

*Este exemplar
foi devidamente
conferido conforme
resoluções e c. p. b. / 036/83
Piracicaba, 14/05/92
Thomaz M. L. L.*

LUCIANE CRUZ LOPES ARAUJO ¹⁵⁵

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO NIMESULIDE E
DO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO SOBRE AUTO-HEMOSTASIA
EM RATOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odon-
tologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção
do título de Mestre em Ciências, Área
de Farmacologia.

Ar15e

16678/BC

PIRACICABA - SP
- 1992 -

UNICAMP
BIBLIOTECA GERAL

LUCIANE CRUZ LOPES ARAUJO

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO NIMESULIDE E
DO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO SOBRE AUTO-HEMOSTASIA
EM RATOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odon-
tologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção
do título de Mestre em Ciências, Área
de Farmacologia.

" Feliz o homem que acha sabedoria
e o homem que adquire conhecimento,
porque melhor é o lucro que ela dá
do que o da prata, e melhor a sua renda do que o ouro mais fino.
O Senhor com sabedoria fundou a terra,
com inteligência estabeleceu os céus.
Pelo conhecimento os abismos se rompem e as nuvens destilam orvalho.."

(BUDA)

Divino DEUS, Energia suprema,

ofereço meu coração, e agradeço minha existência;
dedico a expectativa de estar contribuindo
com este tipo de conhecimento.

À CARLOS EDUARDO (Nino),
companheiro de meu coração
eterna gratidão por tudo que
representa em minha vida.

À MINHA MÃE,
que fez da queda um passo de dança,
da insegurança uma escada, dos sonhos
uma ponte, da busca um encontro,
investindo em minha vida com amor, carinho
e dedicação.

À MEU PAI,
" inútil vencer, numa batalha,
milhões de homens; vencer-se
a si mesmo é a maior vitória"..
(BUDA)

AOS MEUS SOGRO E SOGRA e TIA WYLMA,
" a vitória engendra o ódio,
porque o vencido sofre.
Aquele que vive em PAZ é
feliz, pois não sonha com
vitória nem derrota".

AOS MEUS IRMÃOS (RO, DRI, CHICO, PAULINHO)
minha vida não seria completa
sem vocês.

À Profa. Dra. CÉLIA CEBRIAN ARAUJO REIS
Livre-Docente da área de Farmacologia Faculdade
de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
- UNESP -

" Para as pessoas que inventaram suas próprias leis
quando sabem ter razão; para as que tem um prazer especial
em fazer coisas bem feitas, nem que seja só para elas;
para as que sabem que a vida é algo mais do que aquilo
que os olhos vêem".

(Richard Bach)

a certeza de sua eterna presença em meu coração.

IN MEMORIAN

Ao Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO^t
Coordenador do Curso de Farmacologia
da Faculdade de Odontologia
de Piracicaba,

pela orientação, lealdade, amizade e compreensão
nos descaminhos percorridos até a execução deste projeto.

meu reconhecimento e eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. EDUARDO DIAS ANDRADE
Livre Docente da área de Farmacologia e
Terapêutica da FOP - UNICAMP

gratidão pelo grande incentivo apoio, atenção na
realização desta pesquisa.

A Profa. Dra. ESTERA FINKELFARB
Titular da Área de Farmacologia
USF- Bragança Paulista

pela confiança, amizade dispensada em todos os momentos durante a execução deste trabalho.

o privilégio de tê-la como amiga e Chefe.

AGRADECIMENTOS

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL e seu Diretor Associado, Prof. Dr. OSVALDO DI HIPOLITO JUNIOR;

Aos Professores AMADO, DÉCIO, GUIMARÃES, JAYME, MARIA CECÍLIA, MARI-LU, OSLEY, PEDRO, RANALI, SAMIR, SONIA VIEIRA, VIZIOLLI pelo apoio e ensinamentos ministrados;

Ao Prof. RONALDO SEICHI WADA pela orientação no estudo estatístico deste trabalho;

A UNIMEP, em especial à Supervisão de Laboratórios, o Depto. de Ciências FARMACÊUTICAS, o Curso de Farmácia, o Centro de Ciências Biológicas e Profissões da Saúde e o Curso de Análise de Sistemas pelo apoio a realização deste trabalho;

À FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS da USF- Bragança Paulista em especial na pessoa do Diretor Prof. SÉRGIO L. MARTIN NARDY e o Depto. de PATOLOGIA , pelo apoio irrestrito a realização desta pesquisa;

Ao Prof. JOSÉ LOPES DE SOUZA, Chefe dos Laboratórios da USF- Bragança Paulista pelo apoio a execução da parte experimental deste trabalho;

Ao amigo JOSÉ ROBERTO DE ALMEIDA pela padronização e ensinamento das técnicas utilizadas nesta pesquisa;

Ao Técnico JOSÉ CARLOS pela atenção que dispensou em todos os momentos quando de minha presença no laboratório;

Ao Técnico e amigo, JUAREZ DA SILVA pela dedicação e auxílio na parte experimental deste trabalho;

Ao Técnico e amigo DIRCEU SCHENIDER pela competente participação na execução da parte experimental deste trabalho;

Ao amigo GERSON CONUS pelas valiosas sugestões neste trabalho;

Ao amigo NANAU pela participação na elaboração da exposição informatizada desta pesquisa;

Ao amigo RENATO pela brilhante execução das fotografias e slides deste trabalho;

Às secretárias VILMA BIZUTI DOS SANTOS , MARIA ELISA DOS SANTOS e ANA MARIA pelos trabalhos de datilografia e a atenção carinhosa nos momentos mais difíceis desta caminhada;

À CAPES- COORDENAÇÃO DO APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR, pelo apoio financeiro a realização desta pesquisa;

À TODOS aqueles que, de algum modo colaboraram na realização deste trabalho.

CONTEÚDO

1- INTRODUÇÃO	1
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 - Plaquetas e Hemostasia	7
2.2 - Plaquetas, Fatores da Coagulação e Hemostasia.....	20
2.3 - Metabólitos do Ácido Araquidônico e Hemostasia	27
2.4 - Antiinflamatórios não esteróides e Hemostasia	34
3- PROPOSIÇÕES	43
4- MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 - Unidade Experimental	44
4.2 - Procedimentos Experimentais - Métodos de Estudo	46
4.3 - Sistematização dos Métodos de estudo aos grupos experi- mentais	53
5- RESULTADOS	55
5.1 - Determinação do Tempo de Sangria	56
5.2 - Determinação do Tempo de Coagulação	81
5.3 - Determinação da Contagem de Plaquetas	105
5.4 - Determinação do Microhematócrito	130
6- DISCUSSÃO	134

7- CONCLUSÕES	146
8- RESUMO	148
9- SUMMARY	149
10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	150
11- ANEXOS	168
Anexo 1 - Tabela de Pesos das unidades experimentais	169
Anexo 2 - Tabelas dos resultados das determinações indivi - duais das unidades experimentais	171
Anexo 3 - Tabelas complementares da determinação dos micro - hematócritos	181

1 - INTRODUÇÃO

Existe uma contínua demanda investigatória, no sentido de se obter tratamentos e procedimentos que minimizem a dor e o edema pós operatório.

O processo inflamatório é um assunto complexo e abrangente que deve ser estudado como um todo, desde a biologia molecular dos mediadores envolvidos (autacóides), bioquímica das reações enzimáticas desencadeadas frente ao estímulo lesivo, sua etiopatogenia através da histologia e patologia microscópica e macroscópica, fisiologia do processo, suas manifestações clínicas, bem como, através do uso de drogas que reduzam estas manifestações, através da farmacoterapia.

Um dos principais fenômenos da resposta inflamatória é a TENTATIVA de isolamento de área lesada com relação aos tecidos vizinhos, principalmente através da formação de coágulos sanguíneos nos vasos lesados. desta forma, no caso de uma inflamação séptica, o organismo procura evitar a disseminação do mesmo, além de colaborar na contenção da hemorragia.

As plaquetas desempenham um papel fundamental na detenção das hemorragias através da constituição de um trombo plaquetário, que proporciona a hemostasia primária provisória. Por outro lado, podem liberar substâncias vasoativas que também intervêm no processo plasmático da hemostasia proporcionando a liberação do fator plaque-

tário 3, um fosfolipídio que atua na ativação da protrombina, tromboxano A₂ e outras substâncias.

Independentemente da natureza do agente agressor, a resposta inflamatória é sempre iniciada pela liberação local de mediadores químicos, os quais, entre outras ações, promovem o aumento da permeabilidade vascular e, desta forma, a passagem de líquidos e células do sangue para o espaço intersticial.

THOMAZ & WEST, 1974, estudaram a participação das prostaglandinas (PGs) como possíveis mediadores da inflamação, atuando por aumentam a permeabilidade vascular.

Embora o conhecimento das prostaglandinas reporta-se, até o início da década de 1930, foi somente com o isolamento e síntese destes compostos lipídicos, que o interesse sobre estas substâncias foi gerado em meados de 1960.

Foi em 1964 que BERGSTROM *et alii* e VAN DORP *et alii*, independentemente, mostraram que as prostaglandinas são biossintetizadas a partir de ácidos graxos poliinsaturados: ácido eicosatrienóico, ácido eicosatetraenóico (ácido araquidônico) e ácido eicosapentanoico. Sendo que, no ser humano, o principal precursor é o ácido araquidônico.

Além da participação em várias condições patológicas (processos inflamatórios, febre, algesia, anafilaxia, choque endotóxico, etc) relacionadas por alguns autores como PIPER & VANE, 1969; FELDBERG & SAXENA, 1971 e KULCHL & EGAN, 1980, as prostaglandinas também são de importância no mecanismo de defesa e na manutenção da integridade do organismo, frente a estímulos que alterem a homeostasia.

O ácido araquidônico não se encontra presente sob forma livre nas células, mas esterificado nos fosfolípidios da membrana celular. Pela estimulação das células endoteliais, das plaquetas, ou dos glóbulos brancos, ocorre expulsão dos íons cálcio do sistema tubular denso que irá ativar a fosfolipase C e a fosfolipase A₂ que liberarão o ácido araquidônico.

Os endoperóxidos cíclicos (PGG₂ e PGH₂), são formados a partir da ação da enzima ciclo oxigenase sobre o substrato ácido araquidônico. Esse, por sua vez, forma uma substância vasoconstritora instável, identificada como Tromboxano A₂ (TXA₂), (HAMBERG, *et alii*, 1974 e HAMBERG, *et alii*, 1975), que induz á agregação plaquetária; fenômeno importante para a cessação da hemorragia.

Por outro lado ,KASER GLANZMAN *et alii*, 1977, verificaram que os endoperóxidos podem ser também transformados pelos microsossomos das células da parede vascular em outra substância instável, que é um potente vasodilatador e inibidor da agregação plaquetária. Este composto foi identificado e denominado prostaciclina (PGI₂) e atua por estimular a adenilciclase, levando a um aumento dos níveis do ácido 3'5' adenílico cíclico (AMPc) nas plaquetas; o AMPc aumenta a sequestroamento de cálcio pela célula. Portanto, a PGI₂ tem efeito contrário ao do apresentado pela TXA₂, que diminui os níveis de AMPc.

Como pode-se perceber as prostaglandinas também estão envolvidas com a hemostasia, atuando na interação plaqueta/parede vaso sanguíneo.

Considerando que no ser humano o precursor das mesmas é o ácido araquidônico, qualquer circunstância que modifique a função normal celular pode acionar a liberação de prostaglandinas e demais produtos do metabolismo do ácido araquidônico na tentativa do restabelecimento do equilíbrio fisiológico.

Assim, o estudo de drogas que venham a interferir com o metabolismo do ácido araquidônico toma proporções grandiosas dado a presença de eicosanóides (precursores do ácido araquidônico) como composto estrutural da membrana celular de todas as células do organismo.

Os agentes que inibem a fosfolipase impedem a liberação de ácido araquidônico dos fosfolipídios da membrana e assim impedem a síntese de tromboxana e prostaciclina. Os glicocorticóides induzem nas células, através do núcleo, o peptídeo "macroscortina" (ou lipomodulina), um inibidor da fosfolipase. Como as plaquetas não possuem núcleo são incapazes de sintetizar a macroscortina e por isso não sofrem interferência deste tipo de fármaco (FLOWER, 1978 e HULLIN *et alii*, 1989).

Em 1971, VANE, *et alii*, trouxeram um grande avanço, quando mostraram que fármacos tipo aspirina (hoje enquadrados como anti-inflamatório não esteroidais - NSAID) inibem a síntese de prostaglandinas.

Atualmente a maioria dos inibidores da síntese de prostaglandinas usados clinicamente são inibidores da ciclooxigenase. O ácido acetilsalicílico acetila irreversivelmente a ciclooxigenase plaquetária em poucos minutos (ROTH & MAJERUS, 1975 e BURCH *et alii*, 1978). A inibição permanece por toda a vida das plaquetas em circulação já que as mesmas são desprovidas de núcleo e, portanto, incapazes de sintetizar uma nova ciclooxigenase para a posterior produção de TXA₂. A aspirina também impede que células endoteliais produzam a PGI₂, porém este efeito é temporário, pois as células podem sintetizar nova ciclooxigenase. Estes efeitos promovem prolongamento do Tempo de Sangria (JAFFE & WEKSLER, 1979).

Outros fármacos antiinflamatórios não-esteroides são ini-

bidores competitivos da ciclooxigenase. Assim, agentes tais como a indometacina e a sulfimpirazona não se unem por ligação covalente à enzima, e a inibição da síntese de prostaglandinas produzida por eles é passageira e reversível (ZUCKER & PETERSON, 1970 e O'BRIEN *et alii*, 1970).

De qualquer modo, a eficácia terapêutica dos NSAID, bem como os efeitos colaterais conhecidos como as alterações hemostáticas, se devem à redução sistêmica das prostaglandinas.

Para superar estas limitações, compostos antiinflamatórios que mostraram outros mecanismos de ação tem sido intensivamente investigados nos últimos anos.

Em 1977, KUEHL *et alii*, caracterizaram um composto, MK 447, que sequestra radicais de oxigênio além de não possuir atividade ulcerogênica em animais de laboratório.

Como os radicais de oxigênio são extremamente citotóxicos e exibem propriedades pró-inflamatórias, além de estimularem a biossíntese de PGs interferindo no metabolismo do ácido araquidônico, a atividade antiinflamatória dos compostos semelhantes ao MK 447, pode ser explicada pela propriedade dos mesmos em sequestrar esses radicais livres.

Recentemente foi introduzido no mercado farmacêutico brasileiro um antiinflamatório pertencente ao grupo dos compostos metano sulfonânilides, (Nimesulide), cuja atividade poderia estar relacionada com a propriedade de sequestrar radicais de O_2 (VIGDAHL & TUKEY, 1977) e com a inibição seletiva de PGs não interferindo com PGs citoprotetoras e nem na produção de TBX_2 na mucosa gástrica, (CASCIARRI *et alii*, 1984).

Assim, considerando que geralmente intervenções cirúrgicas odontológicas muitas vezes induzem a processos inflamatórios que são controlados, por sua vez, com drogas Analgésicas - Antiinflamatórias cujo mecanismo de ação se traduz pelo bloqueio da síntese de prostaglandinas é patente a importância do estudo de drogas pertencentes a esta classe terapêutica cuja a ação não interfira com mecanismos hemostáticos, já que o sangramento é um componente comum destas intervenções e a falha dos mesmos pode promover hemorragia e consequentemente, uma interferência negativa nos processos de reparação tecidual.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tendô em vista a complexidade do assunto pesquisado e a multiplicidade dos elementos envolvidos direta e/ou indiretamente no estudo de drogas antiinflamatórias não esteroidais(NSAID) e a interferência em mecanismos hemostáticos, a presente revisão tem por finalidade fazer um retrospecto da literatura sobre os principais componentes deste processo como: plaquetas, parede vascular, metabólitos do ácido araquidônico relacionados com hemostasia .

2.1 - PLAQUETAS E A HEMOSTASIA

Nesta parte da revisão serão enfocados os mecanismos da hemostasia fisiológica, dirigida a evitar e coibir as hemorragias, enfatizando prioritariamente os mecanismos que direta e indiretamente podem sofrer alterações quando da utilização de um antiinflamatório não-esteróide, e outros processos que irão servir como base para entendimento e discussão deste trabalho.

Após a revista de vasta literatura pode-se entender e concluir como hemostasia, um processo destinado a manter a integridade da árvore vascular, evitando e corrigindo as rupturas e as obstruções de seus segmentos. Envolve um grande número de interações complexas entre os componentes sanguíneos e a parede vascular.

Segundo CASTILHO & BASTIDA, 1988, pode se subdividir a hemostasia em 4 fases: 1) vasoconstrição localizada a nível da área afetada; 2) formação de um agregado o trombo de plaquetas sobre a

superfície vascular lesada; 3) formação de fibrina que reforça o trombo plaquetário; 4) eliminação dos depósitos de fibrina-fibrinólise.

Depois da ruptura vascular se produz uma vasoconstrição inicial, que resulta de uma estimulação, por um mecanismo reflexo de terminações simpáticas (alfa-adrenérgicas) (ZUCKER, 1947 e CLARKE e *et alii*, 1989) na musculatura lisa da parede do vaso. Este fenômeno que dura aproximadamente 30 segundos, tem como finalidade obter a estase na circulação e assim favorecer a formação do trombo, o coágulo plaquetário. Nas lesões a nível de capilares, a vasoconstrição reflexa produz geralmente suficiente adesão e oclusão das paredes para que a hemorragia capilar cesse. A vasoconstrição reflexa inicial, muito breve, é relevada por uma vasoconstrição secundária produzida provavelmente por adrenalina, serotonina (ZUCKER, 1955) TXA_2 , (HAMBERT *et alii*, 1976), e substâncias liberadas pelas plaquetas, uma vez que se acham aderidas no tecido conjuntivo subendotelial.

A hemostasia primária é ativada pela combinação de uma vasoconstrição reflexa e formação do "plug" plaquetário, imediatamente após a ruptura vascular. A contração vascular, como foi mencionada, é temporária, e o tampão plaquetário é fino flexível e frouxo. Porém, o vazamento de sangue se torna mais lento e o tempo é ganho para a elaboração mais lenta do rijo e resistente reforço da rede de fibrina que, eventualmente, sela o defeito vascular. Além disso a pressão do sangue que extravaza sobre as paredes dos vasos, especialmente capilares pode ser suficiente para causar um certo grau de colapso vascular e cessação da hemorragia (TODD; SANFORD; DAVIDSHON, 1989).

O coágulo de fibrina, na segunda fase da hemostasia, providencia um esqueleto para reorganizar o crescimento e desenvolvimento

da célula endotelial e libera os produtos da digestão de fibrina; a ativação de plasminogênio estimula a angiogênese e renova a parede vascular, enquanto a fibrinólise e colagenase limpam do caminho os fragmentos (CASTILHO & BASTIDA, 1988).

As plaquetas sanguíneas por sua vez, são essenciais para hemostase normal. Tem duas funções diferentes no estancamento de hemorragia, a função hemostática e a função tromboplástica. A função hemostática é realizada por oclusão física das aberturas em vasos sanguíneos pelas massas de plaquetas, e a função tromboplástica é feita pela participação de constituintes químicos das plaquetas (WILLIAM, 1990).

As plaquetas ou trombócitos são fragmentos discóides de citoplasma de megacariócitos de medula, que normalmente circulam por 7 a 10 dias, em um número de 200 a 400 mil por mm^3 , no ser humano antes de serem removidas pelo baço, e 500 a 1.000.000, em ratos adultos (FARRIS & GRIFFITH, 1949 e LEWIS *et alii*, 1985).

Segundo TAVASSOLI, 1980, os megacariócitos são células suicidas cuja a missão é proliferar e fragmentar seu citoplasma para manter a demanda de plaquetas sanguíneas.

MARTIN *et alii*, 1982, mostraram que a manutenção do número de plaquetas dentro dos limites representa um excesso de mais de dez vezes o necessário para assegurar a rotina hemostática mas proporciona uma reserva de precaução para as vezes onde ocorre excesso da perda ou consumo excessivo.

Interessante ressaltar que as plaquetas são células anucleadas, possuem apenas pouca quantidade de DNA e uma pequena habilidade para sintetizar proteínas, porém apresentam intensa capacidade metabólica, realizada por enzimas do citoplasma e organelas como

as mitocôndrias que produzem e armazenam a energia para a realização das funções plaquetárias.

Segundo WILLIAN, 1990, os distúrbios da hemostase relacionados a anormalidades plaquetárias podem ser de ordem quantitativa ou qualitativa. As anormalidades quantitativas são geradas por produção diminuída de plaquetas ou aumento da destruição - trombocitopenia, ou ainda, por um aumento da massa megacariocítica e um aumento da produção de plaquetas - trombocitose(HARKER, 1974). Já os distúrbios plaquetários qualitativos podem ser transmitidos hereditariamente ou adquiridos(WILLIAN, 1990).

WINTROBE *et alii*, 1974, verificou que em raras ocasiões as clorotiazidas, os hormônios estrogênicos e os antiinflamatórios corticosteróides, podem causar trombocitopenia por uma supressão específica na produção de plaquetas.

Vários trabalhos tentam relacionar a contagem de plaquetas e as manifestações hemorrágicas. Embora alguns pacientes com intensa trombocitopenia não apresentam sangramento, outros com redução menos intensa do número de plaquetas têm sangramento acentuado. Esta dissociação pode ser explicada pela variação na função plaquetária. Em pacientes com funcionamento plaquetário normal, o tempo de sangria se correlaciona com a contagem de plaquetas (HARKER & SLICHTER, 1972) porém, em pacientes com anormalidades plaquetárias qualitativas, o tempo de sangria se apresenta aumentado com contagem normal de plaquetas.

A inibição da função plaquetária foi associada a ingestão de várias drogas (Tab.1- SANFORD *et alii*, 1990). De fato, alguns dos agentes listados nesta Tabela são utilizados especificamente por sua atividade antitrombótica com finalidade de reduzir a função plaquetária. Para todas estas drogas seus efeitos sobre a função

plaquetária é definido por uma anormalidade da agregação plaquetária ou no tempo de sangria.

Tabela 1 - Drogas que inibem a função plaquetária.

- Antiinflamatórios não esteroidais não esteroidais:	- Drogas Cardiovasculares:
Aspirina	Nitroglicerina
Indometacina	Dinitrato de isosorbide
Ibuprofeno	Propranolol
Sulindac	Nitroprussiato
Naproxeno	Nifedipina
Fenilbutazona	Verapamil
Acido mefenâmico	Diltiazem
Diflunisal	Quinidina
Piroxicam	
Tolmetin	- Drogas Psicotrópicas:
	Antidepressivos tricíclicos
- Antibióticos β -lactâmicos:	Imipramina
Penicilinas	Amitriptilina
Penicilina G	Nortriptilina
Carbencilina	
Ampicilina	Fenotiazinas
Piperacilin	Clorpromazina
	Prometazina
Cefalosporinas	
Cefalotin	- Anestésicos Locais:
	Tetracaína
- Outras drogas:	Procaína
Antibióticos	Cocaína
Nitrofurantoína	
	- Anestésicos Gerais:
- Drogas que aumentam a concentração plaquetária de AMPc:	Halotane
Prostaciclina	
Dipyridamol	- Hipnoanalgésicos:
	Heroína
- Anticoagulantes:	
Heparina	- Anti-Histamínicos:
	Difenidramina
- Agentes fibrinolíticos	Clorfeniramina
- Expansores plasmáticos:	
Dextrano	- Alimentos:
	ω -3 ácidos graxos
	(ácido eicosapentanoico)
	Álcool etílico

Fonte: SANFORD *et al*, 1990.

Os exames preliminares usuais para a função plaquetária são: tempo de sangria, retração de coágulo e a contagem de plaquetas. Os exames preliminares para os fatores de coagulação são: tempo de coagulação do sangue total, tempo de tromboplastina parcial com ativação por caulim, tempo de protrombina, e dosagem de fibrinogênio (WILLIAN, 1990).

A dificuldade com tais métodos é a relativa insensibilidade, porém é importante conhecer essa limitação, pois na prática clínica, realiza-se uma série de exames para verificação de anormalidades que podem afetar certos grupos de fatores da coagulação e, depois, efetua-se estudos mais específicos se forem verificadas anormalidades com estes exames preliminares.

Como na formação do trombo plaquetário distingue-se três fenômenos: adesão dos trombócitos ao subendotélio; processo de agregação plaquetária e processo de liberação (secreção) plaquetária. Alterações qualitativas proporcionadas pelas drogas nestes processos levaria a anormalidades na hemostasia (WILLIAN, 1990).

