a possibilidade de que o solvente possa “lembrar” o soluto que, uma vez, foi nele diluído, mesmo obedecidas as normas de diluição hahnemannianas.

Devido a este fato, a homeopatia, assim como a hormesis (uma mesma substância tem a capacidade de estimulação ou inibição, dependendo da dosagem utilizada) e a isoterapia (substância manipulada a partir do agente causal de uma enfermidade ou condição toxicológica) se colocam em posição difícil, pois não se identifica nenhum mecanismo concebível de suas ações no modelo molecular, já que nenhuma molécula do insumo ativo está presente em altas dinamizações.

Existem algumas teorias que explicam essa memória de informações por parte do solvente (memória da água):

**a)** diferenças na proporção de átomos isotopicamente diferentes assim como a formação de clusters e clatratos definidos no solvente pelo insumo ativo (SCHULTE, 1999).

**b)** desenvolvimento de oscilações coerentes, de fase através do acoplamento de radiações do dipolo da água (ENDLER et al., 1997).

**c)** medicamento homeopático atuando como fonte de informações que, altera o potencial de informação do organismo (KHRENNIKOV, 2000; LAGACHE, 1997).

A descoberta mais polêmica na área médica sobre a eficácia da homeopatia foi a do químico Shui Yin Lo (1998), quando iniciou uma pesquisa no laboratório de jatopropulsão do Instituto de Tecnologia da Califórnia. Seu objetivo



seria desenvolver um aditivo que iria revolucionar o desempenho de motores de automóveis, tornando-os mais potentes e econômicos. Seu intento não se concretizou, pois o aditivo conseguido foi apenas razoável. Porém, durante o projeto, ele observou que as moléculas de água, normalmente dispostas de modo aleatório em seu estado normal, após a ultradiluição formavam “cachos” de 6 a 100 unidades, todas alinhadas de forma original, e exibindo características específicas, como campo elétrico singular e adesão firme a superfícies. O mais interessante é que os cachos se replicavam a cada nova diluição, mesmo que na água não mais existissem resquícios da substância inicialmente adicionada.

Essa não foi a única experiência nesse sentido. Em 2001, o químico alemão, Kurt Geckeler, e seu colaborador, Shashadhar Samal, esbarraram em efeito semelhante ao estudar o comportamento de diluições de fulerenos (material formado por átomos de carbono), na Coreia do Sul. Eles constataram que as moléculas se aglomeravam mais a cada nova diluição. Isso também foi observado em diluição de moléculas orgânicas, como a ciclodextrina, e inorgânicas como o cloreto de sódio.

Em 1988, Davenas *et al* publicaram, na revista *Nature*, dados sobre a degranulação de basófilos *in vitro*, induzida por preparações UHD de anti-IgE. O estudo, primeiramente desenvolvido pelo grupo de Jaques Benveniste (DAVENAS *et al.*, 1988), não pôde ser reproduzido por outros grupos, em outros laboratórios (HIRST *et al.*, 1993; WIEGANT, 1994). Em trabalhos anteriores, Davenas *et al.* (1987) mostraram que a potência 9CH de *Silícea terra* (composto oxigenado de Sílica) era capaz de reduzir, de maneira estatisticamente significativa (28 a 61%) a atividade de macrófagos peritoneais de camundongos, o que não acontecia com os controles 9CH de NaCl e 9CH de lactose.

Vários trabalhos sobre efeitos da UHD em modelos de imunologia e inflamação foram realizados. Bildet *et al* (1989), mostraram que as potências 7CH e 9CH de *Apis mellifica* reduziam o eritema provocado por raios U.V. sobre a pele de cobaia, de maneira estatisticamente significativa. Youbicier-Simo *et al* (1993, 1996, 1997) observaram que o tratamento com altas diluições, preparadas a partir

de um triturado de *bursa de Fabrícus*, (potências 13 e 14CH), restaurava a resposta dos linfócitos B de frangos bursectomizados *in ovo*, bem como os níveis plasmáticos de corticosteróide e ACTH (Adrenocorticotropic Hormone). Reber *et al* (1996) observaram que doses infinitamente pequenas de picrotoxina eram capazes de antagonizar os efeitos provocados por doses maiores do mesmo princípio ativo sobre o reflexo vestibulo-ocular em ratos.

Lorenz *et al.* (2003) observaram a influência de dois diluentes e o seu efeito sobre as ultradiluições, especialmente sobre o número de Avogadro. Eles utilizaram duas diluições médias com dois tipos de diluentes (conhaque e etanol purificado) com a histamina e utilizaram como teste a ativação de basófilos *in vitro*. Os basófilos são ativados pela anti-Ig E, e são inibidos pela incubação de histamina. A redução ou ativação foram mensuradas com diferentes diluições de histamina. Os resultados mostraram que a histamina na diluição clássica, com conhaque, obteve maior inibição de basófilos se comparada com a histamina diluída em etanol purificado.

Outras pesquisas, para melhor compreensão da homeopatia foram realizadas por Dyo, *et al.* (2004), que estudaram o efeito do complexo homeopático *Canova®*, utilizado como imunomodulador em ratos induzidos ao sarcoma. Um retardo no desenvolvimento, a redução no tamanho dos tumores e a infiltração aumentada de células linfocíticas, tecido granulomatoso e fibrose ao redor dos tumores foram observados nos ratos tratados. Houve, também, uma total regressão dos tumores em 30% dos animais. Todos os animais tratados sobreviveram, enquanto 30% dos animais do grupo controle morreram.

Guedes (2003) detectou a influência do tecido tireoidiano dinamizado na potência 13CH, retirado de girinos de *Rana catesbiana*, no pico da metamorfose, verificando uma diminuição da metamorfose dos animais tratados com a homeopatia, quando comparado ao grupo controle.

Há uma tendência atual para a crença, anteriormente intuitiva, de Hahnemann, de que uma substância pode tornar-se mais potente ao ser diluída e uma molécula ultradiluída pode, mesmo, alterar as propriedades da água.

#### 1.4.HORMESIS e ISOTERAPIA

O termo hormesis foi proposto em 1943 por Southam & Erhlich, apud Calabrese e Baldwin (2000), quando verificaram que extrato químico de cedro apresentava a capacidade de estimular o crescimento de fungos quando utilizado em baixas doses, enquanto inibia essa atividade em altas doses. Esse chamado truísmo, já tinha sido citado, tanto como lei de Arndt-Schulz quanto como regra de Hueppe. Hugo Schulz, ao pesquisar a estimulação metabólica de fungos, e Ferdinand Hueppe, ao pesquisar a estimulação química do crescimento bacteriano, verificaram, em ambos os estudos, que estímulos fracos excitavam a atividade fisiológica, moderadamente fortes a favoreciam, fortes a retardavam, e os muito fortes a interrompiam.

Tradicionalmente, para determinar o efeito dose-resposta de fatores de risco, em toxicologia, utilizam-se dois modelos: o linear, em que é sempre suposta alguma conseqüência quando uma população é exposta a uma situação danosa qualquer; e o modelo limiar, que, a partir de um determinado valor de dose, causará um efeito associado. Contudo Calabrese e Baldwin (2003) acreditavam que a melhor representação gráfica do efeito dose-resposta era a forma de uma curva em U, normalmente chamada hormesis – onde ocorreria um estímulo moderado em pequenas doses, mas, em altas doses, causaria inibição da resposta. Normalmente nota-se um estímulo posterior a uma resposta inibitória inicial, aparentando representar uma compensação a uma quebra da homeostase.

Muitos antibióticos, antivirais, antitumorais e numerosos outros medicamentos exibem uma dose resposta bifásica, semelhante à hormesis. Uma determinada dose pode ser efetiva clinicamente, mas outra pode ser danosa. Alguns agentes antitumorais, (como por exemplo o suramim), inibem a proliferação celular em altas doses, quando clinicamente efetivos, mas tornam-se agonistas parciais em baixas doses, e estimulam a proliferação celular. Isso também ocorre em alguns agentes antibacterianos (eritromicina, estreptomina) e antivirais (adefovir). Nesses casos, a droga, em doses inferiores às terapêuticas,

pode causar dano aos pacientes, o que requer uma cuidadosa supervisão clínica. Alguns tratamentos para Alzheimer com agentes anticolinesterásicos de segunda/terceira geração, normalmente aumentam a função cognitiva em baixas doses, mas a diminuem nas altas. Portanto, a dose-resposta bifásica, propicia não somente novas oportunidades para um aprimoramento clínico, mas também riscos que devem ser estudados (CALABRESE e BALDWIN, 2003; CHANG *et al.*, 2000; JONAS *et al.*, 2001; MATTSON *et al.*, 2003; SÖTI *et al.*, 2003).

A isoterapia é o método de tratamento através dos iguais, independentemente da natureza da substância empregada, orgânica ou não, desde que esta esteja seguramente vinculada à causa da patologia instalada no paciente ou em uma população. Essa terapia, realizada através de substância diluída e dinamizada, segundo o método homeopático de preparo dos medicamentos, foi descrita por Hahnemann, que, entretanto, era contrário ao uso (BENEZ & FERNANDES, 2003).

A isopatia está bem indicada para dessensibilizar um organismo com relação a alguma droga, um tóxico ou mesmo uma substância natural que esteja em desequilíbrio nele. Sabe-se que uma diluição hahnemania de uma substância tóxica exerce um efeito protetor contra a mesma (COTTE & BERNARD, 1983).

Wurmser (2000) discorreu sobre a influência das doses ultradiluídas homeopáticas na cinética da eliminação de substâncias tóxicas do organismo, ressaltando que os resultados terapêuticos são melhores, mais rápidos e sem riscos.

Alguns ensaios isoterápicos com doenças alérgicas foram realizados pelo grupo de Taylor *et al.* (2000). De uma série de quatro experimentos, destaca-se o realizado com 51 pacientes com rinite alérgica perene, tratados com o principal alérgeno inalante, dinamizado na potência 30CH. Comparado ao grupo placebo, a homeopatia provocou uma clara e significativa melhora, clinicamente relevante no pico do fluxo inspiratório, semelhante ao conseguido com esteróides tópicos.

Em outro trabalho, Benez & Fernandes (2003) trataram com o medicamento *Plumbum mettalicum*, na potência 30CH, aves intoxicadas pelo chumbo e obtiveram melhora dos sintomas, depois de poucas horas após o tratamento, mesmo nos casos de comprometimento do sistema neurológico.

Os resultados de vários estudos com isoterapia têm encorajado os pesquisadores a estudarem essa terapêutica e a indicar esse tipo de tratamento devido às novas vantagens que o método oferece: segurança, facilidade de administração, baixo custo e obtenção de bons resultados.

### **1.5. CARCINÓGENOS INICIADORES**

Através da administração de carcinógenos químicos iniciadores (substâncias químicas que, quando administradas, causam mutações no DNA celular, induzindo a formação de carcinomas em tecidos) é possível estudar a evolução de neoplasias na bexiga urinária, trato respiratório, intestinos, glândula mamária, sistema nervoso central e outros (BRYAN & SPRINGER, 1966; FABER & CAMERON, 1980).

A hepatocarcinogênese experimental representa um dos modelos bastante utilizados para o estudo da gênese e evolução neoplásica, devido ao tamanho do fígado, susceptibilidade à indução de câncer, conhecimento de seus aspectos bioquímicos e da biologia e patologia celular e da possibilidade de manipulação de proliferação celular (FABER & CAMERON, 1980).

As alterações estruturais e funcionais das células resultantes da interação com hepatocarcinógenos podem determinar, cronicamente, novos padrões de comportamento celular com evolução para neoplasias, com ou sem metástases (FABER; SARMA, 1987).

Quanto ao tipo de alteração provocada pelos carcinógenos, pode-se classificá-los em:

a) **Iniciadores**, que têm capacidade de causar alterações irreversíveis no genoma da célula. Os alcalóides pirrolizidínicos enquadram-se nesse tipo, pois são agentes alquilantes.

b) **Promotores**, que causam expansão clonal de células iniciadoras após exposição a um iniciador em particular.

Uma revisão completa sobre a evolução dos modelos experimentais de hepatocarcinogênese foi realizada por Daggi (1994), baseado no modelo do hepatócito resistente que foi proposto por Solt & Faber (1976) e baseou-se em três proposições:

1) A resistência a toxicidade de um carcinógeno pode ser uma propriedade adquirida durante o processo de carcinogênese.

