

**Zélia Maria Nogueira Britschka**

***Efeito antiinflamatório da lama negra de  
Peruíbe em diferentes modelos  
experimentais de artrite***

**Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências**

**Área de Concentração: Reumatologia**

**Orientadora: Profa. Dra. Suzana Beatriz Veríssimo de Mello**

**São Paulo  
2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Britschka, Zélia Maria Nogueira

**Efeito antiinflamatório da lama negra de Peruibe em diferentes modelos  
experimentais de artrite / Zélia Maria Nogueira Britschka. -- São Paulo, 2006.**

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Reumatologia.

Orientadora: Suzana Beatriz Verissimo de Mello.

Descritores: 1.TERAPIA POR LAMA/métodos 2.ARTRITE REUMATÓIDE/  
terapia 3.OSTEOARTRITE/terapia 4.MODELOS ANIMAIS 5.ARTRITE  
REUMATÓIDE/induzido quimicamente 6.CARTILAGEM

USP/FM/SBD-382/05

**Ao papai e à mamãe**

Pelas noites em claro, pelas lágrimas derramadas,  
pela dedicação, pelo amor incondicional e  
por me ensinarem que o mais importante é o crescimento  
interior.

**Aos meus irmãos**

Pela amizade, pelo carinho e  
pela cumplicidade.

**filhas**

**Ao meu marido e às minhas**

Pela paciência, pela compreensão  
e pelo amor.

**A Deus**

Pela família que tive, tenho e terei;  
Pelos amigos que tive, tenho e terei;  
Pelos lugares que estive, estou e estarei;  
Pela pessoa que fui, sou e serei.

## AGRADECIMENTOS

*“Todo homem que encontro é superior a mim em relação a alguma coisa. Por isso, dele sempre aprendo alguma coisa.” (Emerson)*

Eu acredito que nenhuma obra se faz por ação de uma só pessoa, até porque não somos seres perfeitos e precisamos de ajuda, de compartilhar idéias, de carinho e de reconhecimento. Assim, minha gratidão às pessoas abaixo relacionadas é de mesma intensidade, porque cada uma, a seu modo, contribuiu para a realização deste trabalho e para meu crescimento pessoal durante minha permanência nesta instituição.

À Profa. Dra. Suzana Beatriz Veríssimo de Mello, minha orientadora, pelo acompanhamento e orientação de meus estudos.

À Dra. Walcy Paganelli Rosolia Teodoro pelo auxílio referente ao modelo experimental de osteoartrite e nas análises histológicas das cartilagens.

À Maria Aurora Gomes da Silva e à Maria de Fátima de Almeida pelo companheirismo, pela amizade, pelo carinho, pelo ensino dos protocolos experimentais em coelhos e pela presteza no auxílio da realização dos procedimentos experimentais.

À Maria Luíza Guzzo pelo ensino do protocolo experimental em ratos.

À Ana Paula Pereira Velosa pela contribuição na realização do escore histológico.

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, especialmente a Ana Lúcia Garippo e ao Dr. Edween Rocher Parra pela contribuição nas análises patológicas.

À Cássia Arruda pela confecção das lâminas histológicas.

A Antonio dos Santos Filho, Romildo Dias Lima e Luciano Lopes pela ajuda nas atividades realizadas no biotério.

Ao Dr. Paulo Flávio de Macedo Gouvêa pelo estímulo, interesse e fornecimento da lama negra de Peruíbe.

À Clarice Gameiro da F. Pachi pelo feliz reencontro e pela assessoria estatística.

À Lílian Takayama Guerra, Solange Carrasco e Valéria de Falco Caparbo pelo coleguismo.

À Maria de Fátima Correia da Silva pela ótima assistência de secretaria.

À Dra. Maria Aparecida Basile pela amizade, pela confiança, pelo carinho e por ter-me aberto um outro espaço de convívio universitário.

# SUMÁRIO

Lista de siglas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO .....	1
1.1	Fangoterapia .....	1
1.1.1	Aplicações da fangoterapia .....	2
1.1.2	Características de um pelóide.....	5
1.1.3	Lama negra de Peruíbe.....	7
1.1.4	Efeito placebo .....	9
1.2	Modelos experimentais .....	11
2	OBJETIVOS.....	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1	Animais .....	18
3.2	Modelos experimentais .....	18
3.2.1	Artrite induzida por antígeno (AIA) em coelhos .....	18
3.2.2	Artrite induzida por zymosan (AIZ) em ratos .....	19
3.2.3	Osteoartrite induzida por meniscectomia parcial.....	20
3.3	Plano de tratamento.....	21
3.4	Alimentação da lama.....	22
3.5	Coleta do exsudato inflamatório.....	22
3.6	Análise morfológica.....	23
3.6.1	Membrana sinovial.....	23

3.6.2	Cartilagem articular.....	24
3.7	Análise estatística.....	25
4	RESULTADOS.....	26
4.1	Modelos experimentais de artrite.....	26
4.2	Modelo experimental de osteoartrite.....	35
5	DISCUSSÃO.....	39
6	CONCLUSÕES.....	49
7	ANEXOS.....	50
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
	Apêndice	