Quando ocorre o desprendimento do endotélio, as plaquetas entram em contato direto com as estruturas subendoteliais expostas, com as fibras de colágeno presentes na membrana basal, e microfibrilas. A adesão plaquetária se dá como consequência da lesão vascular. As plaquetas se aderem às estruturas subendoteliais destruídas na lesão. Uma vez em contato com as estruturas subendoteliais, em poucos segundos sua forma discóide se torna esférica e ocorre a emissão de pseudópodos, adquirindo maior superfície de adesão na parede vascular lesada. Para que a adesão seja adequada é necessário a presença de uma glicoproteína I (GPI) da membrana da plaqueta, do fator Willebrand que faz parte do complexo do fator VIII do plasma e das hemáceas. Outra proteína que intervém no processo da adesão plaquetária, porém seu mecanismo é menos conhecido, é a fibronectina do

plasma e do subendotélio vascular (CASTILHO & BASTIDA, 1988).

Em 1971, STERMERMAN *et alii*, mostraram que microfibrilas não colágenas são responsáveis pela aderência e agregação locais de plaquetas, quando as células endoteliais são removidas de grandes vasos sanguíneos.

Em 1967, TRANZER & BAUMGARTNER, observaram que a acentuada dilatação de vasos sanguíneos faz com que as células endoteliais adjacentes separem-se expondo a membrana basal e essas lacunas, então, poderiam ser preenchidas total ou parcialmente por plaquetas. É evidente que se a taxa de plaquetas está baixa, as células vermelhas sanguíneas escaparão da circulação por essas falhas originando pequenas hemorragias.

VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989, em sua revisão, afirmam que as hemáceas, por ocuparem o centro da corrente axial, deslocam as plaquetas em direção à parede interna do vaso, facilitando seu contato com as células endoteliais e promovendo assim a adesão.

Em locais de turbulência que se desenvolvem nas proximidades de um vaso lesado ou de área de estenose, produz-se uma ligeira hemólise, liberando-se uma quantidade suficiente de ADP, pelas hemácias, para estimular plaquetas que aderirão às estruturas já mencionadas. Assim, nesse sentido, a taxa de hemácias, seu tamanho e sua reformabilidade, se somam a outros parâmetros que determinam a frequência e a impulsão com que as plaquetas são projetadas contra a superfície subendotelial (forças de deslizamento); estes parâmetros constituem a natureza do fluxo sanguíneo e o débito .

Além do fator vWw e das hemácias , as estruturas subendoteliais contribuem para o processo de adesão plaquetária. A adesão das plaquetas às fibras do colágeno e microfibrilas é dependente de

energia e é inibida pelos agentes inativadores de grupamentos sulfidrilas.

ZUCKER, 1980, deixa claro que em circunstâncias normais, as plaquetas circulantes não aderem a outros elementos sanguíneos e ao endotélio intacto. A solução da continuidade vascular expõe o sangue aos tecidos conjuntivos subendoteliais e inicia as reações plaquetárias de adesão, agregação e liberação, levando à formação de um tampão hemostático.

Para que ocorra o fenômeno da adesão, inicialmente há uma fase de contato seguida pelo espraiamento das plaquetas ao longo das fibras de colágeno, processo dependente de cálcio. Atualmente se sabe que as plaquetas não aderem com a mesma intensidade aos diferentes tipos de colágeno. Os colágenos do tipo I e III são mais reativos, porque apresentam poucas cadeias laterais de hidratos de carbono, permitindo a fixação de uma molécula de carboidrato em sua cadeia lateral, pela ação de enzimas presentes na membrana da plaqueta. Em vasos de pequeno calibre que apresentam força de deformabilidade alta, a adesão é feita sobretudo ao colágeno tipo I e, nos grandes vasos com força de deformabilidade baixa, é ao colágeno tipo III que as plaquetas se aderem (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

Subsequentemente ao processo de adesão, quando as plaquetas se encontram fixadas ao subendotélio, ocorre a união entre as mesmas, o que determina a formação de agregados plaquetários. A forma discóide das plaquetas é desfavorável ao contato recíproco e ao desenvolvimento da força de coesão suficiente para induzir a agregação. O ADP, liberado pelas hemácias e plaquetas ativadas, o colágeno subendotelial e a trombina, são três substâncias que transformam a plaqueta da forma discóide para a esferoidal com a formação de pseudópodos, motivo pelo qual tais substâncias são denominadas indutores da agregação. Tais substâncias atuam sobre receptores específi-

cos da membrana plaquetária, com liberação de íons cálcio do sistema tubular denso (O'BRIEN, 1964; THOMAS, 1967 e MILLS *et alii*, 1968).

O incremento citoplasmático de cálcio se realiza pela liberação de adenosinadifosfato (ADP) dos grânulos intracitoplasmáticos e pela síntese intraplaquetária da prostaglandina TxA_2 , ainda que, todavia, não se conheçam os mecanismos exatos pelos quais estes processos se ativam, nem como sobrevivem a consequente agregação plaquetária (COLMAN, 1986).

RAO *et alii*, 1987 relataram que a liberação de ADP se inicia durante o primeiro estado do processo de adesão ao ativar a membrana plaquetária, talvez através do fluído de cálcio desde a membrana ao citoplasma, o qual induz a uma contração das plaquetas e, por conseguinte, a liberação do ADP armazenado dos grânulos densos, ao meio extracelular. Este ADP livre, atuando sobre os receptores de superfície da membrana das plaquetas vizinhas, induz o fluxo de cálcio desde a membrana celular ao citoplasma. Tal aumento no cálcio citoplasmático por meio de seu efeito sobre a contração plaquetária origina a liberação de maior quantidade de ADP, pelo qual o processo se perpetua.

A agregação primária induzida pelo ADP é sempre reversível. A plaqueta ativada pode soltar-se, retornar a sua forma discóide e perder toda a sua afinidade pelas demais plaquetas, de maneira que o agregado pode desfazer-se espontaneamente (VERSTRAETE & VERMYLIN, 1989). Para essa desativação, é necessário que os íons cálcio que estavam livres no plasma sejam novamente armazenados, mecanismo dependente de outra prostaglandina a prostaciclina (PGI_2) (MINNO *et alii*, 1979 e MONCADA & VANE, 1979).

De forma similar a liberação de ADP, a síntese de TxA_2 de-

termina um aumento do cálcio citoplasmático e, portanto, uma ulterior e mais ampla liberação de ADP. Tal aumento do cálcio citoplasmático se deve ao fato de que o TxA_2 transporta cálcio do sistema tubular denso da membrana para o citoplasma contribuindo assim na concentração plaquetária (GERRARD & WHITE, 1978; BRACE *et alii*, 1985 e MURER, 1985).

O TxA_2 pode, além disso, provocar quase imediatamente a secreção do conteúdo dos grânulos intraplaquetários (MONCADA & VANE, 1986 e BRASS *et alii*, 1987).

Esses mesmos autores, afirmaram que o TxA_2 não é responsável pela ativação inicial das plaquetas, mas sim, pelo resultado dessa ativação; com o ADP presente no interior da plaqueta, o TxA_2 é co-responsável pelo crescimento posterior do tampão hemostático. Nesse sentido, o ADP e TxA_2 podem ser considerados como mensageiros químicos da plaqueta. Existe um mecanismo de retroalimentação positivo: ativação de plaquetas - síntese de TxA_2 - nova ativação de plaquetas - nova síntese de TxA_2 , etc. Essa agregação secundária é irreversível.

A trombina que se forma na região periplaquetária induz aí mesmo a agregação através dos mecanismo de liberação de ADP e de síntese de TxA_2 e também por outra via desconhecida (SANFORD *et alii*, 1990). Embora a trombina seja uma enzima, a habilidade de ativar as plaquetas depende de sua concentração, característica esta, consistente com o processo mediado por receptor.

Segundo BERNDT *et alii*, 1982, a trombina é o mais potente agonista plaquetário. Estimula a mudança de forma da plaqueta na agregação primária e secundária e inibe a concentração de AMPc induzido pelas prostaglandinas, tais como prostaciclina (PGI_2) (AKTORIES & JACOBS, 1984). O estímulo da agregação é tão acentuado que as fases

primárias (reversível) e secundária (irreversível) não podem ser discernidas e as plaquetas formam uma massa na qual não é mais possível distinguir os seus contornos (fusão de plaquetas) .Nesse estágio, o fenômeno atinge a sua irreversibilidade.

Embora metabólitos do ácido araquidônico tal como TxA_2 contribuam para que as plaquetas respondam ao estímulo proporcionado pela trombina, o bloqueio da ativação plaquetária promovido pela aspirina e outros inibidores da síntese de TxA_2 é suprimido quando da elevação da concentração de trombina, sem que haja restauração da formação de TxA_2 (AKTORIES & JACOBS, 1984).

O grau de contração e deformidade das plaquetas é regulado pela disponibilidade do cálcio no citoplasma, modulada pela adenosina-5'-monofosfato cíclico (AMPC), que estimula a incorporação do cálcio desde o citoplasma ao sistema tubular denso da membrana e ao exterior das células. A quantidade de AMPC na célula está determinada pela quantidade de adenilciclase, enzima que cataliza a transformação de ATP em AMPC e por uma fosfodiesterase específica que hidroliza o AMPC a adenosinamonofosfato (AMP). Ambas enzimas estão presentes nas plaquetas, e foi demonstrado que o AMPC plaquetário pode elevar-se com substâncias que aumentam a adenilciclase e diminuem a fosfodiesterase, produzindo uma inibição da agregação (STEER & WOOD, 1979).

MILLS & SMITH, 1971 e STEER & WOOD, 1979, mostraram que a PGI_2 e a prostaglandina E_1 estimulam a formação de AMPC pela via adenilciclase, pois seus receptores estão acoplados a esta via. Por outro lado, existem agentes que inibem a fosfodiesterase, como os derivados da teofilina e dipridamol que também por sua vez aumentariam a concentração de AMPC.

Há os agentes que são agregantes a cuja ação se atribui a

diminuição da adenilciclase. De qualquer maneira, a TXA_2 é um potente vasoconstritor e o mais intenso indutor da agregação das plaquetas descoberto até o momento (MONCADA & VANE, 1979).

A retomada da plaqueta à sua forma discóide dependerá da intensidade da estimulação exercida pelo agente indutor. Se a estimulação for de intensidade e duração suficientes, uma grande quantidade de íons cálcio será liberada do sistema tubular denso. Esses íons ativarão a fosfolipase que desencadeará a liberação do ácido araquidônico, o qual se transformará em TXA_2 na plaqueta. Uma parte do indutor de agregação deixa a célula e irá induzir a mobilização de cálcio em outras células, induzindo contração, modificação morfológica e a possibilidade de uma aproximação entre as mesmas (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

Durante a alteração de forma, os grânulos deslocam-se para o centro da célula e mantêm-se próximos entre si. Se a estimulação pelo agente indutor for de tal intensidade, a agregação torna-se irreversível; no caso de o agente ser o tromboxano A_2 ou trombina, ocorrerá a extrusão para o exterior de substâncias acumuladas nos grânulos, fenômeno que recebe o nome de "reação de liberação". Nessa reação, grande quantidade de íons cálcio é liberada para o citoplasma. Pesquisas recentes mostram que o conteúdo dos grânulos alfa é liberado em primeiro lugar e depois o conteúdo dos grânulos densos (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

Na reação de liberação as plaquetas esvaziam o seu conteúdo de grânulos para o meio externo. A liberação pode ser induzida pelo ADP, serotonina, trombina, colágeno e outros materiais. A liberação I refere-se ao esvaziamento de corpos densos, processo esse que ocorre em aproximadamente 10 segundos (DAY & RAO, 1986).

Pelo contrário, a liberação II refere-se à descarga do

conteúdo dos grânulos alfa, a qual ocorre em 40 a 60 segundos (HOLMSON & WEISS, 1979). A epinefrina, o ADP e o colágeno em baixas concentrações induzem uma resposta de liberação I, contudo, a trombina e o colágeno em elevadas concentrações estimulam liberações I e II.

Os produtos de secreção são eliminados e tornam-se disponíveis ao redor de plaquetas que se agregam. Tais produtos são: ADP, (capaz de desencadear a adesão de plaquetas que se encontram no sangue circulante às plaquetas já aderidas, criando um efeito de bola de neve); Serotonina (provavelmente desempenha papel na vasoconstricção inicial, que se segue quando um vaso é lesado); Fator plaquetário 4 (atividade anti-heparínica); Tromboglobulina beta (parece que ela inibe a produção de prostaciclina pelas células endoteliais) ;Fator von Willebrand (participa do fenômeno de adesão plaquetária); Fibrinogênio plaquetário (o ADP expõe os receptores específicos para o fibrinogênio da membrana da plaqueta. Possivelmente o fibrinogênio presente nos grânulos possa participar do fenômeno de agregação); Fator mitogênico de origem plaquetária ou platelet derived growth factor (propriedade de estimular a proliferação de células musculares lisas na parede vascular, e, portanto, desempenhando papel importante na formação de placas de ateroma) e Enzimas lisossomais(possivelmente estão envolvidas na eliminação do tampão hemostático durante o processo de cicatrização) (WILLIAN, 1990).

Visto que a aspirina inibe a liberação I, foi proposto que as liberações I e II são mediadas por mecanismo diferentes. As prostaglandinas têm um papel de grande importância na indução da liberação I. Os endoperóxidos e o seu derivado tromboxana A_2 induzem a liberação I e subsequentemente uma segunda fase de agregação (CHARO *et alii*, 1977 e FITZGERALD *et alii*, 1983).

Assim, percebe-se que as interações entre plaquetas e o processo hemostático são mediadas principalmente pelos metabólitos do ácido araquidônico o que reflete a importância dos mesmos na gênese da trombose, bem como em processos inflamatórios onde envolvam sangramento.

2.2 - PLAQUETAS, FATORES DA COAGULAÇÃO E HEMOSTASIA

O tampão plaquetário é suficiente para interromper o sangramento a partir de capilares ou pequenas vênulas como é evidenciado pelo tempo de sangramento normal de hemofílicos, que apresentam as plaquetas funcionalmente normais, porém são incapazes de formar a fibrina. Entretanto, a coesão presente no tampão hemostático é insuficiente para interromper o sangramento de vasos maiores ou para resistir a pressão intravascular presente no sistema arterial, funciona como um suporte para a infiltração de fibroblastos durante o processo de cicatrização.

A formação de trombina é o ponto final de uma série de reações enzimáticas, onde uma pró-enzima é ativada para enzima, a qual irá ativar outra pró-enzima, etc. Essas pró-enzimas (fatores de coagulação) estão presentes na fase fluidica do sangue e em concentrações bastante baixas. A interação destes fatores é acentuadamente acelerada quando eles se encontram adsorvidos e concentrados sobre superfícies (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

A coagulação sanguínea pode ser considerada como uma série de reações catalisadas por uma superfície. Para o processo in vivo, as plaquetas contituem-se no maior fornecedor de "superfícies". A cadeia de reações é vista como um sistema de amplificação, permitin-

do a ativação de algumas moléculas no início, resultando em uma explosiva formação de trombina.

Várias atividades plaquetárias podem promover a coagulação sanguínea.

As plaquetas contribuem diretamente para a produção da hemostasia secundária ou para a formação da rede de fibrina por providenciar uma superfície para a reunião de vários complexos enzimáticos que precedem a geração de trombina (KANE & MAJERUS, 1982 e SCHICK, 1979). Deste modo, as plaquetas participam na reação da protrombinase que contribui para ativação do fator X proporcionando uma superfície de contato para coagulação e a geração do fator X ativado (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989). A reação de protrombinase resulta na conversão enzimática da protrombina para trombina (TRACY & MANN, 1986).

Além de fornecer a superfície sobre a qual os fatores irão interagir, as plaquetas também estão envolvidas no início da cadeia de eventos. Existe a proposição de que plaquetas ativadas pelo ADP podem ativar o fator XII e que plaquetas ativadas pelo colágeno ativam diretamente o fator XI, sem envolver o fator XII, pré-calicreína ou cininogênio de alto peso molecular. A importância fisiológica da ativação direta do fator XI pelas plaquetas torna-se evidente pelo fato de que pacientes com deficiência congênita do fator XII, pré-calicreína ou de cininogênio de alto peso molecular não apresentam tendências ao sangramento. É possível que em circunstâncias específicas as plaquetas possam ativar diretamente o fator X (WALSH *et alii*, 1986).

MILETICH *et alii*, 1978, relataram que a ativação do fator X pelo fator IX_a e da protrombina pelo fator X_a ocorre sobre uma superfície fosfolipídica com carga negativa.

A ligação nessa superfície é mediada por resíduos específicos de ácido gama-carboxiglutâmico na porção aminoterminal da sua cadeia peptídica e também pelos íons cálcio. É importante reconhecer que plaquetas não ativadas apresentam uma distribuição assimétrica de seus fosfolipídios entre a face externa e interna da camada lipídica: esfingomielina e fosfatidilcolina em maior concentração na camada externa e fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol na face interna (MILETICH *et alii*, 1978). Quando as plaquetas são estimuladas pelo colágeno ou pela trombina, ocorre uma inversão da disposição dos fosfolipídios, com um aumento acentuado de fosfatidilserina e fosfatidilinositol para a face externa. Esses fosfolipídios fornecem uma superfície catalítica para a ativação dos fatores X e II. Nessas condições a trombina pode estimular a sua própria formação. A capacidade das plaquetas estimuladas, ampliar a ativação da protrombina é conhecida como propriedade exercida pelo fator plaquetário 3 (SCHICK *et alii*, 1983).

A trombina, que intervém na agregação provém da reação de fatores da coagulação adsorvidos da região plasmática periplaquetária. A formação de trombina está suscitada pela ativação do sistema intrínseco da coagulação, já que o colágeno ativa os fatores XII e XI, uma vez que provoca a adesão das plaquetas. Por outra parte, quando a plaqueta se ativa, produzem-se trocas na membrana que favorecem a disponibilidade do fator plaquetário 3 (SANFORD *et alii*, 1990).

O fator plaquetário 3 representa o lugar e o suporte das reações bioquímicas da ativação da coagulação endógena na atmosfera periplaquetária, rica em fatores da coagulação. Sobre as plaquetas ativadas aparecem lugares específicos de ligação para o fator X ativado (TRACY *et alii*, 1981).

O fator V adsorvido que aparece sobre a superfície pla-

quetária ativada (procedente do interior da plaqueta), provavelmente constitui o lugar específico da ação do fator X. Também pode formar-se trombina durante o processo de adesão e agregação plaquetária pela liberação de tromboplastina tecidual , sistema extrínseco da coagulação (KANE & MAJERUS, 1982).

Além disso, as plaquetas ativadas expõem receptores para fibrinogênio e fibrina, o que poderia permitir uma coesão forte entre a malha de fibrina e a massa de plaquetas agregadas (MARGUERIE *et alii*, 1979).

é comum a todos os trabalhos aqui revistos que a formação de trombina ocupa uma posição central na coagulação do sangue. Essa enzima formada em concentração suficiente, irá imediatamente transformar o fibrinogênio em um gel de fibrina. Além disso, como foi citado no item 2.1 desta revisão, a trombina está envolvida na agregação plaquetária e na liberação de seus constituintes, bem como na ativação dos fatores V, X, VII e XIII.

Segundo CASTILHO & BASTIDA, 1988, a formação das fibras de fibrina, consiste na transformação do fibrinogênio, que é solúvel, em uma proteína insolúvel, através da trombina, que se forma por ativação da protrombina. A coagulação do plasma intensifica e assegura a hemostasia temporária iniciada com a vasoconstrição e desenvolvida pelas plaquetas. Esses autores afirmam também que a protrombina e o fibrinogênio, associados a uma série de outros elementos, constituem os fatores da coagulação que são necessários para a formação de fibrina. A exceção do cálcio, são proteínas, as quais podem ser divididas em três grupos segundo suas propriedades: fatores dependentes da vitamina K, fatores sensíveis a trombina e fatores de contato.

WILLIAN, 1990, remonta através de uma séries de revisões,

que a coagulação sanguínea se produz como resultado de uma série de reações em cascata, em que sucessivamente, uma proenzima inativa é convertida em enzima ativa, a qual por sua vez ativa outra pró-enzima.

Nesse processo se distinguem duas fases: a) conversão da protrombina em trombina e b) transformação do fibrinogênio em fibrina através da trombina formada.

A ativação da protrombina pode ocorrer por dois sistemas distintos: a1) intrínseco e a2) extrínseco, cuja a fase final é comum.

Em 1964, DAIWE & RATNOFF, estudaram o desenvolvimento da cascata da coagulação para o chamado sistema intrínseco que ocorre como resultado da interação de substâncias que existem no sangue circulante. Inicia-se com a ativação do fator XII (o de Hageman) produzida por seu contato com uma superfície desprovida de endotélio. Por isso denomina-se fator de contato. Inicialmente o fator XII, que é uma serina-protease, em contato com uma superfície carregada negativamente sofre uma alteração conformacional, tornando a molécula muito mais sensível à degradação proteolítica da calicreína, a qual, em uma segunda fase, converte o Fator XII em Fator XII ativado (XIIa).

No plasma o cininogênio de alto peso molecular, a pré-callicreína e o fator XI se associam reversivelmente. O resultado dessa interação é a ativação do fator XII e a formação da calicreína que libera o cininogênio e a bradicinina. O fator XIIa ativa o fator XI que permanece firmemente ligado à superfície (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989)

O fator XIa ativa o fator IX (fator anti-hemofílico b),

fator dependente da vitamina K, que fixa o cálcio graças ao resíduo de ácido gama-carboxiglutâmico, e assim permanece fixo à superfície de micelas do fosfolipídios. Na ativação do Fator X intervêm os fatores VIII e IXa, cálcio e fosfolipídios (VAN DIEIJEN, 1981).

O papel do fator VIII na conversão do Fator X ainda não está bem definido. Parece provável que o fator VIII atue como uma proteína reguladora aumentando a taxa de ativação do fator X, do mesmo modo que o fator V acelera a ativação da protrombina (HULTIN, 1982). A interação entre os fatores IX e VIII desenvolve-se lentamente quando estão livres em solução. Entretanto, assim que as moléculas de trombina estimulam as plaquetas expondo a sua superfície fosfolipídica, essa interação desenvolve-se muito mais rapidamente. Os fosfolipídios intervêm como uma superfície catalizantes no sistema intrínseco. Os mesmos são proporcionados pelas plaquetas (Fator Plaquetário 3) (WALSH, 1972).

O sistema extrínseco foi estudado inicialmente por STRAUB & DUCKER, 1961, e refere-se à sequência de reações que ocasionam coagulação após a adição de extratos teciduais e cálcio ao plasma. Neste sistema somente dois fatores da coagulação participam efetivamente na ativação do fator X. A coagulação é desencadeada quando o sangue entra em contato com o fator tecidual (tromboplastina tecidual). Este é uma lipoproteína, identificado como um componente de membrana de numerosas células. Pode ser encontrado no cérebro, pulmões, rins, fígado, baco e grandes vasos. As plaquetas não contém, mas as células endoteliais e os leucócitos apresentam.

O outro fator é uma glicoproteína cuja síntese depende da vitamina K : é o fator VII (serina protease), presente no sangue circulante (PRYDEZ, 1983).

Não se sabe o mecanismo de ação do fator VII, possivelmen-

te circula de modo ativo, porém sua atividade é muito aumentada pelo componente proteico da tromboplastina tecidual. Assim, o fator VII pode ativar o fator X, ligado aos fosfolipídios (MARLER, 1982).

CASTILHO & BASTIDA , 1988 revisam que a ativação da protrombina em sua fase final é comum aos sistemas intrínsecos e extrínsecos do processo de coagulação. A conversão de protrombina a trombina pelo fator X ativado (Xa) requer fosfolipídios, cálcio e fator V. O fator V da coagulação fixa-se solidamente através de ligações hidrofóbicas aos fosfolipídios e, junto com o fator Xa e ions cálcio, atua como cofator não enzimático para a rápida transformação da "protrombinase", que transformará diretamente a protrombina em trombina,. O fator V encontra-se normalmente presente na membrana da plaqueta. O fator Xa pode quebrar a molécula da protrombina em dois locais, reação que pode ocorrer assim que as substâncias se encontrem livres na solução, mas que se produzirá de maneira muito mais eficiente na presença do fator V ligado à superfície de fosfolipídioso.

Verifica-se ainda, segundo as várias revisões citadas, que os sistemas intrínseco e extrínseco de ativação da protrombina não são completamente independentes. A existência de interrelações se reconhece-se quando se demonstra que a trombina é capaz de aumentar a ativação dos fatores VIII e V. Uma deficiência no sistema extrínseco, que é muito rara, origina um atraso na atividade dos fatores VIII e V. A calicreína pode aumentar indiretamente a atividade do fator VII no plasma através da geração, pelo menos, dos fatores XIIa e IXa.

