

FREDERICO SILVA PIMENTA

**EFEITOS TÓXICOS DO ÁCIDO TRANEXÂMICO E DA POVIDONA-
IODO NA CARTILAGEM ARTICULAR DE COELHOS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
BELO HORIZONTE, MG**

2019

FREDERICO SILVA PIMENTA

EFEITOS TÓXICOS DO ÁCIDO TRANEXÂMICO E DA POVIDONAIODO NA CARTILAGEM ARTICULAR DE COELHOS

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina.

Área de Concentração: Resposta inflamatória à agressão tecidual.

Linha de Pesquisa: Repercussões locais e sistêmicas à lesões teciduais e a fármacos aplicados em cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Percoppe de Andrade

Coorientadora: Profa. Dra. Cristiana Buzelin Nunes

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

BELO HORIZONTE, MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora

Profa. Dra. Sandra Goulart Almeida

Vice-Reitor

Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Mario Fernando Montenegro Campos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Dr. Humberto José Alves

Vice-Diretor

Prof. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Chefe do Departamento de Cirurgia

Prof. Dr. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues

Coordenadora do Centro de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

Profa. Dra. Vivian Resende

Chefe do Departamento do Aparelho Locomotor

Prof. Dr. Robinson Esteves Santos Pires

**COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À
CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA**

Profa. Dra. Vivian Resende (Cordenadora)

Prof. Dr. Túlio Pinho Navarro (Subcoordenador)

Prof. Dr. Marcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Marco Antônio Percope de Andrade

Prof. Sebastião Cronemberger Sobrinho

Representante Discente

Artur William Caldeira Abreu Veloso

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Marco Antônio Percope de Andrade, meu orientador, pela constante motivação e incentivo aos estudos, sua história e valores motivam a todos.

Aos professores e preceptores da Faculdade de Medicina da UFMG e Hospital das Clínicas pelos ensinamentos, em especial ao Prof. Dr. Guilherme Moreira de Abreu e Silva, Prof. Dr. Robinson Esteves Santos Pires e ao Prof. Tulio Vinicius de Oliveira Campos.

À Profa. Dra. Cristiana Buzelin Nunes, minha coorientadora, ao Prof. Eduardo Paulino Junior e ao Prof. Marcelo Araújo Buzelin pela valorosa participação nesse estudo.

Ao Ângelo Ribeiro Vaz de Faria residente de Ortopedia do HC-UFMG e Marcos Lanna Damásio de Castro acadêmico de Medicina da UFMG pela disponibilidade e ajuda durante a parte experimental do estudo.

Aos técnicos do Núcleo de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da UFMG, Marcelo Moreira de Jesus e Flávia Pereira Santos obrigado pela participação nos cuidados com os animais.

Ao João Carlos e Dulce, pais amados, pelo apoio incondicional. Exemplos de vida, superação e amor.

Ao Du e Flávio, irmãos queridos, pelo carinho e apoio constantes.

A Geisy, minha namorada, pelo carinho, amor e compreensão dos momentos ausentes para a realização dos meus objetivos.

RESUMO

Introdução: o uso tópico intra-articular do ácido tranexâmico (ATX) e da povidona-iodo (PVPI) em artroplastias do joelho está crescendo ao longo dos últimos anos devido às evidências da literatura que confirmam reduções na perda sanguínea, necessidade de hemotransfusão e nas taxas de infecção pós-operatória, respectivamente. Entretanto, são necessários mais estudos sobre a toxicidade dessas substâncias para a cartilagem residual em pacientes submetidos à artroplastia unicompartmental do joelho e artroplastia total do joelho, quando não ocorre a substituição da patela. **Objetivos:** avaliar os efeitos do uso tópico intra-articular do ATX 20mg/kg e/ou PVPI 0,35% na cartilagem articular do joelho em um modelo experimental de coelhos. **Material e Método:** quarenta e quatro coelhos machos, com menos de seis meses de vida, da raça Nova Zelândia, alocados de modo aleatório em quatro grupos (controle; ATX; PVPI e PVPI + ATX), tiveram a cartilagem articular do joelho exposta ao soro fisiológico SF 0,9% (grupo controle), ao ATX, ao PVPI e ao PVPI seguido do ATX. Decorridos 60 dias do procedimento cirúrgico os animais foram sacrificados sendo obtidos fragmentos osteocondrais do fêmur distal. Cortes histológicos da cartilagem da área de apoio do fêmur distal foram corados com hematoxilina/eosina e azul de toluidina. Os seguintes parâmetros da cartilagem foram avaliados pelo sistema de graduação histológica/histoquímica de Mankin: estrutura, celularidade, conteúdo de glicosaminoglicanos na matriz extracelular e integridade da linha de maré. **Resultados:** o uso isolado do PVPI causa alterações na estrutura, celularidade e conteúdo de glicosaminoglicanos da cartilagem, enquanto que o uso isolado do ATX altera o conteúdo de glicosaminoglicanos. O uso sequencial do PVPI + ATX provoca alterações mais pronunciadas tanto na matriz extracelular quanto na estrutura e na celularidade. **Conclusão:** os dados sugerem que o uso tópico intra-articular do ácido tranexâmico 20mg/kg, após o fechamento da cápsula articular e a lavagem intra-operatória, com solução de povidona-iodo 0,35%, durante três minutos, são tóxicos para a cartilagem articular em um estudo experimental *in vivo* em joelho de coelhos. Demonstrou-se também que o uso sequencial dessas substâncias apresenta maior toxicidade para a cartilagem articular.

Palavras-chave: Cartilagem Articular. Ácido Tranexâmico. Povidona-iodo. Artroplastia de Joelho.

ABSTRACT

Introduction: the topical intra-articular use of tranexamic acid (ATX) and povidone-iodine (PVPI) in knee arthroplasties has been increasing over the past few years due to evidence from the literature confirming reductions in blood loss, need for blood transfusion, and rates of post-operative surgical site infection, respectively. However, further studies are required on the toxicity of these substances to residual cartilage in patients submitted to unicompartmental knee arthroplasty and unresurfaced patella in total knee arthroplasty. **Objectives:** to evaluate the effects of topical use of ATX 20mg/kg and/or 0.35% PVPI on knee joint cartilage in an experimental model of rabbits. **Material and Method:** 44 male rabbits less than six months old, New Zealand breed, were randomly assigned to four groups (control, ATX, PVPI and PVPI + ATX) had knee joint cartilage exposed to physiological saline SF 0,9% (control group), ATX, PVPI and PVPI followed by ATX. Sixty days after the surgical procedure, the animals were sacrificed and osteochondral fragments of the distal femur were obtained. Histological sections of cartilage from this area were stained with hematoxylin/eosin and toluidine blue. The following cartilage parameters were evaluated through the Mankin histological/histochemical grading system: structure, cellularity, glycosaminoglycan content in the extracellular matrix and integrity of the tidemark. **Results:** the isolated use of PVPI causes changes in cartilage structure, cellularity and glycosaminoglycan content, whereas the isolated use of ATX alters the glycosaminoglycan content. The sequential use of PVPI + ATX causes more pronounced alterations in the extracellular matrix, structure and cellularity. **Conclusion:** the data suggest that topical intra-articular use of tranexamic acid 20mg/kg after closure of the joint capsule and intraoperative lavage with 0.35% povidone-iodine solution for three minutes are toxic to articular cartilage in an experimental in vivo study in rabbit knee. It has also been shown that the sequential use of these substances presents greater toxicity to the articular cartilage.

Keywords: Articular Cartilage. Tranexamic Acid. Povidone-iodine. Knee Arthroplasty.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Radiografia de joelho saudável e de joelho artrósico	14
Figura 2 – Esquema e tabela da composição, organização e propriedades mecânicas das camadas da cartilagem articular	16
Figura 3 – Artroplastia total e artroplastia unicompartimental do joelho	17
Figura 4 – Fórmula molecular do ácido tranexâmico	19
Figura 5 – Ativação da fibrinólise e inibição da fibrinólise	20
Figura 6 – Fórmula molecular Polivinil Pirrolidona Iodo	21
Figura 7 – Coelhos alocados para experimentação	22
Figura 8 – Procedimento anestésico	23
Figura 9 – Artrotomia cirúrgica	24
Figura 10 – Infiltração intra-articular de ácido tranexâmico	26
Figura 11 – Exposição da superfície articular à solução de povidona-iodo	26
Figura 12 – Infiltração intra-articular de ácido tranexâmico após PVPI	27
Figura 13 – Cálculo amostral (A).....	28
Figura 14 – Cálculo amostral (B).....	29
Figura 15 – Processo de escaneamento das lâminas histológicas.....	30
Figura 16 – Fêmur distal após dissecação dos tecidos moles	32
Figura 17 – Preparação do fragmento do fêmur distal.....	32
Figura 18 – Fragmentos osteocondrais devidamente identificados	33
Figura 19a – Boxplot entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos	36
Figura 19b – Boxplot entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos	37
Figura 20 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva(a)	39
Figura 21 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva (b)	39
Figura 22 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva (c).....	39
Figura 23 – Cortes histológicos corados por azul de toluidina (AT) ampliação 10x objetiva (d)	40
Gráfico 1 – Integridade da linha de maré entre os grupos.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema de Graduação Histológica/Histoquímica de Mankin.....	31
Tabela 2 – Comparação entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos	36
Tabela 3 – Comparação entre a integridade da linha de maré e os grupos	38
Tabela 4 – Análise histológica – Escore de Mankin.....	52
Tabela 5 - Peso dos animais em miligramas.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

AT	- Azul de Toluidina
ATJ	- Artroplastia Total do Joelho
ATX	- Ácido tranexâmico
AUJ	- Artroplastia Unicompartimental do Joelho
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
EDTA	- Ácido Etilenodiaminotetraacético
HE	- Hematoxilina/Eosina
HHGS	- <i>Histological-Histochemical Grading System</i>
Kg	- Kilograma
mg	- Miligrama
ml	- Miliitro
mm	- Milímetros
OA	- Osteoartrose
PDF	- Produtos da degradação da fibrina
PG	- Proteoglicanos
PVPI	- Povidona-iodo
SF 0,95%	- Soro Fisiológico 0,9%
TCI	- Tomografias Microcodificada
t-PA	- Ativador tecidual do plaminogênio
UFMG	- Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Justificativa	13
1.2	Objetivos	13
1.2.1	Objetivo geral	13
1.2.2	Objetivos específicos	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	A osteoartrose	14
2.2	A cartilagem	15
2.3	As artroplastias do joelho	17
2.4	O modelo experimental	18
2.5	O ácido tranexâmico	19
2.6	A Povidona-iodo	20
3	MATERIAIS E MÉTODO	22
3.1	Delineamento	22
3.2	Definição da amostra	22
3.3	Procedimento cirúrgico.....	23
3.3.1	Procedimento anestésico	23
3.3.2	Artrotomia	23
3.3.3	CrITÉRIOS de exclusão	24
3.3.4	Eutanásia	25
3.4	Definição dos grupos.....	25
3.5	Cálculo amostral.....	27
3.6	Análise histopatológica.....	29
3.7	Análise estatística	33
4	RESULTADOS	34
4.1	Análise estatística	34
5	DISCUSSÃO	41
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	51
	ANEXO B – Análise histológica – escore de Mankin	52
	Peso dos animais em miligramas	54

1 INTRODUÇÃO

Nos pacientes com doença degenerativa avançada do joelho que não respondem ao tratamento conservador, o procedimento de escolha é a artroplastia total do joelho (ATJ). Nesse procedimento, as superfícies articulares femoral e tibial são sempre substituídas, enquanto que na patela, dependendo da espessura, da preservação da cartilagem e/ou da preferência do cirurgião, sua superfície articular pode ou não ser substituída. A artroplastia unicompartmental do joelho (AUJ), outra modalidade de tratamento, é indicada nos casos em que somente um compartimento (medial ou lateral) do joelho está envolvido, deixando um dos compartimentos e a patela com a sua cartilagem articular preservada.

Dados do Registro Norte Americano de artroplastias de 2018 revelam que foram realizadas mais de 500.000 ATJ primárias nos Estados Unidos (1). Na Austrália a substituição da patela não é realizada em cerca de 35% das ATJs (2). O Registro Nacional Inglês de 2018 revela que 9% das artroplastias de joelho são AUJ (3).

O número crescente de artroplastias de joelho despertou o interesse pelo uso intra-articular de substâncias tóxicas, na tentativa de controlar o sangramento e reduzir os índices de infecção, que é uma causa comum de falha nos dois primeiros anos, após ATJ. Entretanto, são necessários mais estudos sobre os efeitos provocados por essas substâncias na cartilagem articular, remanescente, de pacientes submetidos à AUJ ou naqueles em que não é realizada a substituição da patela na ATJ.

A camada superficial da cartilagem articular é elemento essencial para a prevenção do desgaste mecânico articular e da transferência anormal de carga, sendo afetada no início da patogênese da osteoartrose (OA) (4-6). A progressão da OA, nos compartimentos não protetizados, é um mecanismo de falha conhecido. Dessa forma, qualquer substância ou agente que tenha contato com a cartilagem articular no peroperatório deveria ter seus efeitos locais conhecidos, com interesse especial na segurança e viabilidade da cartilagem após a exposição.