2) Muitos carcinógenos são potentes inibidores da regeneração hepática.

3) Hepatócitos pré-neoplásicos mostram resistência a algumas propriedades citotóxicas de vários carcinógenos.

Nesse modelo, ratos foram expostos a uma dose de um carcinógeno iniciador, a Dietilnitrosamina (DEN). Após um período definido, os ratos foram expostos a doses baixas de outro iniciador, o Acetaminofluoreno (AAF), e submetidos a hepatectomia parcial de 70% do parênquima, como estímulo proliferativo ou promotor. Dessa forma, os hepatócitos iniciados foram estimulados, enquanto as células que permaneceram inalteradas sofreram pouca regeneração, após a hepatectomia. Embora na literatura a hepatectomia parcial corresponda a 70% do parênquima hepático, Bonamin *et al.* (2000) observaram que, durante a ressecção do lobo lateral esquerdo do fígado dos ratos submetidos a experimentação, o lobo extraído corresponderia a aproximadamente 30% do total da glândula.

Ainda de acordo com os estudos de Bonamin *et al.* (2000), os primeiros focos e nódulos pré-neoplásicos poderiam ser vistos no fígado dos animais com cerca de 5 a 10 dias após hepatectomia parcial.

## *II. OBJETIVO*

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi detectar a influência dos isoterápicos Acetaminofluoreno (AAF) na potência 30CH, Dietilnitrosamina (DEN) na potência 30CH e Dexametasona na potência 30CH no tecido hepático de ratos Wistar machos, após indução carcinogênica com os iniciadores Acetaminofluoreno (AAF) e Dietilnitrosamina (DEN).



### *III. MATERIAL E MÉTODOS*

### **III.1. MATERIAL**

#### **III.1.1. CARACTERIZAÇÃO DO EXPERIMENTO E EQUIPAMENTOS**

O experimento foi realizado em local fechado, uma parte na Universidade Estadual Paulista, UNESP-Rio Claro e outra na clínica veterinária Vet Vida, Rio Claro-SP, durante o mês de setembro de 2004, com 30 ratos Wistar machos adultos, obtidos do Biotério da Universidade Estadual Paulista, UNESP-Botucatu, todos apresentando a mesma idade. Os animais foram divididos em três grupos de dez, sendo um grupo controle (aplicação de placebo), um grupo tratado com carcinógenos Dietilnitrosamina (DEN) e Acetilaminofluoreno (AAF) ultradiluídos e um grupo tratado com Dexametasona ultradiluída. Os ratos foram alojados em caixas de polietileno, medindo 30x40cm (10 animais por caixa) submetidos a um regime de ciclo de luz controlado (12 horas no claro e 12 horas no escuro) e mantidos a temperaturas que variavam entre 10°C e 24°C, recebendo alimentação extrusada (ração Labina® Purina®) *ad libitum* e todos ingerindo água da mesma fonte, um bebedouro em cada caixa (Fig. 1).

Os carcinógenos foram obtidos do laboratório Sigma® e a Dexametasona, na farmácia de manipulação Homeoderma, de Rio Claro.

Após doze dias do início do experimento, todos os animais foram anestesiados (anestesia dissociativa- cetamina Dopalene® e xilazina Rompum®, produtos obtidos da distribuidora Farmadog Ltda.) e submetidos a hepatectomia parcial.



Figura 1. Acondicionamento dos ratos em caixas de polietileno e mantida em laboratório.

### **III.1.2. PREPARAÇÕES DAS ULTRADILUIÇÕES (UHD)**

Os preparados homeopáticos foram obtidos através dos concentrados dos iniciadores Acetilaminofluoreno (AAF) e Dietilnitrosamina (DEN), e da tintura-mãe do medicamento Dexametasona. Os iniciadores (substâncias que podem iniciar um tumor apresentando característica mutagênica) ultradiluídos foram preparados em capela, no Laboratório de Biologia Molecular-UNESP-Rio Claro. A Dexametasona ultradiluída foi preparada na farmácia de manipulação Homeoderma.

Tanto os iniciadores, como a Dexametasona foram dissolvidos em água destilada.

#### **III.1.2.1. Preparação da potência 1CH ( Segundo Hahnemann, 1996):**

Na escala centesimal (CH), utiliza-se para a preparação 1 parte do soluto para 99 partes do solvente, proporção 1:100, então:

- 1g dos concentrados (AAF, DEN e Dexametasona)
- 99 mL do solvente (álcool 30%)

Foi então dissolvido 0,1g dos concentrados AAF, DEN e Dexametasona em 9,9 mL de álcool 30%. Logo após a diluição realizou-se a succussão (agitação) manual em 100 vezes, obtendo-se a preparação na potência 1CH.

### **III.1.2.2. Preparação da potência 1CH até 27CH:**

- Insumo inerte (solvente): água destilada
- Insumo ativo (tintura-mãe): AAF, DEN e Dexametasona 1CH-26CH.

Foi diluído 0,1mL da solução 1CH em 9,9mL de água destilada, na proporção 1:100, e succionado 100 vezes, originando a solução 2CH. A técnica foi repetida, sucessivamente, até a solução ultradiluída 27CH.

### **III.1.2.3. Preparação da potência 28CH:**

- Insumo inerte: álcool 70%
- Insumo ativo: AAF, DEN e Dexametasona 27CH.

Foi transferido 0,1mL das soluções ultradiluídas 27CH para 9,9 mL da solução inerte (álcool 70%) e succionada 100 vezes, originando a solução 28CH. A solução foi preparada em álcool 70%, para ser armazenada, durante o experimento, como solução-mãe para a manipulação das ultradiluições 29CH e 30CH. Em álcool 70%, a solução tem prazo de validade maior em comparação com a manipulada em água destilada.

### **III.1.2.4. Preparação das potências 29CH e 30CH:**

- Insumo inerte: solução fisiológica. Essas últimas preparações foram feitas em solução fisiológica, porque o preparado foi aplicado nos ratos, via subcutânea, diariamente, o que facilita a absorção pelo tecido subcutâneo.

- Insumo ativo: AAF, DEN e Dexametasona ultradiluídos na potência 28CH.

Diluiu-se 0,1 mL da solução ultradiluída, 28CH em 9,9 mL de solução fisiológica, succionado 100 vezes, originando a solução ultradiluída 29CH. Da

solução 29CH foi transferido 0,1 mL para 9,9 mL de solução fisiológica ,  
sucucionado 100 vezes obtendo a preparação na potência 30CH.

#### **III.1.2.5. Preparação do placebo:**

Como solução de controle, foi utilizada solução fisiológica (NaCl), preparada de acordo com os métodos descritos acima, ou seja, com as diluições e sucussões até a potência 30CH .

### **III.2. MÉTODOS**

#### **III.2.1. TRATAMENTO DOS ANIMAIS**

Os 30 animais do experimento receberam aplicações subcutâneas diárias, as quais foram realizadas na clínica veterinária Vet Vida, a partir do seguinte protocolo:

**Grupo I:** 10 animais tratados com placebo (solução fisiológica ultradiluída 30CH) aplicado via subcutânea, diariamente;

**Grupo II:** 10 animais tratados com Dietilnitrosamina (DEN) e Acetilaminofluoreno (AAF) ultradiluídos, na potência 30CH (UHD), aplicados via subcutânea, diariamente;

**Grupo III:** 10 animais tratados com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH (UHD), aplicada via subcutânea, diariamente.

### III.2.2. MODELO EXPERIMENTAL

O experimento foi duplo-cego (o pesquisador não tem conhecimento sobre as medicações aplicadas nos diversos grupos de animais) e randomizado (há um grupo controle), com início em setembro de 2004 e constituído por três grupos de animais, sendo um controle, que recebeu placebo (solução fisiológica) e dois tratados com ultradiluições iniciadoras (AAF e DEN) e Dexametasona, todos na potência 30CH. O tratamento teve duração de 30 dias.

**a) Grupo controle:** 10 ratos Wistar machos adultos foram alojados juntos, em caixa de polietileno. Foram aplicados, subcutaneamente, 0,4 mL de placebo, diariamente, com auxílio de seringa de insulina.

**b) Grupos homeopáticos:** Dois grupos de 10 ratos Wistar machos adultos foram colocados em duas caixas de polietileno. Um grupo recebeu, diariamente, aplicações subcutâneas de Dexametasona 30CH, na dosagem de 0,2 mL, mais a solução fisiológica 30CH, na dosagem de 0,2 mL, totalizando 0,4 mL, com auxílio de seringa de insulina. O outro grupo recebeu, subcutaneamente, os iniciadores Acetilaminofluoreno (AAF) 30CH e Dietilnitrosamina (DEN) na potência 30CH, diariamente, na dosagem de 0,2 mL cada um, totalizando 0,4 mL.

### III.2.3. MODELO DO HEPATÓCITO RESISTENTE ( DAGLI *et al.*, 1998)

O procedimento abaixo descrito foi adaptado por Dagli *et al.*, (1998):

**Dia 0:** Aplicação, em capela, do iniciador Dietilnitrosamina (DEN) 300mg/kg, via intraperitoneal, em todos os indivíduos de todos os grupos. Início das aplicações subcutâneas das ultradiluições de AAF e DEN no grupo II e Dexametasona, no grupo III;

**Dias 15, 16 e 17:** Administração, em capela, a todos os animais dos três grupos, através de sonda gástrica, do iniciador Acetilaminofluoreno (AAF) 20mg/kg, diluído em óleo de milho;

**Dia 18:** Hepatectomia parcial (30% do fígado) nos indivíduos de todos os grupos, para obtenção de efeito promotor, que não é mutagênico e aumenta a proliferação celular após aplicação prévia de um iniciador de tumor, realizada no centro cirúrgico da clínica veterinária Vet Vida;

**Dias 20 e 22:** Administração, em capela, a todos os grupos, através de sonda gástrica, de Acetilaminofluoreno (AAF) 20 mg/kg, diluído em óleo de milho;

**Dia 30:** Sacrifício dos 30 animais para retirada de fragmentos do tecido hepático;

**Dias 0 – 30:** Em todos os dias do experimento foram aplicadas, subcutaneamente, AAF e DEN ultradiluídos nos indivíduos do grupo II e Dexametasona nos do grupo III. No grupo controle foi aplicada, via subcutânea, solução salina ultradiluída na potência 30CH.

#### **III.2.4. HEPATECTOMIA PARCIAL**

A hepatectomia parcial foi realizada no centro cirúrgico da clínica veterinária Vet Vida. Os animais foram anestesiados com anestesia dissociativa (quetamina e xilazina), aplicada por via intramuscular, na proporção 2:1. A seguir fez-se a tricotomia e assepsia ventral com iodo povidine e clorexidine 0,02%. Os ratos foram submetidos à incisão do plano sagital-mediano da região epigástrica para exposição da cartilagem xifóide. Com auxílio de tesoura e pinça cirúrgicas, foi removida a cartilagem xifóide e a tração do lobo lateral esquerdo do fígado, equivalente a aproximadamente 30% do fígado total, removido após ligadura dos vasos hilares com fio absorvível (catgut 2-0). A secção parcial do fígado foi realizada com auxílio de bisturi elétrico. A sutura do plano muscular foi feita com fio absorvível (catgut 2-0) e pontos simples separados; para o subcutâneo foi utilizado o fio absorvível (catgut 2-0), com a técnica de “cushing” para



aproximação das bordas; e, por último, foi realizada a sutura do plano cutâneo com o fio inabsorvível (nylon 2-0), com pontos simples separados. Realizou-se, com clorexidine 0,02%, a assepsia dos pontos da pele. Os animais foram mantidos em observação durante 24 horas, até a completa recuperação do pós-operatório.

### **III.2.5.PROTOCOLO PARA PREPARAÇÃO DO MATERIAL EM HISTORESINA**

Trinta dias após a inoculação das drogas, os animais foram sacrificados no Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia, UNESP-Rio Claro, e os fígados foram retirados e rapidamente pesados. Na sequência, um fragmento de aproximadamente 20 mm de espessura, no sentido crânio – caudal, próximo à região da hepatectomia parcial, foi retirado e fixado em paraformaldeído e Bouin alcoólico durante 24 horas.

Após a fixação, o material foi colocado em Tampão Fosfato de Na (pH 7,4) durante três horas e desidratado em série crescente de álcool 70%, 80%, 90% e 95%, durante uma hora cada passagem.