Como pode ser entendido, existem interrelações muito íntimas entre as plaquetas, fatores da coagulação e hemostasia de modo que pequenas alterações em um destes elementos poderia promover anormalidades no processo hemostático como um todo.

2.3 - METABÓLITOS DO ÁCIDO ARAQUIDÔNICO E HEMOSTASIA

Atualmente poucas são as substâncias que determinam tão vasto interesse nos círculos biológicos quanto as prostaglandinas e demais produtos do metabolismo do ácido araquidônico, basta observar números de periódicos especializados nesse assunto.

Em 1930, dois ginecologistas americanos, KURZROK & LIEB, relataram pela primeira vez que fatias de útero humano relaxam-se ou contraem-se quando expostas ao sêmem humano.

GOLDBLATT, 1935 e Von EULER, 1936, descreveram independentemente, a atividade contrátil da musculatura lisa e atividade vaso-pressora no líquido seminal e nas glândulas reprodutoras, tendo Euler identificado o material ativo como um ácido lipossolúvel, a que denominou prostaglandinas, pensando que estas substâncias seriam originárias da prostata somente.

Passaram-se mais de 20 anos antes que os avanços técnicos permitissem a demonstração de que as prostaglandinas representavam, na verdade, uma família de compostos de estrutura característica, derivados do precursor maior no ser humano, o ácido araquidônico.

Dois grupos de pesquisadores independentemente BERGSTROM *et alii* e VAN DORP *et alii*, 1964 mostraram que as prostaglandinas são biossintetizadas de ácidos graxos poliinsaturados essenciais que tem 20 átomos de carbono, daí o termo "eicosa", que inclui como prostanóides somente aqueles cujo esqueleto deriva do ácido prostanóico. O ácido eicosatrienóico (ácido di-homogamalinoleico, C₂₀:3) dá origem às prostaglandinas que possuem somente uma ligação insaturada na sua cadeia lateral o que é indicado pelo algarismo arábico

1. O ácido eicosatetraenóico (C20:4) ou ácido araquidônico e o ácido eicosapentanoico (C 20:5) dão origem às prostaglandinas com 2 (índice 2) e três (índice 3) insaturações, respectivamente.

O ácido araquidônico não se encontra presente sob forma livre na célula, mas esterificado nos fosfolipídios da membrana celular. Pode ser obtido diretamente da dieta ou por dessaturação anabólica e alongamento da cadeia do ácido linoleico, que é obtido também da dieta. Sendo transportado no sangue ligado amplamente à albumina, é incorporado como um componente estrutural de fosfolipídios da membrana celular e outras estruturas subcelulares de todos os tecidos do corpo (RAMWELL, 1977).

Em plaquetas não ativadas, o ácido araquidônico é encontrado esterificado no segundo carbono do glicerol como parte mais importante da fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol (BILL *et alii*, 1976).

BROCKMAN, 1980 verificaram que o ácido araquidônico pode ser formado nas membranas celulares pela ação de fosfolipases sobre estes fosfolipídios. Diversos estímulos químicos e mecânicos podem ativar estas lipases.

Uma vez que o ácido araquidônico livre não parece estar normalmente presente nas células, visto que os ácido graxos livres são tóxicos, e portanto, não se encontram nesta forma em condições fisiológicas, quando liberado são rapidamente metabolizados. A atividade das fosfolipases provavelmente representa um mecanismo principal de controle no metabolismo do ácido araquidônico porém, muitos dos fatores reguladores das fosfolipases não foram ainda bem definidos (FLOWER, 1976).

NUGTEREN, 1975 verificaram que nas plaquetas, a trombina, o

ADP, o colágeno, a adrenalina e os ionóforos catiônicos divalentes, todos estimulam as fosfolipases e levam à liberação de ácido araquidônico.

Agonistas plaquetários tais como a trombina causam uma rápida liberação dos ácido araquidônico dos fosfolipídios (NEUFELD & MAJERUS, 1983). Esta liberação pode ocorrer através de dois caminhos: pela hidrólise direta realizada pela fosfolipase A₂ (BILLS *et alii*, 1977) ou de forma indireta através da fosfolipase C que hidróliza a ligação fosfodiéster da posição 3 dos fosfolipídios, formando por uma parte o fosfato de inositol que possui grande importância nos mecanismos de ativação da agregação plaquetária nos quais se requer reações de fosforilação, e por outra parte se forma um diglicerídeo (diacilglicerol) rico em ácido araquidônico, que rapidamente é hidrolizado pelo sistema de diglicerídeos -lipases, a qual libera o ácido araquidônico.

Embora as relativas contribuições destes dois mecanismos na formação do ácido araquidônico vem sendo extensamente debatidos, verificava-se que a fosfolipase A₂ é responsável pela maior parte do ácido araquidônico liberado durante a ativação plaquetária, enquanto os mecanismos sequenciais da fosfolipase C e lipase diacilglicerol trabalham principalmente sobre os fosfoinositídeos (BELL *et alii*, 1979; PRESCOTT & MAJERUS, 1983 e ENOUF *et alii*, 1987).

Segundo JESSE & FRANSON, 1979 vários fatores podem estar envolvidos com a estimulação da fosfolipase A₂ durante a ativação plaquetária. O primeiro seria a ativação pelo Ca⁺⁺ (cálcio). Vários agonistas plaquetários aumentam a quantidade de cálcio livre no interior do citoplasma plaquetário (GERRARD *et alii*, 1978 e ENOUF *et alii*, 1987). Este aumento estabelece uma via pelo qual os agonistas podem mobilizar o ácido araquidônico. Inicialmente, o agonista estimula a fosfolipase C, causando a hidrólise do fosfoinosítide, com formação de inositol 1,4,5-trifosfato (1,4,6-IP₃), e liberação de

Ca^{++} do sistema tubular denso, e então o cálcio estimula a fosfolipase A_2 (RINK, 1983).

WONG & CHUNG, 1979 verificando que a concentração de Ca^{++} requerida para ativar a fosfolipase A_2 é muito alta sugeriu que a calmodulina poderia modular a atividade desta enzima.

O ácido araquidônico formado pode ser convertido a tres famílias de eicosanóides diferentes originadas cada qual de um tipo de oxigenação do ácido araquidônico : os prostanóides, os leucotrienos e os epóxidos (SAMUELSSON, 1972; MONCADA & VANE, 1982) .

Os prostanóides são formados pela via cicloxigenase, incluindo entre eles os endoperóxidos, os tromboxanas, bem como as prostaglandinas PGD_2 , PGI_2 , PGE_2 . Os leucotrienos são formados através da via lipoxigenase. A epoxigenase, pela via epoxigenase-citocromo P450. Esses três caminhos parecem estar presentes nas plaquetas, mas predomina em maior parte o metabolismo do ácido araquidônico via prostanóides, formando tromboxana (SMITH, 1989).

A cicloxigenase (prostaglandina, sintetase endoperóxido) localiza-se no retículo endoplasmático (sistema tubular denso) nas plaquetas (CAREY et alii, 1982) e cataliza tanto a cicloxigenação do ácido araquidônico quanto a posterior peroxidação destes metabólitos transformando em prostaglandina G_2 (prostaglandina peróxido) (HAMBERG & SAMUELSSON, 1974).

Segundo LAPETINA & CUATRECASAS, 1979, a cicloxigenase plaquetária é irreversivelmente inibida durante esta catálise. A reação de cicloxigenação é inibida reversivelmente pela indometacina, e irreversivelmente pelo ácido acetilsalicílico (SMITH & WILLIS, 1971). Contudo, a reação de peroxidação não é inibida por estas drogas (ROTH & MAJERUS, 1975). Segundo estes mesmos autores a inibição irreversível promovido pela aspirina é devido a acetilação de metade da cicloxigenase.

Em 1979, MONCADA & VANE, verificaram que alguns dos metabólitos do ácido araquidônico, especialmente os metabólitos instáveis tromboxana A₂ e prostaciclina, poderiam modular muitas das reações plaqueta-parede vascular.

A síntese de prostanóides inicia-se através da cicloxigenase que promove o ácido araquidônico a um composto de estrutura cíclica, os endoperóxidos PGG₂ que, sob a ação de uma endoperoxidase é rapidamente convertido a PGH₂. Estas duas prostaglandinas cíclicas são intermediárias extremamente instáveis que rapidamente se convertem a prostaglandinas (PGE₂, PGF₂, PGI₂) e tromboxanas(TXA₂) (HAMBERG & SAMUELSSON, 1974).

Segundo HAMBERG *et alii*, 1974, os endoperóxidos cíclicos são indutores da agregação plaquetária.

A produção de endoperóxidos é acompanhada por um explosivo consumo de oxigênio. Os radicais oxigênio gerados durante este período podem inativar a enzima, limitando assim a conversão adicional do substrato (EGAN *et alii*, 1976).

Uma vez que as plaquetas sintetizam pouca ou nenhuma proteína (KIEFFER *et alii*, 1987), esta desativação da cicloxigenase pelos radicais oxigênio pode prejudicar a síntese subsequente de prostaglandinas e tromboxana e assim representar um importante mecanismo de controle por retroalimentação. Isto poderia ser particularmente importante em plaquetas senescentes ou que se tenham agregado parcial ou reversivelmente (MASON & CHIGNELL, 1982).

HAMBERG & SAMUELSSON, 1974 verificaram que a principal via metabólica das endoperoxidases plaquetárias é a conversão pela enzima tromboxana sintetase a uma tromboxana A₂ altamente instável (T_{1/2} aproximadamente 30 segundos em soluções aquosas e cerca de 5 minutos no plasma).

Esta substância é um vasoconstrictor equipotente à angiotensina II e é o mais potente agente agregador plaquetário conhecido (BUNTING et alii, 1976). O tromboxana A₂ se desintegra espontaneamente em tromboxana B₂, um composto estável desprovido de atividade biológica (HAMBERG et alii, 1974). De forma similar a liberação de ADP pela plaqueta, a síntese de TxA₂ determina um aumento de cálcio citoplasmático e portanto uma ulterior e ampla liberação de ADP (GERRARD & CARROLL, 1981 e BRACE et alii, 1985).

O trabalho de BRASS, 1987, verifica que o TxA₂ difunde-se através da membrana citoplasmática da plaqueta e ativa outras plaquetas. Parece que a liberação de ADP dos grânulos armazenadores na plaqueta, amplia o estímulo inicial da ativação plaquetária. Este processo é efetivo localmente mas é limitado pela breve vida média do TxA₂ em solução, auxiliando na contínua propagação da ativação plaquetária na área original da injúria.

Tal aumento do cálcio citoplasmático se deve a que a TxA₂ transporta cálcio do sistema tubular denso da membrana até o citoplasma contribuindo para o aumento da concentração de cálcio na plaqueta o que favorece sua agregação e reação de liberação para ampliação do tampão hemostático (GERRARD et alii, 1978).

Foi demonstrado por alguns autores que as plaquetas possuem receptores para as prostaglandinas PGD₂, PGI₂ e PGE₁ que ao se ligarem na superfície plaquetária estimulam a adenilciclase, que por sua vez eleva a concentração de AMPc inibindo a função plaquetária (GORMAN et alii, 1977).

WEKSLER, 1982, verificou que os endoperóxidos intermediários formados na célula endotelial são transformados em prostaciclina (PGI₂) por meio da prostaciclina sintetase assumindo caracterís

ticas biológicas opostas, com capacidade vasodilatadora e antiagregante plaquetária.

Torna-se importante ressaltar, que os metabólitos do ácido araquidônico formados a partir de precursores comuns, como os endoperóxidos intermediários, formam substâncias de ação biológica contrapostas, como a TxA_2 e PGI_2 , que por sua vez fornecem um delicado balanço no que se fundamenta a homeostasia fisiológica.

A PGI_2 uma vez formada pelas células do endotélio é secretada nos fluidos adjacentes, liga-se ao receptor da superfície plaquetária (SCHAFER *et alii*, 1979 e MILLER & GORMAN, 1979), estimulando assim, a adenilciclase que por sua vez, eleva o AMPc, além de suprimir a ligação de outros agonistas plaquetários e fatores da coagulação como Fator VIII / Fator vW e fibrinogênio (SCHAFER *et alii*, 1979; EHRMAN & JAFFE, 1980).

A síntese e a liberação de PGI_2 pode ser modulada por vários agonistas fisiológicos. A síntese de PGI_2 pode ser estimulada pela trombina, histamina, bradicinina, alguns fatores séricos produzidos durante a coagulação, calicreína, interferon, mudanças da forma de stress do fluxo sanguíneo, neutrófilos ativados, angiotensina, leucotrienos C_4 , D_4 e etc. A inibição de sua síntese ocorre na presença de plasmina, factor growth fibroblast (FGF) e algumas drogas (SCHAFER *et alii*, 1982 e WEKSLER, 1970). A inibição da produção de PGI_2 aumenta a adesão de plaquetas estimuladas às células endoteliais. (CERVIONKE *et alii*, 1979).

Segundo JAFFE & WEKSLER, 1979, a aspirina em baixas doses pode inibir a produção de PGI_2 . Outras drogas também podem inibir a síntese de PGI_2 , como por exemplo: as drogas antiinflamatórias não esteróides (indometacina), a ciclosporina, (BROW *et alii*, 1980) através da inibição da cicloxogenase; o minoxidil, através da interação direta com o grupamento heme ativo da prostaciclina sintetase (HERKER & ULLRICH, 1988) e a dexametasona, através da inibição da

liberação de PGI_2 de acordo com HULLIN *et alii*, 1989.

Células endoteliais podem também converter endoperóxidos secretados pelas plaquetas em PGI_2 ; este mecanismo é provavelmente mais importante em microvasculatura, onde relação célula endotelial\plaqueta é 1:1, isto é relativamente elevada (MARCUS *et alii*, 1980).

O metabolismo do ácido araquidônico através do sistema enzimático da lipoxigenase produz fundamentalmente os denominados ácidos monohidroxicarboxílicos. Este sistema enzimático localiza-se no citoplasma das plaquetas, nas células endoteliais e nos leucócitos, produzindo em cada um dos tipos de célula, derivados monohidroxicarboxílicos que diferem na posição do grupo hidroxilo. As plaquetas produzem o ácido 12-L-hidroxi-eicosatetraenoico (12-HETE) e seu precursor o 5-HPETE, que atuam como moduladores negativos inibindo a cicloxigenase (SIEGEL *et alii*, 1979) e a tromboxano sintetase limitando, por sua vez, a ativação plaquetária (AHARONY *et alii*, 1982 e VERICEL & CARGADE, 1980).

A hemostasia, conforme revisto neste trabalho, é um processo que preserva o sangue dentro do vaso sanguíneo. É um complicado e eficiente sistema, que busca a interação entre respostas de vasos sanguíneos, plaquetas e fatores da coagulação, mediados intimamente por metabólitos do ácido araquidônico. Assim, alterações no metabolismo deste ácido graxo podem facilmente conduzir a anormalidades na hemostasia.

2.4 - ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO- ESTERÓIDES E HEMOSTASIA

As drogas representam a causa mais comum de disfunções plaquetárias em sociedades excessivamente medicadas. Por exemplo uma

análise de 72 pacientes hospitalizados com prolongamento do tempo de sangramento, 54% haviam recebido largas doses de antibióticos que conhecidamente prolongam o tempo de sangria e 10% haviam ingerido aspirina ou outras drogas antiinflamatórias não esteroidais (WISLOFF & GODAL, 1981).

Defeitos qualitativos na função plaquetária tem sido descritos devido a administração de vários agentes farmacológicos (WEISS, *et alii*, 1968 e O'BRIEN, 1968).

SINGER, 1945, foi o primeiro a relatar que a aspirina seria um possível agente hemorrágico em pacientes submetidos a tonsillectomia.

Mais tarde outros autores (WEISS & ALEDORT, 1967 e WEISS *et alii*, 1968), confirmaram a interferência do ácido acetilsalicílico sobre o Tempo de Sangria. O mecanismo encontrado foi a acetilação e irreversível inibição da cicloxigenase plaquetária (SMITH & WILLIS, 1971; ROTH & SIOK, 1978 e BURCH *et alii*, 1978).

Como a capacidade de sintetizar proteínas nas plaquetas é mínima, uma pequena e única dose de aspirina, 80 a 100 mg (PATRIGNANI *et alii*, 1982) ou 10 mg administrados por uma semana (KALLMANN *et alii*, 1987) pode inibir a função plaquetária por quatro a sete dias, tempo mais ou menos correspondente à sobrevida plaquetária na circulação.

Depois da exposição de plaquetas a aspirina ou *in vivo* ou *in vitro* a agregação plaquetária é diminuída ou prejudicada. Portanto, as plaquetas passam a não responder devidamente aos agonistas como ADP, epinefrina, ácido araquidônico e baixas concentrações de colágeno e trombina (WEISS *et alii*, 1968).

Essas anormalidades são resultado direto da inibição da ciclooxigenase que causa síntese deficiente do produto final do metabolismo do ácido araquidônico nas plaquetas, TXA₂ (SMITH & WILLIS, 1971; ROTH *et alii*, 1978 e FITZGERALD *et alii*, 1983).

Agonistas potentes , tais como altas concentrações de trombina e colágeno não requerem síntese de TXA₂ para causar a reação de liberação plaquetária e a agregação irreversível. A ocorrência de resposta completas de plaquetas na presença de inibição total da enzima ciclooxigenase, ilustra que existem muitos caminhos na ativação plaquetária, que poderiam explicar porque indivíduos normais usualmente exibem hemostasia normal mesmo fazendo uso de aspirina (CHARO *et alii*, 1977).

A aspirina também acetila a ciclooxigenase de células endoteliais, bloqueando a síntese do produto final do metabolismo de eicosanóides nas células endoteliais, PGI₂, um forte inibidor da função plaquetária. Porém, a enzima endotelial é menos sensível que a ciclooxigenase plaquetária para doses baixas de aspirina (PRESTON *et alii*, 1981 e WEKSLER *et alii*, 1983). Em contraste com as plaquetas, nas células endoteliais submetidas à exposição da aspirina podem recorrer a atividade da ciclooxigenase através da síntese de uma nova enzima. Por esta razão, uma consideração para a escolha da terapêutica com a aspirina tem sido o uso de baixas doses, minimizando a inibição da síntese de PGI₂ pelas células endoteliais, que poderia induzir um efeito pró-trombótico. ()

O'GRADY & MONCADA , 1978, relataram que pequenas doses de aspirina (0,3g) aumentam o tempo de sangria 2 horas depois da ingestão, enquanto que uma dose elevada (3,9g) não tem efeito.

Por outro lado, MIELKE ,1983, verificou em indivíduos normais, que após doses únicas de 650 a 975 mg houve prolongamento do

Tempo de sangria a partir de 2h após a ingestão, permanecendo alterado por pelo menos 4 dias após.

PRESTON *et alii*, 1981, verificaram que pequenas doses únicas de aspirina (150 a 160 mg) que consistentemente causam agregação plaquetária anormal, não resultam em um tempo de sangria prolongado; porém, a ingestão diária de 30 mg de aspirina (mas não 10 mg) produz um aumento do tempo de sangria (KALLMAN *et alii*, 1987).

THRONGREN & GUSTAFSON, 1983, verificaram que a dose de 5mg/kg prolongou o tempo de sangria em 134% quando comparado com o prolongamento de 51% promovido pelas doses de 3,5 mg/Kg e 10mg/Kg.

GAETANO *et alii*, 1985 e HANSON *et alii*, 1985, sugerem que o mecanismo envolvido na inibição da cicloxigenase, não explica totalmente o efeito antitrombótico da aspirina. Por esta razão, é melhor assumir que a prevenção da trombose pela aspirina tem pelo menos dois mecanismos, um dos quais é a inibição da cicloxigenase plaquetária.

GASPARI *et alii*, 1987, vieram a reafirmar que embora o efeito da aspirina sobre a função da cicloxigenase plaquetária esteja claro, pode não ser somente este o mecanismo pelo qual a aspirina interfere com a hemostasia.

BJORNSSON *et alii*, 1989, verificaram que a aspirina em doses terapêuticas acetila o fibrinogênio o que interfere significativamente na formação de fibrina e permite ainda uma fibrinólise acelerada.

WEISMANN, 1991, sugere que a aspirina também atuaria a nível de receptores da membrana lipoproteica impedindo que substâncias pró-inflamatórias e estímulos lesivos se liguem a receptores que aí

existem, impedindo também a agregação de neutrófilos e possivelmente plaquetas em local inflamado.

De forma semelhante à aspirina, muitas outras drogas empregadas como antiinflamatórios ou analgésica podem também causar diminuição da agregação plaquetária (ZUCKER & PETERSON, 1970, O'BRIEN, 1970; ALI & MCDONALD, 1978; SIMON & MILLS, 1980 e McQUEEN & FACOORY, 1986).

Similarmente à aspirina, o mecanismo de ação dos antiinflamatórios não esteróides (NSAID) parece ser a inibição da atividade da ciclooxigenase plaquetária. Em contraste com a aspirina, cada um destes agentes tem somente um efeito temporário sobre a função da ciclooxigenase causando inibição da enzima somente enquanto a atividade da droga está presente na circulação. Por esta razão, dentre estas drogas, somente o piroxicam, que tem uma meia vida de mais de dois dias, (McQUEEN & FACOORY, 1986), afeta as plaquetas por mais que poucas horas. De um modo geral, estes NSAID prolongam minimamente o Tempo de Sangria transitoriamente e com uma intensidade menor que aquele produzido pela aspirina.()

Embora o risco de hemorragia com estas drogas usualmente desaparece em poucas horas após cessado o tratamento, é aconselhável, em casos de cirurgia, para evitar um sangramento adicional, a parada do tratamento pelo menos dois dias antes da intervenção.()

MIELKE *et alii*, 1976, observaram que analgésicos tais como o acetaminofem não inibem a função plaquetária e não causam nenhum efeito adverso sobre a hemostasia.

De qualquer modo, a redução sistêmica dos níveis de PGs é julgado ser o responsável não somente pela eficácia terapêutica dos NSAID, mas também para os bem conhecidos efeitos colaterais, especi-

lamente intolerância gastrointestinal e anormalidades hemostáticas.

Para superar estas limitações, compostos antiinflamatórios que mostraram outros modos de ação vem sendo intensivamente investigados nos últimos anos.

Desenvolvimentos recentes de pesquisa levaram à síntese de substâncias dotadas de ação inibidora da lipoxigenase (e por isso com uma função anti-leucotriênica) ou dos chamados " scavengers" dos radicais, isto é, fármacos que eliminam do local da inflamação o excesso de radicais livres produzidos pelos macrófagos e polimorfonucleares.

Liberados pelos lisossomas para assumir um papel defensivo nos confrontos com as bactérias, os radicais livres podem revelar-se citotóxicos no confronto dos próprios leucócitos e podem alterar quimicamente estruturas teciduais(MASON & CHIGNELL, 1982).

Um interesse apropriado nesta direção foi a caracterização do MK 447 por KUEHL *et alii*, 1977 . Este composto que sequestra radicais livres de oxigênio tem mostrado propriedade antiinflamatória não ulcerogênica em animais laboratoriais.

Como os radicais de oxigênio são extremamente citotóxicos e exibem propriedades pró-inflamatória(FORD *et alii*, 1984), a atividade antiinflamatória dos compostos semelhantes ao MK 447 pode ser explicada pela propriedade dos mesmos em sequestrar estes radicais livres ("scavengers").

De acordo com VIGDAHL *et alii*, 1977 ,a atividade antiinflamatória de alguns metano sulfonilides (ex. R 805 = nimesulide) poderia estar relacionada com tal propriedade "scavengers".

Segundo RUFER *et alii*, 1982, o nimesulide agiria como um "scavenger" dos radicais, entendido não no sentido clássico do fármaco que elimina os radicais livres recém formados, mas como fármaco que, no âmbito da cascata do ácido araquidônico, lhes limita diretamente a formação. A classe dos metano sulfonilides à que o nimesulide pertence, representa um grupo de compostos antiinflamatórios que, ao menos, em parte influenciam a síntese de PGs por outro mecanismo que os clássicos NSAID.

CHANG *et alii*, 1976, verificaram que o nimesulide (4-nitro -2 fenoximetanosulfonilide) além de apresentar propriedade antiinflamatória possui atividade antipirética e analgésica.

O perfil farmacológico da droga sugere que seus efeitos antiinflamatórios não estão diretamente relacionados com sua atividade anti-prostaglandina . De fato, encontra-se analgesia com testes " periféricos" (testes de Randall-Selitto e WRITHING) mas não quando a dor é evocada por mecanismos que agem nos níveis centrais (teste de Haffner), quando se considera que a anti-nocicepção é independente da inibição da prostaglandina sintetase (BEVILACQUA *et alii*, 1988).