O uso tópico intra-articular do ácido tranexâmico (ATX), em cirurgias ortopédicas, aumentou na última década, devido às evidências na literatura da sua ação na redução

de perda sanguínea e necessidade de hemotransfusão (7-10). O ATX é derivado sintético do aminoácido lisina com atividade antifibrinolítica, ao inibir os receptores de lisina na molécula de plasminogênio, impedindo a ativação da plasmina e assim, preservando a função da fibrina na formação do coágulo. Em suma, o ATX é capaz de reduzir o sangramento. Embora o uso venoso do ATX seja considerado seguro, pode haver aumento nos fenômenos tromboembólicos, o que levou à disseminação da sua aplicação tópica (11-13).

Há poucos estudos sobre os efeitos do ATX na cartilagem nativa. Tuttle *et al.* demonstraram efeitos citotóxicos do ATX na cartilagem articular em modelos animais (14). Parker *et al.* demonstraram toxicidade do ATX para condrócitos humanos cultivados *in vitro* (15).

A infecção periprotética do joelho tem efeito devastador sobre os resultados funcionais e a qualidade de vida do paciente (16-17). A irrigação intra-articular per-operatória, com solução tópica de povidona-iodo (PVPI), demonstrou reduzir os índices de infecção pós-operatória (18). Povidona-iodo é uma solução antisséptica que consiste em polivinilpirolidona, água e iodo com ampla capacidade bactericida (19, 20).

Brown *et al.* (18) demonstraram redução nas taxas de infecção pós ATJ, com o uso de solução de PVPI 0,35%, deixada por 3 minutos na articulação após o posicionamento dos implantes e antes do fechamento da cápsula articular. No entanto, estudos recentes revelaram efeitos condrotóxicos de soluções de PVPI (21-23). Arvind *et al.* (21) demonstraram pronunciado efeito condrotóxico, da solução de PVPI a 0,35%, deixada por mais de um minuto em contato com os tecidos articulares.

Devidos aos questionamentos quanto à segurança na utilização do ATX e do PVPI, o presente trabalho avaliou os efeitos do uso tópico intra-articular do ATX e/ou do PVPI na cartilagem articular do joelho de coelhos.

1.1 Justificativa

Os efeitos do uso tópico intra-articular sequencial do PVPI e ATX na cartilagem articular ainda são desconhecidos, assim como existem poucos estudos sobre os efeitos do ATX na cartilagem. Os resultados do presente estudo estimaram a segurança do uso tópico intra-articular dessas substâncias, na cartilagem articular remanescente na artroplastia unicompartmental do joelho e na artroplastia total do joelho, quando não ocorrer a substituição da patela.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Identificar os efeitos do uso tópico intra-articular da solução PVPI e/ou do ATX na cartilagem articular.

1.2.2 Objetivos específicos

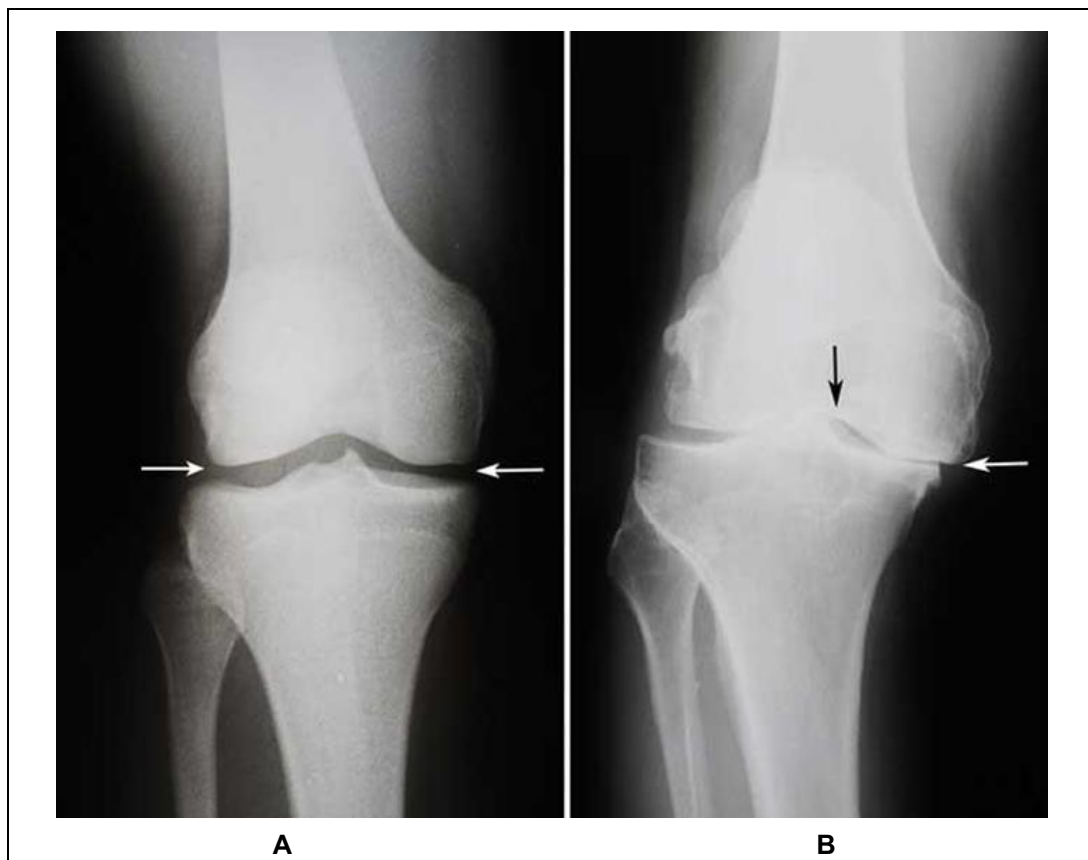
- Analisar a estrutura e celularidade da cartilagem articular exposta ao PVPI e/ou ao ATX, comparando-as com um grupo controle exposto ao SF 0,9%.
- Identificar os efeitos do PVPI e/ou ATX na matriz extracelular, pela análise do conteúdo de glicosaminoglicanos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A osteoartrose

A OA é uma doença articular crônica, degenerativa que possui etiologia vinculada a fatores genéticos e metabólicos. A fisiopatologia ocorre devido aos desequilíbrios mecânico e biológico que alteram a síntese e degradação dos condrócitos, matriz extracelular e osso subcondral resultando em perda da cartilagem articular. Assim, a doença evolui para deformidades articulares, dor que se agrava com a movimentação podendo, em estágios mais avançados, ocorrer dor ao repouso, diminuição da amplitude de movimento, perda da função articular, atrofia muscular e rigidez articular. As alterações radiográficas são descritas como reações osteofitárias, diminuição do espaço articular, esclerose subcondral e cistos subcondrais (24) (FIGURA 1).

Figura 1 – Radiografia de joelho saudável e de joelho artrósico



Legenda A: O espaço entre os ossos indica uma cartilagem saudável (setas).

B: O joelho artrósico mostra perda grave de espaço articular (setas).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A OA ocorre em 44% a 70% dos indivíduos acima de 50 anos e na faixa etária acima dos 75 anos, a incidência pode subir para 85% (25).

A OA é multifatorial, sendo fatores de risco descritos idade, obesidade, lesão prévia de joelho, sexo feminino, carga excessiva e alterações do eixo mecânico dos membros inferiores. (26). Dessa forma, o aumento do número de idosos e a obesidade crescente na população estão favorecendo o aumento da incidência de OA (27-28).

2.2 A cartilagem

A cartilagem hialina tem como funções absorver e distribuir carga, gerar uma superfície de baixa fricção para o movimento e resistir as forças de tensão, cisalhamento e compressão. Ela reveste as articulações diartrodais, como o joelho, e é constituída por condrócitos (cerca de 10%) e matriz extracelular. A matriz extracelular compõe-se de fibras de colágeno, principalmente do tipo 2 (10-20%), proteoglicanos (10-15%) e água (60-80%). Os proteoglicanos (PG) são glicoproteínas complexas formadas por um núcleo proteico central, no qual cadeias de glicosaminoglicanos estão fixas. Considerando-se que a cartilagem é avascular, a nutrição dos condrócitos se dá por difusão do líquido sinovial (29).

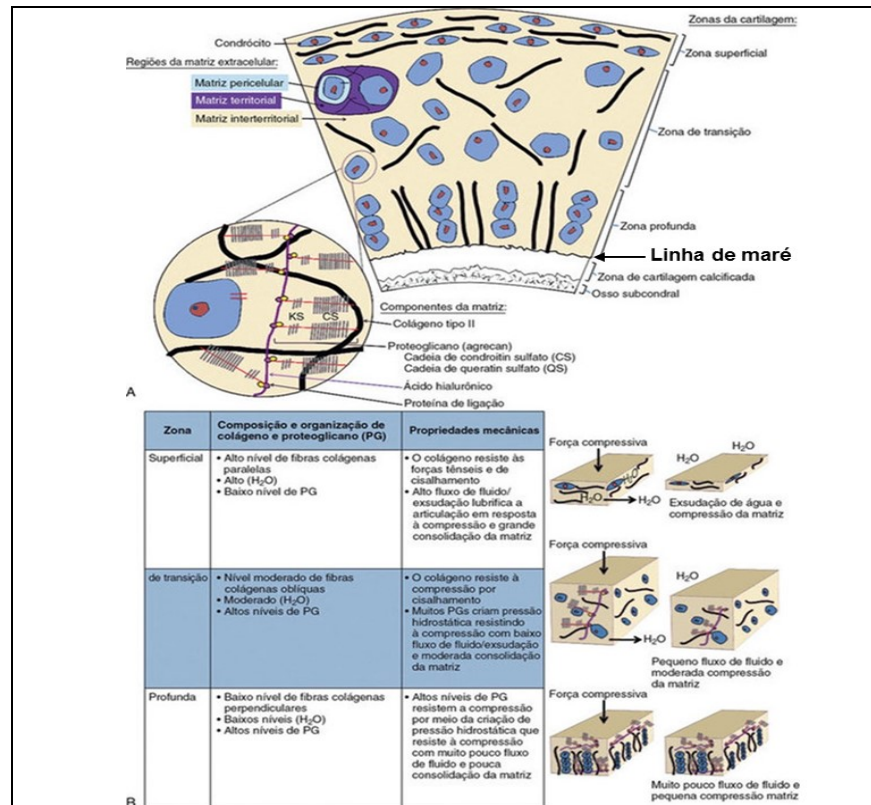
Os condrócitos são responsáveis pela síntese dos componentes da matriz. Eles variam em forma, tamanho e atividade metabólica nas diferentes camadas da cartilagem, raramente se dividindo, quando adultos. Com o passar dos anos sua concentração reduz, principalmente, na camada superficial, o que aumenta a possibilidade de degeneração articular (30).

A cartilagem articular é dividida em quatro zonas:

- Zona Superficial: corresponde a 10-20% da espessura total, é a zona mais delgada. Constituída por fibras de colágeno paralelas à superfície articular e condrócitos de forma elipsoide, densamente compactados e arranjados horizontalmente. Apresenta alta concentração de água e baixo conteúdo de proteoglicanos. A remoção dessa camada, conforme observado na degeneração precoce da cartilagem, resulta em aumento da permeabilidade e diminuição da resistência às forças tensis.

- Zona de transição: camada mais espessa, com 40 a 60% da espessura total. Os condrócitos são esferoidais e sintetizam fibras colágenas orientadas obliquamente. Apresentam alto conteúdo de PG e moderado conteúdo de água, o que permite uma compressibilidade aumentada e, assim, a absorção de choque e distribuição de cargas.
- Zona profunda: corresponde a 30% da espessura total. Os condrócitos são esferoidais, estão organizados em colunas verticais perpendiculares a superfície e sintetizam matriz com altos níveis de PG. As fibras colágenas estão organizadas verticalmente para resistir a compressão, fornecendo rigidez e ancorando a cartilagem ao osso subcondral.
- Zona de cartilagem calcificada: localizada entre a zona profunda e o osso subcondral, ancora a cartilagem ao osso por meio do colágeno tipo X. Nessa zona, há uma marca que é o limite entre a cartilagem calcificada e a zona profunda, chamada “linha de maré” (*tidemark*), que é o nível mais profundo de proliferação de condrócitos em que ocorre a calcificação. Na histologia se mostra como uma linha basofílica distinta (FIGURA 2).