O material foi, então, mergulhado em resina de embebição “over night” em geladeira, e por último, incluído em resina (15mL da resina de embebição mais 1mL do polimerizador). O material foi colocado em moldes plásticos contendo resina para inclusão, colocado em estufa a 37°C “over night”, colado em blocos de madeira, levado para micrótomo e seccionado com espessura de 0,6µm. A seguir, os cortes foram colocados em lâminas de vidro, corados pela Hematoxilina e Eosina (H.E.) para posterior observação em fotomicroscópio.

### **III.2.6. TÉCNICA DE COLORAÇÃO**

#### **III.2.6.1. Hematoxilina-Eosina:**

- Depois de seccionado, o material foi passado em água destilada durante 1 minuto;
- Corado com hematoxilina por 10 minutos;
- Passado em água destilada por 4 minutos;
- Lavado rapidamente em água corrente;
- Corado com eosina durante 5 minutos;
- Lavado outra vez, rapidamente em água corrente;
- Secagem das lâminas que foram montadas com bálsamo do Canadá e recobertas por lamínula para observação em microscópio de luz.

### **III.2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

As análises estatísticas foram realizadas no Departamento de Estatística e Informática da Universidade Estadual Paulista, UNESP-Rio Claro.

Foram realizadas análises comportamental e morfométrica. A primeira foi através de observação diária dos indivíduos e a morfométrica, através das medidas dos fragmentos dos fígados. Foram analisados 9 animais por grupo, totalizando 27 indivíduos, devido ao óbito ocorrido com um dos animais tratado pela Dexametasona ultradiluída (grupo III), durante o pós-operatório da hepatectomia parcial. Foi descartado, aleatoriamente, um animal de cada grupo restante, para que a estatística fosse realizada com um número igual de indivíduos em cada grupo estudado, evitando-se possíveis erros.

### III.2.7.1. ANÁLISE COMPORTAMENTAL

O experimento durou 30 dias durante os quais observou-se diariamente o comportamento dos animais, quando eram aplicados os preparados homeopáticos. Os diferentes comportamentos foram classificados em: normal, agressivo e depressivo.

- a) **Comportamento normal:** Boa aceitação por parte dos animais durante as manipulações diárias. Estes apenas urinavam, defecavam e, às vezes, gritavam, apresentando obediência à menor contradição;
- b) **Comportamento agressivo:** Os animais apresentaram intolerância à menor contradição durante as manipulações diárias, respondendo com violência e fúria (mordiam, gritavam, tentavam escapar, urinavam e defecavam constantemente);
- c) **Comportamento depressivo:** Os animais não reagem com fúria diante das manipulações diárias, apenas choravam. Mantiveram-se quietos e aparentaram tristeza.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste de Fisher, com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

### III.2.7.2. ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Para verificação de possíveis diferenças estatísticas entre os grupos controle e os grupos tratados, a análise morfométrica foi feita a partir de lâminas histológicas contendo secções de fígados de todos os indivíduos de cada grupo estudado, quando se definiram três campos microscópicos (periferia esquerda, centro e periferia direita da lâmina), utilizados nas medidas das áreas de fibrose e necrose e na contagem diferencial de células, como segue:

**a) Áreas de fibrose e necrose:** os três campos microscópicos obtidos de cada lâmina histológica foram fotografados, escaneados e importados para o programa Image Tool, em que as áreas de fibrose e necrose foram devidamente medidas e calculadas em pixels.

**b) Contagem diferencial de células:** a contagem foi realizada através de fotos dos três campos microscópicos das secções histológicas onde as células foram contadas uma a uma, com a ajuda de lupa e esferográficas, para que as células já contadas pudessem ser demarcadas. As células foram classificadas quanto a sua estrutura nuclear, a saber:

**b.1.) Hipertrofia nuclear proliferativa:** foram consideradas para esse tipo de classificação somente as células que continham núcleo com nucléolos evidentes, células megalocíticas (com núcleo grande) e as células binucleadas.

**b.2.) Alteração nuclear degenerativa:** foram consideradas para essa classificação as células hepáticas que apresentaram núcleo picnótico.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

## *IV. RESULTADOS*

## **IV.1. Análise Comportamental**

### **IV.1.1. Comportamento agressivo**

#### **IV.1.1.1 Indivíduos submetidos à aplicações de DEN e AAF UHD**

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que, na análise comportamental comparativa entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com DEN e AAF ultradiluídos na potência 30CH, nos primeiros, dos nove animais do total, cinco deles apresentam-se agressivos, ou seja, os animais respondem às aplicações diárias das substâncias com violência e fúria, mordendo, gritando, tentando escapar das mãos do manipulador, urinando e defecando constantemente até o momento de serem devolvidos à caixa onde estão sendo mantidos. Os outros quatro animais restantes apresentam comportamento normal, ou seja, aceitam bem as aplicações apesar de urinar, defecar e gritar, às vezes, mas respondem com obediência à menor contradição.

No segundo grupo, todos os indivíduos apresentam comportamento agressivo. (Fig.2).

A análise estatística mostra que não existe significância no comportamento agressivo, pelo teste de Fisher com  $p=0,3348$ , entre esses dois grupos, indicando que, estatisticamente, não há alteração comportamental comparativa agressiva entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com DEN e AAF ultradiluídos.

#### **IV.1.1.2. Indivíduos submetidos à aplicações de Dexametasona UHD**

A análise comportamental comparativa realizada entre os indivíduos dos grupos controle e o tratado com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH, revela que, nos primeiros, dos nove indivíduos do total, cinco apresentam comportamento agressivo enquanto apenas quatro respondem normalmente às manipulações.

No segundo grupo, os nove indivíduos não respondem com agressividade e sim com depressão (Fig.3).

Nesse caso também não há significância estatística pelo teste de Fisher com  $p=0,08$ , indicando que, estatisticamente, não há alteração comportamental comparativa entre os indivíduos dos grupos controle e o tratado com Dexametasona quanto à resposta comportamental agressiva.

#### **IV.1.2. Comportamento depressivo**

Os resultados obtidos no presente estudo comportamental comparativo entre todos os indivíduos dos três grupos, quanto à resposta ou não ao comportamento depressivo, revelam que, tanto os indivíduos do grupo controle quanto os do grupo tratado com DEN e AAF ultradiluído na potência 30CH, não apresentam resposta de depressão, mas de agressão, ou seja, os animais reagem de forma violenta e furiosa às aplicações diárias dos medicamentos (Fig. 4).

Ao contrário dos indivíduos dos grupos controle e tratado com DEN e AAF ultradiluído, todos os nove indivíduos do grupo tratado com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH apresentam comportamento depressivo, ou seja, os animais não reagem de forma violenta e furiosa às aplicações diárias dos medicamentos, estando sempre quietos e em aparente tristeza (Fig. 5).

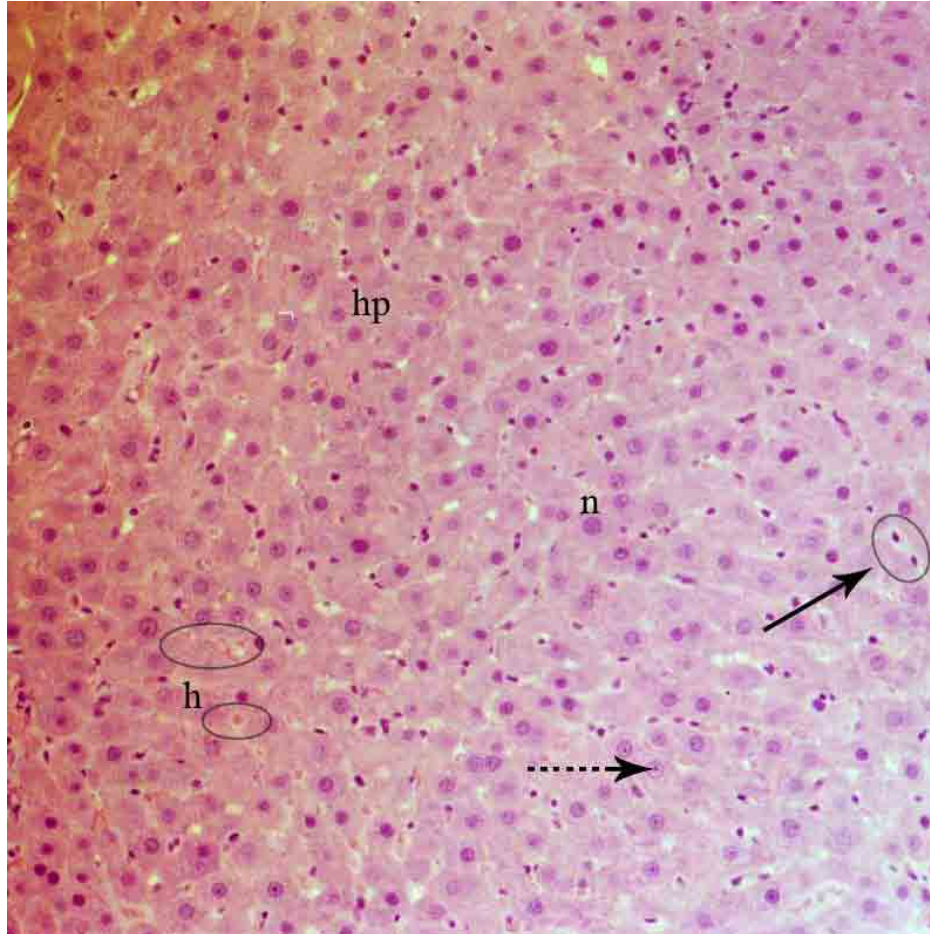
Na análise comportamental comparativa para o comportamento de depressão entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com Dexametasona ultradiluída (Fig. 5), e ainda entre os grupos tratados com DEN e AAF ultradiluído e Dexametasona ultradiluída, os resultados estatísticos obtidos, através da aplicação do teste de Fisher, mostram significância estatística com  $p=0$ , indicando que existem diferenças comportamentais entre os grupos estudados quanto à resposta à depressão, enquanto nenhum indivíduo dos grupos controle e tratado com DEN e AAF apresenta comportamento depressivo, todos os nove indivíduos do grupo tratado com Dexametasona respondem dessa forma.

## **IV.2. Análise histológica do tecido hepático**

### **IV.2.1. Análise do tecido hepático de ratos não intoxicados**

Para melhor entendimento dos próximos resultados obtidos no presente estudo, é importante o conhecimento do fígado e da célula hepática sadia antes de interpretá-los após intoxicação pelos agentes carcinogênicos AAF e DEN (Fig. 2). Análises do tecido hepático sadio ao microscópio de luz revelam a presença de hepatócitos, células de forma poligonal com seis ou mais faces, que se agrupam em placas orientadas radialmente, com um ou dois núcleos centrais e arredondados, e um ou dois nucléolos bem evidentes no seu interior. A presença de células fagocitárias ou de Kupffer, com núcleo oval e nucléolo bem evidente, é característica do tecido, podendo estar distribuídas por todo o órgão. No fígado é grande a presença de vasos sanguíneos contendo hemácias no seu interior.





**Figura 2:** Tecido hepático de rato sadio.

**hp:** hepatócito;

**n:** núcleo do hepatócito;

**seta:** células de Kupffer;

**seta interrompida:** nucléolo;

**h:** hemácias.

#### **IV.2.2. Análise do tecido hepático após intoxicação pelo DEN e AAF**

O presente estudo revela que, após contato com os agentes carcinogênicos, AAF e DEN, o tecido hepático começa a apresentar hemácias no meio extracelular (fora dos vasos sanguíneos), bem como um aumento do número de células de Kupffer por entre o conjuntivo, com o propósito de fagocitar os agentes tóxicos antes que provoquem maiores lesões no tecido hepático (Figs 6A, E, H).

Após contato crônico com os agentes tóxicos, ocorre o aparecimento de áreas de necrose que consistem em estroma de tecido conjuntivo, repleto de hemácias e vacúolos porém sem hepatócitos (Figs 6D, I, J). O órgão perde toda a sua arquitetura lobular, porém podem aparecer células mesenquimais que apresentam núcleos achatados, geralmente visualizadas em conjunto, na tentativa de uma nova formação tecidual, regenerando o tecido lesado (Figs 6K, L).

