

**17º Congresso de Iniciação Científica****AVALIAÇÃO DO EFEITO DINÂMICO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO
MEDICAMENTO ARSENICUM ALBUM 30CH SOBRE RATOS INTOXICADOS COM ARSÊNICO****Autor(es)**

GABRIELA CRISTINA GOMES RODRIGUES

Orientador(es)

OLNEY LEITE FONTES

Apoio Financeiro

FAPIC/UNIMEP

1. Introdução

O conceito farmacológico de dose, como a quantidade de medicamento que um paciente deve ingerir para modificar seu estado de enfermidade, não se adapta à homeopatia, pois segundo alguns autores, o medicamento homeopático não age pela sua massa, mas sim por seu efeito dinâmico – qualitativo - o qual se prolonga por um tempo maior ou menor em função do poder de reação ou sensibilidade do organismo enfermo (KOSSAK-ROMANACH, 1984; EIZAYAGA, 1992; ORTEGA, 1992). Contudo, o tamanho da dose a ser empregada, principalmente nos episódios agudos ou em pacientes muito sensíveis, têm sido motivo de frequentes debates, porém, sem por fim à citada polêmica (BERNARD, 1985; PELLEGRINO, 1992; GUIERRE, 1981; SOLVEY, 1975; YAHBES, 1997; DALLARES ÂNGULO, 1999).

Diferentes estudos, usando modelo animal, têm demonstrado o efeito do medicamento homeopático Arsenicum album sobre a eliminação do semi-metal arsênico previamente fixado no organismo (LAPP, WURMSER, KEY, 1955; WURMSER, 1984; BOIRON, 1985; CAZIN et al., 1987; BETTI et al., 1997; MITRA et al., 1999; KUNDU et al., 2000; NUNES SALAS et al., 2000; FONTES et al., 2006). Entretanto, estes ensaios não avaliaram o impacto da ação dinâmica de diferentes doses desse medicamento homeopático. Esta é a proposta do presente trabalho.

2. Objetivos

Com a finalidade de subsidiar as discussões sobre o conceito de dose em homeopatia, o objetivo do presente trabalho foi avaliar, in vivo, o efeito dinâmico do medicamento homeopático Arsenicum album 30CH puro e diluído a 1%, sobre ratos da raça Wistar intoxicados com arsênico.

3. Desenvolvimento

O medicamento homeopático *Arsenicum album* foi preparado na trigésima potência da escala centesimal (30CH), em etanol a 30%, tanto em sua forma concentrada quanto diluída a 1%, na forma farmacêutica homeopática líquida, para uso oral, conforme descrito na Farmacopéia Homeopática Brasileira 2ª Edição (FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA, 1997). Para a obtenção dessa potência partiu-se do trióxido de arsênico.

Ratos machos da raça Wistar foram divididos em 4 grupos com 5 animais cada. Os animais dos grupos 1, 2 e 3 (G1, G2 e G3, respectivamente) foram intoxicados com 70 mg de arseniato de sódio, correspondente a 16,8 mg de arsênico por quilo de peso corporal. Os animais do grupo 4 (G4) não foram intoxicados. O arsênico foi administrado na forma de solução injetável por via intraperitoneal e os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com água e ração ad libitum, durante todo o período de estudo. A determinação da dose de arseniato de sódio foi estabelecida em projeto anterior, conforme FONTES et al., 2006.

As amostras de urina foram coletadas em frascos de vidro âmbar, com capacidade para 20 mL, devidamente limpos, secos e identificados. Os frascos eram posicionados abaixo das gaiolas metabólicas e mantidos cobertos com pano de gaze para evitar que restos de ração se misturassem com a urina. A urina foi coletada durante as 24 horas que antecederam a intoxicação dos animais (AI), para que fosse verificada a eliminação eventual de arsênico no organismo dos ratos, e durante as 48 horas posteriores à intoxicação dos animais (T0). A urina também foi coletada durante os sexto e sétimo dias (T6), os décimo quarto e décimo quinto dias (T14), e os trigésimo terceiro e trigésimo quarto dias (T30), após o início do tratamento.