Na realidade, nimesulide tem uma potente atividade antiinflamatória (RUFER *et alii*, 1982 e CARR *et alii*, 1986) quando é testado em modelos animais in vivo, ou em sistema isolado (pulmões) quando a inflamação é induzida pelo ácido araquidônico. Nestes modelos, apresenta uma poderosa atividade anti-prostaglandina sintetase.

Em contraste, o nimesulide não apresenta atividade anti-prostaglandina em animais normais, sugerindo que, ao contrário de outras drogas (aspirina, indometacina) , o nimesulide não tem capacidade de exercer atividade anti-prostaglandina quando o sistema enzimático não é ativado (CARR *et alii*, 1986).

Foi sugerido que a inibição da Pg-sintetase pelo nimesulide e compostos a ele relacionados não é direta mas mediada pela subtração dos cofatores oxigenados (peróxidos lipídicos) do meio. O poderoso efeito do nimesulide sobre a produção de O_2^- pelos neutrófilos polimorfonucleares poderia ser a explicação de seu efeito secundário sobre a PG-sintetase somente quando a PG-sintetase é ativada pelo O_2^- (cofator) (BEVILACQUA *et alii*, 1988).

Em 1976, VIGDAHL & TUKEY, foram os primeiros pesquisadores a realizar um trabalho com o grupo dos sulfanonilides na tentativa de verificar sua interferência no metabolismo do ácido araquidônico. Verificaram que além do nimesulide inibir a síntese de prostaglandinas dos microsomas de vesículas seminais bovinas são capazes de inibir a agregação de plaquetas humanas induzida pelo ácido araquidônico de modo dose dependente.

Estes mesmos pesquisadores observaram também que o nimesulide inibe igualmente a formação de PGE_2 e PGF_2 , o que sugere o bloqueio da formação de endoperóxidos. Porém, a inibição da agregação que se compara a mesma produzida pela fenilbutazona e NSAID derivados carboxílicos e a inibição da ciclooxigenase não reflete sua atividade "in vivo".

Em 1984, CASCIARRY *et alii*, relataram que o nimesulide na dose de 1mg/Kg administrado por via oral em ratos, não afetou a citoproteção realizada pelas prostaglandinas (PGE_2 e 6-keto- PGF_1 alfa) nem a produção de TxB_2 na mucosa gástrica.

CARR *et alii*, 1986 observou que o nimesulide exibiu uma pronunciada dissociação entre a potência antiinflamatória e a potência lesiva gastrointestinal, resultando em um índice terapêutico maior de cinquenta vezes. Este potente antiinflamatório somente causou efeitos colaterais gastrointestinais em altas doses (> 100 mg/Kg

via oral) e a formação de TxB_2 foi significativamente inibida (~80%) com 10mg/Kg mas não com 1mg/Kg.

3 - PROPOSIÇÃO

Sendo o Nimesulide , um antiinflamatório não-esteroidal, recentemente introduzido no mercado farmacêutico e admitindo-se que o mesmo possa interferir de alguma forma na liberação dos metabólitos do ácido arquidônico, objetivou-se neste trabalho:

1. Verificar os efeitos do Nimesulide(NMSL), quando empregado em duas doses de 3mg/Kg de peso em intervalo de 6h, sobre os Tempo, de Sangria (TS), Coagulação sanguínea (TC), Contagem de Plaquetas (CP) e Microhematócrito, em ratos;
2. Estudar comparativamente os resultados obtidos do tratamento com Nimesulide e Ácido Acetilsalicílico (AAS) em dose única de 5mg/Kg de peso, cuja interferência nos mecanismos hemostáticas, já está comprovada;

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - UNIDADE EXPERIMENTAL :

4.1.1 - Selecionamento

O experimento foi executado em um total de trinta ratos (*Rattus norvegicus albinus Wistar*), spf, machos, adultos (120 dias), pesando em média $270 \pm 10g$ (Anexo 1). Obtidos do Centro de Bioterrorismo da UNICAMP.

Após o desmame, os animais foram alimentados com ração balanceada marca PURINA - LABINA, especial para criação de ratos, e receberam água "ad libitum".

Uma semana antes dos animais atingirem a idade e o peso desejado foram sorteados, distribuídos em três caixas e colocados no laboratório em que seriam submetidos ao tratamento e mantidos no mesmo até o final do experimento.

4.1.2 - Distribuição dos Grupos Experimentais

Os ratos foram divididos, ao acaso, em três grupos experimentais, com dez ratos cada:

GRUPO 1 :- As unidades experimentais deste grupo foram tratados com solução de NaCl a 0,9 %, em dose única (volume equivalente aos demais tratamentos estabelecidos), administrada por via oral com auxílio de uma sonda orogástrica, imediatamente após a primeira medida dos valores hemostáticos, constituindo-se, portanto no grupo **CONTROLE**;

GRUPO 2 :- As unidades experimentais deste grupo foram tratadas com nimesulide* preparado em solução de 1mg/ml, administrado por via oral, através de sonda orogástrica, obedecendo o seguinte esquema posológico: administração da dose de 3mg/Kg de peso imediatamente após a primeira medida dos valores hemostáticos, e a segunda administração, dose de 3mg/Kg de peso, também por via oral, 6h após a primeira dose, perfazendo um total de 6mg/Kg de peso;

GRUPO 3 :- As unidades experimentais deste grupo foram tratadas com ácido acetilsalicílico (AAS)** , preparado em solução 1mg/ml, em dose única de 5mg/Kg de peso, administrado, por via oral, através de sonda orogástrica, imediatamente após a primeira medida dos valores hemostáticos.

* NIMESULIDE : foram utilizados comprimidos SCAFLAN^R, 100mg comercializados pela Indústria Schering Plough S.A. e preparados em solução de NaCl 0,9% na concentração de 1mg/ml, no momento da administração.

** ÁCIDO ACETILSALICÍLICO: foram utilizados comprimidos de ALIDOR^R, 500mg, comercializados pela Indústria Hoechst do Brasil Química e Farmacêutica S.A. e preparados em solução NaCl 0,9%, na concentração de 1mg/ml, no momento da administração;

Nos três grupos experimentais a administração oral foi realizada respeitando os cuidados e técnicas descritas por CONYBEARE & LESLIE, 1987.

A administração das drogas se fez após 6h de jejum com água "ad libitum", objetivando com isso, maior biodisponibilidade das drogas utilizadas, não permitindo que fatores como a interação droga-alimento e a velocidade de esvaziamento gástrico interfiríssem na absorção e conseqüentemente na latência das drogas.

A ração foi colocada novamente, 40 minutos após a administração das drogas;

Uma vez feita a distribuição, as unidades experimentais de cada grupo foram submetidas aos procedimentos experimentais que seguem, através de modelos de estudos distintos respeitando o teste a ser executado.

4.2 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS - MÉTODOS DE ESTUDO

4.2.1 - Determinação do TEMPO de SANGRIA

4.2.1.1 - Materiais

Os materiais utilizados para a realização desta determinação foram: papel de filtro para limpar as gotas de sangue, crômetro, gaze e algodão hidrófilo para assepsia, lancetas, cuba anestésica e éter sulfúrico.

4.2.1.2 - Procedimento

Para medir o Tempo de Sangria (TS) foi utilizado o método descrito por DUKE, 1910.

Os animais de cada grupo foram submetidos a rápida anestesia geral, através da aspiração de éter em cuba anestésica e posteriormente submetidos ao teste em questão.

A extremidade da orelha do animal após assepsia, foi punccionada com auxílio de uma lanceta, cuja extremidade, de tamanho padrão de penetração na epiderme proporcionou uniformidade à lesão tecidual induzida.

No momento em que o sangue começava a fluir o crônômetro era disparado (Fig. 1) e de 15 em 15 segundos, a gota de sangue era limpada com papel de filtro (Fig. 2) até o momento que cessasse o sangramento, considerando-se então, este, como sendo o Tempo de Sangria.



Figura 1- Gota de sangue fluindo da orelha esquerda do animal (seta).



Figura 2 - Técnica para determinação do Tempo de Sangria. Método de Duke (1910).

4.2.2 - Determinação do TEMPO de COAGULAÇÃO

4.2.2.1 - Materiais

Para esta determinação foram utilizados tubos para micro-hematócrito (Clay-Adams-U.S.A.; length 75mm; O.D. 1.50mm; I.D. 1.10 mm); cronômetro; gaze e algodão hidrófilo; cuba anestésica; tesoura grande; linha para sutura; éter etílico; solução de NaCl a 0,9%; solução de álcool iodado a 70%;

4.2.2.2 - Procedimentos

Para medir o Tempo de Coagulação sanguínea (TC) foi utilizado o método do tubo capilar, padronizado por SABRAZÉS, 1904.

Os animais de cada grupo foram submetidos a uma rápida anestesia geral, através da aspiração de éter em cuba anestésica e posteriormente submetidos ao teste em questão.

Foi realizada a limpeza e assepsia da cauda dos animais com solução de NaCl a 0,9% e álcool iodado a 70%. Uma pequena incisão na cauda era feita para a coleta do sangue em dois tubos capilares. No momento em que o sangue começava a fluir o crômetro era disparado.

Os capilares preenchidos com sangue eram partidos de 30 em 30 segundos até o momento que se verificasse a formação do filamento de fibrina que estaria unindo as duas extremidades do capilar quebrado (Fig.3), constituindo-se então, este o Tempo de Coagulação.

Uma vez observado nos dois capilares o filamento de fibrina calculava-se a média do tempos obtidos.

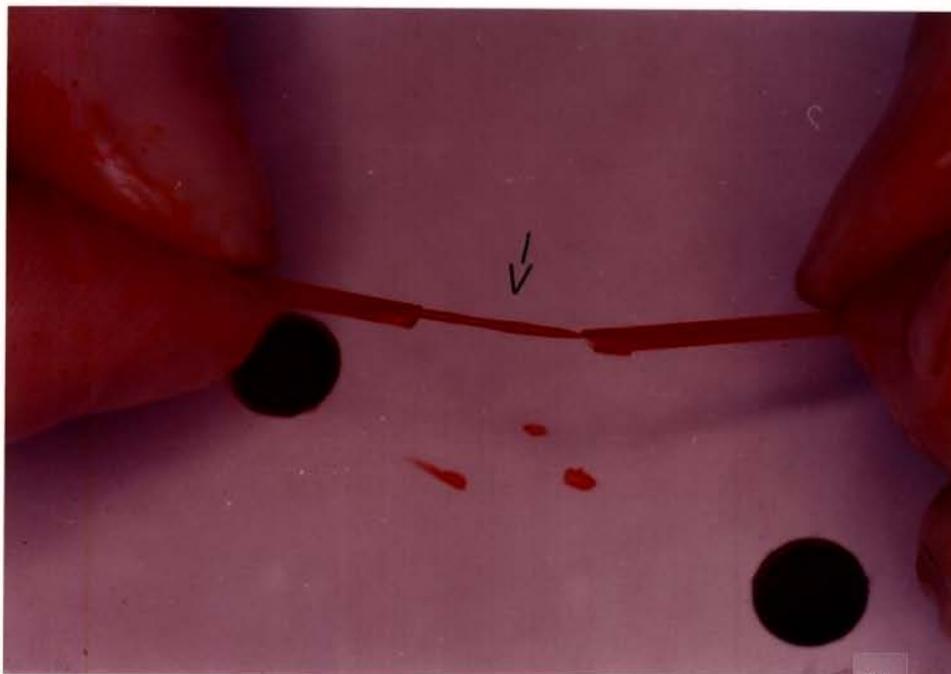


Figura 3- Sangue coagulado dentro do capilar fraturado. Método utilizado para determinar o Tempo de Coagulação pela técnica de Sabrazés (1904).

4.2.3 - Determinação da CONTAGEM de PLAQUETAS

4.2.3.1 - Materiais

Para esta determinação foram utilizados câmaras de Neubauer; líquido diluidor de plaqueta; EDTA a 10%; frasco tipo penicilina para coleta do sangue; tesoura grande; linha de sutura; microscópio com objetivas e oculares com resolução de 40x e 10x respectivamente; placas de petri para o acondicionamento das

câmaras preenchidas ; tubos de ensaio pequenos; suporte para tubos de ensaio; pipeta de 10 ml; tubos de micro-hematócrito para preencher a câmara; algodão embebido em água para manutenção da umidade no interior da placa de petri com a câmara;

4.2.3.2 - Procedimentos

O exame quantitativo das plaquetas, fornece concentração de cada um dos tipos de células num dado volume de sangue.

A unidade de volume para as contagens de células tem sido tradicionalmente o milímetro cúbico (mm^3) devido às dimensões da câmara de contagem.

Os procedimentos para contagem de plaquetas incluem tres etapas : a diluição do sangue, a tomada de um volume certo da suspensão diluída e a contagem das células nesse volume.

A contagem foi feita pelo método hemocitométrico, BRECHER & CRONKITE, 1964.

O sangue foi coletado (-/+ 0,6 ml) em um frasco contendo EDTA a 10% (20ul/frasco). Utilizou-se 2ml do líquido diluidor de plaquetas e 0,02ml do sangue total. Após a homogeneização branda e utilizando-se um tubo capilar , o hemocitômetro era preenchido. O tipo de hemocitômetro utilizado foi a câmara de contagem Newbauer que contém a quadrícula (ou retículo) quadrado medindo 3mm por 3mm (9mm^2), subdividido em nove quadrados secundários, cada um deles com $1 \times 1\text{mm}$ (1mm^2).

O quadrado secundário central de 1mm^2 está dividido em 25

quadrados terciários, cada um dos quais mede 0,2 x 0,2mm. Cada um destes 25 quadrados está por sua vez subdividida em 16 quadrados quaternários. Em regra utilizam-se cinco quadrados terciários, contendo 80 quadrados quaternários, para contagem das plaquetas. Em seguida a câmara era colocada em uma Placa de Petri contendo algodão úmido, por quinze minutos, para que ocorresse o assentamento das plaquetas em um único plano óptico.

Utilizou-se a resolução microscópica de 400x, isto é objetivas com resolução de 40x e oculares de 10x.

Para o cálculo do número final de plaquetas, contados nos cinco quadrados terciários do quadrado secundário central foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{N}^{\circ} \text{ PLAQUETAS por mm}^3 = \text{n}^{\circ} \text{ plaquetas contadas} \times 5 \times 1000$$

4.2.4 - Determinação do MICROHEMATÓCRITO

4.2.4.1 - Materiais

Para esta determinação foram utilizados tubos capilar para microhematócrito; centrífuga microhematócrito; régua graduada para microhematócrito; EDTA a 10%; frasco para coleta de sangue; "micro-queimador";

4.2.4.2 - Procedimentos

O hematócrito de uma amostra de sangue é a razão entre o volume de eritrócitos e o volume do sangue vezes 100. Traduz, então, a concentração de eritrócitos no sangue e não a massa total de eritrócitos. Exprime-se em forma de fração decimal ou, de preferência, sob a forma de porcentagem.

Foi utilizado o sangue coletado para a contagem de plaquetas. O tubo capilar de microhematócrito foi preenchido por atração capilar até a metade. A extremidade cheia foi selada na pequena chama de um micro-queimador. O tubo foi colocado na ranhura radial da cabeça da centrífuga de microhematócrito com a extremidade selada para o lado oposto ao centro. Centrifugou-se por cinco minutos a 5.000 r.p.m.. O comprimento total da coluna e o comprimento da coluna dos eritrócitos, foram medidos com uma régua graduada para microhematócrito.

4.3 - SISTEMATIZAÇÃO DOS MÉTODOS DE ESTUDO AOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

As unidades experimentais, uma vez pesadas foram codificadas para a obtenção das amostras de sangue, quanto ao seu número (1 a 10), ao tipo de tratamento [NaCl 0,9% (Salina), Nimesulide ou Ácido Acetilsalicílico] e ao horário da coleta (A= antes do tratamento; B= 2h pós-tratamento; C= 24h pós-tratamento; D= 48h pós-tratamento; E= 72h pós-tratamento; F= 96h pós-tratamento).

Assim, por exemplo a numeração 1NA corresponde ao rato número 1, do tratamento Nimesulide e esta amostra foi coletada antes do tratamento.

Foi elaborada também uma ficha para cada amostragem, apresentada a seguir:

AMOSTRAGEM: 1NA	
TEMPO DE SANGRIA: _____	TEMPO DE COAGULAÇÃO: _____
CONTAGEM DE PLAQUETAS: _____	MICROHEMATÓCRITO: _____

Cada unidade experimental, no final do estudo e das determinações nos vários tempo estudados, apresentava 6 fichas delimitando o perfil do comportamento de cada tratamento instituído.

Uma vez submetido a rápida anestesia imediatamente eram feitas simultaneamente as 4 determinações (Tempo de Sangria, Tempo de Coagulação, Contagem de Plaquetas e Microhematócrito).

4.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A partir dos dados coletados foi feita uma Análise de Variância (inteiramente ao acaso) para cada tempo. Para os casos em que a Análise de Variância foi significativa realizou-se então, o Teste de TUKEY (VIEIRA, 1989). Em ambos utilizou-se nível de significância 5%.

5 - RESULTADOS

Os resultados obtidos estão abaixo ordenados segundo as determinações realizadas nos diversos tempos estudados em cada grupo experimental e respectiva análise estatística empregada. Assim temos:

5.1 - As tabelas de 2 a 26 e figuras 4 a 10 expressam os valores médios obtidos do Tempo de Sangria e a respectiva análise estatística empregada.

5.2 - As Tabelas de 27 a 48 e figuras 11 a 17 expressam os valores médios obtidos do Tempo de Coagulação e a respectiva análise estatística utilizada.

5.3 - As tabelas de 49 a 66 e figuras 18 a 24 expressam os valores médios obtidos da Contagem de Plaquetas e a respectiva análise estatística utilizada.

5.4 - As Tabelas 67 a 68 e a figura 25 expressam os valores médios obtidos do Microhematócrito e a respectiva análise estatística.

As tabelas obtidas para cada tratamento estão alocadas no item Anexo 2 onde mostram o perfil das determinações em cada um dos grupos nos diversos períodos estudados.

5.1 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE SANGRIA

5.1.1 - Análise comparativa dos três tratamentos período por período.

5.1.1.1 - Antes dos Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos antes da administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Média dos valores do Tempo de Sangria, expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	100,0	90,0	103,5
std	7,5	3,4	3,5

Os valores médios apresentados na Tabela 2 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 2.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	981,66	490,83	1,75
Resíduo	27	7552,50	279,72	
Total	29	8534,16		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

O Valor de F, apresentado na Tabela 3, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria, antes dos tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 4 ilustra a Tabela 2, relacionando o Tempo de Sangria (seg) em função do Período (h) decorrido, após os três tratamentos respectivamente.

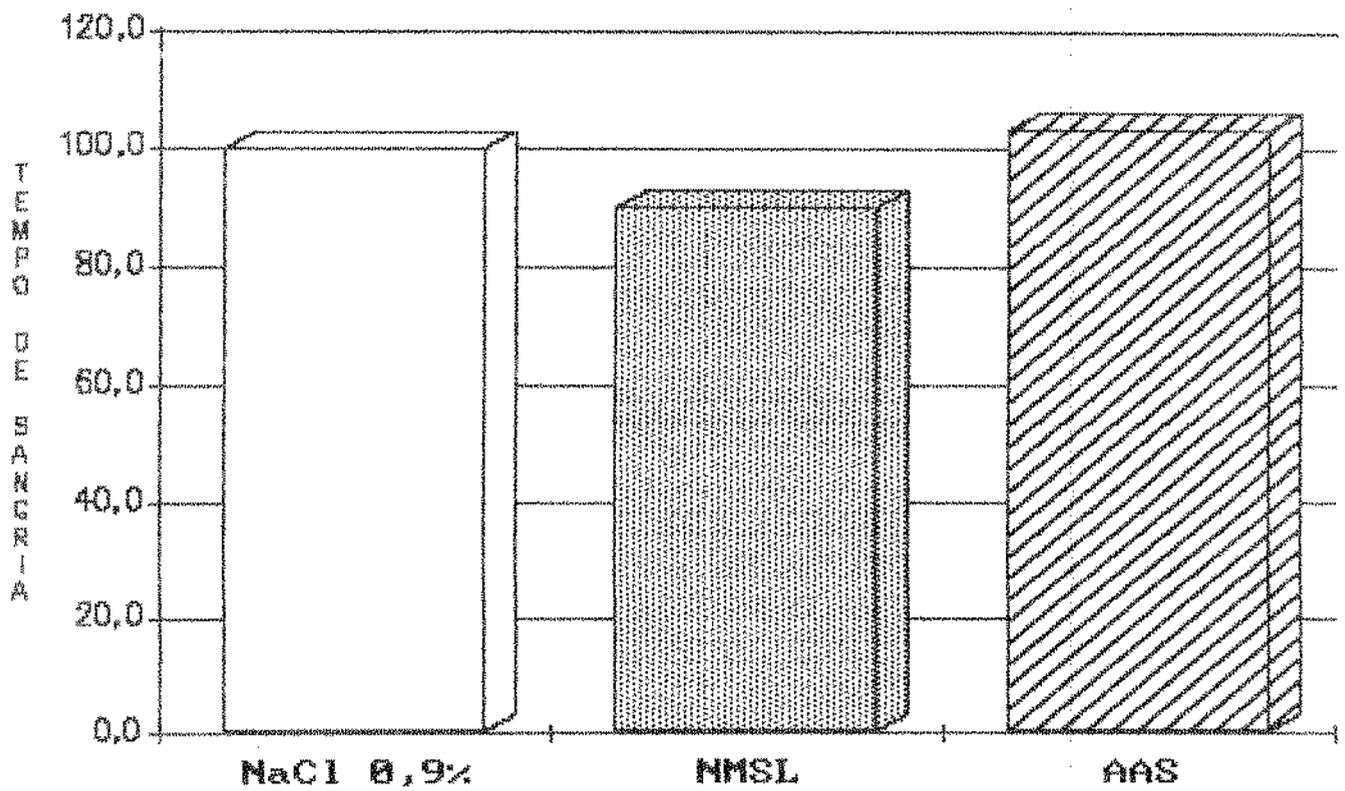


Figura 4 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes do tratamento com NaCl a 0,9% , NMSL e AAS .

5.1.1.2- 2h (duas horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos duas horas após a administração das drogas respectivamente e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), 2h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	99,0	117,0	150,0
std	4,5	4,8	6,3

Os valores médios apresentados na Tabela 4 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 5.

Tabela 5 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 4.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	13380,00	6690,00	*23,61
Resíduo	27	7650,00	283,33	
Total	29	21030,00		

Observa-se na Tabela 5 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria 2h após o tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL.como mostra a Tabela 6 a seguir.

Tabela 6 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria 2h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	99,0	a
NMSL	117,0	a
AAS	150,0	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 18,68

Para ilustrar os resultados da Tabela 4 foi elaborada a Figura 5, que relaciona Tempo de Sangria (seg) em função do Período (h) decorrido após os três tratamentos.

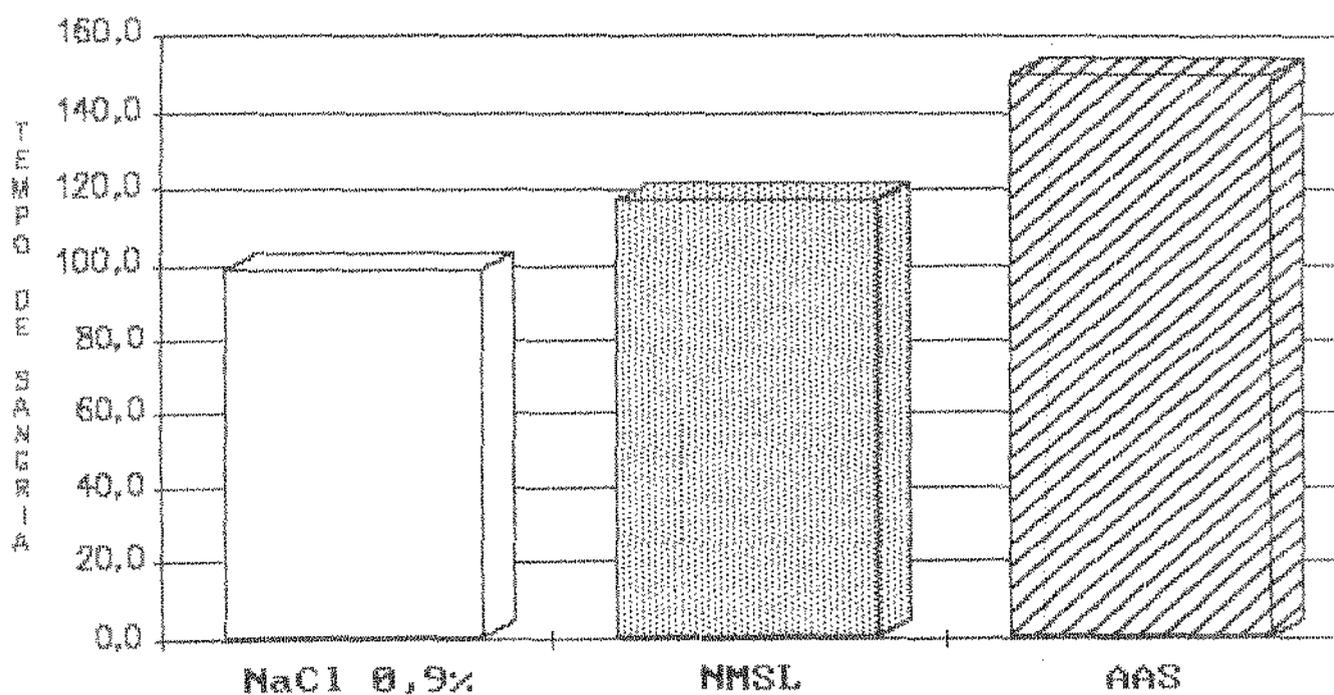


Figura 5 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, decorrido 2h após os tratamentos com NaCl a 0,9% , NMSL e AAS .