Figura 2 – Esquema e tabela da composição, organização e propriedades mecânicas das camadas da cartilagem articular



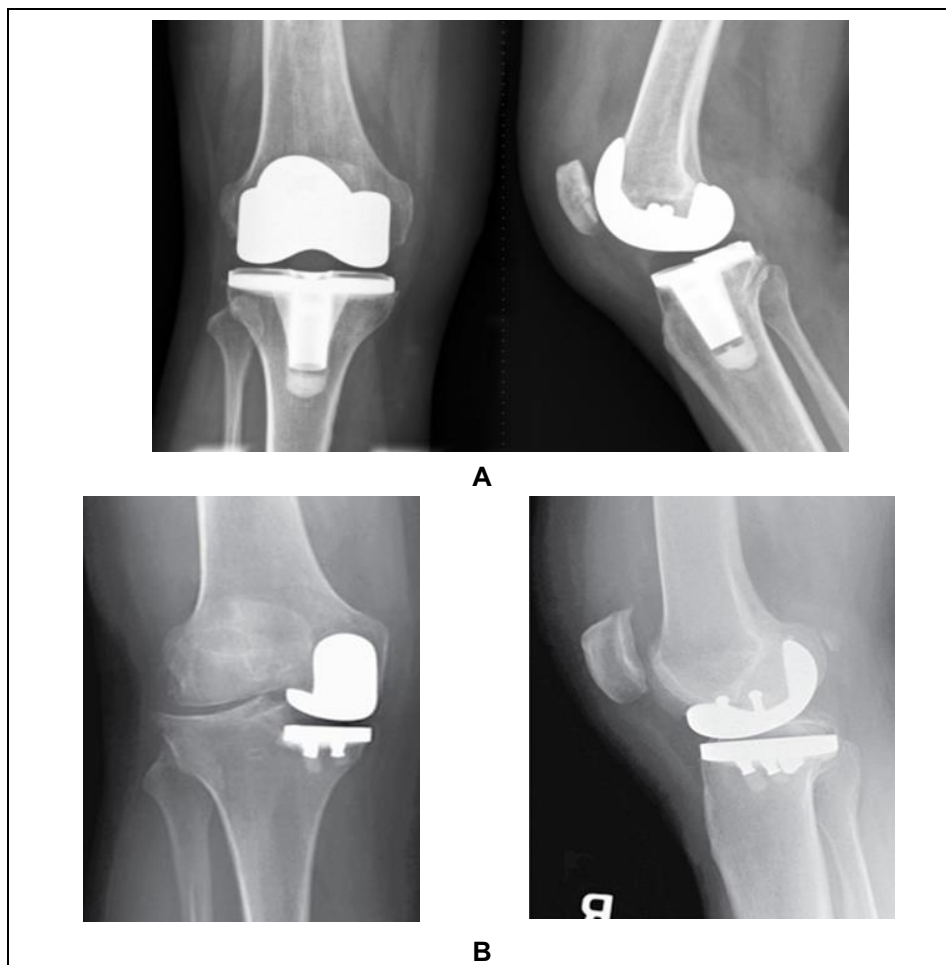
Fonte: Insall e Scott, 2015.

2.3 As artroplastias do joelho

A articulação do joelho comporta-se como uma dobradiça modificada, que pode ser dividida em três compartimentos: medial, lateral e femoropatelar. A artrose, do ponto de vista cirúrgico, envolve a perda da cartilagem, com estreitamento do espaço articular. A perda da cartilagem pode ser focal ou difusa, quando este processo está limitado a somente um compartimento é definido como artrose unicompartimental. A osteoartrose tricompartmental, por definição, envolve todos os três compartimentos.

- Artroplastia total do joelho (ATJ): substituição da articulação tibiofemoral, com ou sem componente patelar (FIGURA 3A).
- Artroplastia unicompartimental do joelho (AUJ): forma de artroplastia parcial; substituição do compartimento medial ou lateral ou patelofemoral (FIGURA 3B).

Figura 3 – Artroplastia total e artroplastia unicompartimental do joelho



Legenda: A: A artroplastia total do joelho.

B: Artroplastia unicompartimental do joelho.

Fonte: Insall e Scott, 2015.

A artroplastia unicompartmental do joelho tem a vantagem de ser uma cirurgia menos invasiva, permitindo recuperação mais rápida. Além disso, os pacientes relatam sensação mais natural em relação aos joelhos, porque a cinemática da articulação é menos alterada quando comparada à prótese total. A AUJ é uma opção cirúrgica no paciente, com artrose restrita aos compartimentos medial ou lateral do joelho. A ATJ é o tratamento de escolha, quando a degeneração articular envolve mais de um compartimento. O objetivo desses procedimentos é alívio da dor, melhora da função e da qualidade de vida.

A infecção periprotética é uma complicação desafiadora, sendo considerada a principal causa de falha e necessidade de nova cirurgia. Sua incidência varia entre 1% e 2%. A complexidade e duração do tratamento geralmente impõem custos físicos, emocionais e financeiros para o paciente e o médico (16,17). Em face à prevalência crescente das artroplastias, esforços estão voltados para a prevenção das infecções periprotéticas. Sua prevenção se baseia na melhoria da resposta do hospedeiro, otimização do ambiente da ferida e redução da contaminação bacteriana nos períodos pré, intra e pós-operatórios (18-20).

Outro mecanismo de falha conhecido da AUJ é a progressão da OA, nos compartimentos não substituídos, levando à necessidade de reoperação (31,32). Em se tratando da ATJ sem substituição patelar, a degeneração progressiva da patela pode ser causa de dor anterior no joelho e necessidade de revisão para inserção do componente patelar, que pode ocorrer em até 10% dos pacientes. Não há consenso na literatura em relação à substituição da patela, os contrários ao procedimento afirmam que a patela nativa proporciona melhor posicionamento e melhora da função, evitando complicações relacionadas ao implante. Os defensores da substituição argumentam que os pacientes têm menos dor e maior satisfação, sendo evitada a substituição secundária (33,34).

2.4 O modelo experimental

No estudo da cartilagem articular, um modelo experimental que se aproxima dos humanos é o coelho, já tendo sido estudado, descrito e revisado. As técnicas cirúrgicas,

realizadas ao longo dos anos, incluem imobilizações, abordagens cirúrgicas com objetivo de desestabilização da articulação (secções ligamentares e meniscectomias) e injeção intra-articular de substâncias farmacológicas (35).

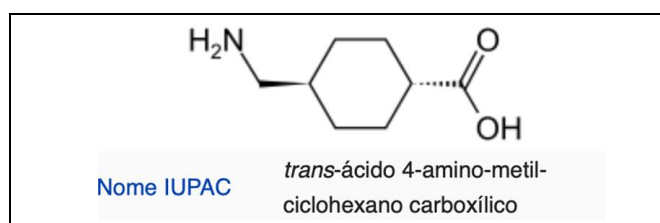
Com o avanço dos estudos, os modelos experimentais em coelhos estão sendo analisados por técnicas complementares como: tomografias microcodificadas (TCI), marcação morfológica e histológica (celularidade e proteoglicanos), imunohistoquímica (metaloproteinases) e microscopia eletrônica de varredura (36).

Assim, o modelo em coelhos é usado em intervenções terapêuticas e possui relevância clínica, representando um dos melhores modelos experimentais em pequenos animais (37, 38).

2.5 O ácido tranexâmico

O uso tópico intra-articular do ATX em cirurgias ortopédicas aumentou na última década. É evidente na literatura a sua ação na redução de perda sanguínea e consequente diminuição das taxas de hemotransfusão (7-10). O ATX é derivado sintético do aminoácido lisina com atividade antifibrinolítica, apresentando em sua fórmula o isômero trans do 4-amino-metil-ciclohexano carboxílico. Inibe os receptores de lisina na molécula de plasminogênio, impedindo a ativação da plasmina e assim, preservando a função da fibrina na formação do coágulo. Dessa forma, a sua função é inibir a ação fibrinolítica da plasmina, sendo capaz de reduzir o sangramento. Embora o uso intra-venoso do ATX seja considerado seguro, pode haver aumento nos fenômenos tromboembólicos, o que levou à disseminação da sua aplicação tópica (13). Sua meia vida é de 3 horas e, em até 12 horas, após a sua aplicação tópica, pode ser detectado na articulação. É excretado de forma inalterada pela urina em até 24 horas (FIGURA 4).

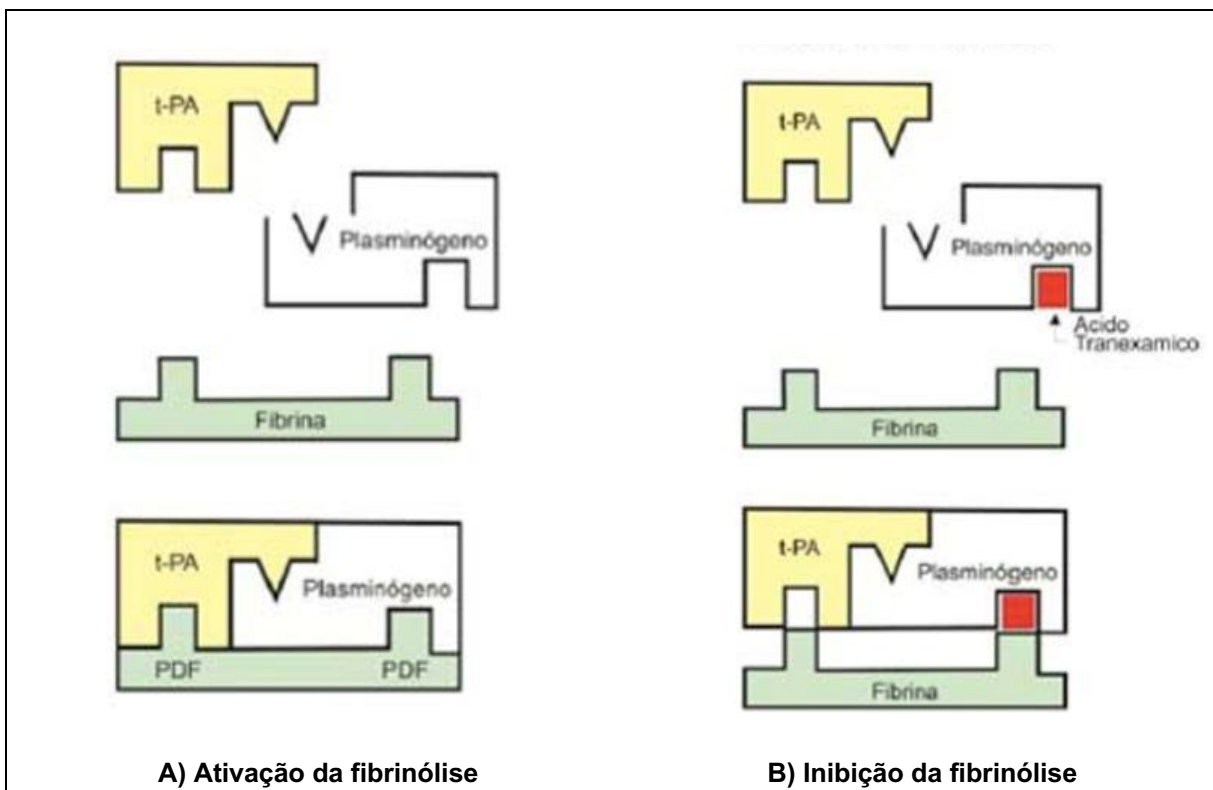
Figura 4 – Fórmula molecular do ácido tranexâmico



Fonte: Google, 2017.

Na Figura 5, em A, a ativação da fibrinólise: a ativação do plasminogênio pelo ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) resulta na formação da plasmina, que degrada a fibrina em produtos de degradação da fibrina (PDF). Em B, a inibição da fibrinólise: em presença de análogos de lisina (ácido tranexâmico), estes ocupam o sítio de ligação da lisina, impedindo a ligação da plasmina à fibrina. (39)

Figura 5 – Ativação da fibrinólise e inibição da fibrinólise



Fonte: Adaptado Santos et al., 2007.

2.6 A Povidona-iodo

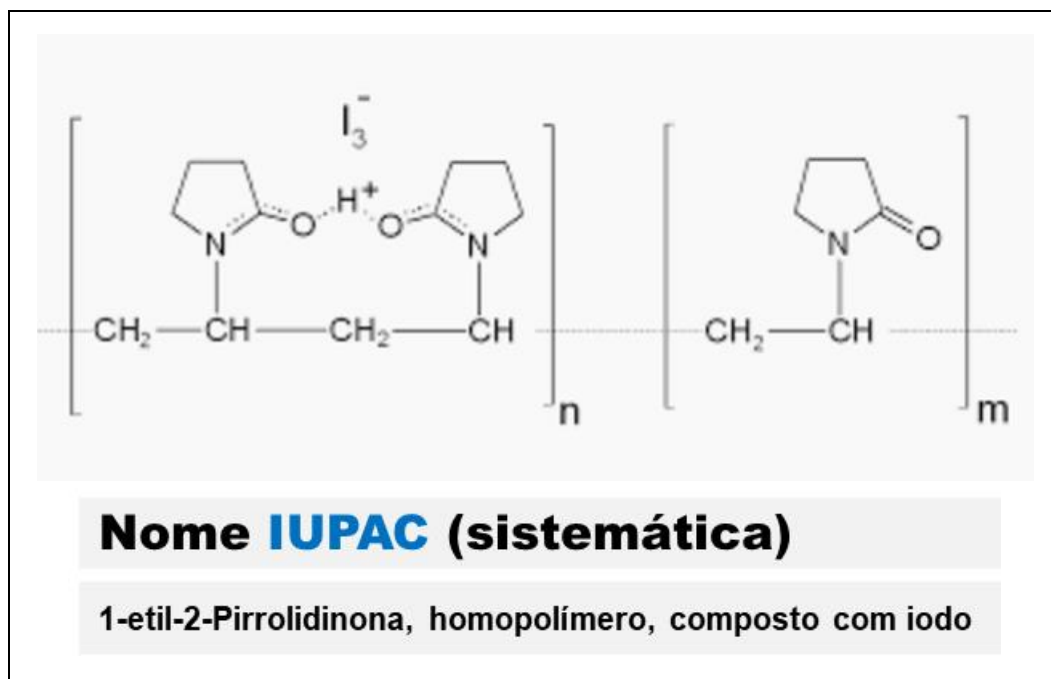
A Povidona-iodo (PVPI) é uma solução antisséptica composta por polivinilpirrolidona, água e iodo com ampla capacidade bactericida (FIGURA 6). A solução comercialmente conhecida da iodopovidona é Betadine e Povidine®. A povidona-iodo (substância ativa) é um iodóforo resultante da complexação do iodo com o polímero polivinil pirrolidona. Este complexo, chamado polivinil pirrolidona iodo, possibilita maior estabilidade e liberação gradual do iodo, desempenhando ação germicida sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e vírus. O mecanismo de ação da Iodopoli-

vidona (substância ativa) é semelhante ao do iodo, oxidando enzimas e proteínas essenciais ao metabolismo microbiano, bem como os ácidos graxos insaturados das membranas celulares destes microrganismos (40).