Os animais dos grupos 1 e 2 foram tratados uma vez ao dia, por via oral, respectivamente, com 0,1 mL de *Arsenicum album* 30CH e *Arsenicum album* 30CH diluído a 1%. As doses foram medidas com seringas descartáveis com capacidade para 1 mL. Os animais dos grupos 3 (controle positivo) e grupo 4 (controle negativo) foram tratados com 0,1 mL de etanol a 30% (placebo). Os medicamentos e o placebo foram administrados nos 2º, 3º e 4º dias após a intoxicação dos animais. Foram administrados novamente, após um intervalo de três dias, num período de três dias consecutivos, ou seja, nos 8º, 9º e 10º dias; novamente após um intervalo de cinco dias, ou seja, nos 16º, 17º e 18º dias; e, finalmente, após um intervalo de três dias, ou seja, nos 22º, 23º e 24º dias após a intoxicação dos animais.

Para a determinação da quantidade de arsênico eliminada, as amostras de urina coletadas de cada animal foram filtradas em papel de filtro quantitativo e acondicionadas em geladeira à temperatura de 10°C, até que fosse feita a sua digestão ácida, com auxílio de ácido sulfúrico e aquecimento (BLUHM, 1991). Para tanto, as amostras de urina foram transferidas para tubos de vidro com 25 cm de altura e 2,1 cm de diâmetro. Os tubos foram acomodados em um bloco digestor da marca Tecnal, modelo TE – 040/25, mantido à temperatura de aproximadamente 350°C. O ácido sulfúrico foi cuidadosamente adicionado às amostras de urina, até que uma solução límpida e transparente fosse obtida. Após a digestão ácida, as amostras de urina foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar, devidamente limpos, secos e identificados, com capacidade para 20 mL.

Para a determinação da concentração de arsênico nos tecidos ósseo e cartilaginoso, foram escolhidos, ao acaso, dois ratos de cada grupo. Estes, após serem sacrificados com gás carbônico, tiveram os membros posteriores dissecados. Em seguida, foram retirados os excessos de tecido muscular e gorduroso de cada membro para a obtenção dos tecidos ósseo e cartilaginoso, os quais foram pesados e mantidos em estufa (50°C) até peso constante. Após esse procedimento, o material ósseo e cartilaginoso foi fragmentado, triturado a pó fino e submetido à digestão ácida, conforme descrito anteriormente. Para a determinação da quantidade de arsênico (As) eliminada na urina ou presente nos tecidos ósseo e cartilaginoso, 500 µL da amostra foram pipetados e, em seguida, diluídos em uma solução contendo ácido ascórbico e iodeto de potássio a 0,5%, para permitir a redução de As⁵⁺ para As³⁺. Em seguida, foi adicionado HCl concentrado, até que a proporção fosse de 30% (v/v), necessário para a manutenção da chama no detector. A determinação do arsênico foi realizada através de geração de hidretos, reduzindo as soluções de arsênico com solução de NaBH₄ a 1,3% (m/v) em NaOH. A leitura das concentrações de arsênico foi feita em duplicata por espectroscopia de absorção atômica (PS Analytical) utilizando-se o detector Excalibur.

Foram ainda pesquisadas a presença de arsênico no ácido sulfúrico, na ração e na água purificada empregados nas diferentes etapas do experimento.

Os resultados obtidos para os grupos nos diferentes tempos foram analisados através do Teste de Kruskal Wallis Zar (ZAR, 1984). Os grupos foram comparados através do teste Kolmogorov-Smirnov Z, para dois grupos considerando-se nível de significância de 0,05 (SIEGEL, 1988). As análises foram processadas com auxílio do SPSS 13.0.

4. Resultado e Discussão

Foram encontradas quantidades insignificantes de arsênico na ração, no ácido sulfúrico e na urina dos animais antes de sua intoxicação. Na água purificada o arsênico não foi detectado.