## LISTA DE SIGLAS

ACTH = hormônio adrenocorticotrófico

AIA= artrite induzida por antígeno

AINH = drogas antiinflamatórias não esteroidais

AIZ = artrite induzida por zymosan

AR = artrite reumatóide

COBEA = Colégio Brasileiro de Experimentos com Animais

COX = ciclooxigenase

DMARD = drogas anti-reumáticas modificadoras da doença

GM-CSF = fator estimulante de colônias de macrófagos e granulócitos

H&E = hematoxilina e eosina

IGF = fator de crescimento tipo insulina

IL = interleucina

ITF = interferon

LTB<sub>4</sub> = leucotrieno B 4

mBSA = Albumina metilada de soro bovino

MMP = metaloproteinase de matriz

MN = mononucleares

NO = óxido nítrico

OA = osteoartrite

PGE<sub>2</sub> = prostaglandina E 2

PMN = polimorfonucleares

TIMP = inibidor tecidual de metaloproteinases

TNF- $\alpha$  = fator de necrose tumoral – alfa

Zn = zinco



## RESUMO

Britschka ZMN. Efeito antiinflamatório da lama negra de Peruíbe em diferentes modelos experimentais de artrite [tese]. São Paulo; Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 105 p.

**OBJETIVO:** Vários estudos têm demonstrado os possíveis efeitos da fangoterapia na remissão da dor, com conseqüente melhora das funções físicas de pacientes com artrite reumatóide e osteoartrite. No presente estudo nós investigamos a eficácia de uma lama brasileira (lama negra de Peruíbe) como tratamento para a inflamação em modelos experimentais de artrites. **MÉTODOS:** O efeito antiinflamatório da aplicação da lama durante o curso das artrites foi comparado com a aplicação de água quente em artrite induzida por antígeno (AIA de 7 dias) e osteoartrite induzida por menissectomia parcial em coelhos da raça New Zealand (OA de 14 semanas) e em artrite induzida por zymosan em ratos Wistar (AIZ de 21 dias). O líquido e a membrana sinoviais foram analisados quanto ao influxo celular, hiperplasia sinovial, proliferação vascular, e infiltração celular. As cartilagens articulares foram avaliadas quanto ao seu conteúdo de proteoglicanos e de colágeno, bem quanto à sua estrutura e celularidade. As amostras foram mantidas em formol 10%, tamponado, incluídas em parafina e coradas com HE, Tricrômio de Masson, azul de Alcian e picro-Sirius. **RESULTADOS:** Os dados mostraram que a lama não exerceu nenhum efeito aos sete dias de tratamento no modelo de AIA. Entretanto, o influxo de

leucócitos foi significativamente reduzido nas articulações de ratos induzidos com zymosan tratados com a lama, quando comparados com o grupo controle não tratado e tratado com água quente. Esse efeito foi acompanhado de um efeito protetor parcial na sinóvia e na cartilagem. O mesmo efeito protetor foi observado em cartilagens de coelhos submetidos ao modelo experimental de osteoartrite, após 14 semanas de tratamento.

**CONCLUSÃO:** Nossos resultados mostram que a lama brasileira apresenta um efeito antiinflamatório em ambos os modelos experimentais de AIZ e OA, também reduzindo a degradação da cartilagem. Esses dados sugerem que a fangoterapia pode ser útil como uma terapia complementar ao tratamento de pacientes com doenças crônicas articulares.

Descritores: 1. Terapia por Lama/ métodos 2. Artrite Reumatóide/ terapia 3. Osteoartrite/ terapia 4. Modelos Animais 5. Artrite Reumatóide/ induzido quimicamente 6. Cartilagem.

## **SUMMARY**

Britschka ZMN Evaluation of the anti-inflammatory effects of mud therapy (Peruíbe, Brazil) on different experimental models of arthritis [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo", 2006. 105 p.

**OBJECTIVE:** Several studies have demonstrated the valuable effects of fangotherapy on relieve of pain with consequent improvement of function of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. In the present study we investigated the effectiveness of a Brazilian black mud as treatment for inflammation in experimental models of arthritis. **METHODS.** The anti-inflammatory effect of mud application during the course of arthritis was compared with warm water and no treatment in antigen-induced arthritis (AIA of 7 days) and osteoarthritis induced by menisectomy (OA of 14 weeks) in NZW rabbits zymozan-induced arthritis in Wistar rats (Zy-IA of 21 days). Synovial fluid and membrane were analyzed regarding cellular influx, synovial hyperplasia, vascular proliferation and infiltration, as well as proteoglycan and collagen containing of the cartilage. The samples were maintained in 10% buffered formalin, included in paraffin and stained with HE, Masson trichrome, Alcian Blue and picro-Sirius. **RESULTS:** Data showed none effect of 7 days treatment with mud in AIA. However, leukocyte infiltration was significantly impaired in the joints of Zy-IA rats treated with mud when compared with both control untreated and treated with hot water groups. This effect was followed by a partial protective effect on synovium and cartilage. This protective effect was also observed in OA model in

rabbits, after 14 weeks of treatment. CONCLUSION: Our results show that Brazilian mud presents an anti-inflammatory effect on chronic model of arthritis, reducing cartilage degradation. Besides their mechanism is not known, these data suggest that mud therapy must be useful as a complementary approach to treat patients with chronic articular diseases.

Keywords: 1. Mud therapy/ methods. 2. Rheumatoid arthritis/ therapy. 3. Osteoarthritis / therapy. 4. Animals models. 5. Rheumatoid arthritis / induced arthritis. 6. Cartilage