O iodo, ao entrar em contato com a água, se transforma no íon H_2OI^+ , que é responsável pela ação bactericida.



Figura 6 – Fórmula molecular Polivinil Pirrolidona Iodo



Fonte: Google, 2017

3 MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Delineamento

Trata-se de um estudo experimental em coelhos, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 381/2016 (ANEXO A).

3.2 Definição da amostra

O modelo experimental de escolha foi composto por coelhos machos, da raça Nova Zelândia, com menos de seis meses de vida e peso superior a 2.800 gramas. Foram utilizados 44 coelhos, obtidos na Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Todos foram identificados e alocados no Núcleo de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da UFMG. Foram respeitados os princípios éticos, preconizados para experimentação envolvendo animais, que incluem: um animal por gaiola forrada com maravalha; dieta composta por ração balanceada para coelhos e água filtrada *ad libitum*; armazenamento das gaiolas em estante ventilada, com aeração, temperatura e ciclo de luz controlados; os dejetos foram removidos diariamente, descartados em recipientes próprios, assim como troca da maravalha e higienização das gaiolas sempre que necessário; acesso à sala do biotério restrito aos pesquisadores e técnicos (FIGURA 7).

Figura 7 – Coelhos alocados para experimentação



Fonte: Elaborado pelo autor – Núcleo de Experimentação Animal da Fac. Medicina da UFMG, 2017.

3.3 Procedimento cirúrgico

3.3.1 Procedimento anestésico

Os coelhos foram anestesiados com injeção intramuscular na região proximal do membro inferior. Foram utilizados xilazina¹, 5-10 mg/kg e ketamina² 30-50 mg/kg de acordo com o protocolo de bioética³ (FIGURA 8). Cada coelho, sob anestesia, foi identificado na orelha direita com números de 1 a 44 para marcação. Após a anestesia todos os animais foram pesados (TABELA 5 - ANEXO B).

Figura 8 – Procedimento anestésico



Fonte: Elaborado pelo autor – Núcleo de Experimentação Animal da Fac. Medicina da UFMG, 2017.

3.3.2 Artrotomia

Procedeu-se tricotomia do membro traseiro direito e o animal foi posicionado em decúbito dorsal horizontal. O preparo do campo operatório incluiu degermação com solução de gluconato de clorexidina⁴ a 2%, seguida de antissepsia com solução alcoólica de clorexidina⁵ a 0,5%. Foi procedida uma via de acesso de aproximadamente cinco centímetros na face anterior do joelho direito e uma artrotomia parapatelar, para exposição das substâncias em estudo. Em seguida, realizou-se sutura por planos, fe-

¹ Calminum, Agener União, Brasil.

² Ketamina Agener 10%, Agener União, Brasil.

³ Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) (<https://www.ufmg.br/bioetica/ceua/informacoes-uteis/protocolos-anesteticos/>).

⁴ Riohex 2%, Rioquímica, Brasil.

⁵ Riohex 0,5%, Rioquímica, Brasil.

chando-se primeiro a cápsula articular com suturas simples com polyglactin 910 (Vicryl[®] 3-0), seguida da pele com pontos simples de nylon (Shalon[®], sutures) 2-0. Não se utilizou imobilização pós-operatória e os coelhos retornaram às gaiolas após o procedimento. A analgesia pós-operatória incluiu administração intramuscular de dipirona (5mg/Kg), com intervalo de oito horas, durante dois dias. Para prevenção de infecção pós-operatória utilizou-se cefazolina (12,5 mg/kg) subcutâneo, sendo dose única, 30 minutos antes do procedimento.

Procedeu-se a artrotomia parapatelar, pois essa é uma via de acesso cirúrgica utilizada nas artroplastias do joelho (FIGURA 9).

Figura 9 – Artrotomia cirúrgica



Legenda: 1: Tróclea femoral
2: Patela

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

3.3.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos animais que apresentaram lesão cartilaginosa macroscópica antes da exposição aos agentes estudados, infecção pós-operatória ou deiscência da ferida cirúrgica.

3.3.4 Eutanásia

Os animais foram sacrificados, de acordo com protocolos para pesquisa, com Ketamina 50,0 mg/kg e Xilazina 10,0 mg/kg, por via intraperitoneal, seguido pela administração de pentobarbital sódico, dose de 150 mg/kg, também por via intraperitoneal, 60 dias após a artrotomia. Procedeu-se a dissecação de tecidos moles e foram coletados o fêmur distal do joelho direito, incluindo a cartilagem articular e o osso subcondral, utilizando serra elétrica delicada, totalizando uma amostra por joelho. O material obtido foi imediatamente colocado em solução de Formalina a 10% e levado para o laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG.

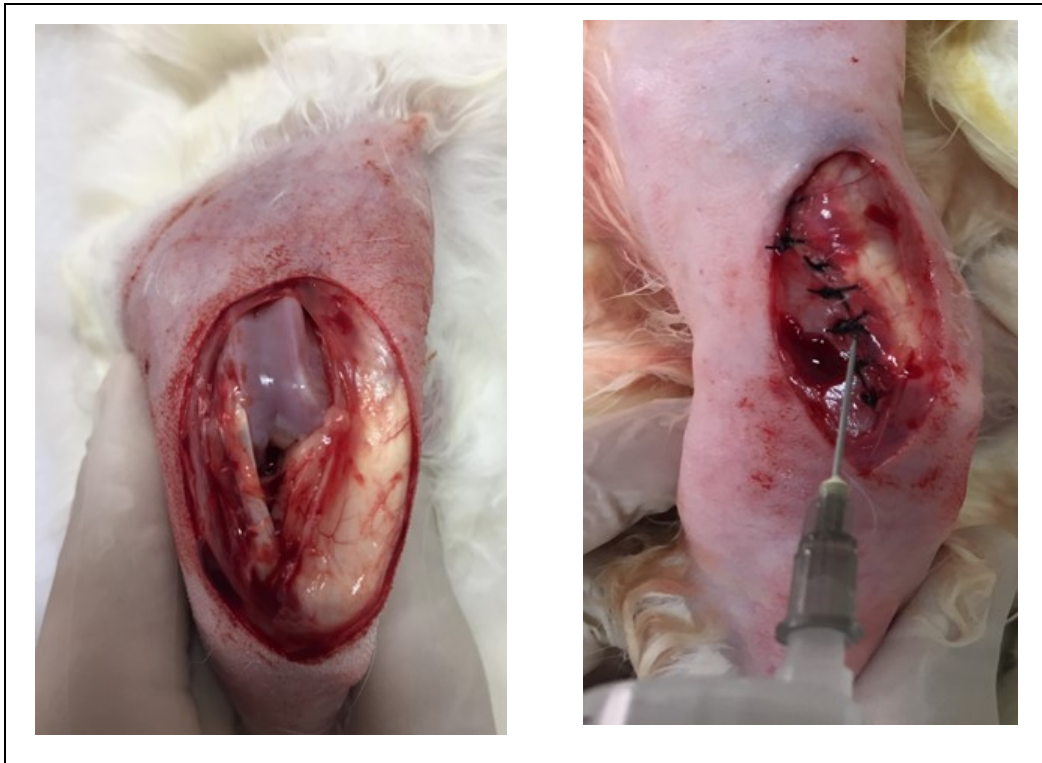
3.4 Definição dos grupos

Os 44 coelhos foram alocados em quatro grupos, sendo distribuídos 11 animais para três grupos teste e 11 animais fizeram parte do grupo controle:

- Grupo 1: foi procedida artrotomia, sendo a articulação lavada com 10 ml de soro fisiológico a 0,9% (SF 0,9%) e então fechada – grupo controle.
- Grupo 2: foi procedida a artrotomia, sendo imediatamente fechada. Após o fechamento da cápsula articular foi injetado 20mg ATX, por kg de peso, na concentração de 50mg/ml (Transamin 50mg/ml)⁶ (FIGURA 10).
- Grupo 3: foi procedida a artrotomia e o joelho foi exposto à solução tópica de PVPI a 0,35%, durante 3 minutos. Após esse período, a articulação foi lavada com SF 0,9 %, até que não houvesse mais PVPI tópico visível, e a articulação foi fechada por planos (FIGURA 11).
- Grupo 4: foi exposto primeiramente ao PVPI a 0,35%, durante 3 minutos, como mencionado anteriormente. Após esse período a articulação foi lavada com SF 0,9% e a cápsula articular fechada, sendo então injetado ATX 20mg/kg, como mencionado anteriormente (FIGURA 12).

⁶ Hipolabor Farmacêutica (Indústria Brasileira).

Figura 10 – Infiltração intra-articular de ácido tranexâmico



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Nota: Grupo 2.

Figura 11 – Exposição da superfície articular à solução de povidona-iodo



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Nota: Grupo 3.

Figura 12 – Infiltração intra-articular de ácido tranexâmico após PVPI



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Nota: Grupo 4.

3.5 Cálculo amostral

Neste trabalho, pretendeu-se comparar a celularidade, estrutura, coloração da matriz extra celular e integridade da linha de maré, pelo escore de Mankin *et al.* (41,43) (descrito no tópico análise histológica), da cartilagem articular do joelho de coelhos após a aplicação intra-articular das substâncias povidona-iodo (PVPI); ácido tranexâmico (ATX); associação de PVPI e ATX; e solução salina (grupo controle) por meio de artrotomia cirúrgica em todos os quatro grupos. Não foi possível assumir que a variável resposta seguisse distribuição normal; além disso, foram testados quatro grupos independentes com animais aleatoriamente selecionados. Foi aplicado teste não paramétrico para comparação de mais de dois grupos. Desta forma, o teste de Kruskal Wallis foi o indicado para avaliar a possibilidade de igualdade entre os tratamentos.

Para se calcular o tamanho amostral e o poder do teste para o experimento, utilizou-se o *software* PASS 15 *Power Analysis and Sample Size Software* (2017). O *software* possui rotina de simulação para o cálculo do tamanho de amostra e poder do teste específico para o teste Kruskal-Wallis.

Os parâmetros utilizados para calcular o tamanho amostral foram: erro do tipo I (alfa) igual a 0,05, poder do teste igual a 0,80 e número de grupos igual a quatro. Como

resultado, obteve-se o tamanho amostral de 11 coelhos, em cada grupo, para os parâmetros definidos.

O erro do tipo I, igual a 0,05, significa que se rejeitará a hipótese de igualdade dos grupos 5% das vezes, dado que ele é verdadeiro. Já o poder do teste igual a 0,80 significa que para 80% das amostras testadas, o teste de Kruskal Wallis rejeitaria a hipótese nula de igualdade entre os tratamentos, se realmente não forem iguais.

Os parâmetros adotados para o teste ($\alpha=0,05$ e poder do teste=0,8) são valores comuns na literatura. Portanto, considerou-se que a amostra de 44 coelhos foi suficiente para a aplicação do teste em questão e produziu resultados com significância estatística. As Figuras 13 e 14 apresentam o cálculo amostral.

Figura 13 – Cálculo amostral (A)

Multiple Comparisons of Treatments vs. a Control (Simulation)												
Summary of Simulations of the Control Group and the 3 Treatment Groups												
MC Procedure: Kruskal-Wallis Test												
Sim. No.	Any-Pairs Power	Group Smp. Size n	Total Smp. Size N	All-Pairs Power	S.D. of Means Sm H1	S.D. of Data SD H1	Actual FWER	Target FWER	M0	M1	S	
1	0,836 (0,016)	11,0 [0,820 0,852]	44 (0,020)	0,299 (0,278 0,319)	0,4 (0,119 0,150)	1,0 (0,014)	0,150 [0,104 0,133]	0,0	1,0	1,0		
Pool Size: 10000. Simulations: 2000. Run Time: 1,77 seconds.												
Summary of Simulations Report Definitions												
H0: the null hypothesis that each treatment mean is equal to the control mean.												
H1: the alternative hypothesis that at least one treatment mean differs from the control mean.												
Pair: each comparison of a treatment mean and a control mean is a 'pair'.												
All-Pairs Power: the estimated probability of detecting all unequal pairs.												
Any-Pairs Power: the estimated probability of detecting at least one unequal pair.												
n: the average of the group sample sizes.												
N: the combined sample size of all groups.												
Family-Wise Error Rate (FWER): the probability of detecting at least one equal pair assuming H0.												
Target FWER: the user-specified FWE.												
Actual FWER: the FWER estimated by the alpha simulation.												
Sm H1: the standard deviation of the group means under H1.												
SD H1: the pooled, within-group standard deviation under H1.												
Second Row: provides the precision and a confidence interval based on the size of the simulation for Any-Pairs Power, All-Pairs Power, and FWER. The format is (Precision) [95% LCL and UCL Alpha].												