A Tabela I retrata os valores medianos e amplitude interquartis de arsênico eliminado durante os diferentes tempos. O G1 eliminou

quantidades significativas de arsênico se comparado aos grupos controle (G3 e G4) nos tempos T6, T14 e T30. O G1 eliminou quantidade significativamente maior ($p < 0,05$) de arsênico do que o G2, em T6 e T14. Porém, os resultados de G1 não mostraram diferença estatística para G2 em T30. Os resultados de G2 mostraram ser significativamente diferentes de G4 nos tempos T6, T14 e T30. Porém, o G2 não mostrou diferença estatística com o G3 em T6 e T14. Os resultados de G3 não mostraram diferença estatística para G4 em T6, T14 e T30.

A Figura 1 mostra a quantidade média de arsênico, encontrada nos ossos e cartilagens dos animais dos grupos 1, 2, 3 e 4, ao final do experimento, as quais foram, respectivamente, 31,31; 62,79; 93,02 e 1,062 ppm. A capacidade de mobilização do arsênico fixado nos ossos e cartilagens foi significativamente maior no G1 se comparado ao G3 (controle positivo) corroborando os resultados encontrados no estudo de eliminação de arsênico na urina (ver Tabela I). Todavia, G2 apresentou resultados estatisticamente semelhantes ao G3, ainda que a eliminação de arsênico na urina tenha sido significativamente diferente entre os grupos G2 e G1. Observando os resultados de eliminação na urina para G1 podemos observar que a quantidade de arsênico eliminada é grande em T6, aumenta em T14 e tende a diminuir em T30, acompanhada pela redução da quantidade retida nos ossos e cartilagens ao final do experimento. No entanto, para G2 a quantidade eliminada na urina é semelhante em todos os tempos analisados. Desta maneira, podemos sugerir que o efeito do medicamento administrado em G2 (Arsenicum album 30CH diluído a 1%) foi menor na eliminação do arsênico do organismo dos animais (em vista da menor quantidade encontrada na urina deste grupo) ou, provavelmente, a eliminação foi mais lenta neste grupo quando comparada com G1 (Arsenicum album 30CH), não atingindo seu máximo no tempo de estudo. O ideal seria ter conhecimento da quantidade exata de arsênico fixado nos ossos e cartilagens após a administração da injeção intoxicante e antes do início do tratamento. Porém, para tanto seria necessário o sacrifício dos animais, o que inviabilizaria a continuidade do ensaio.

Os resultados apresentados na Tabela I para os grupos 1 e 2, em AI e TO, e para os grupos 3 e 4 em AI, T0, T6, T14 e T30, e na Figura 1 para o G4, estão dentro da margem de erro da metodologia utilizada no procedimento analítico e podem ser considerados igual a zero, uma vez que estes valores são semelhantes à concentração de arsênico determinada no branco (H₂SO₄).

A Figura 2 retrata a comparação entre os diferentes grupos (1, 2, 3 e 4) com base na totalização das quantidades de arsênico (ppm) excretadas na urina durante o tratamento. Os resultados apresentados na Figura 2 revelam que há diferença significativa do grupo 1 com os grupos 2, 3 e 4 ($p = 0,0001$). Para os dados do grupo 2 verificou-se que há diferença estatística em relação aos dados dos grupos 3 e 4 ($p = 0,0002$). Não foi encontrada diferença estatística entre os resultados dos grupos 3 e 4 ($p = 0,125$).

Os resultados indicam que a quantidade de medicamento ingerido pelos animais interferiu na resposta obtida, uma vez que os grupos G1 e G2 apresentaram diferenças significativas na eliminação do arsênico dentro de um mesmo modelo experimental. Na prática clínica, entretanto, também deverão ser considerados fatores relevantes dentro da terapêutica homeopática como sensibilidade e capacidade reacional do paciente, assim como a frequência de administração de doses, de modo a estabelecer um critério de prescrição adequado de acordo com a individualização do tratamento homeopático.