Áreas de fibrose também são visualizadas, aparecendo geralmente ao redor de uma área de necrose, contendo células hepáticas, com perda do arranjo em placas com orientação radial. Aparece em consequência da necrose do tecido hepático, podendo regenerar o fígado, de modo que áreas de parênquima são substituídas por tecido fibroso (fibrose de repetição) (Fig. 6I).

O hepatócito também apresenta lesão intoxicativa pelos carcinógenos DEN e AAF, pois há um grande aumento da célula que vai acumulando gordura no citosol, devido à redução na exportação de lipoproteínas, representando queda na metabolização intracelular. Aparece também grande quantidade de vacúolos no citoplasma dos mesmos (Fig. 6G).

Os núcleos dos hepatócitos tornam-se mais claros, mostrando sua alta atividade (Fig.6C), e, simultaneamente, em outras células, observa-se a presença de núcleos com diâmetro diminuído e com aspecto picnótico (morte celular) (Figs. 6B,F,G).

### **IV.3. Análise morfométrica**

#### **IV.3.1. Área de fibrose**

Os resultados da análise morfométrica das áreas de fibrose, observadas nos fígados de todos os indivíduos de todos os grupos aqui estudados, utilizando-se o programa Image Tool, revelam que: entre o grupo controle, o grupo tratado com DEN e AAF ultradiluídos e o tratado com Dexametasona ultradiluído, a soma da área de fibrose dos fígados dos indivíduos do grupo de controle apresenta média de  $4,0 \times 10^5$  pixels<sup>2</sup>, quando comparada ao do grupo tratado com DEN e AAF ultradiluídos, que apresenta média de  $2,0 \times 10^5$  pixels<sup>2</sup> e o tratado com Dexametasona, que apresenta média de área fibrosada maior, com  $4,2 \times 10^5$  pixels<sup>2</sup> (Fig.7).

A análise estatística aplicada através do teste de Kruskal-Wallis (teste comparativo entre três grupos estudados) indica que não existe significância estatística nas medidas de áreas fibrosadas quando comparados os três grupos aqui estudados (Fig.7).

#### **IV.3.2. Área de necrose**

Os resultados da análise morfométrica das áreas de necrose, observadas nos fígados de todos os indivíduos de todos os grupos aqui estudados com auxílio do programa Image Tool, revelam que: entre o grupo controle, o grupo tratado com DEN e AAF ultradiluídos e o tratado com Dexametasona, a soma das áreas de necrose dos fígados dos indivíduos do grupo controle apresenta área média de  $1 \times 10^6$  pixels<sup>2</sup> quando comparada às dos grupos tratados com DEN e AAF ultradiluídos, que apresenta a menor área necrosada, com média de  $8 \times 10^5$  pixels<sup>2</sup>; e a do grupo tratado com Dexametasona, que apresenta área média maior, com  $2 \times 10^6$  pixels<sup>2</sup> (Fig.8).

A análise estatística aplicada através do teste de Kruskal-Wallis indica que não existem diferenças estatísticas significativas quando comparados os três grupos aqui estudados quanto às medidas de áreas necrosadas (Fig.8).

### **IV.3.3. Contagem diferencial das células do fígado**

#### **IV.3.3.1. Hipertrofia nuclear proliferativa**

Os resultados aqui obtidos para detectar a presença de células hepáticas com características nucleares de hipertrofia, entre os indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e os tratados com Dexametasona revelam que: o fígado dos indivíduos do grupo controle apresenta média de 340 células, quando comparado aos do grupo tratado com DEN e AAF, que apresentam maior quantidade de células, média de 500 e as do grupo tratado com Dexametasona, que apresentam média celular menor, com 320 células (Fig.9).

A análise revela que não existe significância estatística, através da aplicação do teste de Kruskal-Wallis com  $p=0,2133$ ; porém, na aplicação do teste de Mann-Whitney (compara dois grupos), observa-se significância estatística entre os grupos controle e os tratado com DEN e AAF, revelando estatisticamente que não existem diferenças quanto a atividade nuclear entre os três grupos, mas existe diferença significativa quanto ao número de células apresentando núcleo hipertrofiado entre os grupos controle e tratado com DEN e AAF (Fig. 9).

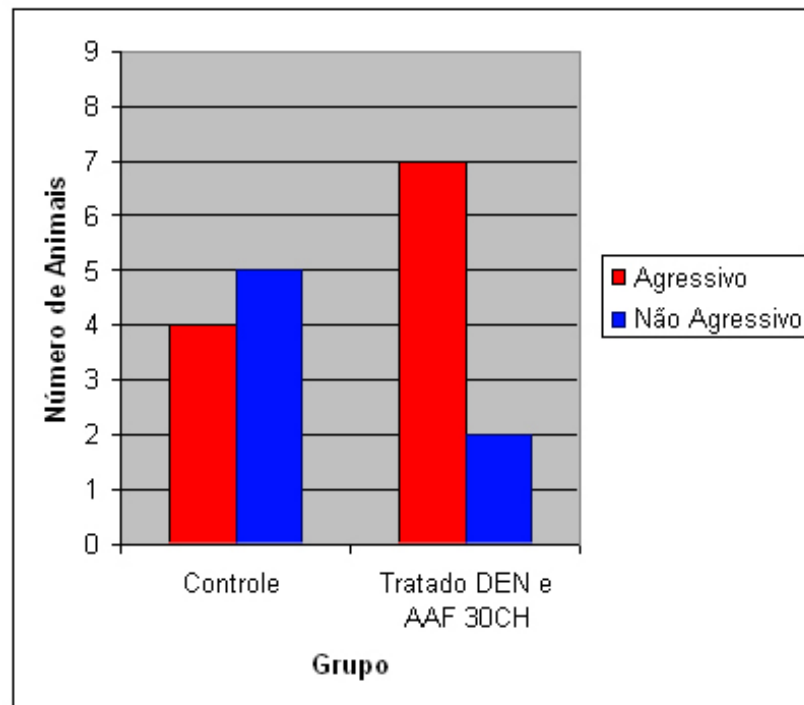
#### **IV.3.3.2. Alteração nuclear degenerativa**

Os resultados aqui obtidos para a presença de células hepáticas apresentando alterações nucleares degenerativas, entre os indivíduos dos grupos controle, e os do grupo tratado com DEN e AAF e com Dexametasona revelam que: os indivíduos do grupo controle apresentam maior quantidade de células com

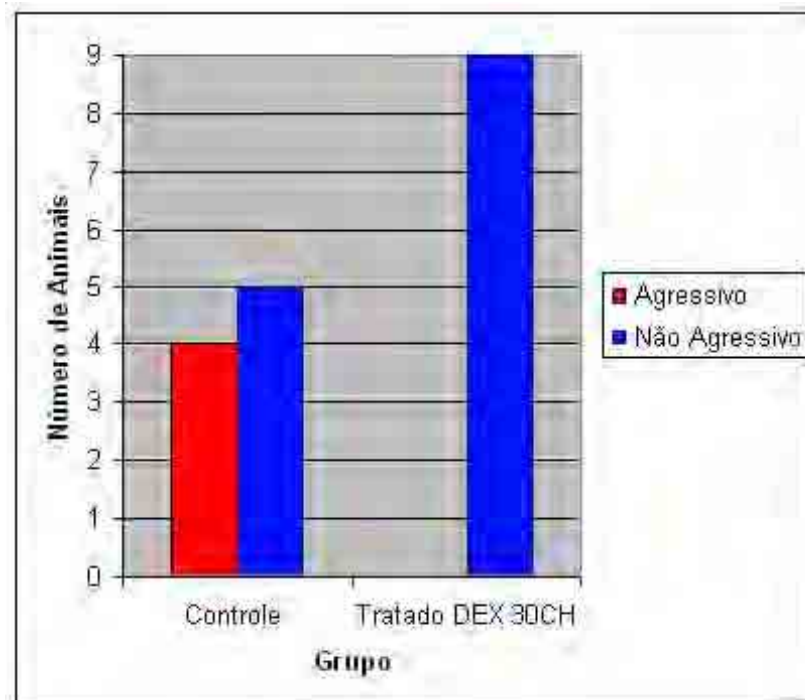
núcleo picnótico, média de 560, quando comparado aos do grupo tratado com DEN e AAF, que apresentam média inferior, 355 células; e com o grupo tratado com Dexametasona, que apresenta 525 células (Fig.10).

A análise estatística aplicada através do teste de Kruskhal-Wallis, com  $p=0,1323$ , revela que não existem diferenças estatísticas significativas na quantidade de células com núcleos em degeneração entre os indivíduos dos três grupos aqui estudados (Fig. 10).

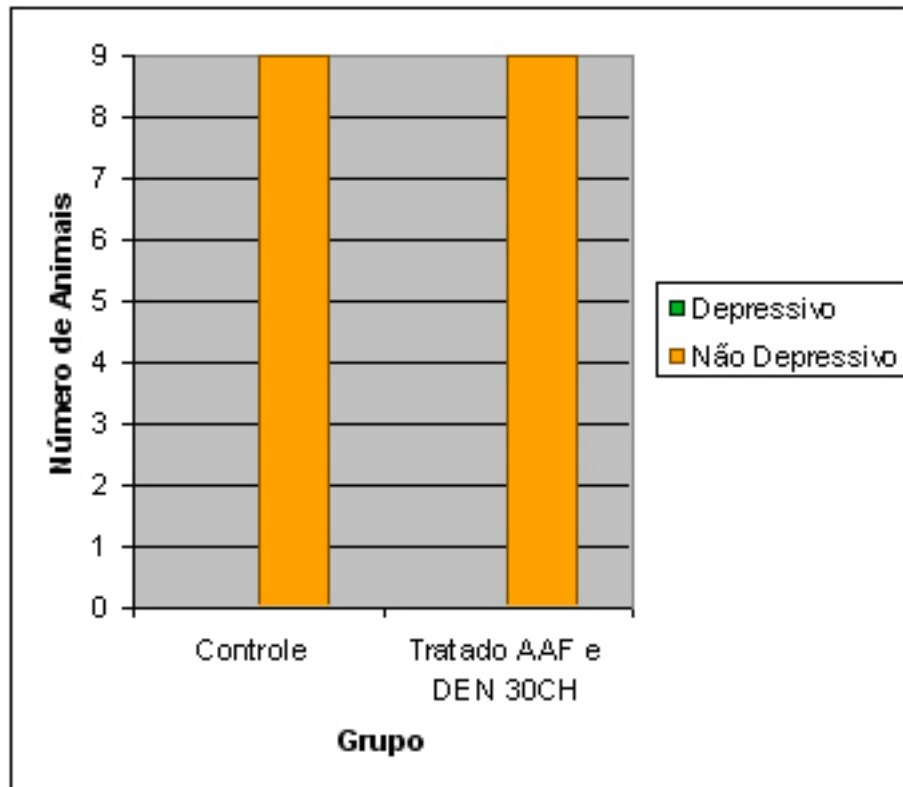
Para melhor visualização e entendimento, os resultados aqui obtidos estão representados na tabela 1.



**Figura 3:** Gráfico demonstrando comportamento agressivo e não-agressivo, incluindo comportamento normal e depressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com DEN e AAF ultradiluídos.