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Figura 14 – Cálculo amostral (B)

Multiple Comparisons of Treatments vs. a Control (Simulation)

Error-Rate Summary from H0 (Alpha) Simulation of 4 Groups
MC Procedure: Kruskal-Wallis Test

Sim. No.	No. of Pairs	Mean No. of Type-1 Errors	Prop. Type-1 Errors > 0	Prop. (No. of Type-1 Errors > 0) FWER	Target FWER	Mean Pairs Alpha	Min Pairs Alpha	Max Pairs Alpha
1	3	0,140	0,047	0,119	0,150	0,047	0,043	0,053

Alpha Error-Rate Report Definitions
 Pair: the control group and one treatment group.
 Type-1 Error: rejecting the hypothesis that the pair have equal means when the means are equal.
 Family: the set of all pairs (see 'Pairs' above).
 Sim. No.: short for simulation, or row, number.
 Prop.: short for 'Proportion'.
 No. of Equal Pairs: since under H0, all means are equal, this is the number of unique pairs of the groups.
 Mean No. of Type-1 Errors: the average number of type-1 errors per set (family).
 Prop. (No...) Alpha: (FWER) probability of falsely detecting at least one pair under H0.
 Target FWER: the specified (user-specified) value of the Alpha (FWER).
 FWER: family-wise error rate. The family consists of all possible pairs.
 Mean Pairs Alpha: the average of the all individual comparison alphas.
 Min Pairs Alpha: the minimum of the all individual comparison alphas.
 Max Pairs Alpha: the maximum of the all individual comparison alphas.

References
 Devroye, Luc. 1986. Non-Uniform Random Variate Generation. Springer-Verlag. New York.
 Hsu, Jason. 1996. Multiple Comparisons: Theory and Methods. Chapman & Hall. London.
 Kirk, Roger E. 1982. Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences. Brooks/Cole. Pacific Grove, California.
 Matsumoto, M. and Nishimura, T. 1998. 'Mersenne twister: A 623-dimensionally equidistributed uniform pseudorandom number generator.' ACM Trans. On Modeling and Computer Simulations.
 Mukerjee, H., Robertson, T., and Wright, F.T. 1987. 'Comparison of Several Treatments With a Control Using Multiple Contrasts.' Journal of the American Statistical Association, Volume 82, No. 399, pages 902-910.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

3.6 Análise histopatológica

Os fragmentos osteocondrais, obtidos do fêmur distal, foram colocados em solução aquosa de Formalina a 10%, durante 24 horas, para fixação das peças. Após 24 horas de fixação, as amostras de tecido foram descalcificadas por sete dias em solução de descalcificação de Ácido Etilenodiaminotetraacético 20% (EDTA) (FIGURAS 16 a 18). Em seguida ao processo de descalcificação, as amostras de tecido foram desidratadas em uma série graduada de etanol, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em espessura de 7µm e colocados em lâminas de vidro, coradas com hematoxilina-eosina (HE) e Azul de Toluidina (AT) para exame histológico. Os cortes foram analisados e fotografados com microscopia de luz para a estrutura histomorfológica, após escaneamento das lâminas – Escaneador Húngaro da 3D Histech Pannoramie MIDI (FIGURA 15).

Figura 15 – Processo de escaneamento das lâminas histológicas



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Nota: Para posterior análise e fotografias no laboratório de anatomia patológica da UFMG.

Na análise histológica utilizou-se aumento de cem vezes. Para se obter padronização, as análises foram feitas em paralelo às colunas de células da cartilagem da área de carga do côndilo femoral medial. Todas as secções foram avaliadas por dois histopatologistas, sem conhecimento dos grupos, de acordo com o Sistema de Gradação Histológica/Histoquímica (*Histological-Histochemical Grading System – HHGS*), de

Mankin (41-46), (TABELA 1). Os pontos obtidos no escore de Mankin, para cada fragmento osteocondral, foram inseridos em tabela e utilizados para análise estatística e comparação entre os grupos testes e controle (TABELA 4 – ANEXO B).

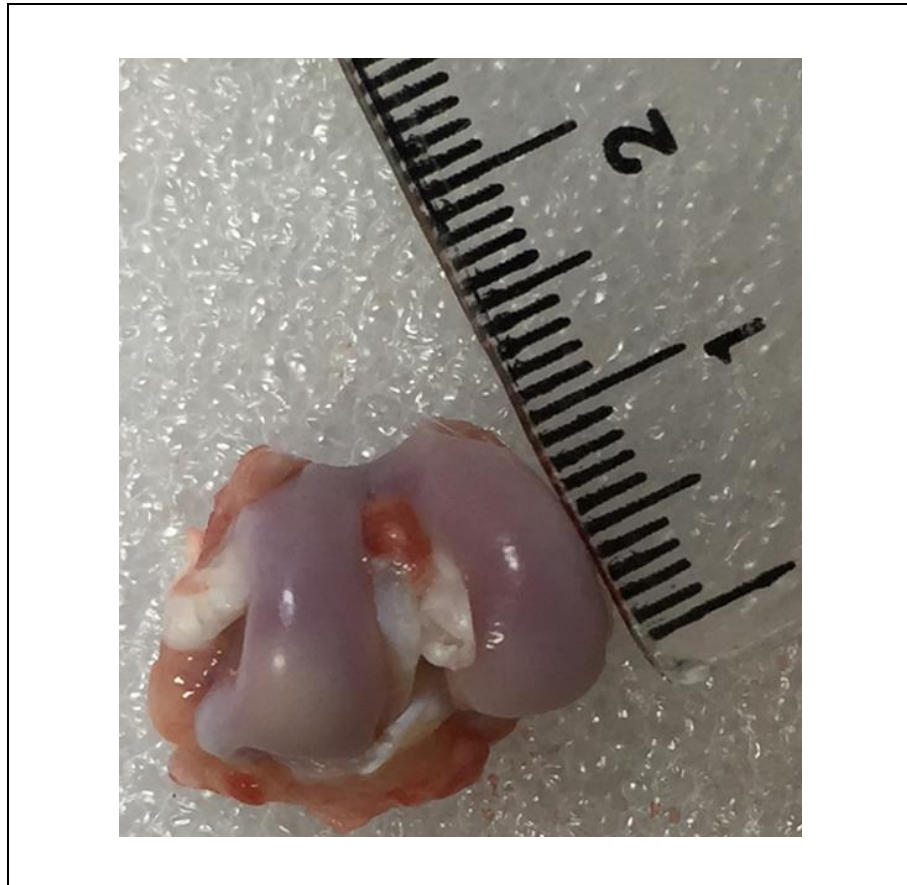
Tabela 1 – Sistema de Graduação Histológica/Histoquímica de Mankin

Seções avaliadas	Pontuação
1. Estrutura	
- Normal	0
- Irregularidades da superfície	1
- Irregularidades da superfície e do <i>pannus</i>	2
- Fissuras na zona de transição	3
- Fissuras na zona radial	4
- Fissuras na zona calcificada	5
- Desorganização completa	6
2. Células	
- Normal	0
- Hiper celularidade difusa	1
- Clonagem	2
- Hipocelularidade	3
3. Coloração com Azul de Toluidina	
- Normal	0
- Redução leve	1
- Redução moderada	2
- Redução grave	3
- Sem corante observado	4
4. Integridade da linha de maré	
- Intacta	0
- Atravessada por vasos sanguíneos	1

Fonte: MANKIN, 1971.

O HHGS de Mankin considera a estrutura da cartilagem, a celularidade, a distribuição do azul de toluidina (representa o conteúdo de glicosaminoglicanos na matrix extracelular) e a integridade da linha de maré.

Figura 16 – Fêmur distal após dissecação dos tecidos moles



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Figura 17 – Preparação do fragmento do fêmur distal



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Nota: A fotografia representa o processo de fixação em Formalina 10%.

Figura 18 – Fragmentos osteocondrais devidamente identificados



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Nota: A fotografia representa o processo de descalcificação em EDTA 20%.

3.7 Análise estatística

Para comparar a relação entre as variáveis quantitativas ou qualitativas ordinais e os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e, na comparação múltipla, foi utilizado o teste de Nemenyi (47). Já na comparação entre as variáveis qualitativas e os grupos foi utilizado de teste Exato de Fisher (48). O *software* utilizado nas análises foi o R (versão 3.5.1).

4 RESULTADOS

O modelo experimental foi composto por 44 coelhos machos, da raça Nova Zelândia, com menos de seis meses de vida e peso superior a 2.800 gramas, divididos em quatro grupos experimentais, sendo 11 animais por grupo, como descrito previamente, para avaliação dos efeitos do uso tópico intra-articular do ATX, PVPI e PVPI + ATX na cartilagem articular.

No grupo do ATX + PVPI um animal foi excluído do estudo por deiscência da sutura. No grupo controle e no grupo do PVPI um animal evoluiu para óbito. Os animais não foram substituídos, uma vez que no cálculo da amostra considerou-se a possibilidade de perda de um animal por grupo.

Os fragmentos osteocondrais obtidos do côndilo femoral medial, na área de carga, foram preparados para corte histológico e avaliados de acordo com o HHGS de Mankin (41-46). Os pontos obtidos no escore de Mankin, para cada fragmento osteocondral, foram inseridos na Tabela 4 e utilizados para análise estatística e comparação entre os grupos testes e controle (ANEXO B).

4.1 Análise estatística

Pode-se destacar em relação aos resultados (Tabela 2):

- Estrutura: houve diferença significativa (valor-p=0,008) entre a estrutura e os Grupos. Pelo teste de comparação múltipla o grupo 4 apresentou maior alteração estrutural que o Grupo Controle (valor-p=0,039) e que o grupo 2 (valor-p=0,033). O Grupo 4 apresentou a maior média nas alterações estruturais, seguido pelo Grupo 3, enquanto que o Grupo Controle e o Grupo 2 não apresentaram alterações.
- Celularidade: houve diferença significativa (valor-p<0,001) entre a celularidade e os grupos. Pelo teste de comparação múltipla o Grupo Controle e o Grupo 2 apresentaram alterações celulares significativamente menores que os Grupos 3 (valor-p igual a 0,005 e 0,004 respectivamente) e 4 (valor-p igual a 0,002 e 0,001 respectivamente). O Grupo Controle e o Grupo 2 não apresentaram alterações celulares, enquanto que a maior média foi do Grupo 4, seguido pelo Grupo 3.

- Conteúdo de glicosaminoglicanos na matriz extracelular (intensidade da coloração ao Azul de Toluidina): houve diferença significativa (valor- $p < 0,001$) entre a coloração com Azul de Toluidina e os grupos. Pelo teste de comparação múltipla o Grupo Controle apresentou alteração na coloração significativamente menor que os Grupos 2 (valor- $p = 0,031$), o 3 (valor- $p = 0,001$) e o 4 (valor- $p < 0,001$). O Grupo 4 obteve a maior média de alterações na coloração, seguido pelos Grupos 3 e 2. O controle não apresentou alteração na coloração.
- Escore total: houve diferença significativa (valor- $p < 0,001$) no escore total. Pelo teste de comparação múltipla o Grupo Controle apresentou o escore total significativamente menor que os Grupos 3 (valor- $p < 0,001$) e 4 (valor- $p < 0,001$). Além disso, o Grupo 2 apresentou o escore total significativamente menor (valor- $p = 0,010$) que o grupo 4. A média do escore total do Grupo Controle foi 0,00, no Grupo 2 foi de 1,55, no Grupo 3 a média de foi 4,90, enquanto que no Grupo 4 foi de 6,20.

Na Tabela 2 a análise das variáveis quantitativas e qualitativas ordinais dos grupos.