5. Considerações Finais

O presente ensaio confirmou a ação do medicamento homeopático Arsenicum album 30CH sobre a mobilização do semi-metal arsênico (As) previamente fixado no organismo de ratos. Tanto na forma concentrada quanto na diluída a 1%, este medicamento foi efetivo na eliminação do arsênico. Contudo, o medicamento concentrado eliminou uma quantidade de arsênico significativamente maior do que o medicamento diluído, mostrando que a quantidade de medicamento ingerida provocou respostas diferentes dentro de um mesmo modelo experimental. Com este trabalho espera-se contribuir para a definição científica do conceito de dose em homeopatia.

Referências Bibliográficas

BERNARD, L. The question of dosage in homeopathy. Br Hom J; v.74, n.3, p.129-131, jul 1985.

BETTI, L.; BRIZZI, M.; NANI, D.; PERUZZI, M. Effect of high dilutions of Arsenicum album on wheat seedlings from seeds poisoned with the same substance. Br Hom J; n.86, p.86-89, 1997.

BLUHM, S. C. A. Conjunto Digestor de Amostras Para Análises de Proteínas, Nitrogênio, Demanda Biológica de Oxigênio, Demanda Química de Oxigênio e Similares. INPI, n. RPI:11.1, PI8801038-4, dez 1991. Disponível em: <http://www.patentesonline.com.br/>. Acesso em: 28 mar. 2009.

- BOIRON, J. Comparación de l'action d'Arsenicum album 7 CH normal et chauffé à 120° sur l'intoxication arsenicale provoquée. Homeopathie; n. 5: p. 49-54, 1985.
- CAZIN, J. C.; CAZIN, M.; GABORIT, J. L.; CHAOUI, AQ.; BOIRON, J.; BELON, P.; CHERRUAULT, Y.; PAPAPANAYOTOU, C. A study of the effect of decimal and centesimal dilutions of arsenic on the retention and mobilization of arsenic in the rat. Human Toxicology; n. 6, p. 315-320, 1987.
- DALLARES ANGULO, J. J. La importancia de las dosis de medicamento en el tratamiento de las enfermedades. Rev Homeopática (Barcelona); v.15, n.40, p.38-40, ene-abr 1999.
- EIZAYAGA, F. X. Tratado de medicina homeopática. 3ª Ed. Buenos Aires: Marecel, 1992.
- FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. 2ª Ed., Parte 1. São Paulo: Atheneu, 1997.
- FONTES, O. L.; CHAUD, M. V.; ALVES, M. I. F.; GUTIERREZ, M. A.; FOLTRAN, F. P.; CARVALHO, G. G. A. Estudo comparativo do efeito dinâmico de diferentes doses de Arsenicum album 6CH em ratos intoxicados com arsênico. Cultura Homeopática, n. 17, p. 06-08, out-nov-dez 2006.
- GUIERRE, G. Les doses en homeopathie. Ann Homeopth Fr, v.23, n.1, p.11-28, jan-fev 1981.
- KOSSAK-ROMANACH, A. Homeopatia em 1000 conceitos. São Paulo: Elcid, 1984.
- KUNDU, S. N.; MITRA, K.; BUKHSH, A. R. K. Efficacy of a potentized drug (Arsenicum album 30) in reducing cytotoxic effects produced by arsenit trioxyde in mice. Part II. Complement Ther Med; n.8, p.157-165, 2000.
- LAPP, C.; WURMSER, L.; KEY, J. Mobilisation de l'arsenic fixé chez le cobaye, sous l'action de dose infinitésimals d'arseniate de sodium. Therapie; v.10, p.625-638, 1955.
- MITRA, K.; KUNDU, S. N.; KHUDA BUKHSH, A. R. Efficacy of a potentized homeopathic drug (Arsenicum album 30) in reducing toxic effects produced by arsenic trioxide in mice. Part II. Complementary Therapies in Medicine, n. 7, p. 24-34, 1999.
- NUNES SALAS, C.; OLIVAS LOYA, J. L.; GARCIA VARGAS, G.; HERNÁNDEZ SERRANO, M. C. El arsenicum album homeopático como eliminador arsénico en paciente intoxicado crónicamente. La homeopatia de mexico; 69 (608), p. 169-173, 2000.
- PELLEGRINO, J. C. C. Dosis, dinamizacion, potencia: consideraciones. Actas Congr. LMHI; n.47, p.328-330, oct 1992.
- ORTEGA, P. S. Introducción a la medicina homeopática: teoria y técnica. México, D.F., 1992.
- SIEGEL, S. & CASTELLAN JR. N. J. Nonparametrics statistics, 2 ed. New York: McGraw-Hill, 1988.
- SOLVEY, M. Concepto de dosis, potencia y farmacopollaxia em la terapêutica homeopática. Homeopatia (Buenos Aires); v.42, n.318, p.68-77, 1975.
- YAHBES, E. A. Dosis, en homeopatia. Homeopatia (Buenos Aires); v.62, n.4, p.267-270, 1997.
- WURMSER, L. Influence des doses infinitesimals sur la cinétique des éliminations. L'Homéopathie Française, v.72, p.165-173, 1984.
- ZAR, J. H. Biostatistical Analysis. 2ª Ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1984.