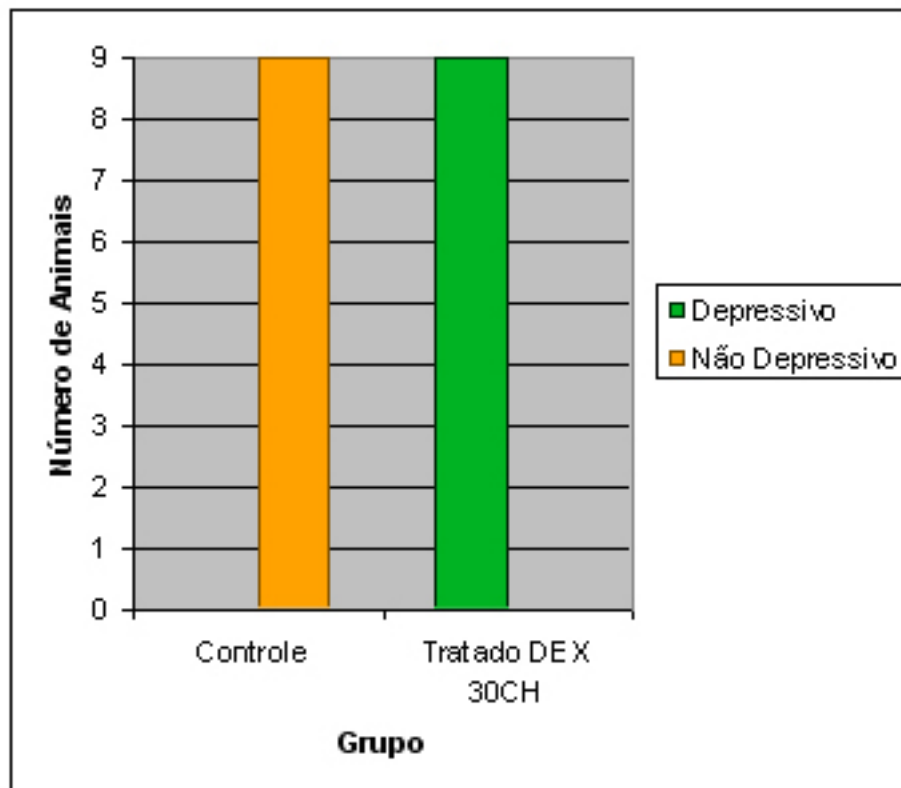


**Figura 4:** Gráfico demonstrando comportamento agressivo e não agressivo, incluindo comportamento normal e depressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e tratado com Dexametasona.

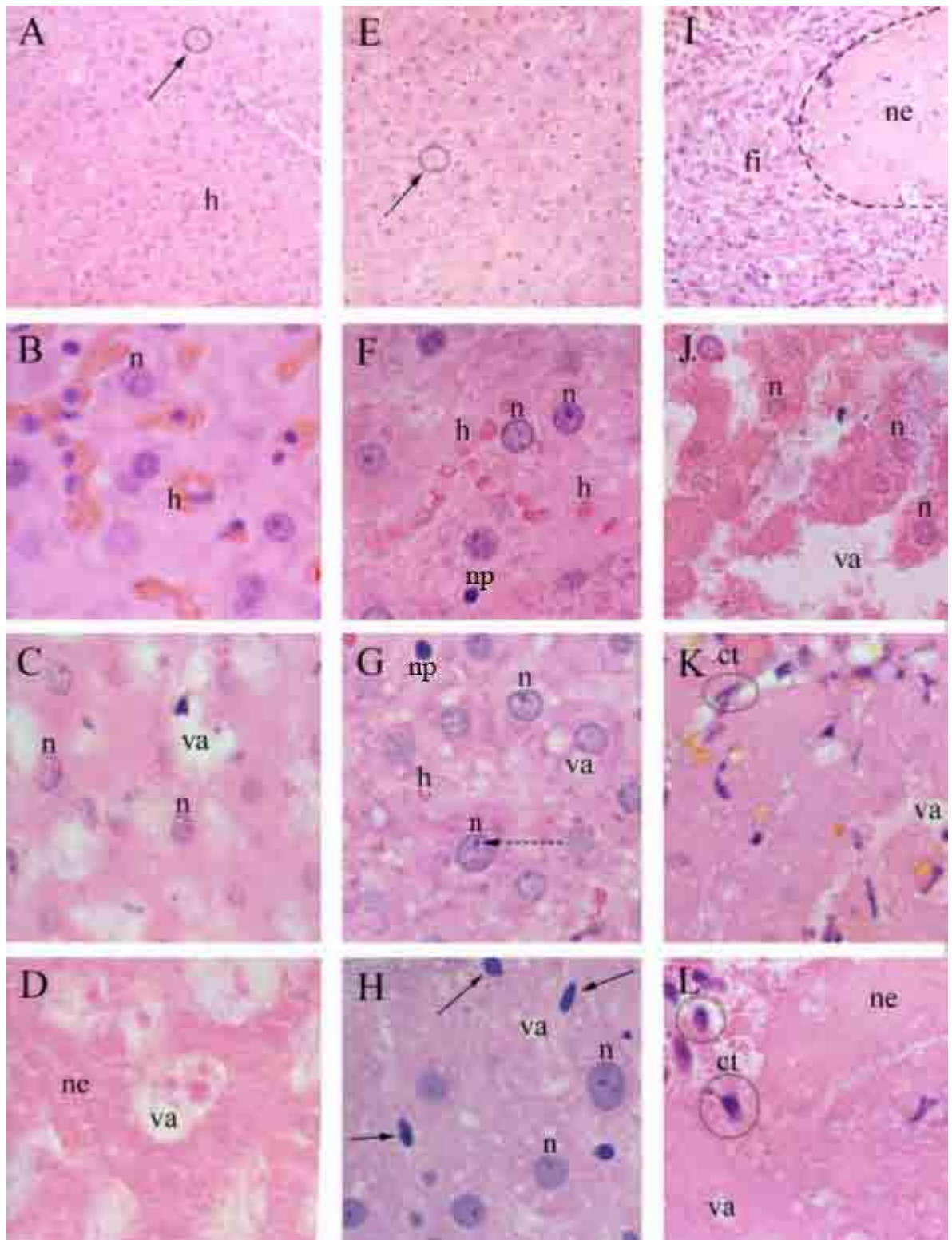


**Figura 5:** Gráfico demonstrando comportamento não depressivo, incluindo comportamento normal e agressivo, nos indivíduos dos grupos controle e tratado com AAF e DEN ultradiluídos.





**Figura 6:** Gráfico demonstrando comportamento depressivo e não depressivo, incluindo comportamentos normal e agressivo, entre os indivíduos dos grupos controle e do tratado com Dexametasona .



**Figura 6:** Alterações teciduais e celulares observadas nos fígados de ratos após intoxicação pelos carcinógenos DEN e AAF.

**A-D.** Secções histológicas de fígados de indivíduos do grupo de controle coradas pela H.E.

**A.** Presença de hemácia no tecido hepático (**h**) e célula de Kupffer (**seta**).

Aumento= 130X

**B.** Detalhe da anterior. Hemácia (**h**), núcleos arredondados dos hepatócitos(**n**).

Aumento= 500X

**C.** Presença de grande quantidade de vacúolos (**va**) no citoplasma e fraca coloração dos núcleos dos hepatócitos (**n**).

Aumento= 500X

**D.** Necrose (**ne**) consistindo apenas de células e fibras do tecido conjuntivo.

Aumento= 500X

**E-H.** Secções histológicas de fígados de indivíduos do grupo tratado com DEN e AAF ultradiluídos coradas pela H.E.

**E.** Hepatócitos agrupados em placas e orientados radialmente e células de Kupffer (**seta**)entre os hepatócitos.

Aumento= 130X

**F.** Detalhe da anterior. Hepatócitos com núcleos grandes e arredondados, vários nucléolos (**n**) e hemácia (**h**) entre os hepatócitos, núcleo picnótico (**np**).

Aumento= 500X

**G.** Grande número de nucléolos (**seta interrompida**), fraca coloração dos núcleos dos hepatócitos (**n**), hemácia (**h**) vacúolo (**va**) no citoplasma do hepatócito e núcleo picnótico (**np**) .

Aumento= 500X

**H.** Grande quantidade de células de Kupffer (**seta**) entre os hepatócitos, núcleo do hepatócito (**n**) e vacúolo (**va**) no citoplasma do hepatócito.