Tabela 2 – Comparação entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos

Variáveis	Grupo ¹	Média	E.P.	Valor-p ²	Comparação Múltipla (Valor-p ³)		
					Controle	2	3
Estrutura	Controle	0,00	0,00	0,008	-	-	-
	2	0,00	0,00		1,000	-	-
	3	0,30	0,15		0,499	0,478	-
	4	1,00	0,39		0,039	0,033	0,609
Células	Controle	0,00	0,00	<0,001	-	-	-
	2	0,00	0,00		1,000	-	-
	3	1,90	0,38		0,005	0,004	-
	4	2,40	0,40		0,002	0,001	0,996
Azul de Toluidina	Controle	0,00	0,00	<0,001	-	-	-
	2	1,55	0,16		0,031	-	-
	3	2,10	0,28		0,001	0,668	-
	4	2,50	0,17		<0,001	0,208	0,863
Escore total	Controle	0,00	0,00	<0,001	-	-	-
	2	1,55	0,16		0,205	-	-
	3	4,90	0,59		<0,001	0,150	-
	4	6,20	0,44		<0,001	0,010	0,781

Legenda: ¹Grupos: 2: Ácido tranexâmico; 3: PVPI – Povidona-Iodo e 4: PVPI + Ácido tranexâmico

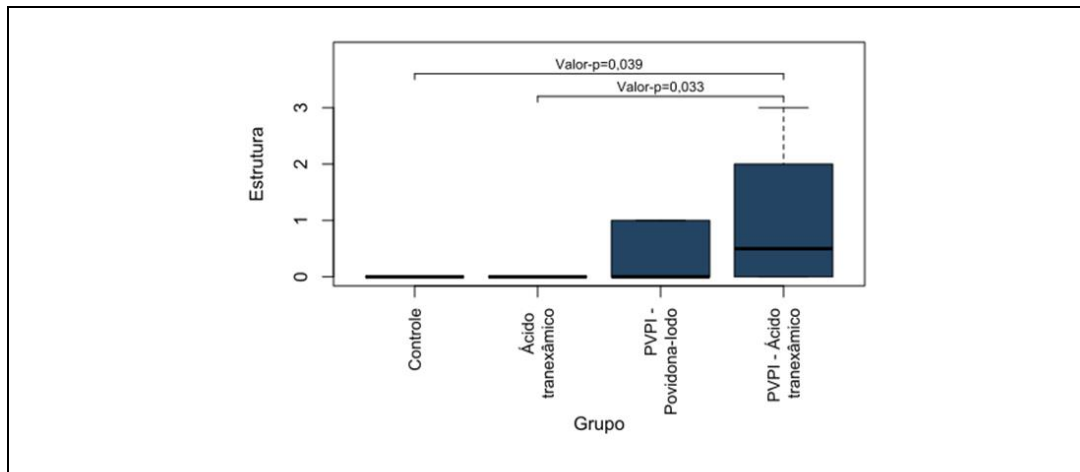
²Teste de Kruskal-Wallis;

³Teste de Nemenyi.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

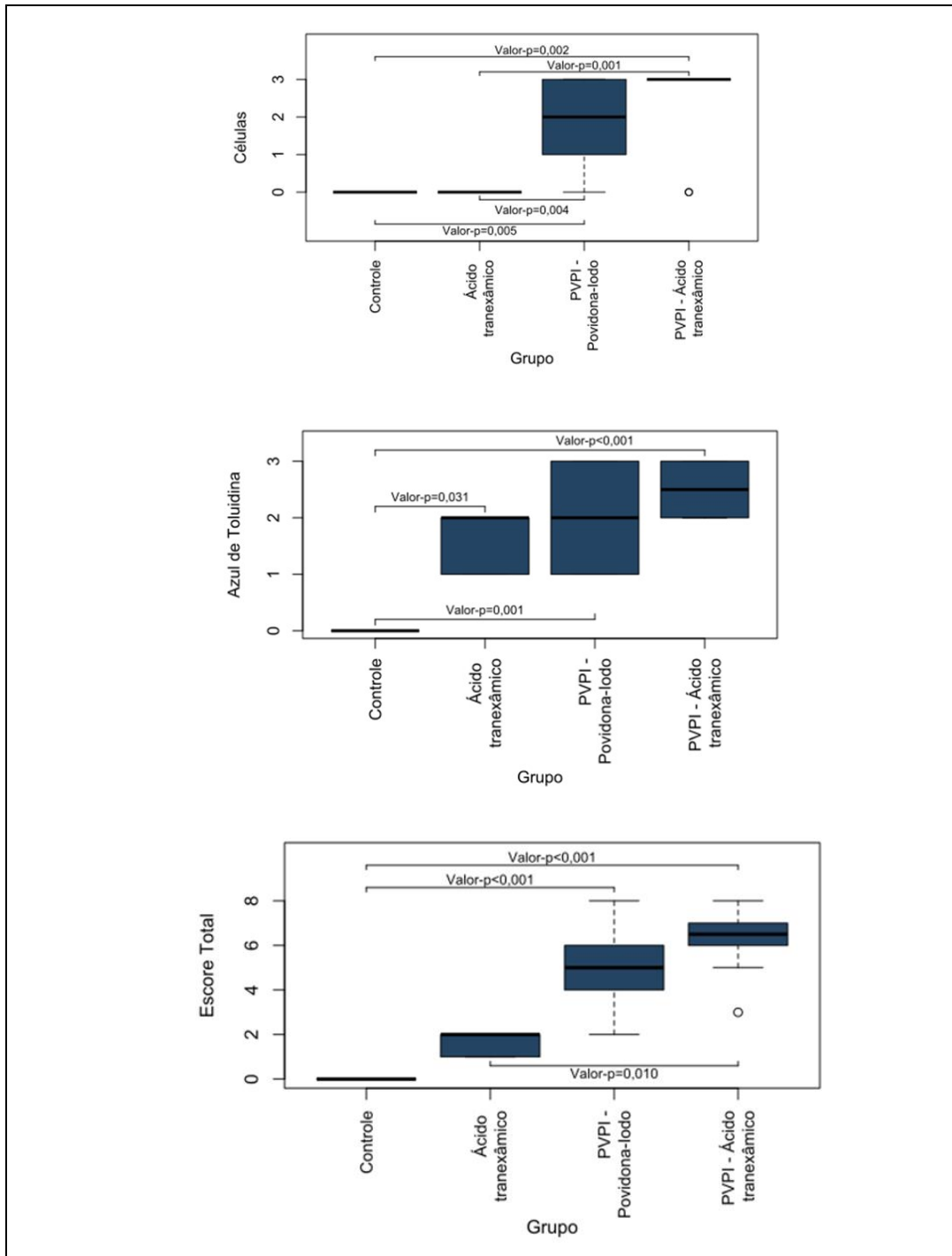
As Figuras 19a e 19b ilustram os resultados apresentados na Tabela 2.

Figura 19a – Boxplot entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Figura 19b – Boxplot entre as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais e os grupos



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Na Tabela 3 e no Gráfico 1 são apresentadas as comparações entre a integridade da linha de maré e os grupos. Observa-se que houve diferença significativa (valor-p=0,001) entre a integridade da linha de maré e os grupos, sendo que pelo teste de comparação múltipla, o grupo 3 apresentou maior proporção de ocorrência da linha de maré atravessada por vasos sanguíneos, alcançando significância estatística em

relação ao controle (valor-p=0,011) e em relação ao grupo 2 (valor-p=0,004). No grupo controle e no grupo 2 não se observou vasos sanguíneos atravessando a linha de maré.

Tabela 3 – Comparação entre a integridade da linha de maré e os grupos

Grupo\Integridade da linha de maré	Intacta		Atravessada por vasos sanguíneos		Valor-p ²	Comparação Múltipla (Valor-p ²)		
	N	%	N	%		Controle	2	3
Controle	10	100	0	0	0,001	-	-	-
2	11	100	0	0		-	-	-
3	4	40	6	60		0,011	0,004	-
4	7	70	3	30		0,211	0,090	0,370

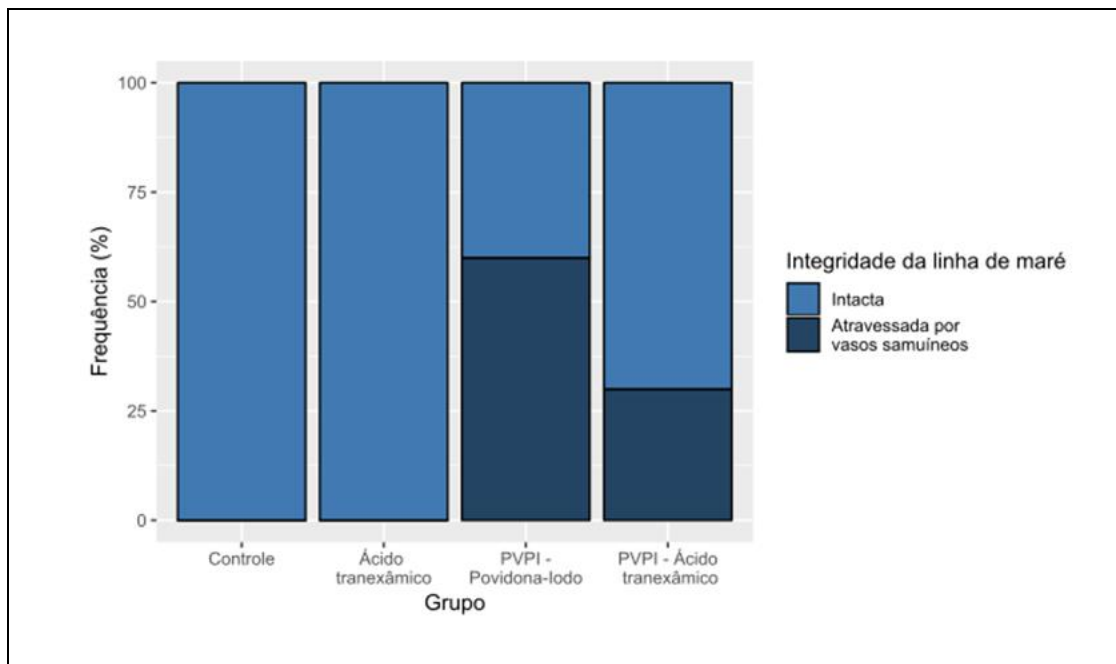
Legenda: ¹Grupos:

- 2: Ácido tranexâmico
- 3: PVPI – Povidona-Iodo
- 4: PVPI – Ácido tranexâmico

²Teste Exato de Fisher.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

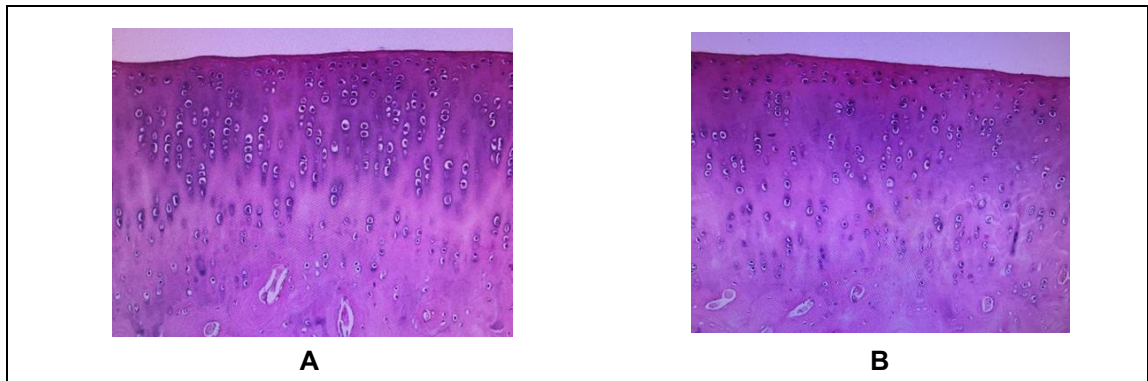
Gráfico 1 – Integridade da linha de maré entre os grupos.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

As Figuras 20 a 23 apresentam ilustrações das análises histológicas.

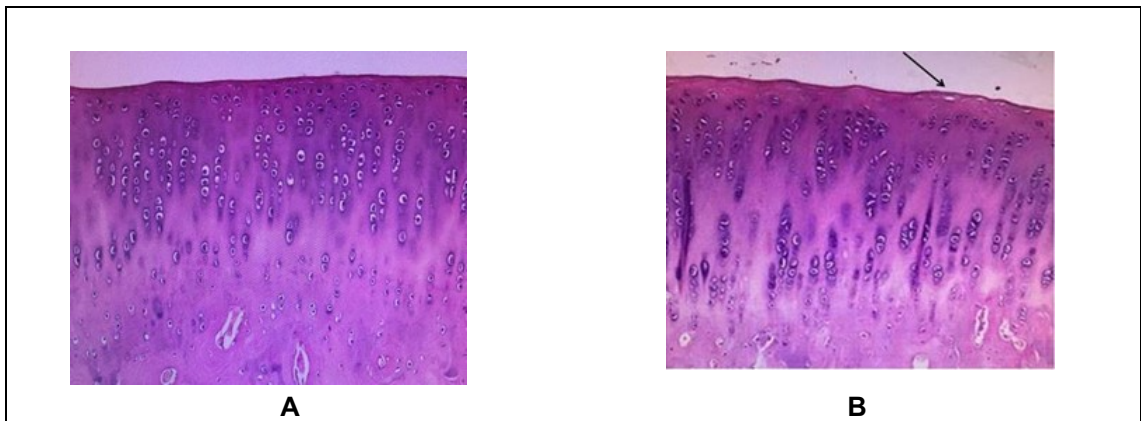
Figura 20 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva(a)



Legenda: A: Corte de um animal do grupo controle – celularidade normal
B: Animal do grupo PVPI + ATX – hipocelularidade

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

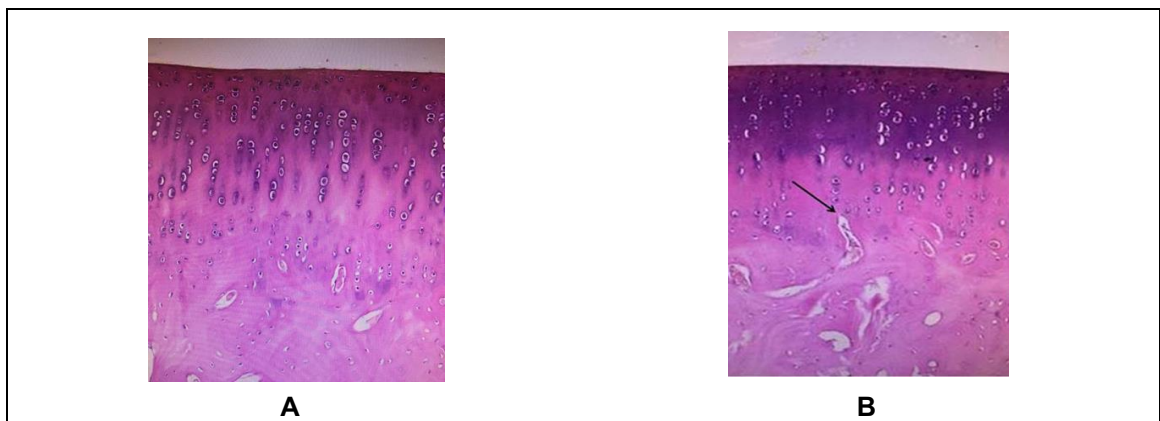
Figura 21 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva (b)