5.1.1.3 - 24h (vinte e quatro horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos 24h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 7.

Tabela 7 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (STD), 24h após da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	103,3	118,5	139,5
std	3,9	5,7	4,5

Os valores médios apresentados na Tabela 7 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 8.

Tabela 8 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 7.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	6293,97	3146,98	*14,05
Resíduo	26	5825,00	224,04	
Total	28	12118,97		

Observa-se na Tabela 8 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria 24h após de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL.

Tabela 9 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria 24h após do tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	103,3	a
NMSL	118,5	a
AAS	139,5	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 16,92

Para ilustrar os resultados da Tabela 7 observe a Figura 6 que relaciona Tempo de Sangria (seg) em função do Período (h) decorrido após os três tratamentos.

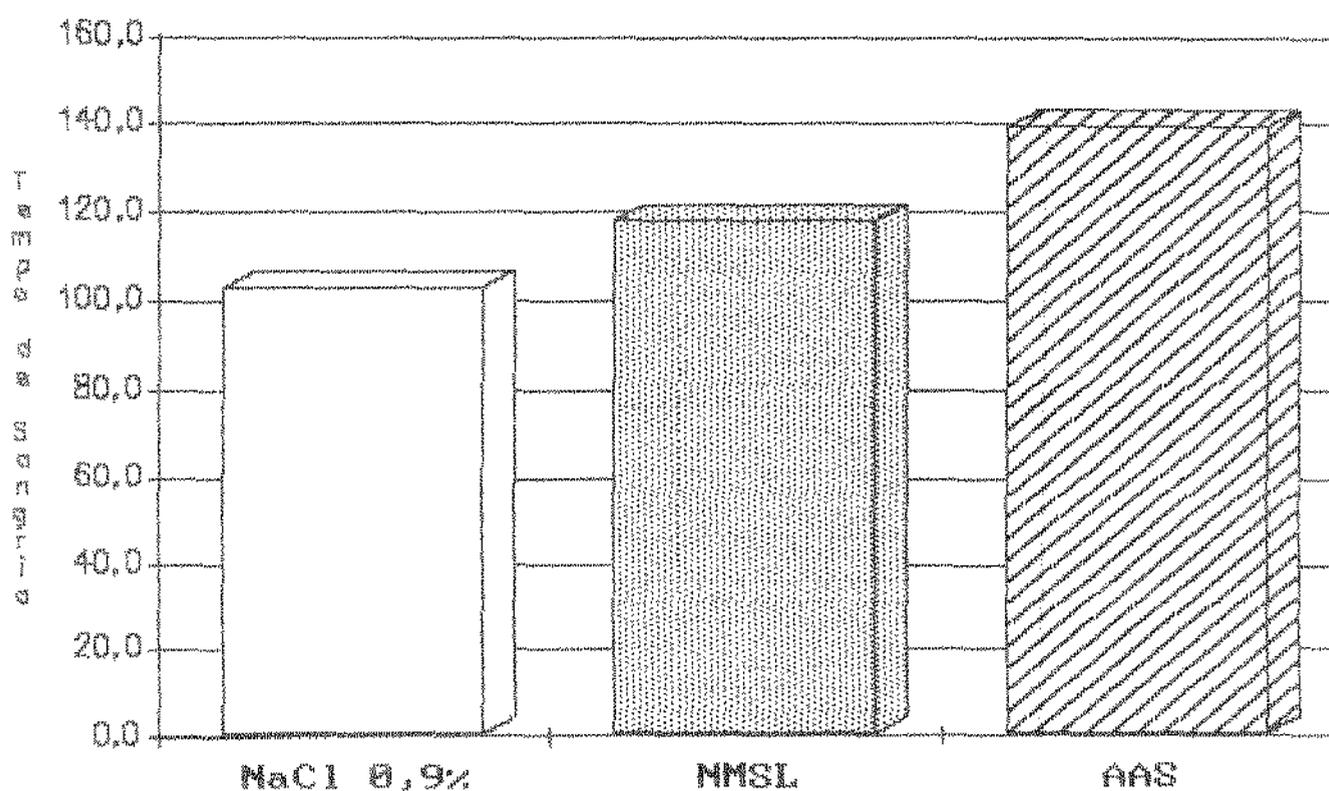


Figura 6 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, decorrido 24h após os tratamentos com NaCl a 0,9% , NMSL e AAS .

5.1.1.4 - 48h (quarenta e oito horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos 48h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 10.

Tabela 10 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), 48h após da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	101,3	114,0	131,7
std	6,2	3,3	5,5

Os valores médios apresentados na Tabela 10 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 11.

Tabela 11 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 10.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	3989,17	1994,58	*9,07
Resíduo	24	5277,50	219,89	
Total	26	9266,67		

Observa-se na Tabela 11 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria 48h após de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL como mostra a Tabela 12 a seguir.

Tabela 12 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria 48h após do tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	101,3	a
NMSL	114,0	a
AAS	131,7	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 17,45

Para ilustrar os resultados da Tabela 10 foi construída a Figura 7 que relaciona Tempo de Sangria (seg) em função do Período (h) decorrido após os três tratamentos.

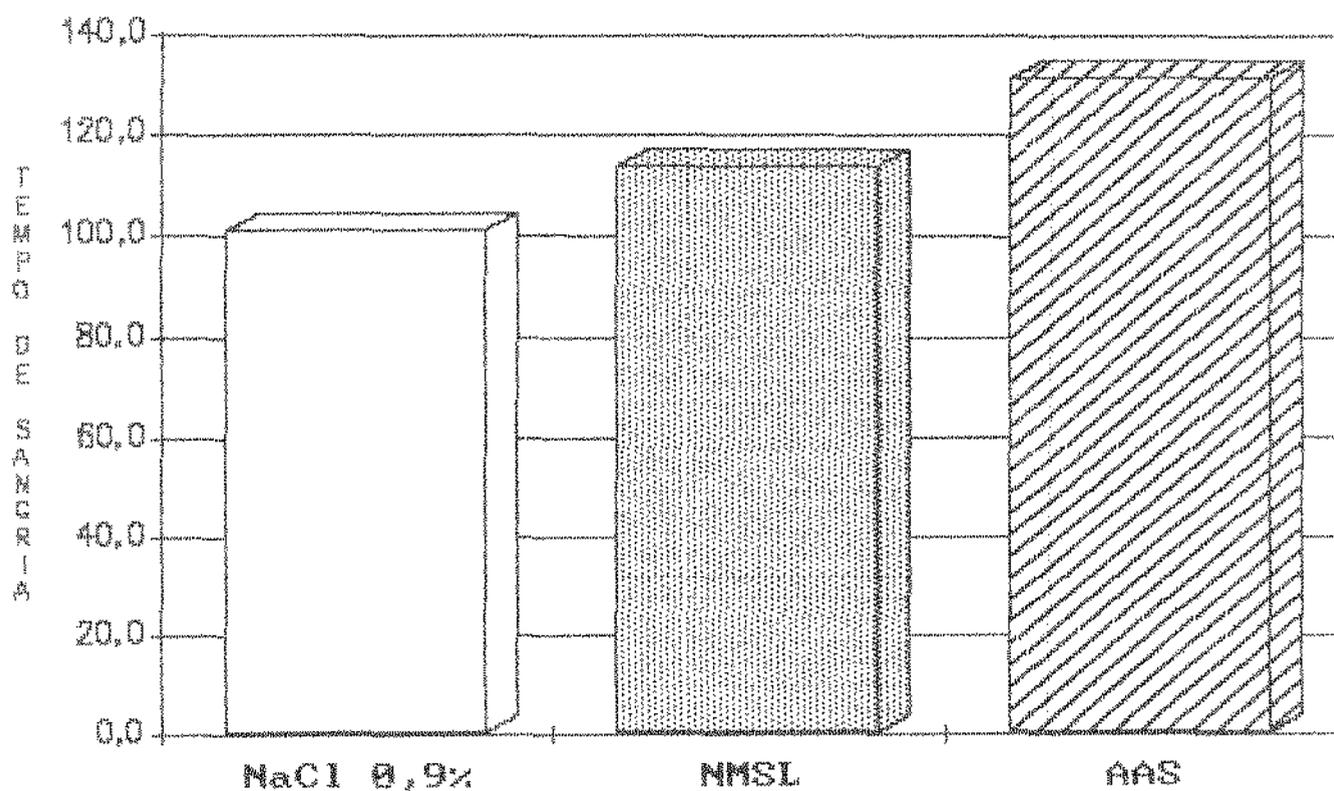


Figura 7 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, decorrido 48h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.1.1.5 - 72h (quarenta e oito horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos 72h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 13.

Tabela 13 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), 72h após da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	99,4	118,5	131,7
std	4,9	4,7	5,5

Os valores médios apresentados na Tabela 13 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 14.

Tabela 14 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 13.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	4442,29	2221,15	*9,74
Resíduo	24	5474,38	228,10	
Total	26	9916,67		

Observa-se na Tabela 14 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria 72h após de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL como mostra a Tabela 15, a seguir.

Tabela 15- Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria 72h após do tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	99,4	a
NMSL	118,5	a
AAS	131,7	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 17,63

Para ilustrar os resultados da Tabela 13 foi elaborada a Figura 8 que relaciona Tempo de Sangria (seg) em função do Período (h) decorrido após os três tratamentos.

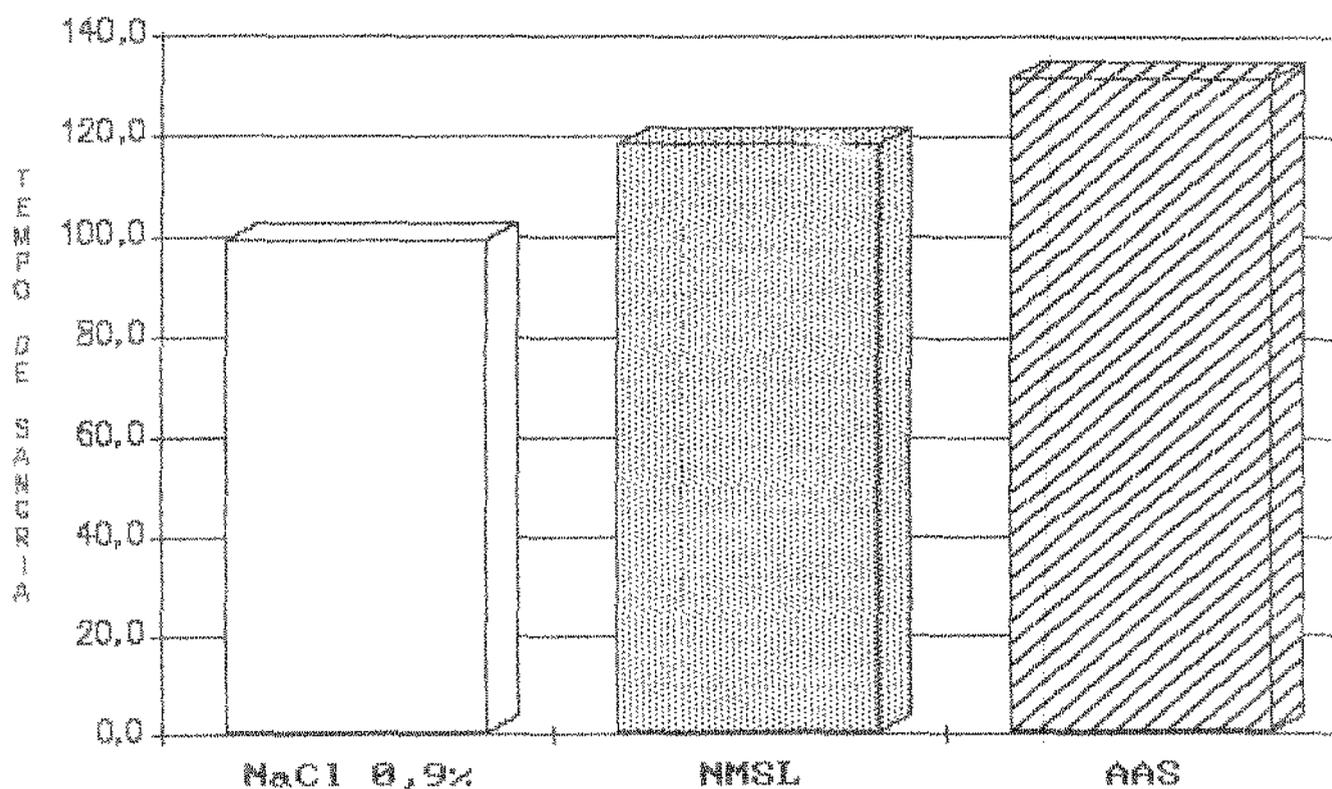


Figura 8 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, decorrido 72h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.1.1.6 - 96h (noventa e seis horas) após os
Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos 96h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 16.

Tabela 16- Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), 96h após da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acétilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	99,4	102,0	133,1
std	2,7	2,0	7,1

Os valores médios apresentados na Tabela 16 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 17.

Tabela 17 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 16.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	5805,87	2902,93	18,15
Resíduo	23	3678,75	159,95	
Total	25	9484,61		

Observa-se na Tabela 17 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria 96h após de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL como mostra a Tabela 18, a seguir.

Tabela 18- Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria 96h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	99,4	a
NMSL	118,5	a
AAS	131,7	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 15,22

Para ilustrar os resultados da Tabela 16 foi elaborada a figura 9 que relaciona Tempo de Sangria (seg) em função do Período decorrido após os três tratamentos.

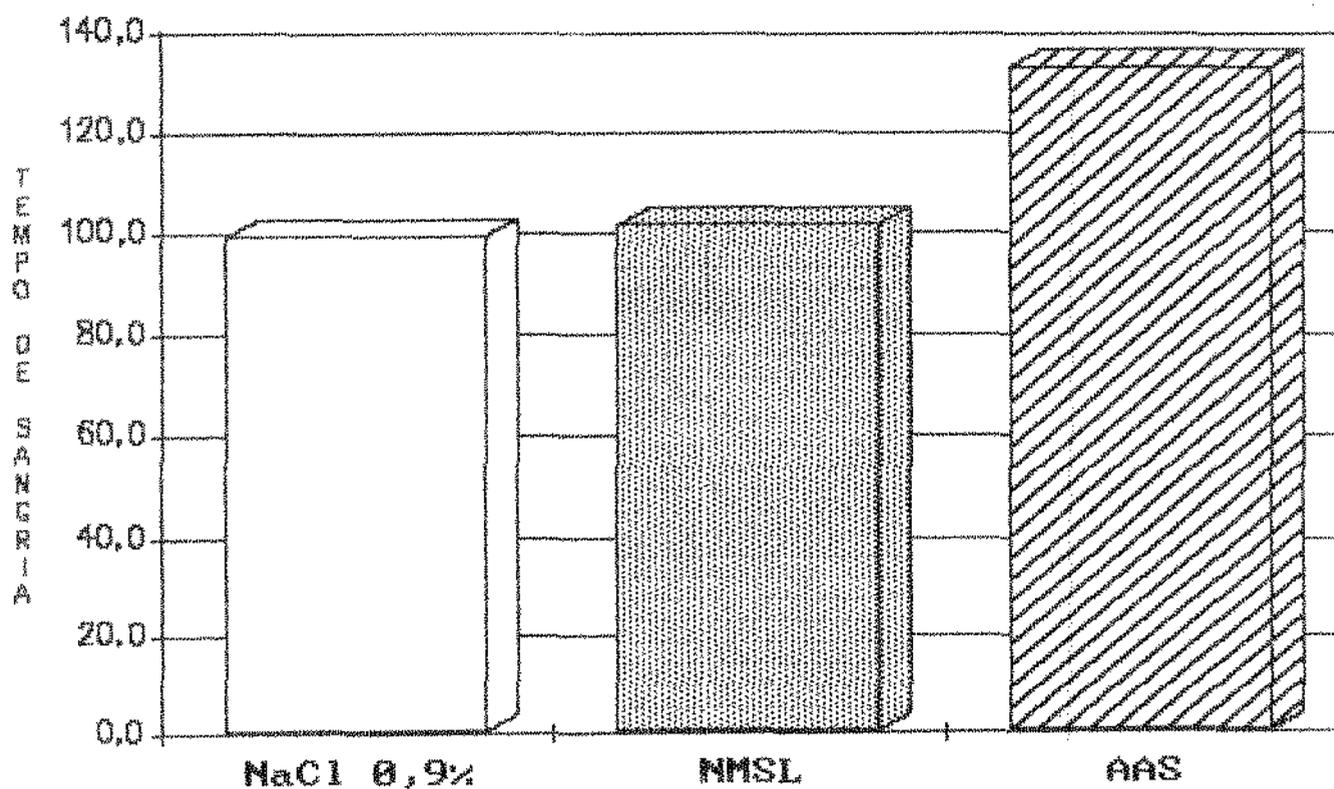


Figura 9 - Gráfico de barras relativo ao Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, decorrido 96h após os tratamentos coa NaCl a 0,9% , NMSL e AAS .

5.1.2 - Perfil Farmacológico do TEMPO DE SANGRIA de cada Tratamento nos diversos períodos estudados

5.1.2.1 - NaCl 0,9%

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento NaCl 0,9% e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 19.

Tabela 19 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento NaCl 0,9%.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	100,0	99,0	103,3	101,3	93,7	99,4
std	7,5	4,5	3,9	6,1	4,7	2,7

Os valores médios apresentados na Tabela 19 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 20.

Tabela 20 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 19.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	426,35	85,27	0,33
Resíduo	47	11886,87	252,915	
Total	52	12313,22		

O Valor de F, apresentado na Tabela 20, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação do Tempo de Sangria, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 10 ilustra o perfil do Tempo de Sangria (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

5.1.2.2 - Nimesulide

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento Nimesulide e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 21.

Tabela 21 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento Nimesulide.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	90,0	117,0	118,5	114,0	118,5	102,0
std	3,8	4,8	5,6	3,3	4,7	2,0

Os valores médios apresentados na Tabela 21 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 22.

Tabela 22 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 21.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	6735,00	1347,00	*7,45
Resíduo	54	9765,00	180,83	
Total	59	16500,00		

Observa-se na Tabela 22 que há pelo menos uma diferença de médias entre os períodos estudados estatisticamente significativa ao nível de significância 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria nos tempos 2h, 24h, 48h e 72h após o tratamento com Nimesulide (NMSL) são maiores que aqueles antes do tratamento como mostra a Tabela 23, a seguir.

Tabela 23- Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria após do tratamento com Nimesulide nos diversos períodos (h) estudados.

PERÍODO	MÉDIAS	5%
Antes	90,0	b
2h	117,0	a
24h	118,5	a
48h	114,0	a
72h	118,5	a
96h	102,0	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 17,78

A Figura 10 ilustra o perfil do Tempo de Sangria (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos períodos estudados.

5.1.2.3 - AAS

Os valores médios do Tempo de Sangria obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento AAS e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 24.

Tabela 24 - Média dos valores do Tempo de Sangria expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento AAS.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	103,5	150,0	139,5	131,7	131,7	133,1
std	3,5	6,3	4,5	5,4	5,4	7,1

Os valores médios apresentados na Tabela 24 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 25.

Tabela 25 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 24.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	11924,12	2384,82	*8,68
Resíduo	50	13721,87	274,43	
Total	55	25646,00		

Observa-se na Tabela 25 que há pelo menos uma diferença de médias entre os períodos estudados estatisticamente significativa ao nível de significância 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Sangria nos tempos 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após o tratamento com Ácido Acetilsalicílico (AAS) são maiores que aqueles obtidos antes do tratamento como mostra a Tabela 26, a seguir.

Tabela 26- Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Sangria após do tratamento com AAS nos diversos períodos (h) estudados.

PERÍODO	MÉDIAS	5%
Antes	103,5	b
2h	150,0	a
24h	139,5	a
48h	131,7	a
72h	131,7	a
96h	133,1	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 22,75

A Figura 10 ilustra o perfil do Tempo de Sangria (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos períodos estudados.

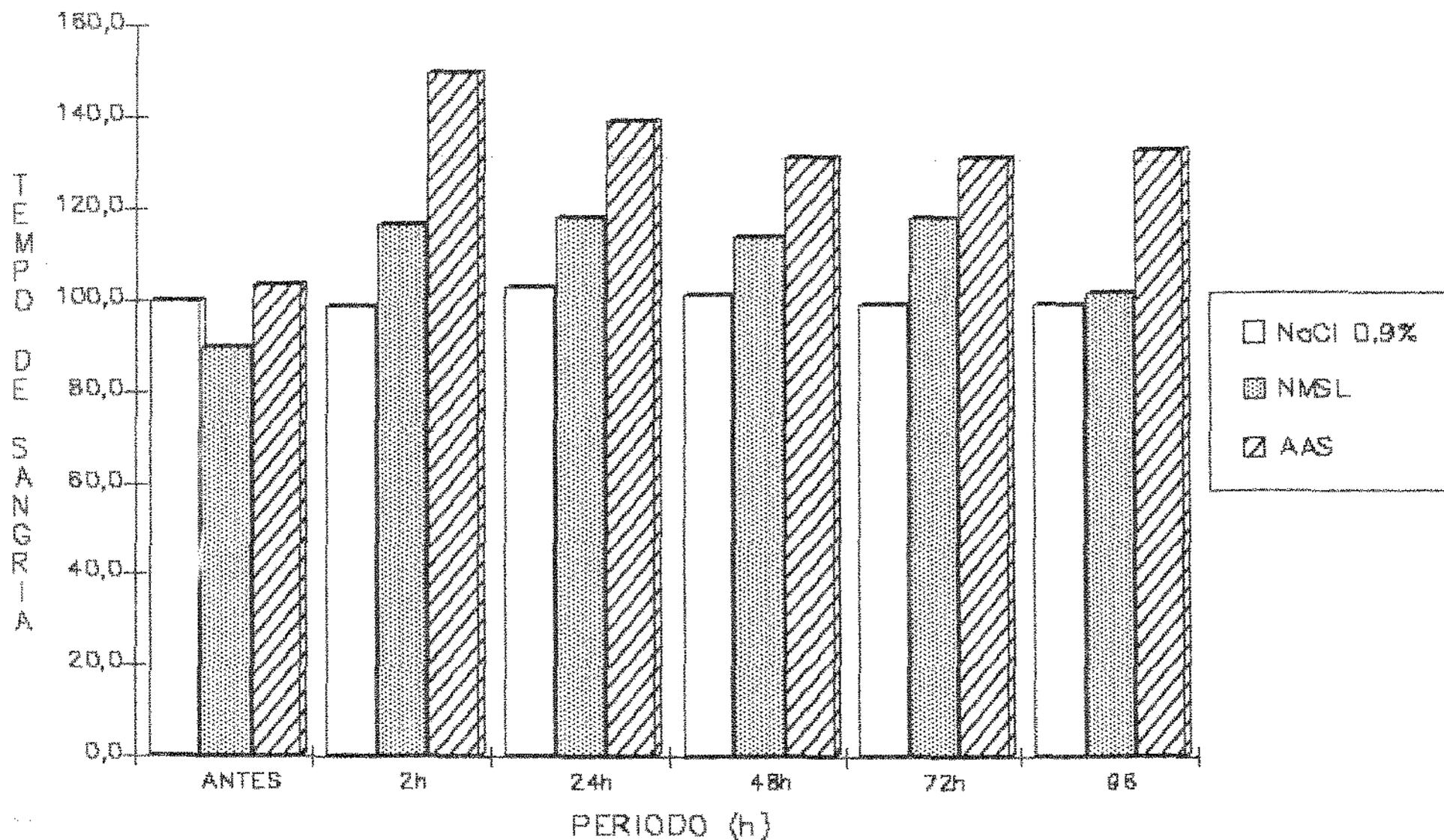


Figura 10 - Gráfico de barras relativo ao Perfil Farmacológico do Tempo de Sangria (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes e após 2h, 24h, 48h, 72h e 96h dos tratamentos distin-

5.2 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE COAGULAÇÃO

5.2.1 - Análise comparativa dos três tratamentos período por período

5.2.1.1.- Antes dos Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos antes da administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 27.