Aumento= 500X

**I-L.** Secções histológicas de fígados de indivíduos do grupo tratado com Dexametasona ultradiluída, coradas pela H.E.

**I.** Grande área de necrose (**ne**) e área de fibrose (**fi**) com desorganização das placas de hepatócitos.

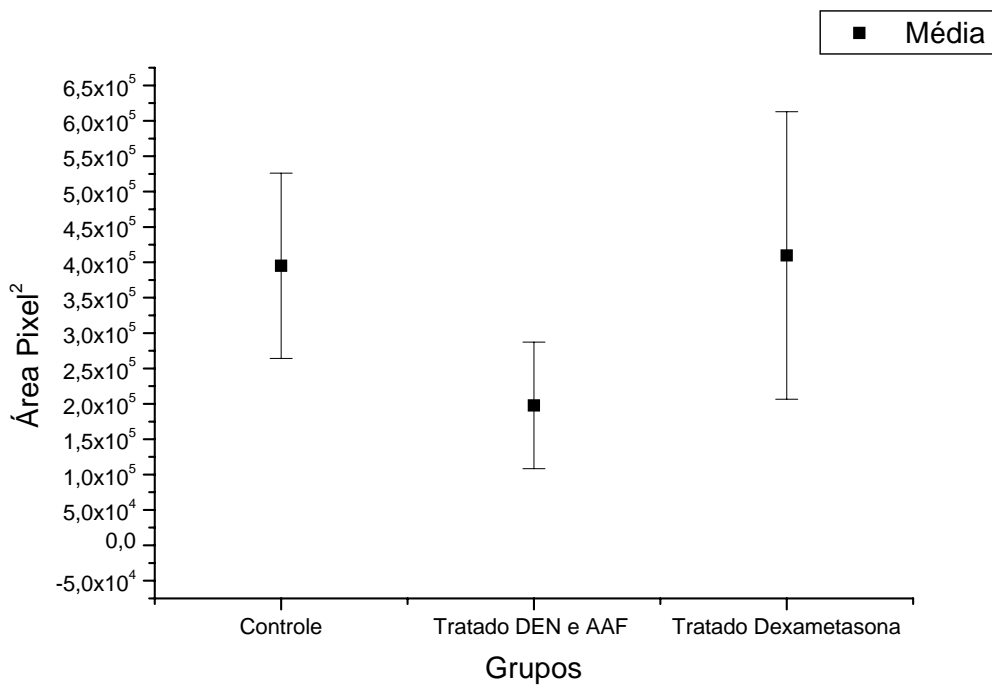
Aumento= 130X

**J.** Grande área vacuolizada (**va**) no tecido; núcleo do hepatócito (**n**).

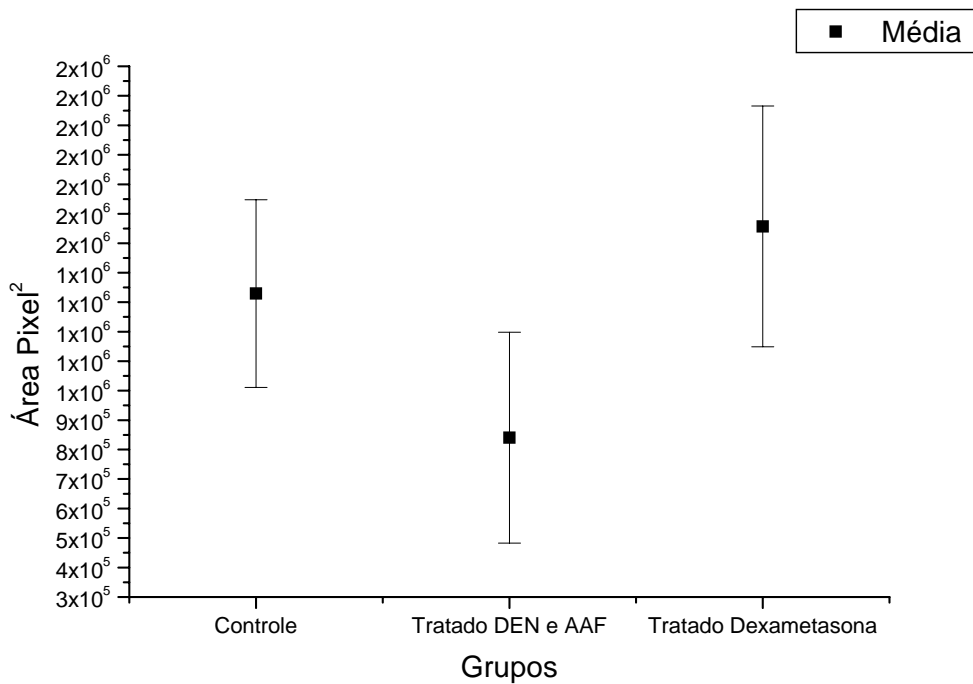
Aumento= 500X

**K e L.** Área de necrose (**ne**) com células-tronco (**ct**) e vacúolo (**va**).

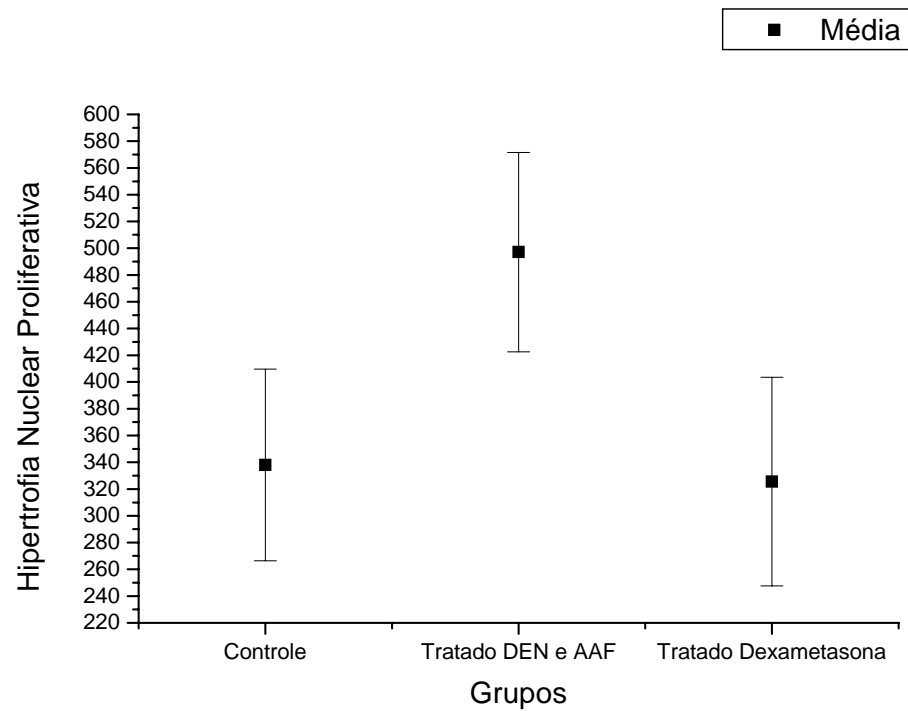
Aumento= 500X



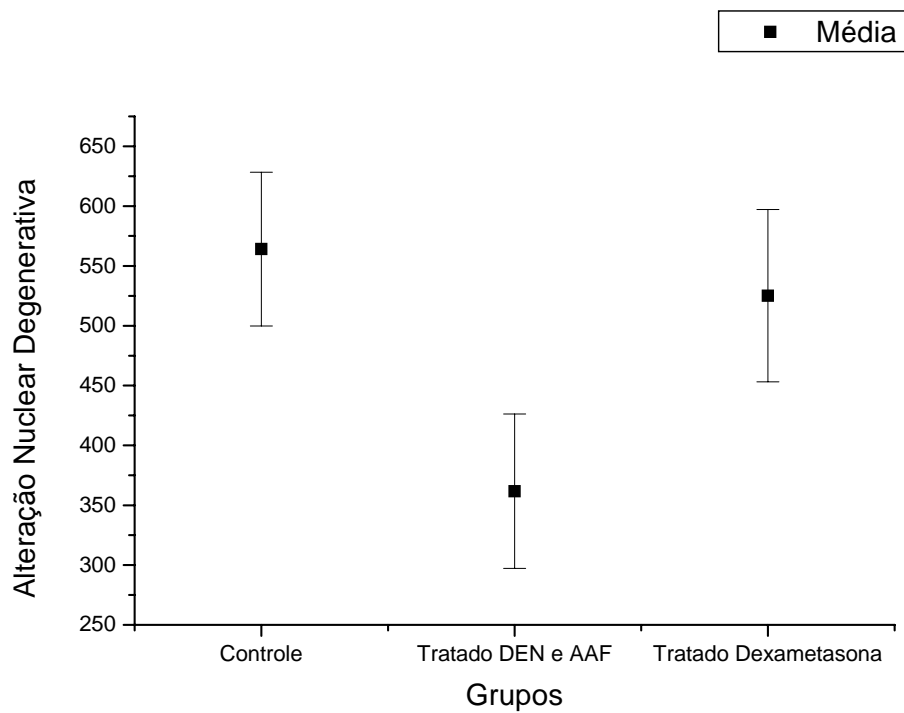
**Figura 8:** Gráfico demonstrando a média das áreas de fibrose dos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e tratados com Dexametasona.



**Figura 9:** Gráfico demonstrando a média das áreas de necrose dos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e dos tratados com Dexametasona.



**Figura 10:** Gráfico demonstrando a média de células apresentando características de hipertrofia nuclear proliferativa nos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e dos tratados com Dexametasona.



**Figura 11:** Gráfico demonstrando a média de células apresentando núcleos com característica degenerativa nos fígados dos indivíduos dos grupos controle, tratados com DEN e AAF ultradiluídos e dos tratados com Dexametasona.

**tabela 1.** Resumo dos resultados comportamental, morfométrico e histológico obtidos de ratos submetidos à aplicação de: carcinógenos DEN e AAF, sem tratamento, tratados com DEN e AAF UHD\* e tratados com Dexametasona UHD\*.

Grupos	Comportamento			Alterações Teciduais Hepáticas		Alterações Nucleares das Células Hepáticas	
	Normal	Agressivo	Depressivo	Fibrose	Necrose	Hipertrofia	Picnose
<b>Alterações</b>							
<b>Grupo Controle</b> (Animais que receberam DEN e AAF)	++	+	-	++	++	++	++
<b>Grupo Tratado I</b> (Animais que receberam DEN e AAF e DEN e AAF UHD*)	+	++	-	+	+	+++	+
<b>Grupo Tratado II</b> (Animais que receberam DEN e AAF e Dexametasona UHD*)	-	-	+++	++	+++	++	++

+++ resposta máxima

++ resposta média

+ resposta mínima

- resposta negativa

\*UHD Ultra Hight Dilution



## *V. DISCUSSÃO*

A homeopatia vem recebendo críticas ao seu modelo terapêutico, por estar fundamentada em pressupostos distintos do conhecimento científico clássico, muitas vezes devido à ausência de informações sobre esses conceitos, bem como de trabalhos científicos bem elaborados nessa área.

Para o modelo homeopático se aproximar da racionalidade científica moderna, as pesquisas homeopáticas existentes devem ser evidenciadas e novos trabalhos científicos deverão ser realizados, buscando fortalecer o modelo homeopático, tanto na área clínica quanto na área básica da Ciência.

No presente estudo, que utilizou o modelo experimental randomizado e duplo-cego, ratos intoxicados pelos carcinógenos DEN e AAF foram utilizados para a análise dos carcinógenos DEN e AAF e Dexametasona, preparados de acordo com os protocolos homeopáticos, ou seja, com as drogas ultradiluídas na potência 30CH. O comportamento, bem como a citologia e a histologia dos fígados de todos os animais foram observados durante o tratamento com as drogas. Os resultados obtidos com os animais tratados foram positivos e estimularão a pesquisa em homeopatia para buscar novas drogas e diferentes potências para serem utilizadas nos processos de cura.

## **Comportamento dos animais**

No presente estudo as diferenças comportamentais observadas entre os indivíduos dos grupos controle, dos tratados com DEN e AAF UHD e com Dexametasona UHD poderiam representar o surgimento de uma patogenesia medicamentosa, visto que a mesma é definida como a agregação de um conjunto de sinais e sintomas específicos do indivíduo, em resposta a um tipo de droga testada, que seria observada quando se utilizasse um medicamento ultradiluído em um indivíduo sadio, que apresentaria, sintomas e sinais característicos decorrentes do uso do medicamento empregado, ou ainda, quando este fosse administrado erroneamente em indivíduos doentes, que não apresentavam sintomas e sinais semelhantes decorrentes da resposta do organismo à droga administrada (HAHNEMANN, 1996).

Os dados aqui obtidos com ratos do grupo tratado com os carcinógenos DEN e AAF ultradiluídos na potência 30CH, deixaram claro que os indivíduos apresentaram comportamento agressivo fortemente estimulado. No entanto, a droga preparada de acordo com as técnicas homeopáticas poderia ser empregada em indivíduos naturalmente agressivos, fazendo com que o organismo, através do efeito rebote, promovesse a cura e restabelecesse o equilíbrio comportamental necessário para a vida.

Segundo Hahnemann (1996), ao longo destes dois séculos de estudos com homeopatia, inúmeras substâncias foram experimentadas para se adquirir o conhecimento dos instrumentos destinados à cura das doenças naturais, averiguando-se o poder patogenético dos medicamentos, para que, quando se precisasse curar, se pudesse escolher entre eles, aquele, cujas manifestações sintomáticas causassem o efeito de uma doença artificial tão semelhante quanto possível à totalidade dos sintomas principais da doença natural a ser curada. Baseado nesse parágrafo do Organon, este trabalho demonstrou que os carcinógenos DEN e AAF UHD na potência 30CH poderiam ser utilizados no tratamento dos sintomas do comportamento agressivo, enquanto o medicamento

Dexametasona UHD, na potência 30CH, poderia ser utilizado no tratamento dos sintomas do comportamento depressivo.

No caso da aplicação da droga Dexametasona ultradiluída na potência 30CH, os indivíduos do grupo com ela tratados, mostraram comportamento depressivo. Então, através de um efeito contrário, poder-se-ia sugerir que esta teria ação em indivíduos naturalmente deprimidos que, via efeito rebote, promoveria a cura sintomática desses pacientes.

## **V.2. Citologia hepática**

Foi observado neste estudo que, após contato com os agentes carcinogênicos DEN e AAF, a maioria dos hepatócitos dos ratos apresentaram-se hipertrofiados e com núcleos claros, mostrando alta atividade para eliminar as toxinas injetadas no organismo. Outros, no entanto, foram observados, simultaneamente, apresentando núcleos com diâmetro diminuído e com aspecto picnótico, indicando a ocorrência ou o início do processo de morte celular devido à intoxicação pelos carcinógenos.

Uma contagem diferencial das células acima citadas foi realizada em todos os fígados dos indivíduos de todos os grupos, a fim de se verificar a porcentagem de ocorrência de hipertrofia e picnose nuclear dos hepatócitos. Nos fígados do grupo tratado com DEN e AAF ultradiluídos na potência 30CH foi observada média superior de núcleos hipertrofiados e claros, 500 núcleos, quando comparada à média dos fígados dos indivíduos dos outros grupos estudados: grupo controle com média de 340 núcleos e grupo tratado com Dexametasona UHD, com média de 320 núcleos, o que poderia indicar a presença de maior número de células em alta atividade no fígado dos ratos tratados com DEN e AAF ultradiluídos, ou seja, os hepatócitos dos indivíduos do grupo tratado com os carcinógenos UHD apresentariam maior eficiência no processo de desintoxicação celular, mostrando o efeito hepatoprotetor desses carcinógenos quando na condição de ultradiluição.

A utilização de métodos isoterápicos aqui aplicados já foi testada por vários outros pesquisadores, que também obtiveram resultados positivos (BELLAVITE, 1995, 1998).

Em 1994, Linde *et al* conduziram uma meta-análise dos ensaios que estudaram os efeitos protetores das diluições agitadas em série na toxicologia experimental, avaliando 135 experimentos, descritos em 105 publicações. Nesses trabalhos foram utilizadas substâncias tóxicas como arsênico, mercúrio, cobre, chumbo, tetracloreto de carbono, toxinas orgânicas entre outras, em modelos *in vivo* e *in vitro*, todas ultradiluídas, com o objetivo de estimular uma reação de defesa, conferindo às células e tecidos proteção ao contato direto com as mesmas.

Outras áreas do conhecimento científico evidenciam a reversão da ação tóxica de inúmeros agentes (inclusive radiações) com o emprego terapêutico desses mesmos agentes tóxicos, porém, preparados de acordo com as técnicas homeopáticas, em doses infinitesimais, observando uma reação orgânica compensatória, despertada pelo desequilíbrio homeostático pós-intoxicação, ou seja, o organismo pré-tratado com os isoterápicos conferem proteção ao contato desses mesmos agentes tóxicos (TOWNSEND, 1960; CALABRESECI, 1999).

Outro estudo foi realizado aplicando-se histamina UHD em patas de ratos em duas situações: a) 30 minutos antes e b) simultaneamente à injeção pró-inflamatória de histamina, em que se observou significativo efeito inibitório da histamina sobre o edema provocado nas patas dos animais tratados com histamina UHD (CONFORTI, 1993).