Legenda: A: Corte de um animal do grupo controle – estrutura normal da cartilagem.
B: Animal do grupo PVPI + ATX – irregularidades na superfície articular (seta).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

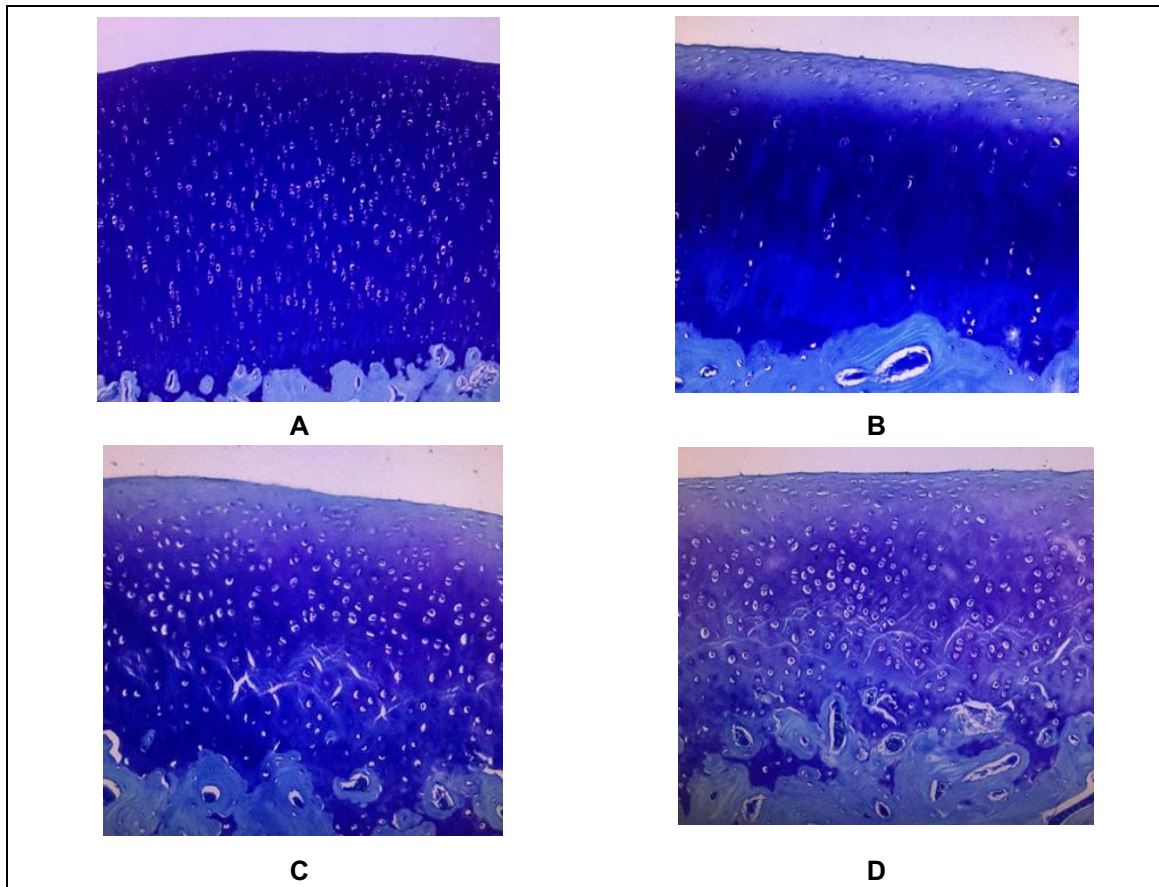
Figura 22 – Cortes histológicos corados por hemtomoxilina/eosina ampliação 10x objetiva (c)



Legenda: A: Animal do grupo ATX – linha de maré intacta.
B: Animal do grupo PVPI + ATX – a linha de maré atravessada por vaso sanguíneo (seta).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Figura 23 – Cortes histológicos corados por azul de toluidina (AT) ampliação 10x objetiva (d)



Legenda: A: Corte do grupo controle – coloração normal do AT.

B: Lâmina do grupo ATX – redução leve da intensidade da coloração do AT.

C: Lâmina do grupo PVPI – redução moderada da coloração AT.

D: Lâmina do grupo PVPI + ATX – redução grave da intensidade da coloração AT.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

5 DISCUSSÃO

A prevenção da infecção e do sangramento pós-operatório é relevante nas artroplastias do joelho, pois essas complicações aumentam a morbidade e trazem prejuízos funcionais (17). Ao mesmo tempo, a proteção dos compartimentos não protetizados é essencial para reduzir a progressão da OA. Estudos já demonstraram relação entre osteoartrose e danos aos condrócitos e à matriz extracelular (4-6).

Os resultados neste estudo demonstraram que o uso tópico intra-articular do ácido tranexâmico 20mg/kg, na concentração de 50mg/ml, após o fechamento da cápsula articular e a exposição à povidona-iodo 0,35%, durante 3 minutos, são tóxicos para a cartilagem articular em um estudo experimental *in vivo* em joelho de coelhos. Além disso, ficou claro no experimento que o uso sequencial destas substâncias apresenta maior toxicidade para a cartilagem articular.

Pressupõe-se, então, que a toxicidade dessas substâncias pode impactar negativamente na sobrevida das artroplastias parciais do joelho e nas artroplastias totais quando não ocorrer a substituição da patela, devido à progressão acelerada da osteoartrose nos compartimentos não substituídos.

Na literatura, a dose tópica efetiva do ATX nas artroplastias varia entre 250 mg a 3 gramas e a concentração entre 15 a 100 mg/ml (49-51). Diversas formas de aplicação tópica foram descritas, dentre elas a lavagem intra-operatória, infusão por meio do dreno cirúrgico e a aplicação intra-articular após o fechamento do retináculo (52). Na instituição do estudo é utilizada a dose de 20mg de ATX, por kg de peso, na concentração de 50mg/ml. Logo, essa foi a dose e a concentração utilizada, por via intra-articular após o fechamento retinacular.

A irrigação intra-articular per-operatória de solução de PVPI, utilizada neste estudo, seguiu o mesmo protocolo descrito por Brown *et al.* no qual 17,5 ml de PVPI a 10% é diluído em 500 ml de SF 0,9%, obtendo a concentração de 0,35% e deixada em contato com a articulação por três minutos, seguido de irrigação com SF 0,9% (18).

Tuttle *et al.* (14) avaliaram os efeitos do uso tópico do ATX em um estudo *in vitro* de cultura de condrócitos de roedores e de fragmentos osteocondrais de bovinos. Os fragmentos osteocondrais bovinos demonstraram redução do conteúdo de glicosaminoglicanos, quando expostos ao ATX na concentração de 100mg/ml por 8, 24 e 48 horas. Em relação à citotoxicidade, a cultura de condrócitos de roedores demonstrou morte celular importante quando expostos ao ATX nas concentrações de 50mg/ml e 100mg/ml, com viabilidade celular de 6,8% em 24 horas de exposição ao ATX 50mg/ml e morte completa dos condrócitos em 48 horas de exposição em ambas as concentrações. Ao comparar viabilidade celular dos fragmentos osteocondrais bovinos à viabilidade celular da cultura de condrócitos de roedores, expostos ao ATX na concentração de 100mg/ml, verificou-se maior sobrevivência dos condrócitos nos fragmentos osteocondrais bovinos em 24 e 48 horas de exposição, essa diferença foi atribuída ao efeito protetor da matriz extracelular nos fragmentos osteocondrais bovinos. Os dados acima reforçam os resultados do presente estudo que mostrou redução no conteúdo de glicosaminoglicanos no grupo exposto ao ATX em relação ao controle ($p=0,031$). Em relação à celularidade e a estrutura da cartilagem, no presente estudo, não se observou diferença estatística entre o grupo exposto ao ATX e o controle. Atribui-se esse resultado ao fato de a matriz extracelular da cartilagem, no modelo *in vivo*, ter efeito protetor sobre os condrócitos, sendo possível que atue como um tampão, dificultando a penetração do ATX e reduzindo efetivamente sua concentração junto aos condrócitos. Isso foi demonstrado ao comparar o grupo exposto ao ATX ao grupo exposto ao ATX + PVPI, observando-se menor celularidade e mais alterações estruturais nesse último grupo ($p=0,001$ e $0,033$ respectivamente). Atribui-se esse resultado ao efeito citotóxico da exposição inicial da cartilagem ao PVPI, que reduziu o efeito protetor da matriz extracelular e dessa forma permitiu maior exposição dos condrócitos ao ATX e conseqüente maior dano celular.

Parker *et al.* (15) avaliaram os efeitos do uso tópico do ácido tranexâmico, em estudo *in vitro* de cultura de condrócitos humanos e demonstraram efeitos tóxicos do ATX em concentrações maiores que 20mg/ml. Segundo estes autores a condrotoxicidade ocorreu por meio da atipia e morte celulares, redução da atividade metabólica e da adesão celular. Consideraram ainda que a matriz extracelular, pela análise do conteúdo de glicosaminoglicanos, não foi afetada pelo ATX em modelo *in vitro*, porém, o

tempo de exposição à substância pode ser considerado curto (seis horas) e os condrócitos obtidos pela cultura não sofrem diferenciação suficiente para produção de altos níveis de glicosaminoglicanos.

McLean *et al.* (52) avaliaram os efeitos do ATX nos tecidos peri-articulares humanos em um estudo *in vitro*. Foi demonstrado que o ATX nas concentrações de 50mg/ml e 100mg/ml é tóxico para a cartilagem, para o tecido sinovial e para os tendões após quatro horas de exposição. Por se tratar de um experimento *in vitro* este estudo, assim como o de Parker *et al.* (15), têm como limitação o fato de o espaço articular ser um ambiente dinâmico em que o ATX tópico pode ter a sua concentração reduzida pelo sangramento pós-operatório, e que células inflamatórias e plaquetas podem ter papel no clearance do ATX, o que não ocorre em condições *in vitro*. O presente estudo, ao avaliar os efeitos *in vivo* do ATX, demonstrou toxicidade através de alterações somente no conteúdo de glicosaminoglicanos. A celularidade e estrutura da cartilagem não foram afetadas, provavelmente pelos argumentos citados acima e pelo efeito protetor da matriz extracelular que ocorrem em condições *in vivo*. No presente estudo foram coletadas amostras de tecido sinovial peri-articular que serão analisados em pesquisa futura.

Ambra *et al.* (53), em estudo *in vitro* em cartilagem de porcos, avaliaram os efeitos do ATX nas concentrações entre 1 e 4 mg/ml em até seis horas de exposição e demonstraram que não ocorreu citotoxicidade após a exposição. No entanto, a dose do ATX foi menor que a dose utilizada clinicamente. No presente estudo procurou-se utilizar a dose preconizada pela literatura (49-51).

Arvind *et al.* (21) avaliaram os efeitos do uso tópico de PVPI, na cartilagem articular de fragmentos osteocondrais de bois, em modelos *in vitro* e demonstraram condrototoxicidade que aumentou de acordo com o tempo de exposição e a concentração da solução de PVPI. A exposição da cartilagem à solução de PVPI 0,35% reduziu a viabilidade celular para 90%, 80% e 65% após um, três e seis minutos de exposição respectivamente. Estes dados estão de acordo com o presente estudo, que demonstrou efeito condrotóxico do PVPI 0,35% após três minutos de exposição, com diferença estatística significativa ao ser comparado com o grupo controle.

Schaumburger *et al.* (23), em estudo utilizando cultura de condrócitos humanos, relataram que 1% de PVPI reduziu significativamente a vitalidade dos condrócitos medida por síntese de DNA, após cinco minutos de exposição. Katoaka *et al.* (22) demonstraram resultados semelhantes em modelos experimentais de ratos. O presente estudo reforça esses dados ao demonstrar efeitos tóxicos do PVPI 0,35% verificados por meio de alterações na matriz extracelular, condrócitos e na estrutura da cartilagem.

Considerando o escore total, observou-se que o uso do PVPI + ATX apresentou maior toxicidade para a cartilagem que o uso do ATX isoladamente ($p = 0,01$). No presente estudo existem indícios de que o uso do PVPI + ATX apresenta maior toxicidade para a cartilagem que o uso isolado do PVPI, apesar de não se alcançar significância estatística ($p=0,781$). Em relação ao grupo controle, o uso do PVPI + ATX foi o que apresentou a maior toxicidade ($p<0,001$).

O resultado do estudo tem como pontos positivos a avaliação dos efeitos do ATX e PVPI *in vivo*, o que permite estimar o que ocorre em condições pós-cirúrgicas, como diluição das substâncias pelo sangramento e o efeito das células inflamatórias e plaquetas no *clerance* dessas substâncias. Além disso, pelo que se consta, este é o primeiro estudo na literatura a avaliar os efeitos do uso sequencial dessas substâncias.