Tabela 27 - Média dos valores do Tempo de Coagulação em segundos e desvio padrão (std), antes da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	109,5	111,0	111,0
std	5,9	4,5	6,4

Os valores médios apresentados na Tabela 27 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 28.

Tabela 28 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 27.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	15,00	7,50	0,02
Resíduo	27	8752,50	324,17	
Total	29	8767,50		

O valor de F, apresentado na Tabela 28 não é significativo ao nível de 5%.

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação do Tempo de coagulação, antes dos tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5%.

A Figura 11 ilustra a Tabela 27, realcionando o Tempo de Coagulação (seg) em função do período (h) decorrido, para os tres tratamentos respectivamente.

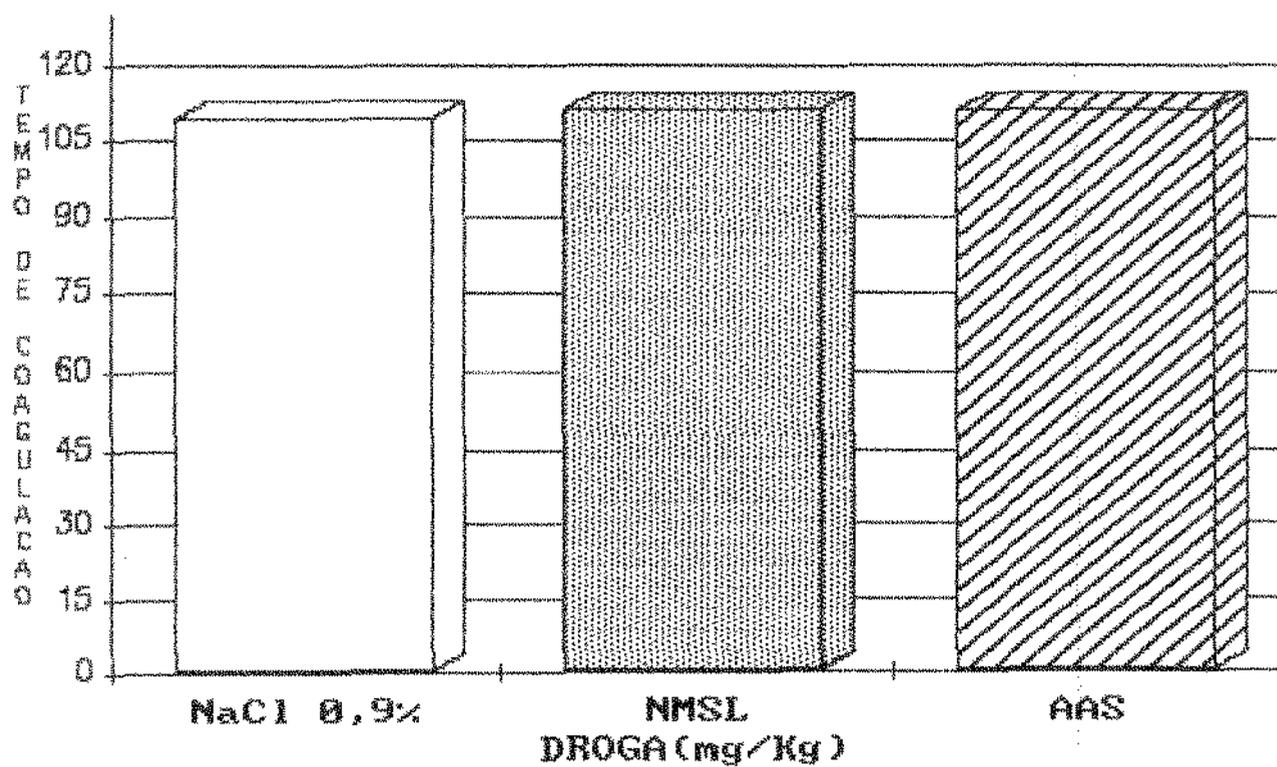


Figura 11- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes dos tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.2.1.2 - 2h (duas horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos duas após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 29.

Tabela 29 - Média dos valores do Tempo de Coagulação em segundos e desvio padrão (STD), 2h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	112,5	124,5	136,5
std	7,5	9,5	5,7

Os valores médios apresentados na Tabela 29 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 30.

Tabela 30- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 29.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	2880,00	1440,00	2,42
Resíduo	27	16087,50	595,83	
Total	29	18967,5		

Com base no resultado desta análise, pode-se afirmar que, em média, não houve diferença estatisticamente significativa, a nível de 5%, no Tempo de coagulação após 2h dos tratamentos instituídos.

Para ilustrar os resultados da Tabela 29 foi elaborada a Figura 12 que relaciona Tempo de Coagulação (seg) em função do período (h) decorrido para os três tratamentos.

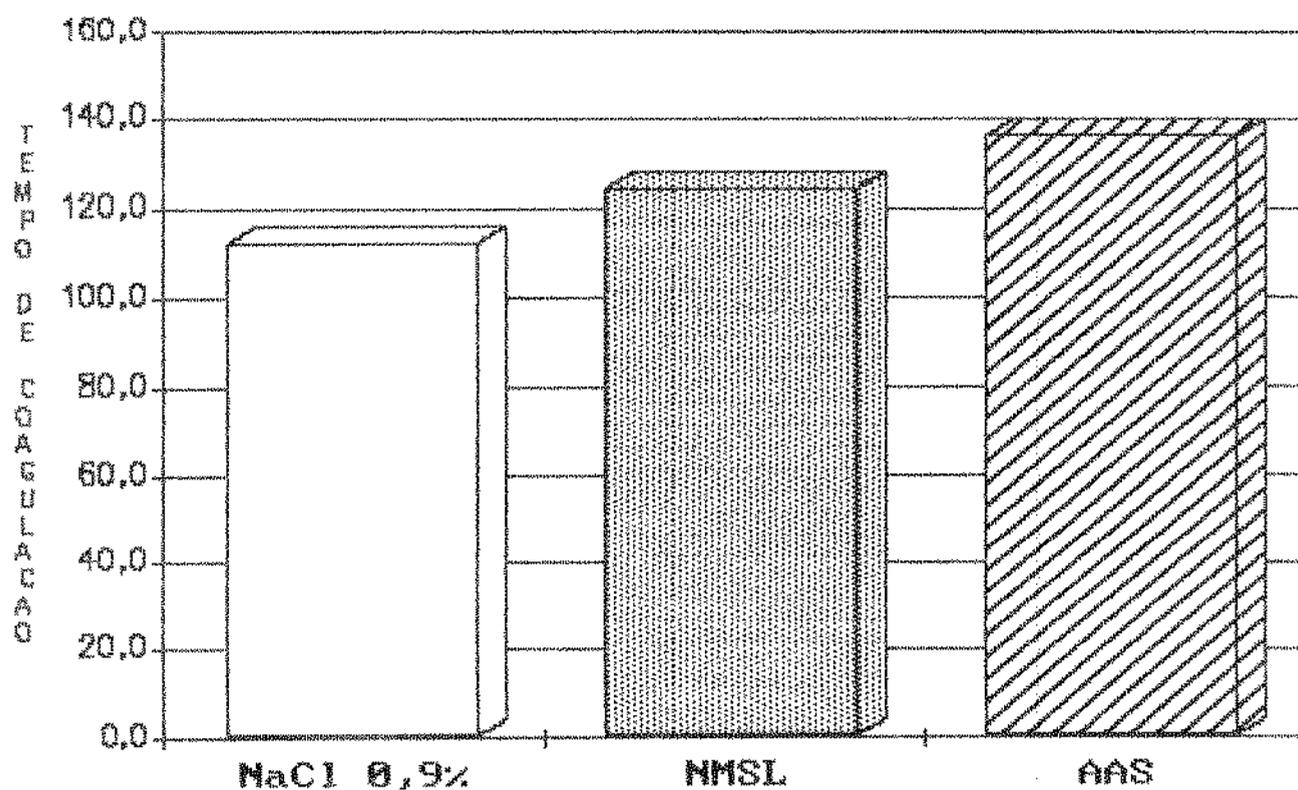


Figura 12- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 2h após os tratamentos com NaCl a 0,9% ,NMSL e AAS.

5.2.1.3 - 24h (vinte e quatro horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos 24h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 31.

Tabela 31 - Média dos valores do Tempo de Coagulação expresso em segundos e desvio padrão (STD), 24h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS)].

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	96,7	123,0	136,5
std	8,3	5,4	5,7

Os valores apresentados na Tabela 31 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 32.

Tabela 32- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 31.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	7704,74	3852,37	*9,53
Residuo	26	190512,50	404,34	
Total	28	182217,24		

A análise mostra que o valor de F é significativo ao nível de 5%.

Submetendo os valores da Tabela 32 ao teste de Tukey obtivemos os seguintes resultados:

a) os valores obtidos do Tempo de Coagulação do grupo AAS são significativamente maiores que aqueles valores obtidos no grupo NaCl 0,9%;

b) os valores obtidos do grupo NMSL são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% como mostra a Tabela 33, a seguir.

Tabela 33- Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Coagulação 24h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	96,7	a
NMSL	123,0	b
AAS	136,5	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 22,74

Para ilustrar os resultados da Tabela 23 foi construída a figura 13 que relaciona Tempo de Coagulação (seg) em função do período (h) decorrido para os três tratamentos.

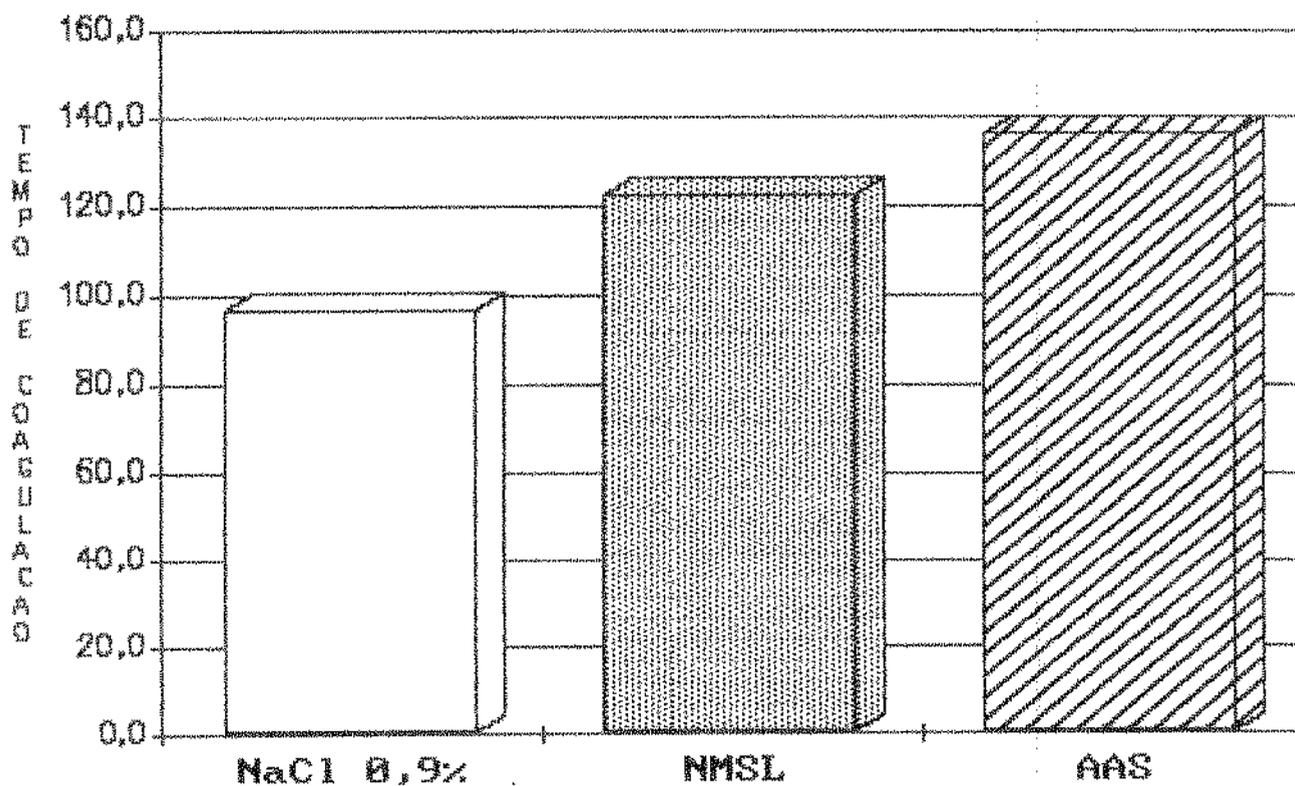


Figura 13- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 24h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.2.1.4 - 48h (quarenta e oito horas) após os Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos 48h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 34.

Tabela 34 - Média dos valores do Tempo de Coagulação expresso em segundos e desvio padrão (std), 48h após da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	101,3	126,0	136,7
std	5,5	7,5	5,3

Os valores médios apresentados na Tabela 34 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso) , conforme mostra a Tabela 35.

Tabela 35- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 34.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	5539,17	2769,58	*7,61
Resíduo	24	8727,50	363,65	
Total	26	14266,67		

A análise mostra que o valor de F é significativo ao nível de 5%.

Submetendo os valores da Tabela 26 ao teste de Tukey obtivemos os seguintes resultados:

a) os valores obtidos do Tempo de Coagulação do grupo AAS são significativamente maiores que aqueles valores obtidos no grupo NaCl 0,9%;

b) os valores obtidos do grupo NMSL são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9%, como mostra a Tabela 36, a seguir.

Tabela 36 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Coagulação 48h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	101,3	a
NMSL	126,0	b
AAS	136,7	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 22,43

Para ilustrar os resultados da Tabela 34 foi elaborada a Figura 14 que relaciona Tempo de Coagulação (seg) em função do período (h) decorrido após os três tratamentos.

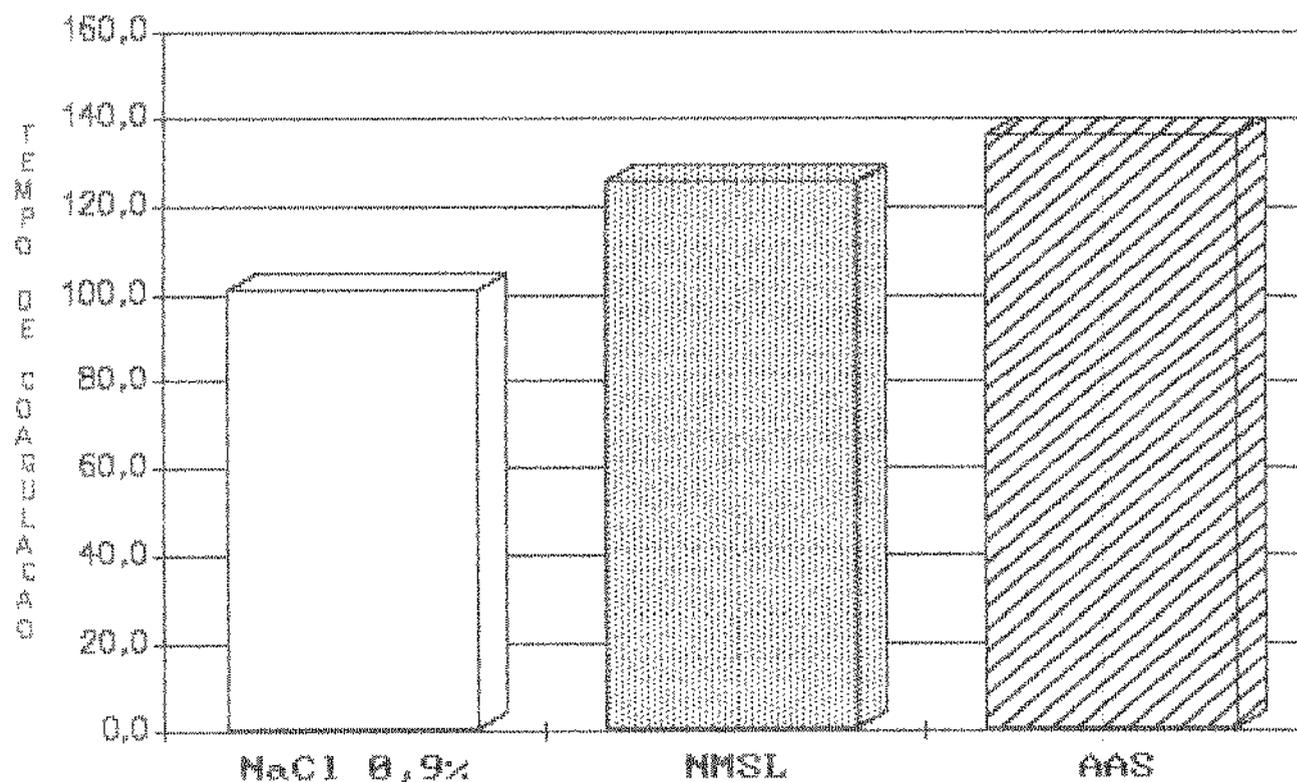


Figura 14- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 48h após os tratamentos com NaCl a 0,9% ,NMSL e AAS.

5.2.1.5 - 72h (quarenta e oito horas) após os
Tratamentos

Os valores do Tempo de Coagulação obtidos 72h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 37.

Tabela 37 - Média dos valores do Tempo de Coagulação expresso em segundos e desvio padrão (std), 72h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	108,8	138,0	146,7
std	5,5	10,2	7,8

Os valores médios apresentados na Tabela 37 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 38.

Tabela 38 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 37.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	6619,17	3309,58	*5,14
Resíduo	24	15447,50	643,65	
Total	26	22066,67		

Observa-se na Tabela 38 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de significância 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Coagulação após 72h de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL como mostra a Tabela 39, a seguir.

Tabela 39 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Coagulação 72h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	5%
NaCl 0,9%	108,0	a
NMSL	138,0	b
AAS	146,7	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 29,85

Para ilustrar os resultados da Tabela 37 foi elaborada a figura 15 que relaciona Tempo de Coagulação (seg) em função do período (h) decorrido após os três tratamentos.

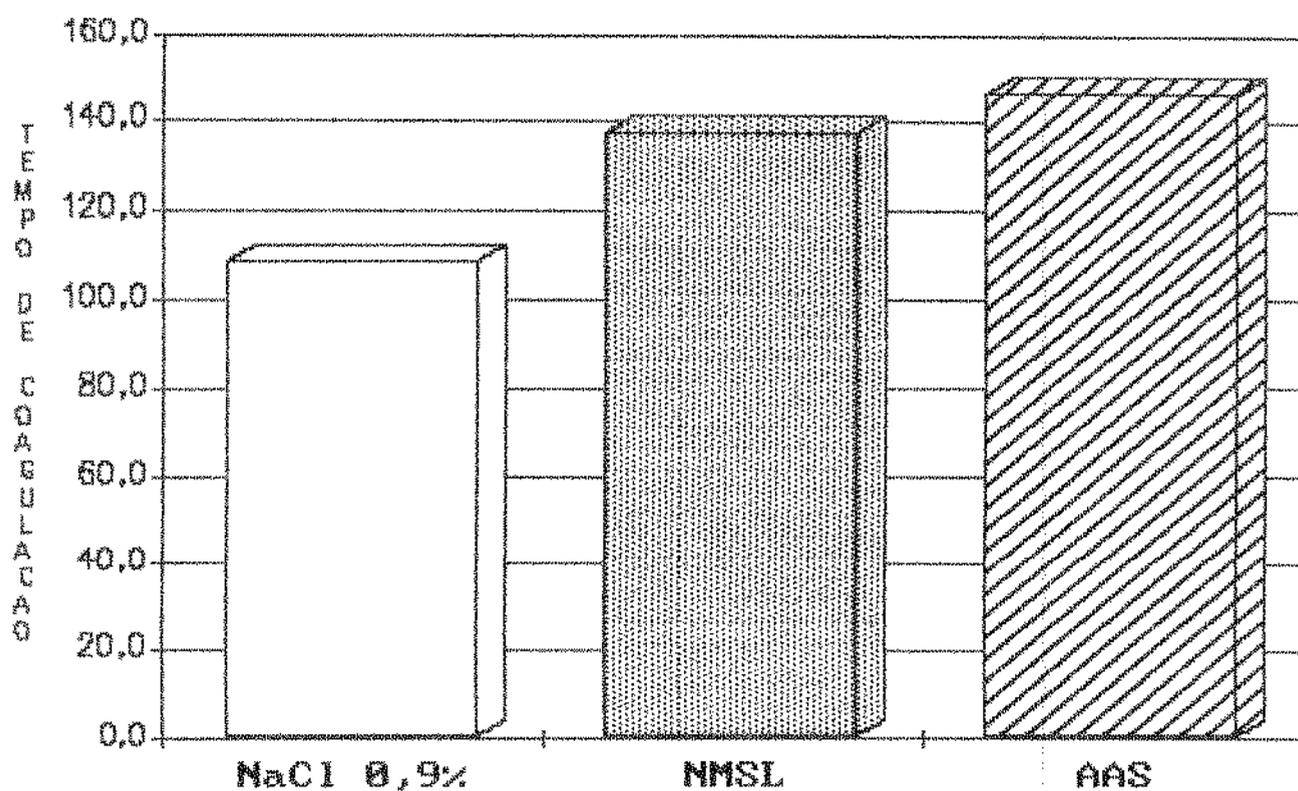


Figura 15- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 72h após os tratamentos com NaCl a 0,9% ,NMSL e AAS.

5.2.1.6 - 96h (noventa e seis horas) após os
Tratamentos

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos 96h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 40.

Tabela 40 - Média dos valores do Tempo de Coagulação expresso em segundos e desvio padrão (std), após 96h da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide (NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

ANIMAL	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	93,8	111,0	141,4
std	8,9	4,6	14,2

Os valores médios apresentados na Tabela 40 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 41.

Tabela 41 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 40.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	8636,78	4318,39	*6,44
Resíduo	22	14763,22	671,05	
Total	24	23499,00		

Observa-se na Tabela 41 que há pelo menos uma diferença de médias entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de significância 5% .

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5% . Os resultados mostraram que os valores obtidos na determinação do Tempo de Coagulação após 96h de tratamento com AAS são maiores que aqueles obtidos no grupo NaCl 0,9% e NMSL como verifica-se na Tabela 42, a seguir.

Tabela 42 - Teste de Tukey aplicada às médias obtidas da Determinação do Tempo de Coagulação 96h após o tratamento.

TRATAMENTO	MEDIAS	SX
NaCl 0,9%	93,8	a
NMSL	111,0	a
AAS	141,4	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 5% = 31,9

Para ilustrar os resultados da Tabela 40 foi construída a Figura 16 que relaciona Tempo de Coagulação (seg.) em função do período (h) decorrido para os três tratamentos.