Anexos

TABELA I - Concentração de Arsênico, em ppm, excretado na urina antes da intoxicação dos animais (AI), 48 horas após a intoxicação, antes do início do tratamento (T0); durante os 6° e 7° (T6); os 14° e 15° (T14) e os 33° e 34° (T30) dias após o tratamento (n=5).

Período	Grupo		Mediana	% VAR*	
			(Percentil 75 – Percentil 25)	G3	G4
AI	G1	Não Tratado	0,00 (0,00)	0%	0%
	G2	Não Tratado	0,00 (0,00)	0%	0%
	G3	Controle Positivo	1,16 (0,17)		
T0	G4	Controle Negativo	1,02 (0,06)		
	G1	Não Tratado	0,03 (0,00)	-33%	-17%
	G2	Não Tratado	0,03 (0,01)	-13%	8%
	G3	Controle Positivo	0,04 (0,04)		
T6	G4	Controle Negativo	0,03 (0,02)		
	G1	Tratado	11,56 (4,32) ^{abc}	624%	844%
	G2	Tratado	6,29 (3,03) ^{ab}	310%	414%
T14	G3	Controle Positivo	1,53 (1,17) ^{ab}		
	G4	Controle Negativo	1,22 (0,18) ^{ab}		
	G1	Tratado	12,38 (3,20) ^{abc}	642%	1091%
	G2	Tratado	5,30 (3,28) ^{ab}	218%	410%
T30	G3	Controle Positivo	1,67 (2,02) ^{ab}		
	G4	Controle Negativo	1,04 (0,07) ^{ab}		
	G1	Tratado	9,31 (1,14) ^{abc}	575%	668%
	G2	Tratado	5,48 (2,55) ^{bc}	297%	352%
	G3	Controle Positivo	1,38 (0,32) ^{ab}		
	G4	Controle Negativo	1,21 (0,45) ^{ab}		

Médianas seguidas com letra minúscula igual indicam diferença significativa entre os grupos pelo teste *Kolmogorov-Smirnov* ($p < 0,05$). *%VAR: representam percentuais de variação em relação à média. G1 e G2: grupos tratados, respectivamente, com *Arsenicum album* 30CH e *Arsenicum album* 30CH diluído a 1%.