São consideradas limitações o fato de os animais permanecerem acondicionados nas gaiolas, durante todo o experimento, não representando as forças de carga total que a articulação suporta em estados normais; a espessura menor da cartilagem do coelho em relação à espessura da cartilagem humana, e a diferença entre o metabolismo do coelho e o humano. Além disso, a cartilagem articular dos animais não apresentava alterações degenerativas macroscópicas antes da exposição as substâncias. Em humanos, submetidos a artroplastia total e unicompartmental, os compartimentos não substituídos podem apresentar alterações degenerativas iniciais, que podem facilitar a penetração das substâncias na cartilagem e provocar maior toxicidade. O estudo demonstrou toxicidade das substâncias, mas isso não representa, necessariamente, desfechos clínicos para o paciente e estudos avaliando o acompanhamento clínico precoce e tardio, da exposição da cartilagem humana a essas substâncias, devem ser realizados a fim de compreender o potencial translacional desse estudo de ciência básica.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo experimental *in vivo* em joelho de coelhos demonstraram que o uso tópico intra-articular do ácido tranexâmico 20mg/kg, na concentração de 50mg/ml, após o fechamento da cápsula articular e a lavagem intra-operatória com solução de povidona-iodo 0,35%, durante três minutos, são tóxicos para a cartilagem articular.

O uso isolado do PVPI causa alterações na estrutura, celularidade e conteúdo de glicosaminoglicanos da cartilagem, enquanto que o uso isolado do ATX altera o conteúdo de glicosaminoglicanos. O uso sequencial do PVPI + ATX provoca alterações mais pronunciadas, tanto na matriz extracelular quanto na estrutura e na celularidade.

REFERÊNCIAS

1. American Joint Replacement Registry 2018 Annual Report.
2. Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry Annual Report 2017.
3. National Joint Registry Centre. National joint registry for England, Wales, Northern Ireland and Isle of Man, 15th Annual Report 2018.
4. Kuhn K, D'Lima DD, Hashimoto S, et al. Cell death in cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12: 1.
5. Blanco FJ, Guitian R, Vazquez-Martul E, et al. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 284.
6. Kim HA, Lee YJ, Seong SC, et al. Apoptotic chondrocyte death in human osteoarthritis. *J Rheumatol*, 2000, 27: 455
7. Konig G, Hamlin BR, Waters JH. Topical tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates in total hip and total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013; 28(9): 1473-1476.
8. Lee SH, Cho KY, Khurana S, Kim KI. Less blood loss under concomitant administration of tranexamic acid and indirect factor Xa inhibitor following total knee arthroplasty: a prospective randomized controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthro sc.* 2013; 21(11): 2611-2617.
9. Chimento GF, Huff T, Ochsner JL Jr, Meyer M, Brandner L, Babin S. An evaluation of the use of topical tranexamic acid in total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013; 28(8 suppl): 74-77.
10. Digas G, Koutsogiannis I, Meletiadis G et al: Intra-articular injection of tranexamic acid reduce blood loss in cemented total knee arthroplasty. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2015; 25(7): 1181-88
11. Xu S, Chen JY, Zheng, et al. The safest and most efficacious route of tranexamic acid administration in total joint arthroplasty. A systemic review and network meta-analysis. *Thrombosis Research*. 2019; 176: 61-66
12. Morrison JJ, Dubose JJ, Rasmussen TE, Midwinter MJ. Military Application of Tranexamic Acid in Trauma Emergency Resuscitation (MATTERs) study. *Arch Surg*. 2012; 147(2): 113-119.

13. Goyal N, Chen DB, Harris IA et al: Intravenous vs. intra-articular tranexamic acid in total knee arthroplasty: A randomized, double-blind trial. *J Arthroplasty*, 2017; 32(1): 28–32
14. Tuttle JR, Feltman PR, Ritterman SA, Ehrlich MG: Effects of tranexamic acid cytotoxicity on in vitro chondrocytes. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 2015; 44(12): E497–502
15. Parker JD, Lim KS, Kieser DC, Woodfield TBF, Hooper GJ. Is tranexamic acid toxic to articular cartilage when administered topically? *Bone Joint J*. 2018 Mar 1; 100-B(3): 404-412.
16. Husted H, Toftgaard Jensen T. Clinical outcome after treatment of infected primary total knee arthroplasty. *Acta Orthop Belg* 2002; 68: 500.
17. Mihalko WM, Manaswi A, Cui Q, et al. Diagnosis and treatment of the infected primary total knee arthroplasty. *Instr Course Lect* 2008; 57: 327.
18. Brown NM, Cipriano CA, Moric M, et al. Dilute betadine lavage before closure for the prevention of acute postoperative deep periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty* 2012; 27: 27.
19. Chundamala J, Wright JG. The efficacy and risks of using povidone–iodine irrigation to prevent surgical site infection: an evidence-based review. *Can J Surg* 2007; 50: 473.
20. Cheng MT, Chang MC, Wang ST, et al. Efficacy of dilute betadine solution irrigation in the prevention of postoperative infection of spinal surgery. *Spine (Phila Pa 1976)* 2005; 30: 1689
21. Arvind von Keudell, Jose A. Canseco, Andreas H. Gomoll, Deleterious Effects of Diluted Povidone–Iodine on Articular Cartilage. *The Journal of Arthroplasty*, 28, 2013; 918-921.
22. Kataoka M, Tsumura H, Kaku N, et al. Toxic effects of povidone–iodine on synovial cell and articular cartilage. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 632.
23. Schaumburger J, Beckmann J, Springorum HR, et al. Toxicity of antiseptics on chondrocytes in vitro. *Z Orthop Unfall* 2010; 148: 39.
24. Insall & Scott *Cirurgia do Joelho*, Capítulo 68: Osteoartrite do Joelho| W. Norman Scott, MD, FACS
25. Souza DV, et al. Exercícios físicos e osteoartrose: uma revisão sistemática. *Fisioter. Mov.*, 2013; 26(1): 193-202.

26. Felson DT, et al. The effect of body weight on progression of knee osteoarthritis is dependent on alignment. *Arthritis Rheum*, 2004; (50): 3904-3909.
27. Loeser RF. Aging and Osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 2011; 23(5): 492-496,
28. Aigner T, MCKENNA L. Molecular pathology and pathobiology of osteo- arthritic cartilage. *Cell Mol Life Sci*, 2002; (59): 5-18.
29. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechano- biology: a research perspective. *Bone*. 2003; (33): 1-13.
30. Insall & Scott Cirurgia do Joelho, Capítulo 20: Cartilagem Articular: Biologia, Bio- mecânica e Resposta da Cicatrização| W. Norman Scott, MD, FACS
31. Van der List JP, Zuiderbaan HA, Pearle AD. Why do lateral unicompartmental knee arthroplasties fail today? *Am J Orthop (Belle Mead NJ)* 2016; (45): 432-62.
32. Kinsey TL, Anderson DN, Phillips VM, Mahoney OM. Disease Progression After Lateral and Medial Unicdylar Knee Arthroplasty *J Arthroplasty*. 2018 Nov; 33(11): 3441-3447.
33. Findlay I, Wong F, Smith C, Back D, Davies A, Ajuied A. Non-resurfacing tech- niques in the management of the patella at total knee arthroplasty: A systematic review and meta-analysis. *Knee* 2016 Mar; 23(2): 191-7.
34. Liu ZT, Fu PL, Wu HS, Zhu Y. Patellar reshaping versus resurfacing in total knee arthroplasty – Results of a randomized prospective trial at a minimum of 7 years' follow-up. *Knee* 2012 Jun; 19(3): 198-202.
35. Yoshioka, M. et al. Cartilage Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cart*, 1996; 4(2): 87-98.
36. Kardeli, S. et al. Efficacy study of two novel hyaluronic acid-based formulations for viscosupplementation therapy in an early osteoarthrosic rabbit model. *L. Eur J Pharm Biopharm*, 2015; (96): 388-395.
37. Chang DG, et al. Osteoarthritis quantitation and localization of cartilage degener- ation following the induction of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cart*, 1997; (5): 357-372.
38. Yoshimi T, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experi- mental osteoarthrosis induced by the resection of rabbit anterior cruciate liga- ment. *Clin Orthop Relat Res*, 1994; (298): 296-304.

39. Santos ATC, Spletstosser JC, Warpichowski P, Gardzinski MMP. Antifibrinolíticos e Cirurgia Cardíaca com circulação extracorpórea. *Rev Bras Anesthesiol.* 2007, 57(5): 549-64.
40. Rackur H, et al. New aspects of mechanism of action povidone-iodine. *J Hosp Infect*, 1985; (6): 13-23.
41. Mankin HJ, Lippello L. Biochemical and Metabolic Abnormalities in Articular Cartilage from Osteo-Arthritic Human Hips. *J. Bone and Joint Surg.*, 1970 Apr. (52-A): 424-434.
42. Pauli C, Whiteside R, Heras FL, Nesic D, Koziol J, Grogan SP, et al. Comparison of cartilage histopathology assessment systems on human knee joints at all stages of osteoarthritis development. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012; 20(6): 476-85.
43. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg (Am)* 1971; (53-A): 523-537.
44. Van der Sluijs JA, Geesink RG, van der Linden AJ, et al. The reliability of the Mankin score for osteoarthritis. *J Orthop Res* 1992; 10: 58-61.
45. Paterson SI, Eltawil NM, Simpson AH, Amin AK, Hall AC. Drying of open animal joints in vivo subsequently causes cartilage degeneration. *Bone Joint Res.* 2016; 5(4): 137-44.
46. Özcan MS, et al. O efeito de levobupivacaína intra-articular sobre a cartilagem do ombro em doses diferentes - Estudo experimental. *Revis. Brasileira de Anestesiologia*, 2015; 67(1): 42-49.
47. Hollander M, Wolfe DA, *Nonparametric Statistical Methods*. 2nd. ed. New York, N.Y.: John Wiley & Sons, 1999.
48. Agresti A. *Categorical analysis*. New York: John Wiley, 2002.
49. Aguilera-Roig X, Jordán-Sales M, Natera-Cisneros L, Monllau-García JC, Martínez-Zapata MJ. Tranexamic acid in orthopedic surgery [in Spanish]. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2014;58(1):52-56.
50. Wong J, Abrishami A, El Beheiry H, et al. Topical application of tranexamic acid reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2010;92(15):2503-2513.

51. Georgiadis AG, Muh SJ, Silverton CD, Weir RM, Laker MW. A prospective double-blind placebo controlled trial of topical tranexamic acid in total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013;28(8 suppl):78-82.
52. McLean M, McCall K, Smith IDM, *et al*. Tranexamic acid toxicity in human periarticular tissues. *Bone Joint Research*. 2019; 2;8(1):11-18.
53. Ambra LF, de Girolamo L, Niu W, *et al*. No effect of topical application of tranexamic acid on articular cartilage. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2017.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 381/2016

Título do projeto: Estudo dos efeitos do ácido tranexâmico e da povidona -iodo na cartilagem articular de coelhos

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Marco Antonio Percope de Andrade

Unidade: Faculdade de Medicina

Departamento: Departamento de Aparelho Locomotor

Situação atual: [Decisão Final - Aprovado](#)

Aprovado na reunião do dia 03/04/2017. Validade: 03/04/2017 à 02/04/2022
Belo Horizonte, 03/04/2017.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@proq.ufmg.br

ANEXO B – Análise histológica – escore de Mankin e Peso dos animais

Tabela 4 – Análise histológica – Escore de Mankin

						Continua
Coelho	Estrutura	Células	Coloração AT	Linha de maré	Escore	
Grupo controle						
1	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	0	
6	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	0	0	
8	0	0	0	0	0	
9	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	0	0	
Grupo ATX						
11	0	0	2	0	2	
12	0	0	2	0	2	
13	0	0	1	0	1	
14	0	0	2	0	2	
15	0	0	2	0	2	
16	0	0	1	0	1	
17	0	0	1	0	1	
18	0	0	1	0	1	
19	0	0	1	0	1	
20	0	0	2	0	2	
21	0	0	2	0	2	

Tabela 4 – Análise histológica – Escore de Mankin

					Conclusão	
Coelho	Estrutura	Células	Coloração AT	Linha de maré	Escore	
Grupo PVPI						
22	0	0	2	1	3	
23	0	3	2	0	5	
24	1	3	1	1	6	
25	0	3	3	0	6	
26	0	0	3	1	4	
27	0	3	3	1	7	
28	1	3	2	0	6	
29	0	0	1	0	1	
30	1	3	3	1	8	
31	0	0	1	1	2	
Grupo PVPI + ATX						
32	0	3	3	0	6	
33	0	3	2	0	5	
34	3	0	2	1	6	
35	0	0	3	0	3	
36	3	3	2	0	8	
37	0	3	2	1	6	
38	2	3	2	0	7	
39	1	3	3	0	7	
40	1	3	3	0	7	
41	0	3	3	1	7	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Tabela 5 – Peso dos animais em miligramas

Animal	Controle	ATX	PVPI	ATX + PVPI
1	2930	2960	2890	3070
2	2890	3015	2920	2980
3	3055	2940	3060	2975
4	2985	2860	2980	2890
5	2950	2940	2895	2970
6	3010	3055	2980	2990
7	2890	2870	3070	3090
8	2935	2930	2990	2970
9	2910	3100	3015	2895
10	3090	2985	3070	3060
11	2980	2970	2890	2850

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018