Estudos anteriores dessa mesma natureza e utilizando os mesmos carcinógenos DEN e AAF ultradiluídos, só que na potência 7CH já demonstraram resultados positivos quanto à ação desintoxicante dessas drogas em doses infinitesimais, bem como deixou estabelecido o efeito protetor conferido às células hepáticas após aplicação dos mesmos (informação verbal)\*.

\* Informação obtida através do trabalho realizado pela Profa. Dra. Leoni Bonamin.

No presente estudo, os ratos tratados com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH, também tiveram a contagem celular realizada e foi observado número menor de células apresentando núcleo hipertrofiado, 320 células, e número maior de células apresentando núcleo picnótico, 525 células. Os resultados aqui obtidos indicam que as células hepáticas desses indivíduos apresentaram menor atividade nuclear com conseqüente maior índice de morte celular, detectado também pela presença de maiores áreas de necrose, quando comparadas aos outros grupos aqui estudados, permitindo, então, sugerir que o órgão não teve condições de se proteger contra o contato tóxico direto dos agentes carcinogênicos DEN e AAF, apresentando-se portanto, mais lesado.

Dessa forma, este estudo demonstrou que os isoterápicos DEN e AAF UHD conferiram efeito hepatoprotetor aos fígados intoxicados pelos mesmos agentes tóxicos sem ultradiluição, e que, se todos os indivíduos pré-tratados com Dexametasona UHD fossem intoxicados pela própria Dexametasona sem ultradiluição, no lugar dos carcinógenos DEN e AAF utilizados neste estudo, o efeito hepatoprotetor provavelmente seria detectado nos fígados dos animais tratados (informação verbal)\*\*.

Nas secções histológicas dos fígados dos indivíduos tratados com Dexametasona UHD foram encontrados grupos de células com características de células mesenquimais que, provavelmente, tentavam regenerar o tecido lesado pelos carcinógenos. A presença dessas células mesenquimais mostraria o alto grau de resposta celular (aumento de células inflamatórias e regenerativas ao tecido lesado) no tecido hepático, para tentar regenerar o tecido intoxicado e lesado pelos carcinógenos DEN e AAF.

Vários tecidos do corpo humano, como o fígado, músculo esquelético e pâncreas têm um estoque de células-tronco, com uma capacidade limitada de regeneração tecidual após injúria. As células-tronco presentes nestes vários tecidos podem não ser apenas unipotentes, no sentido de que podem gerar células constitutivas daquele tecido específico, mas também pluripotentes, no

\*\* Informação obtida durante o curso de Homeopatia no Instituto de Homeopatia Samuel Hahnemann.

sentido de que também podem gerar células de outros tecidos e órgãos (SANTOS *et al*, 2004).

### **Histologia Hepática**

Outros importantes resultados foram aqui obtidos através da utilização de análises morfométricas, realizadas a partir de secções histológicas de fígado de ratos devidamente intoxicados pelos carcinógenos DEN e AAF, na sua concentração usual. Os resultados mostraram, nos fígados intoxicados dos grupos controle, tratados com DEN e AAF UHD e tratados com Dexametasona UHD a presença de áreas de fibrose e necrose, bem como o efeito dos mesmos carcinógenos, preparados de acordo com as técnicas homeopáticas, nos fígados do grupo tratado com DEN e AAF UHD, aos quais foi conferido efeito hepatoprotetor contra os mesmos, aplicados em sua concentração usual. Todos os ratos que receberam pré-tratamento com DEN e AAF UHD, anteriormente à administração dos mesmos em sua concentração usual, mostraram lesões hepáticas com áreas de fibrose e necrose menores, quando comparados aos outros dois grupos estudados, demonstrando a ação protetora do DEN e do AAF UHD nas células hepáticas, anteriormente à intoxicação pelos mesmos agentes tóxicos.

No presente estudo, análises morfométricas realizadas nos ratos do grupo tratado com Dexametasona UHD mostraram fígados com áreas de fibrose e necrose maiores, quando comparados aos dos outros dois grupos aqui estudados, revelando que a ultradiluição dessa droga na potência 30CH tem condição de conferir ação contrária à sua exposição em concentração usual, isto é, a resposta do organismo à Dexametasona UHD e à aplicação de Dexametasona na sua concentração usual foram totalmente inversas. A meia vida da Dexametasona no organismo é de promover queda da resposta celular a uma lesão, enquanto a mesma droga ultradiluída promove aumento da resposta celular.

A Dexametasona é um corticosteróide de ação sistêmica, de efeito supressor do tecido conjuntivo, em resposta a uma lesão, seja química, térmica, traumática, anafilática ou infecciosa. Os sinais de inflamação de um tecido (aumento de células da linhagem branca, do calibre dos vasos sanguíneos e congestão tecidual) diminuem quando a droga é administrada. A resposta antiinflamatória desse corticosteróide decorre da sua capacidade de suprimir a atividade de síntese de colágeno pelos fibroblastos, bem como a da formação dos granulomas que surgem devido à ação de macrófagos modificados, estrutural e funcionalmente, para que possam aumentar a eficiência da fagocitose em tecidos inflamados, além de impedir o acesso e a ação fagocitária de células da linhagem branca ao local inflamado. O corticosteróide também tem a função de estabilizar os lisossomos das células do tecido lesado, prevenindo, assim, que as enzimas proteolíticas escapem e lesem as células vizinhas, além de também promover o aumento do tônus capilar, fazendo com que ocorra diminuição da pressão hidrostática na extremidade capilar, além de diminuir a permeabilidade do vaso e a exsudação do plasma para os tecidos. A formação de tecido cicatricial é inibida pela Dexametasona, uma vez que a ação dos fibroblastos e conseqüente formação de colágeno são deprimidas (BOOTH, 1992).

A Dexametasona é utilizada como antiinflamatório e analgésico em doenças reumatológicas, tais como artrite, espondilite, psoríase, osteoartrite e gota. Tem indicação também em doenças dermatológicas como pêfigo, dermatite esfoliativa e seborréica, além das alergias de pele e prurido em geral. Indica-se a Dexametasona em doenças oftalmológicas como iridociclites, neurite óptica, ceratite e uveíte, e em doenças respiratórias como pneumonia aspirativa, rinite e sinusites alérgicas, para as quais necessita-se de uma droga imunossupressora. A Dexametasona promove aumento do tônus capilar, sendo indicada em todos os casos de edema, podendo também, através do seu efeito imunossupressor, tratar patologias hematológicas como púrpura e anemia hemolítica imunomediada (DEF 2000).



No presente estudo ficou claro que a Dexametasona, preparada de acordo com as técnicas homeopáticas, ou seja, ultradiluída na potência 30CH, conferiu ao fígado dos ratos intoxicados pelos carcinógenos DEN e AAF, um aumento da resposta do tecido conjuntivo às lesões hepáticas, através do surgimento de grandes áreas de fibrose ao redor das áreas de necrose até mesmo com aparecimento, em alguns fígados, de granulomas, o que indicaria aumento da resposta celular ou da inflamação do fígado, a lesão tóxica induzida pelos carcinógenos DEN e AAF. Houve também aumento da área necrosada, o que indica a ocorrência de morte celular, provavelmente pelo extravazamento de enzimas lisossômicas proteolíticas das células hepáticas que acabaram por lesar as células vizinhas, mostrando a reação contrária da Dexametasona UHD à apresentação da mesma droga em sua concentração usual (efeito secundário ou rebote).

Vários outros trabalhos utilizando outras drogas como os de Bastide *et al* (1985), confirmam os resultados aqui obtidos. Eles administraram doses infinitesimais de timulina (hormônio do timo) em camundongos e observaram uma imunossupressão quando comparados aos animais do grupo controle, que não foram tratados com timulina UHD, conferindo efeito contrário ao do hormônio no organismo, que seria o de estimular o sistema imunitário. Em outro estudo, doses infinitesimais de salicilatos foram administradas a indivíduos saudáveis, confirmando o efeito rebote de aumento da agregação plaquetária, ao invés da ação primária de diminuição de agregados plaquetários, obtidos com os salicilatos sem ultradiluição, evidenciando-se, então, a semelhança entre a farmacologia das substâncias em doses menores (ponderais) e ultradiluídas (infinitesimais). Em vista disso, infere-se que a aspirina, por exemplo, poderia ser utilizada na condição de ultradiluição, em casos de hemorragias e sangramentos, partindo-se de um efeito rebote curativo (DOUTREMEPUCH, 1987; AGUEJOUF, 1998).

O uso do efeito rebote de drogas para se obter resposta curativa foi analisado no organismo humano, num estudo sistemático dos mesmos, que corroborou a essas evidências numa infinidade de trabalhos científicos. Então, o

efeito rebote (ação secundária, reação vital, reação homeostática) do organismo é observado na maioria dos fármacos alopáticos modernos (TEIXEIRA, M, 2001).

Esta pesquisa, ao utilizar ratos intoxicados pelos carcinógenos DEN e AAF e, concomitantemente, tratados com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH, mostrou um aumento de resposta celular no fígado dos ratos tratados, o que corrobora os estudos prévios desenvolvidos por Bonamin *et al* (2000), através da implantação do tumor de Ehrlich em camundongos pré-tratados com ultradiluições de Dexametasona, mostrando um aumento nos processos exsudativos e de migração celular no processo inflamatório agudo, ocorrido no local da implantação do tumor nos camundongos tratados.

Seguindo a linha hahnemanniana, se um fármaco ultradiluído pode ser utilizado para curar doentes que apresentem sinais e sintomas semelhantes aos provocados por ele mesmo sem ultradiluição, através do efeito secundário (rebote) do organismo, que atua como uma resposta orgânica neutralizadora àqueles desenvolvidos pelos fármacos para manter a homeostase, ou efeito rebote, sugere-se que a droga Dexametasona ultradiluída na potência 30CH poderia ser utilizada como alternativa em pacientes com problemas de má cicatrização e imunossupressão através do efeito secundário do organismo ao contato com a droga ultradiluída.

Apoiado nas evidências da lei da semelhança e do seu princípio de cura, e num melhor conhecimento do caráter curativo, o aperfeiçoamento de novas técnicas de pesquisa em homeopatia e de novos estudos nessa área, provavelmente permitiriam o emprego de fármacos modernos dinamizados em várias escalas de potência, o que auxiliaria no embasamento do fundamento homeopático de Hahnemann.

## *VI. CONCLUSÕES*

-Os animais tratados com DEN e AAF ultradiluídos na potência 30CH mostraram grau de agressividade superior ao observado naqueles dos outros grupos, evidenciando o efeito comportamental patogenético dos carcinógenos ultradiluídos.

-Quanto ao comportamento dos indivíduos tratados com Dexametasona ultradiluída na potência 30CH, foram obtidas dos animais respostas de depressão, durante a fase de manipulação, o que também mostra uma ação patogenética da referida droga quando na condição de ultradiluição.

-Os carcinógenos DEN e AAF ultradiluídos conferiram efeito hepatoprotetor aos animais com eles tratados, exibindo fígados menos lesados, através do estímulo de defesa do organismo contra os mesmos carcinógenos sem ultradiluição.

-Os fígados dos animais tratados com Dexametasona ultradiluída responderam com efeito contrário à Dexametasona sem ultradiluição, ou seja, mostrando aumento da resposta celular e do tecido conjuntivo ao redor de regiões necrosadas.

- Os efeitos dos carcinógenos DEN e AAF e da Dexametasona ultradiluídos na potência 30CH sobre as características comportamentais e locais (especificamente no fígado dos ratos tratados por essas drogas) mostraram que o método homeopático de preparação de medicamentos, ou ultradiluição, é eficaz no organismo. Mesmo após ultradiluições sucessivas, o organismo ainda é capaz de reconhecer a droga ultradiluída e dinamizada, respondendo através do efeito rebote.

## *VII. REFERÊNCIAS*

AGUEJOUF,O. *et al.* Thromboembolic complications several days after a single-dose administration of aspirin. **Thromb. Res.**, v.89, n.3, p.123-127, 1998.

AGUEJOUF,O. *et al.* Effects of acetyl salicylic acid therapy on an experimental thrombosis induced by laser beam. **Thromb. Res.**, v.99, n.6, p.595-602, 2000a.

AGUEJOUF,O. *et al.* Time related neutralization of two doses acetyl salicylic acid. **Thromb. Res.**, v.100, n.4, p.317-323, 2000b.

BASTIDE, M; DOUCET-JABOEUF, M; DAURAT, V. Activity and chronopharmacology of very low doses of physiological immune inducers. **Immunol Today**, v.6, p. 234-5, 1985.