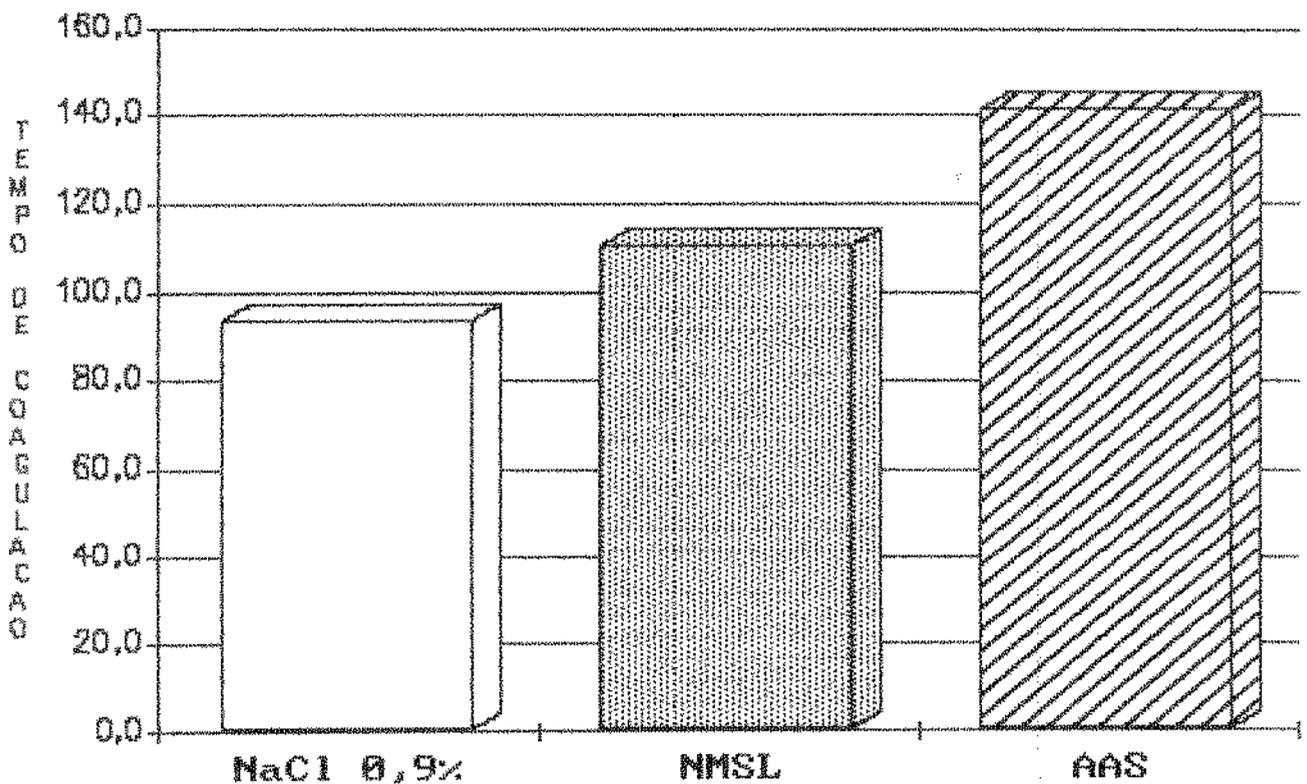


Figura 16- Gráfico de barras relativo ao Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 96h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.2.2 - Perfil Farmacológico do TEMPO DE COAGULAÇÃO de cada Tratamento nos diversos períodos estudados

5.2.2.1 - NaCl 0,9%

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento NaCl 0,9% e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 31.

Tabela 43 - Média dos valores do Tempo de Coagulação expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento NaCl 0,9%.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	109,5	112,5	96,7	101,3	108,7	93,7
std	5,9	7,5	8,3	5,5	5,5	8,8

Os valores médios apresentados na Tabela 43 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 44.

Tabela 44 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 43.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	2589,29	517,86	1,15
Resíduo	47	20997,50	446,75	
Total	52	23586,79		

O Valor de F, apresentado na Tabela 44, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação do Tempo de Coagulação, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 17 ilustra o perfil do Tempo de Coagulação (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

5.2.2.2 - Nimesulide

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento Nimesulide e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 45.

Tabela 45 - Média dos valores do Tempo de Coagulação, expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento Nimesulide.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	111,0	124,5	123,0	126,0	138,0	111,0
std	4,5	9,5	5,3	7,4	10,2	4,5

Os valores médios apresentados na Tabela 45 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 46.

Tabela 46 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 45.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	5208,77	1041,75	1,94
Resíduo	54	28912,50	535,42	
Total	59	34121,27		

O Valor de F, apresentado na Tabela 46, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação do Tempo de Coagulação, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 17 ilustra o perfil do Tempo de Coagulação (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

5.2.2.3 - AAS

Os valores médios do Tempo de Coagulação obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento AAS e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 47.

Tabela 47 - Média dos valores do Tempo de Coagulação, expresso em segundos e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento AAS.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	111,0	129,0	136,5	136,7	146,7	141,4
std	6,4	6,4	5,7	5,2	7,8	14,2

Os valores médios apresentados na Tabela 47 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso), conforme mostra a Tabela 48.

Tabela 48 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 47.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	7419,98	1483,99	2,07
Resíduo	49	25168,21	513,63	
Total	55	32588,20		

O Valor de F, apresentado na Tabela 48, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação do Tempo de Coagulação, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 17 ilustra o perfil do Tempo de Coagulação (seg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

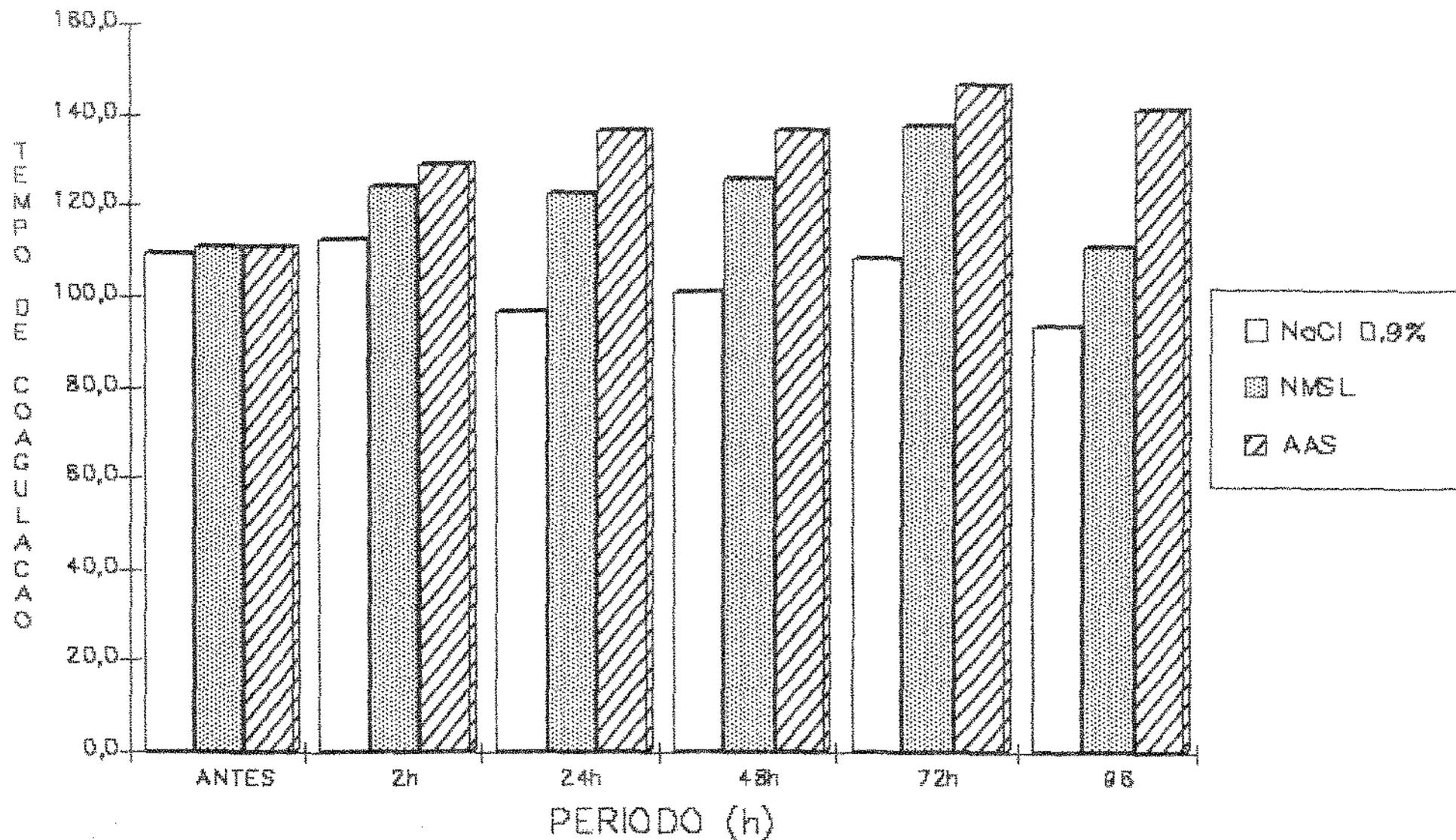


Figura 17- Gráfico de barras relativo ao Perfil Farmacológico do Tempo de Coagulação (seg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes e após 2h, 24h, 48h, 72h e 96h dos tratamentos distintos com NaCl a 0,9% ,NMSL e AAS.

5.3 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA CONTAGEM DE PLAQUETAS

5.3.1 - Análise comparativa dos tres Tratamentos período por período

5.3.1.1.- Antes dos Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) obtidos antes da administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 49.

Tabela 49 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (std), antes da administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	597,3	595,2	616,5
std	37,6	29,5	29,8

Os valores médios apresentados na Tabela 49 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 50 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 50 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 49.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	0,15	0,07	0.02
Resíduo	27	128,79	4,77	
Total	29	128,95		

O Valor de F, apresentado na Tabela 50, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, antes dos tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 18 ilustra a Tabela 49, relacionando a Contagem de Plaquetas (mil /ml sg) em função do período (h)decorrido, antes dos três tratamentos respectivamente.

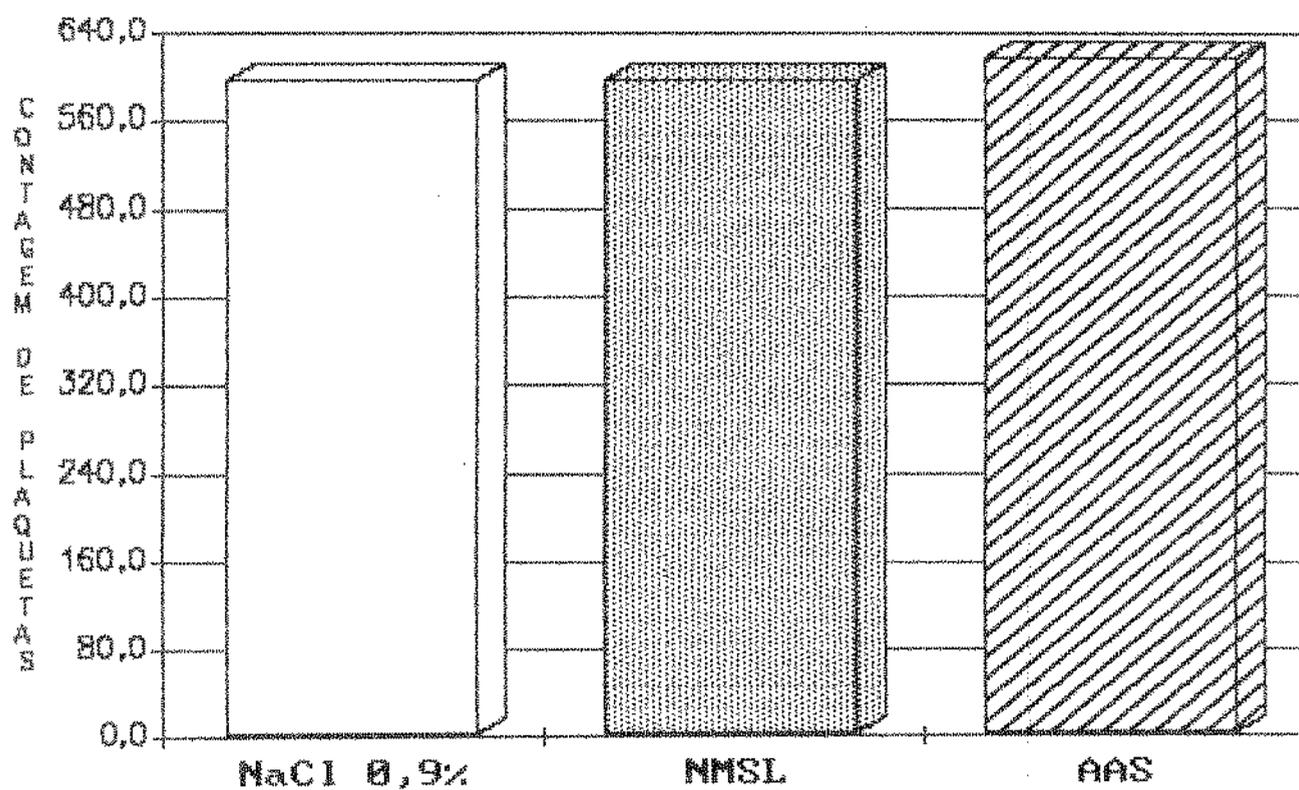


Figura 18- Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes dos tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS .

5.3.1.2 - 2h (duas horas) após os Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos duas horas após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 51.

Tabela 51 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (STD), 2h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	522,5	594,5	552,7
std	40,5	31,2	20,5

Os valores médios apresentados na Tabela 51 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 52 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 52- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da Tabela 51 .

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	14,16	7,08	1,32
Resíduo	27	144,22	5,34	
Total	29	158,38		

Com base no resultado desta análise, pode-se afirmar que, em média, não houve diferença estatisticamente significativa, a nível de 5%, na Contagem de Plaquetas 2h após os tratamentos instituídos.

Para ilustrar os resultados da Tabela 51 foi elaborada a Figura 19 que relaciona a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) em função do período (h) decorrido após os três tratamentos.1

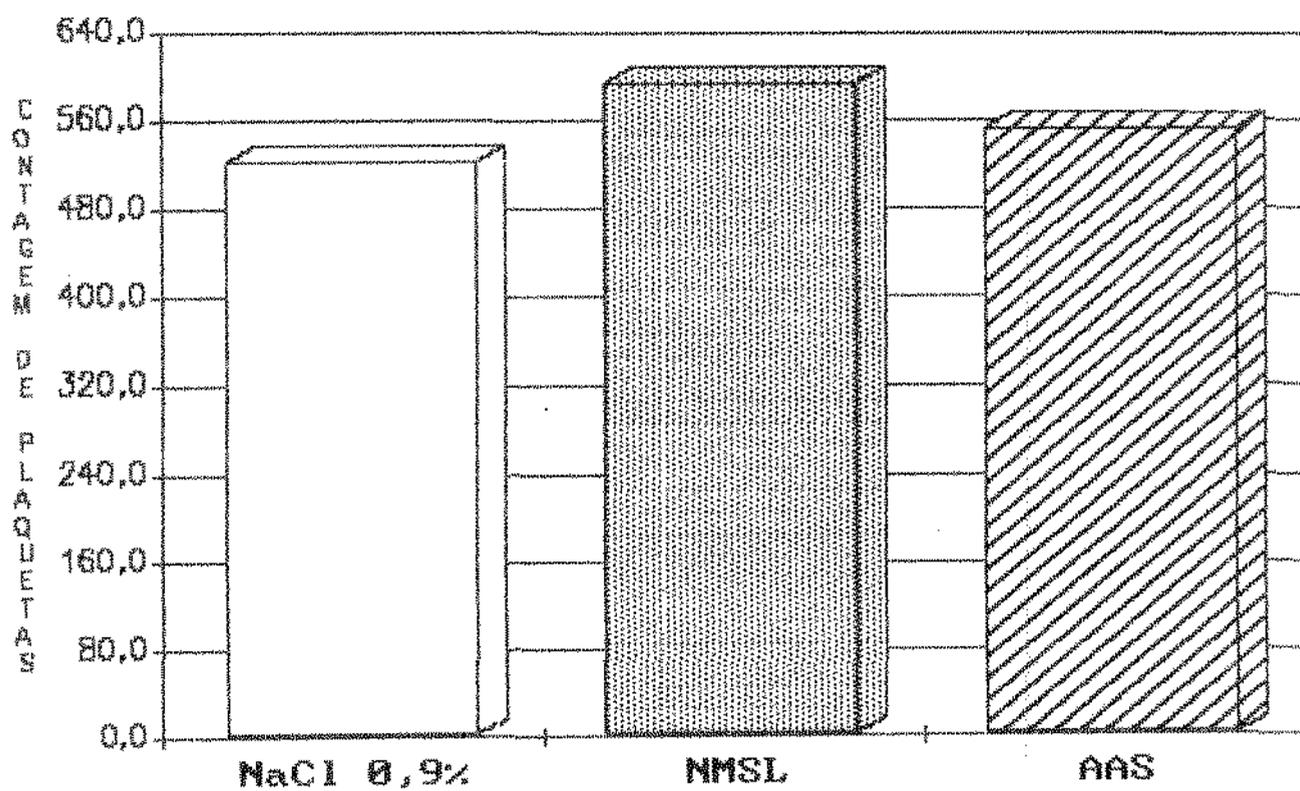


Figura 19 - Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 2h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.3.1.3 - 24h (vinte e quatro horas) após os Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos 24h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 53.

Tabela 53 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (std), 24h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

ANIMAL	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	529,8	565,8	526,6
std	28,2	26,9	36,8

Os valores médios apresentados na Tabela 53 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 54 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 54- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da tabela 53 .

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	4,94	2,47	0,57
Resíduo	26	113,04	4,35	
Total	28	117,98		

O Valor de F, apresentado na Tabela 54, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, 24h após tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 20 ilustra a Tabela 53, relacionando a Contagem de Plaquetas (mil /ml sg) em função do período (h)decorrido, após os três tratamentos respectivamente.

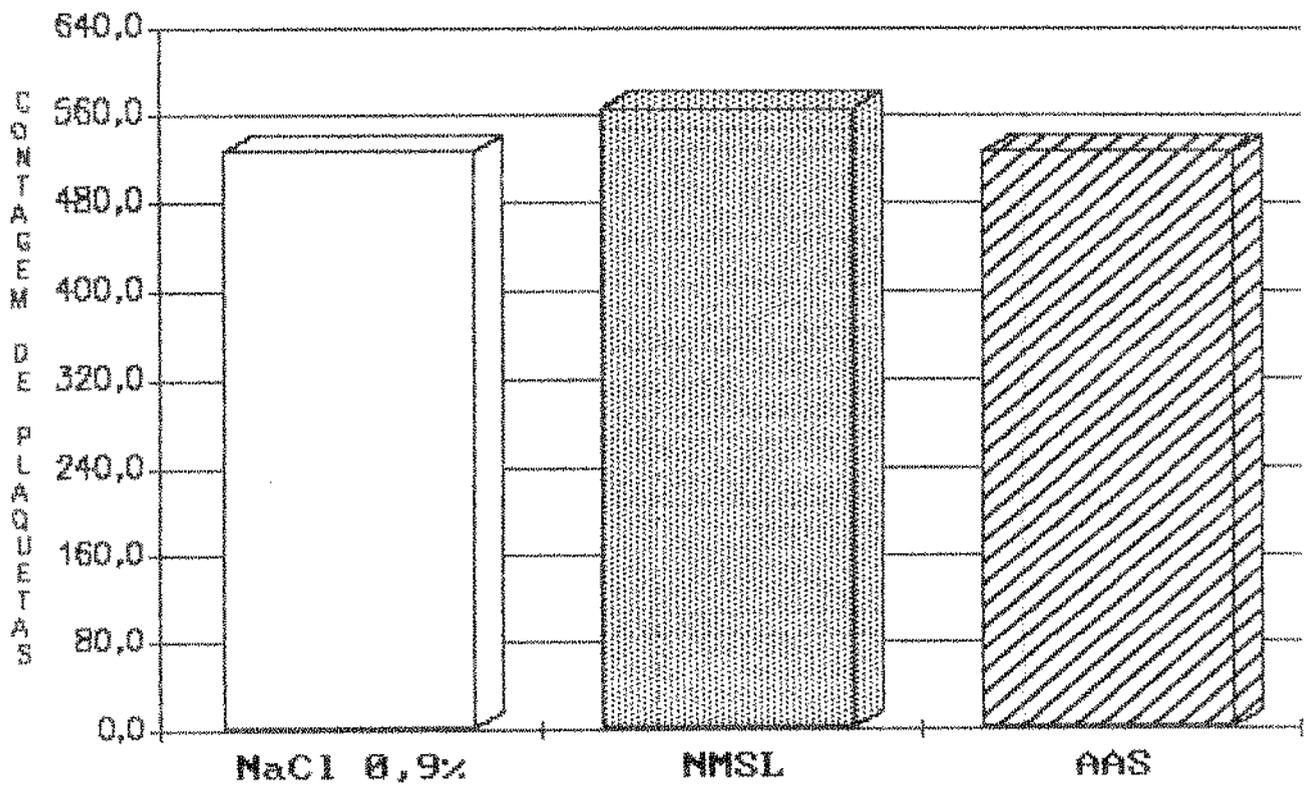


Figura 20 - Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 24h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.3.1.4 - 48h (quarenta e oito horas) após os Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos 48h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 55.

Tabela 55 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (std), 48h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	539,7	543,6	478,4
std	32,3	21,3	21,9

Os valores médios apresentados na Tabela 55 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 56 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 56- Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da Tabela 55.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	14,07	7,03	2,83
Resíduo	24	59,66	2,48	
Total	26	73,72		

O Valor de F, apresentado na Tabela 56, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, 48h após tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 21 ilustra a Tabela 55, relacionando a Contagem de Plaquetas (mil / mlsg) em função do período(h) decorrido, após os três tratamentos respectivamente.

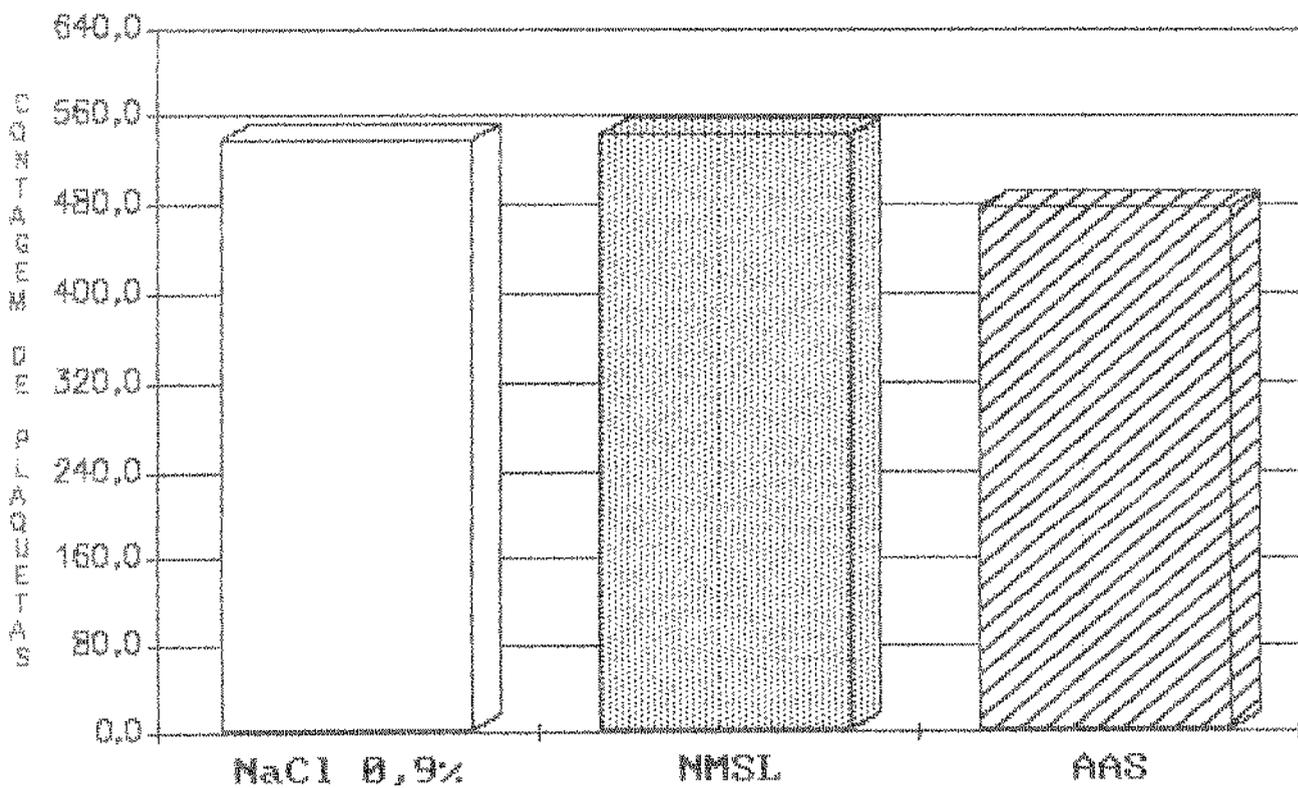


Figura 21 - Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 48h após os tratamentos com NaCl a 0,9%, NMSL e AAS.

5.3.1.5 - 72h (setenta e duas horas) após os Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos 72h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 57.

Tabela 57 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (std), 72h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	550,8	510,6	550,4
std	25,3	18,5	27,8

Os valores médios apresentados na Tabela 57 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 58 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 58 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da Tabela 57.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	3,75	1,87	0,56
Resíduo	24	80,88	3,37	
Total	26	84,64		

O Valor de F, apresentado na Tabela 58, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, 72h após tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 22 ilustra a Tabela 57, relacionando a Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) em função do período(h) decorrido, para os três tratamentos respectivamente.