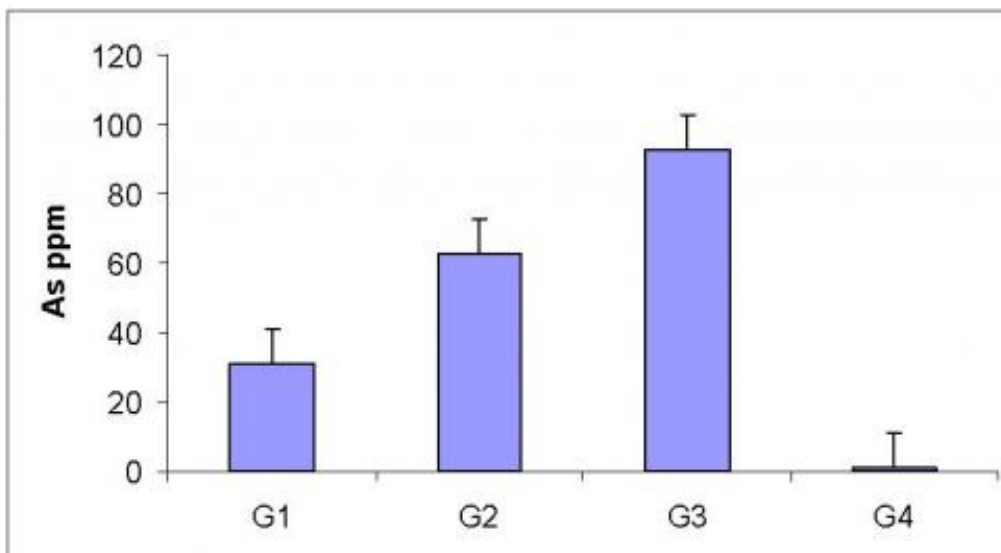


Figura 1 – Concentração de As (ppm) retido nas cartilagens e ossos dos animais intoxicados e tratados com *Arsenicum album* 30CH (G1), *Arsenicum album* 30CH diluído a 1% (G2), etanol a 30% - animais intoxicados (G3 – controle positivo) e etanol a 30% - animais não intoxicados (G4 – controle negativo) (n=2)

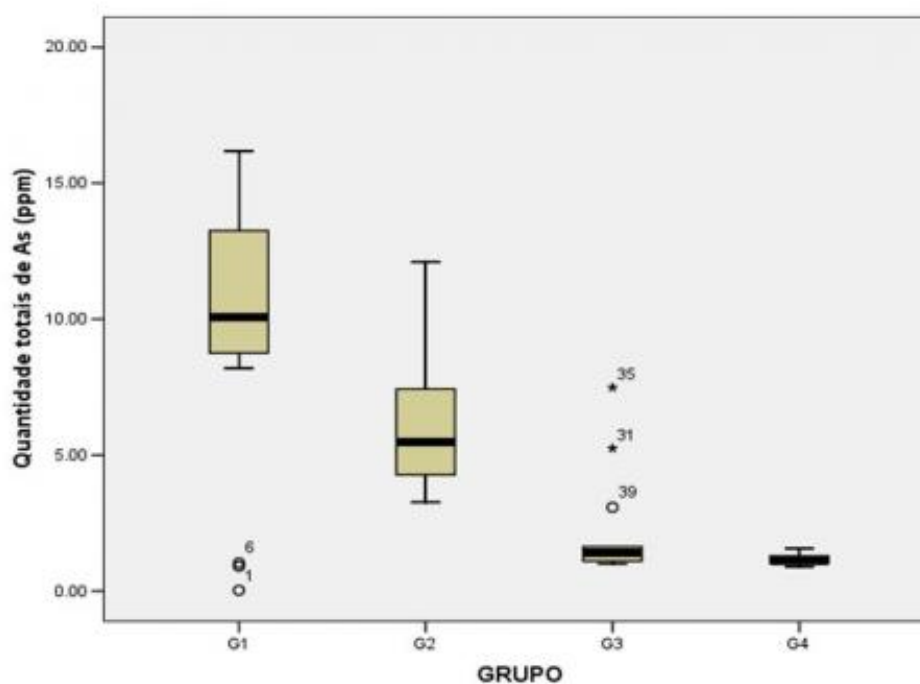


Figura 2 – Comparações entre as quantidades totais de As (ppm) eliminada na urina após o início do tratamento ($p = 0,01$)