BENEZ, S.M; FERNANDEZ, M.E. Utilização da isoterapia (*Plumbum* em dinamização homeopática) no tratamento de saturnismo (intoxicação por chumbo) em aves. **Cultura Homeopática**, v.2, p.8-9, 2003.

BEVING,H. *et al.* Abnormally high platelet activity after discontinuation of acetylsalicylic acid treatment. **Blood Coagul. & Fibrinol.**, v.7, n.1, p.80-84, 1996.

BILDET,J.; GUYOT,M.; BONNINI,F.; GRIGNON,M.F.; POITEVIN,B.; QUILICHINI,R. Mise en evidence des effects des dilutions d'*Apis mellifica* et *Apium virus* vis-à-vis de l'erythème provoqué par un rayonnement UV chez le cobaye. **Annales de Pharmacologie Française**, v.47, p.24-32, 1989.

BONAMIN,L.V.; MARTINHO,K.S; NINA, A.L. Ultradilutions of dexamethasone modify tumour x host interactions. **Focus on Alternative and Complementary Therapies**, v.5, p.86, 2000.

BOOTH N.H, MCDONALD L.E. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 496 p.

BRANIGAN, E.F.; ESTES,M.A. Treatment of chronic anovulation resistant to clomiphene citrate (CC) by using oral contraceptive ovarian suppression followed by repeat CC treatment (Pacific Coast Fertility Society). **Fertil. And Steril.**, v.71, n.3 p.544-546, 1999.

BRYAN, G.T; SPRINGER, P.S. Role of the vehicle in the genesis of bladder carcinomas in mice by the pellet implantation technic. **Cancer Research**, v. 26, p.105-9, 1966.

CALABRESECI, E.J. Evidence that hormesis represents an overcompensation response to a disruption homeostasis. **Ecotoxicol Environ Saf**, v.42, n.2, p. 135-7, 1999.

CALABRESECI, E.J.; BALDWIN, L.A. Tales of two similar hypotheses: the rise and fall of chemical and radiation hormesis. **Human & Exp. Toxicol.**, v.19, p.85-97, 2000.

CALABRESECI,E.J.; BALDWIN,L.A. Toxicology rethinks its central belief. **Nature**, v.421, n.6924, p.691-692, 2003.

CEZAR, A.T. **O Medicamento Homeopático nos Serviços de Saúde**. São Paulo, 1999. 162f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CHANG,Y.C. *et al.* Cytotoxic and Nongenotoxic effects of Phenolic Compounds in Human Pulp Cell Cultures. **J. Endod.**, v.26, n.8, p.440-443, 2000.

CONFORTI, A.; SIGNORINI, A.; BELLAVITE, P. Effects of high dilutions of histamin and other natural compounds on acute inflammation in rats. **Omeomed 92**, Ed. C. Bornoroni. Bologna. Edstrice Compositori, p.163-169, 1993.

COTTE, J.; BERNARD, A. Effects de dilutions hahnemanniennes de *Mercurius corrosives* la muiltiplication en culture de fibroblastes intoxiqués par echloruremercurique. **Aspects de la Recherche e Homeópathie**, v.1, 1983.

DAGLI, M.L.Z. Aspectos Morfológicos dos Fígados de Ratos Tratados com Beta-caroteno ou Vitamina A e Submetidos ao Modelo do “Hepatócito Resistente” de Carcinogênese. 1994. 167f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, São Paulo.

DAGLI, M.L.Z. *et al.* Beta-carotene reduces the ductular (oval) cell reaction in the liver of wistar rats submitted to the resistant hepatocyte model of carcinogenesis. **Pathology**, v. 30, p. 259-266, 1998.

DAVENAS,E.; BEAUVAIS,F.; AMARA,J.; OBERBAUM,M.; ROBINZON,B.; MIADONNA,A.; TEDESCHI,A; POMERANZ,B.; FORTNER,P.; BELON,P.; SAINTE-LAUDY,J.; POITEVIN,B. & BENVENISTE,J. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. **Nature**, v.333. p.816-818, 1988.

DAVENAS,E.; POITEVIN,B.; BENVENISTE,J. Effect on mouse peritoneal macrophages of orally administered very high dilutions of *Sillicea*. **European Journal of Pharmacology**, v.135, p.313-319, 1987.

D.E.F. Dicionário de especialidades farmacêuticas. Jornal Brasileiro de Medicina.São Paulo: EPUC – Editora de publicações científicas Ltda, 1999. 327 p.



De La PENA, L.; TOMASZEWSKI, J.G.; BERNATO, D.L.; KRYK, J.A.; MOLEND, J.; GANTZ, S. Programmed Instruction: Biotherapy: Module IV. Interleukins (Programmed Instruction: Biotherapy). **Canc. Nurs., An international Journal for Cancer Care**, v.19, n.1, p.60-75, 1996.

DOUTREMEPUICH, C. *et al.* Template bleeding time after ingestion of ultra-low doses of acetylsalicylic acid in healthy subjects. **Thromb. Res.**, v.48, p.501-504, 1987.

DYO, S. *et al.* Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated with a complex homeopathic medication. **Homeopathy**, v.94, p.26-32, 2004.

ENDLER, P.C. *et al.* Non molecular information transfer from thyroxin to frogs; by means of homeopathic preparation and electronic processing. In: Bastide M. (Ed.). **Signals and Images**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p.149-159.

FABER, E; CAMERON, R. The sequential analysis of cancer development. **Advance in Cancer Research**, v. 31, p.125-226, 1980.

FABER, E; SARMA, D.S.R. Hepatocarcinogenesis: A dynamic cellular perspective. **Laboratory Investigation**, v. 1, p. 4-22, 1987.

FATAH, K. *et al.* Acetylsalicylic acid may protect the patient by increasing fibrin gel porosity. Is withdrawing of treatment harmful to the patient?. **Europ. Heart j.**, v.17, n.9, p.1362-1366, 1996.

GUEDES, J.R.P. **Glândula tireoidiana de *Rana catesbeiana* em ultradiluição homeopática altera a velocidade de metamorfose de girinos da mesma espécie.** 2003. 66f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

HAHNEMANN, S. **Organon da arte de curar.** 6ª ed. São Paulo: Robe editorial, 1996. 248p.

HIRST, S.J. *et al.* Human basophil degranulation is not triggered by very dilute antiserum against Human IgE. **Nature**, v.366, p.525-527, 1993.

JONAS, W.; LIN, Y.; TORTELLA, F. Neuroprotection from glutamate toxicity with ultra-low dose glutamate (Neuropharmacology and Neurotoxicology). **Neuro Report**, v.12, n.2, p.335-339, 2001.

JULIAN, O. A; R.N.A. Homeopathic Drug Provings of New Remedies. Paris, p. 432-434, 1978.

JUNQUEIRA, L. C. V; JUNQUEIRA, L. M. M. S. Técnicas Básicas de Citologia e Histologia. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1983. 48-81 p.

KHRENNIKOV, A. Classical and quantum dynamics on p-adic trees of ideas. **BioSystems**, v.56, p.104-105, 2000.

LAGACHE, A. What is information? From matter towards meaning. In: Bastide, M. (Ed.). **Signals and Images.** Dordrecht: kluwer, 1997, p.279-291.

LINDE, K. *et al.* Critical review and meta-analysis of serial agitated dilutions in experimental toxicology. **Hum. Exp. Toxicol**, v.13, n.7, p. 481-92, 1994.

LINDE, K. *et al.* Are the clinical effects of homeopathy placebo effects? A meta-analysis of placebo-controlled trials (articles). **The Lancet**, v.350, n.9081, p.834-843, 1997.

LO, S.Y. Platica al National Center for Homeopathy. San Diego California, 1998.

LORENZ, I. *et al.* Influence of the diluent on the effect of highly diluted histamine on basophil activation. **Homeopathy**. v.92, p.11-18, 2003.

LUZ, M.T. **A arte de curar versus a ciência das doenças: história social da homeopatia no Brasil.** São Paulo: Dynamis, 1996. 342p.

MARTIN, R.A. *et al.* Leukocyte and bone marrow effects of a thiomorpholine quinazosim antihypertensive agent. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.81, n.1, p.166-173, 1985.

MATTSON, M.P.; DUAN, W.; GUO, Z. Meal size and frequency affect neuronal plasticity and vulnerability to disease: cellular and molecular mechanisms (Review Articles). **J. Neuroch. (Official Journal of the International Society for Neurochemistry)**, v.84, n.3, p.417-431, 2003.

NETO, J.A.P.; PERAZZO, F.F.; CARDOSO, L.G.V.; BONAMIN, L.V.; CARVALHO, J.C.T. Action of *Causticum* in inflammatory models. **Homeopathy**, v.93, p.12-16, 2004.

PUSTIGLIONE, M. **(O moderno) Organon da arte de curar de Samuel Hahnemann.** São Paulo: Typus, 2001. p.320.

REBER, A. *et al.* Optokinetic and vestibulo-ocular reflex adjustment by GABA antagonists. **Behavioural Brain Research**, v.81, p.89-97, 1996.

RILEY, D.; ZAGON, A. Clinical Homeopathic use of RNA: evidence from two provings. **Homeopathy**, v.94, p.33-36, 2004.

SANTOS, R.R; SOARES, M.B.P; CARVALHO, C.C. Transplante de Células da Medula Óssea no Tratamento da Cardiopatia Chagásica Crônica – artigo de revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.37, n.6, 2004.

SENA, C.M. *et al.* Uso da medicação homeopática no tratamento da ceratoconjuntivite primaveril – resultados iniciais. **Arq. Brás. Oftalmol.**, v.66, p.45-50, 2003.

SÕTI, C.; SREEDHAR, A.S.; CSERMELY, P. Apoptosis, necrosis and cellular senescence: chaperone occupancy as a potential switch (Minireview). **The Aging Cell**, v.2, n.1, p.39-45, 2003.

TAYLOR, M.A. *et al.* Randomized controlled trial of homeopathy versus placebo in perennial allergic rhinitis with overview of four trial series. **Br.Med.J.**, v.321, n.7259, p.471-476, 2000.

TEIXEIRA, M.Z. **Semelhante cura semelhante**: o princípio de cura homeopático fundamentado pela nacionalidade médica e científica. São Paulo: Petrus, 1998. 463p.

TEIXEIRA, M.Z. **Similitude in modern pharmacology**. **Br.Homeop.J.**, v88, p.112-120, 1999.

TEIXEIRA, M.Z. Basic research on homeopathy: a bibliographic revision. **Revista de Homeopatia APH**, São Paulo, p. 05-24, 2001.

TEIXEIRA, M.Z. Pesquisa básica em homeopatia: revisão bibliográfica. **Rev. Homeop. APH**, São Paulo, v.66, n.2, p.5-26, 2001.

TOWNSEND, J.F, LUCKEY, T.D. Hormologosis in pharmacology. **JAMA**, v.173, p.44-8, 1960.

VALESINI, G.; PITTONI, V. Treatment of trombosis associated with immunological risk factors (Arterial Trombosis: From Mechanisms to Treatment: Proceedings of the XIII Paavo Nurmi Symposium: Immunology of Atherothrombosis). **Annals of Medicine**, v.32, n.1, p.41-45, 2000.

WIEGANT, F.A.C. Memory of water revisited. **Nature**, v.370, p.322, 1994.

WURMSER, R.L. Influence de doses infinitesimales sur la cinétique des éliminations. Doc. L.H.F., 39, 1985. Referendado pela Revista de Homeopatia, publicação da Associação Paulista de Homeopatia. São Paulo, v.64, 2000.

YOUBICIER-SIMO, B.J. *et al.* Effects of embryonic bursectomy and *in ovo* administration of highly diluted bursin on adrenocorticotropic and immune responses of chickens. **Int. J. Immunotherapy**, v.9, p.169-180, 1993.

YOUBICIER-SIMO, B.J. *et al.* A role for *Bursa Fabricii* and bursin in the ontogeny of pineal biosynthetic activity in the chicken. **J. Pineal Res.**, v.21, n.1, p.35-43, 1996.

YOUBICIER-SIMO, B.J. *et al.* The role of the *Bursa de Fabricius* and highly dilute bursin in immunoendocrine interactions in the chickens. In: Bastide, M. (Ed.). **Signal and Images**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1997. p. 111-121.