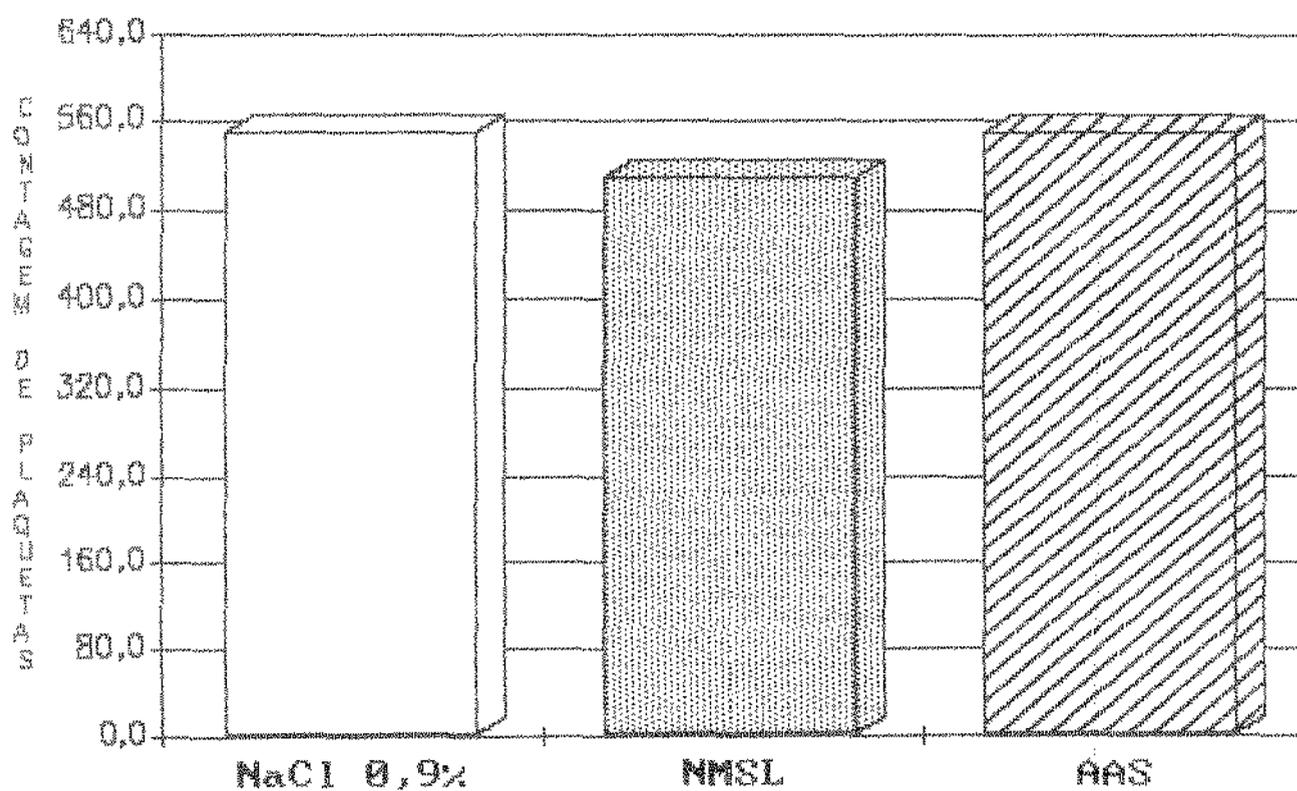


Figura 22 - Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 72h após os tratamentos com NaCl a 0,9%,

5.3.1.6 - 96h (noventa e seis horas) após os Tratamentos

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos 96h após administração das drogas respectivamente em cada grupo e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 59.

Tabela 59 - Média dos valores do Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) e desvio padrão (std), 96h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
x	536,9	523,0	516,7
std	33,7	22,3	22,5

Os valores médios apresentados na Tabela 59 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 60 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 60 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da Tabela 59.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	0,71	0,36	0,13
Resíduo	23	64,45	2,80	
Total	25	65,16		

O Valor de F, apresentado na Tabela 60, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, 96h após tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 23 ilustra a Tabela 59, relacionando a Contagem de Plaquetas (mil /ml sg) em função do período(h) decorrido, para os três tratamentos respectivamente.

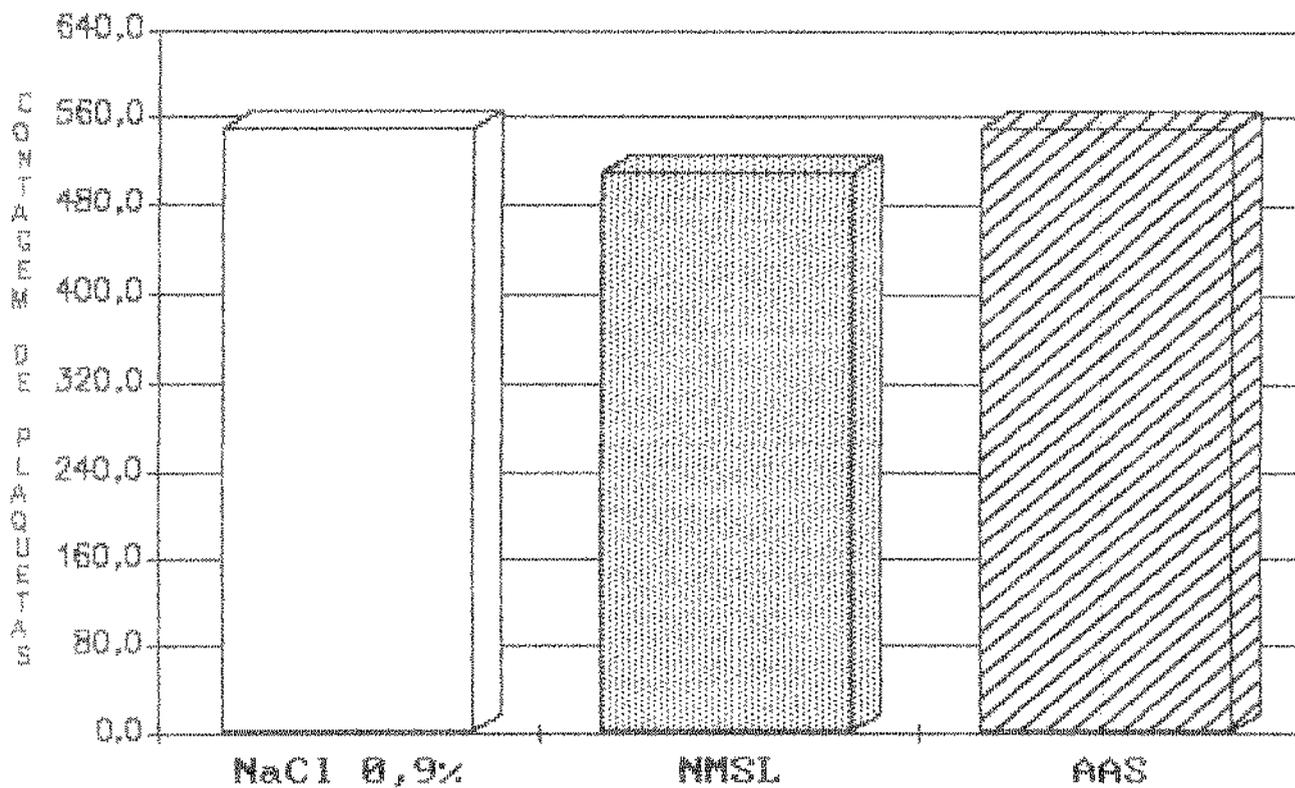


Figura 23 - Gráfico de barras relativo a Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 96h após os tratamentos com NaCl a 0,9%,

5.3.2 - Perfil Farmacológico da CONTAGEM DE PLAQUETAS
de cada Tratamento nos diversos períodos estudados

5.3.2.1 - NaCl 0,9%

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento NaCl 0,9% e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 61.

Tabela 61 - Média dos valores da Contagem de Plaquetas, (mil/ml sg) e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento NaCl 0,9%.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	597,3	522,5	525,8	539,7	550,8	536,8
std	37,6	40,5	28,2	32,3	25,3	33,7

Os valores médios apresentados na Tabela 61 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 62 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 62 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 61.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	16,89	3,38	0,72
Resíduo	47	221,67	4,76	
Total	52	238,57		

O Valor de F, apresentado na Tabela 62, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 24 ilustra o perfil da Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

5.3.2.2 - Nimesulide

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento Nimesulide e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 63.

Tabela 63 - Média dos valores da Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) desvio padrão (std), antes da administração; 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento Nimesulide.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	595,2	594,5	565,8	543,6	510,6	523,0
st	29,5	31,2	26,8	21,3	18,5	22,3

Os valores médios apresentados na Tabela 63 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise, os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 64 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 64 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 65.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	26,47	5,29	1,90
Resíduo	54	150,29	2,78	
Total	59	176,76		

O Valor de F, apresentado na Tabela 64, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 24 ilustra o perfil da Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

5.3.2.3 - AAS

Os valores médios da Contagem de Plaquetas obtidos antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após administração do tratamento AAS e os desvios padrões das médias estão expressos na Tabela 65.

Tabela 65 - Média dos valores da Contagem de Plaquetas, (mil/ml sg) e desvio padrão (std), antes da administração, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração do tratamento com AAS.

	Antes	2h	24h	48h	72h	96h
x	616,5	552,7	526,6	478,4	550,4	516,7
std	29,8	20,5	36,8	21,9	27,7	22,5

Os valores médios apresentados na Tabela 65 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise, os dados da Contagem de Plaquetas foram submetidos a seguinte transformação: valores para a variável em questão.

A Tabela 66 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 66 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados da Tabela 65.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	5	35,32	7,06	1,61
Resíduo	50	218,49	4,37	
Total	55	253,82		

O Valor de F, apresentado na Tabela 66, não é significativo ao nível de 5 % .

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores médios obtidos na determinação da Contagem de Plaquetas, nos diversos períodos estudados não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 % .

A Figura 24 ilustra o perfil da Contagem de Plaquetas (mil/ ml sg) obtido respectivamente e comparativamente após os três tratamentos instituídos nos diversos tempos estudados.

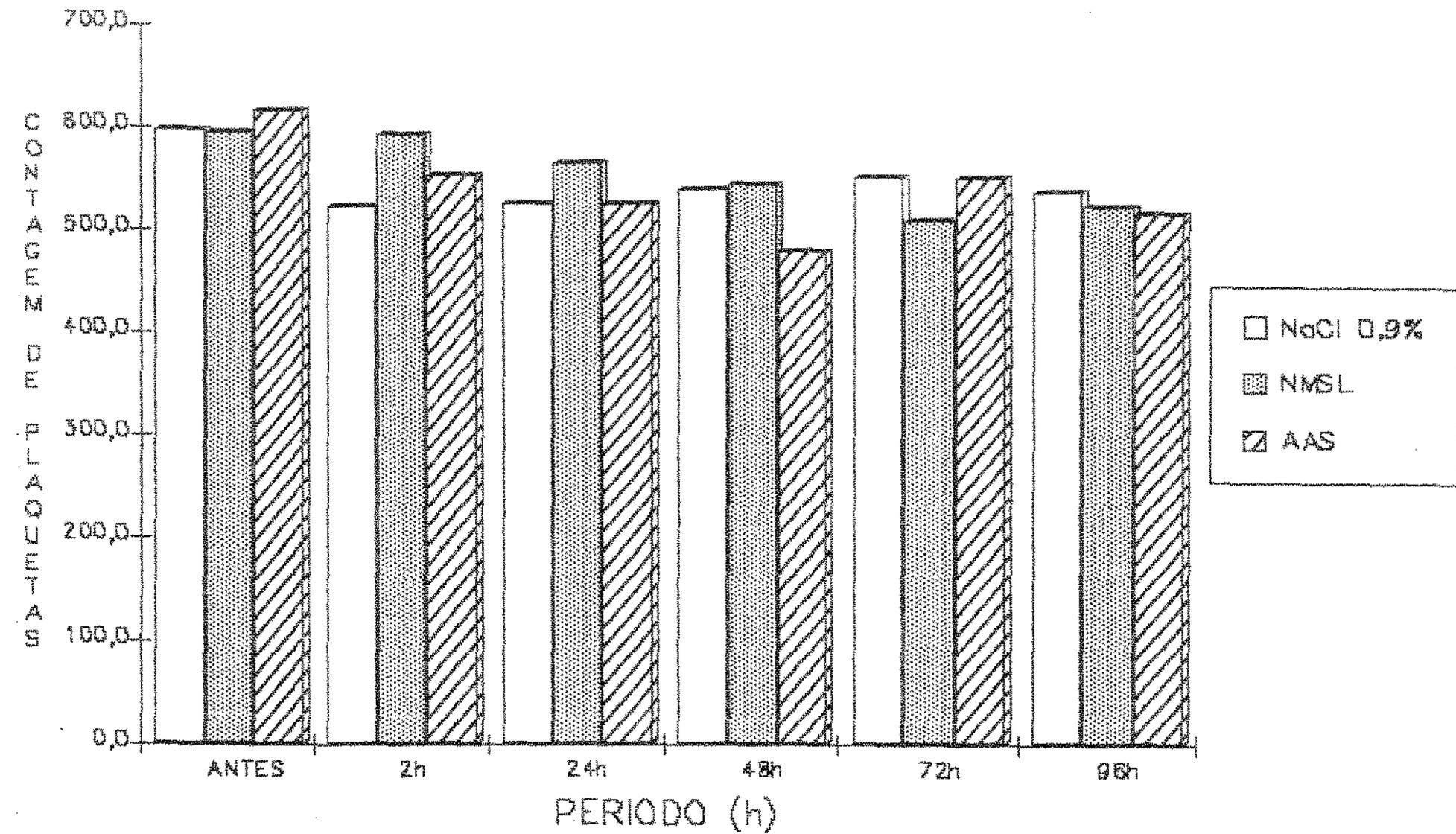


Figura 24 - Gráfico de barras relativo ao Perfil Farmacológico da Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes e após 2h, 24h, 48h, 72h e 96h dos tratamentos distintos com NaCl 0,9%, NMSL, AAS.

5.4 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO MICROHEMATÓCRITO

Os valores obtidos em cada tratamento nos diversos tempos estudados estão alocados no Anexo 3.

Os valores médios da determinação do Microhematócrito obtidos antes dos tratamentos, 2h, 24h, 48h, 72h, 96h após a administração das drogas respectivamente em cada grupo estão expressos na Tabela 67.

Tabela 67 - Média dos valores da Determinação do Microhematócrito, expresso em porcentagem (%), antes dos tratamentos, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h após a administração das drogas NaCl 0,9%, Nimesulide(NMSL), Ácido Acetilsalicílico (AAS).

TRATAMENTO	MICROHEMATOCRITO (%)					
	PERIODO (h)					
	ANTES	2h	24h	48h	72h	96h
NaCl 0,9%	45,3	42,2	36,1	36,1	33,1	28,2
NIMESULIDE	45,4	41,8	36,3	32,6	31,0	26,5
AAS	45,3	41,0	38,1	33,4	30,8	27,0

Os valores médios apresentados na Tabela 67 foram submetidos a Análise de Variância (inteiramente ao acaso). Para efeito da análise os dados da Determinação do Microhematócrito foram submetidos a seguinte transformação: para os valores médios obtidos nos tempos antes do tratamento, 2h e 24h após o tratamento utilizou-se proporção; para os valores médios obtidos nos tempos 48h, 72h e 96h pós-medicação foi utilizado arc sen proporção para a variável em questão.

A Tabela 68 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 68 - Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativa aos dados transformados da Tabela 67.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	0,00	0,00	0,04
Resíduo	15	0,16	0,01	
Total	17	0,16		

O Valor de F, apresentado na Tabela 68, não é significativo ao nível de 5 %.

Com base nesse resultado, pode-se afirmar que os valores obtidos na determinação do Microhematócrito, nos tempos antes, 2h, 24h, 48h, 72h e 96h pós tratamentos distintos a cada grupo experimental não apresenta diferença estatisticamente significativa a nível de 5 %.

O perfil do Microhematócrito determinado antes e após os três tratamentos nos diversos períodos (h) estudados estão ilustrados na figura 25, que relaciona Microhematócrito (%) em função do período (h) decorrido para cada tratamento (NaCl 0,9%, NMSL e AAS).

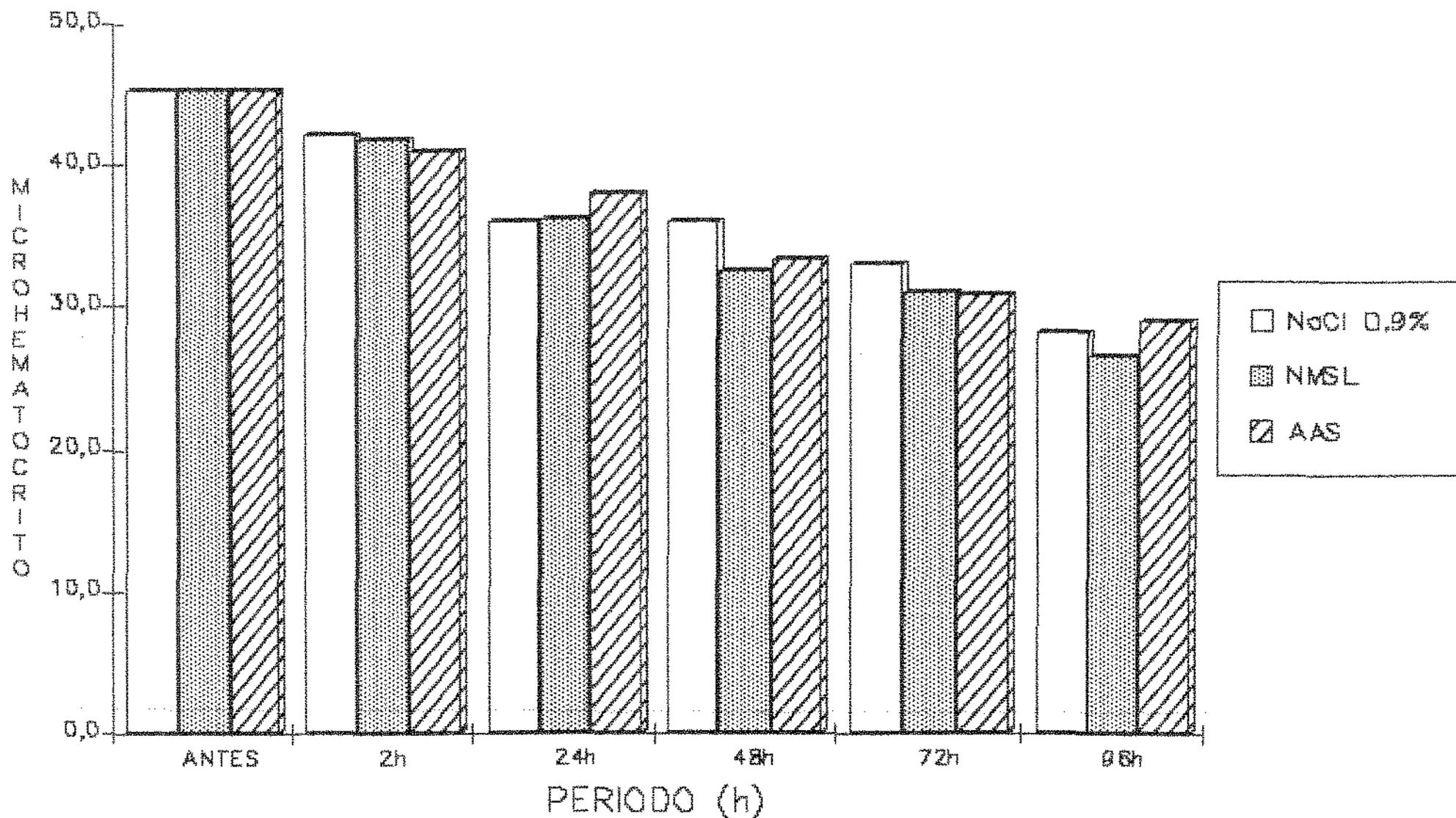


Figura 25 - Gráfico de barras relativo ao Perfil Farmacológico da Determinação do Microhematócrito(%) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, antes e após 2h, 24h, 48h, 72h e 96h dos tratamentos distintos com NaCl 0,9%, NMSL e AAS .

6 - DISCUSSÃO

Tem sido relativamente bem documentado que várias drogas podem promover anormalidades na hemostasia por alteração qualitativa da função plaquetária como citado no item 2.1 deste trabalho. Esse efeito aparece como efeito principal para algumas drogas e colateral para outras. No caso dos antiinflamatórios não esteróides (NSAID) vários agentes deste grupo podem produzir esta alteração, o que para eles representa um efeito colateral indesejável, principalmente quando o tratamento instituído se faz em pacientes que apresentem distúrbios hemostáticos pré-existentes ou quando o tratamento é feito no período pós-cirúrgico ou mesmo quando a administração ocorre preventivamente a uma intervenção cirúrgica odontológica.

Embora os medicamentos antiinflamatórios não-esteróides ocupem atualmente um lugar de destaque na terapêutica odontológica e seu desenvolvimento tenha-se acelerado extraordinariamente nos últimos anos, fato este, perfeitamente compreensível dado a frequência com que o fenômeno inflamatório comparece como componente central dos quadros patológicos da cavidade oral ou mesmo quando se instala devido a uma intervenção cirúrgica, o prolongamento do tempo de sangramento é evidente e pronunciado quando da utilização de alguns componentes deste grupo, prejudicando deste modo, a cicatrização e o restabelecimento da área lesada.

Recentemente as pesquisas têm se voltado para um grupo de drogas cuja a propriedade antiinflamatória não está diretamente ligada a atividade antiprostaglandina, o que representa um avanço,

pois em primeira instância não se espera alteração ou anormalidades na função plaquetária.

Além de serem descobertos devido a propriedade de sequestrar radicais livres de oxigênio, os quais por sua vez são substâncias pró-inflamatórias, o grupo dos antiinflamatórios recentemente desenvolvidos, sulfonamídeos, apresentam propriedade antiagregante plaquetária *in vitro*, que não reflete sua atividade *in vivo*, (VIGDAHL & TUKEY, 1976). Isso em parte é confirmado pelo trabalho de CARR *et alii*, 1986, que verificou que a formação de TxB_2 só é inibida em 80% com doses acima de 10 mg/Kg, isto é, doses mais elevadas que a necessária terapêuticamente.

Como após o levantamento bibliográfico não houve constatação de trabalhos que tenham estudado, *in vivo*, possíveis anormalidades no tempo de sangria após administração de um antiinflamatório pertencente ao grupo dos sulfonamídicos, o objetivo desta pesquisa foi contribuir para esta indagação: Será que os antiinflamatórios pertencente a esta classe não interferem com a hemostasia *in vivo*, em doses terapêuticas?

A droga de escolha foi o nimesulide, antiinflamatório não esteróide pertencente ao grupo dos sulfonamídeos e que recentemente foi introduzido no mercado farmacêutico brasileiro.

O presente trabalho traz uma contribuição para o estudo das possíveis alterações hemostáticas provenientes da administração *in vivo*, (ratos), do nimesulide e compara com as anormalidades que conhecidamente a aspirina (AAS) promove.

O AAS foi escolhido devido ser droga padrão do grupo dos antiinflamatórios não esteróides, além de suas alterações na hemostasia serem muito bem relatadas por vários autores. A dose escolhida

para o estudo da interferência na hemostasia foi retirada do trabalho de THRONGREN *et alii*, 1983, onde a mesma constatou que a dose única de 5mg/Kg era capaz de prolongar o Tempo de Sangria em 134% em relação as doses de 3,5 mg/kg e 10mg/Kg.

Para o nimesulide utilizou-se a dose de 6mg/Kg de peso fracionada em duas doses de 3mg/Kg de peso, como é recomendado terapêuticamente observando suas propriedades farmacocinéticas (CHANG *et alii*, 1976 e MAFFEI *et alii*, 1989). Além disso, foi utilizado o trabalho de CARR *et alii*, 1986, que observou inibição da TXB₂ na dose de 10mg/Kg e o trabalho de GRANT *et alii*, 1975 que observa que a dose de 1,5mg/Kg é a dose efetiva 50% (DE50%) para o edema de carragenina em ratos. Deste modo, resolveu-se utilizar uma dose intermediária que se aproximasse à dose da aspirina empregada.

Também se instaurou um processo inflamatório através das incisões realizadas na cauda do rato, procedimento este necessário, já que o nimesulide não apresenta atividade antiprostaglandina em animais controle, sugerindo que, ao contrário de outras drogas (aspirina, indometacina), o nimesulide só apresentaria esta capacidade se o sistema enzimático (prostaglandina sintetase) fosse ativado (BEVILACQUA *et alii*, 1988).

Para contribuir com repostas a esta indagação foram feitos exames preliminares usuais para a função plaquetária, isto é, determinação do Tempo de Sangria e Contagem de Plaquetas, além de um exame preliminar para os fatores de coagulação, a determinação do Tempo de Coagulação do sangue total.

Também foi realizado a determinação do Microhematócrito (determinação em porcentagem, da concentração de eritrócitos em dado volume de sangue não coagulado) que foi citado na revisão, VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989, onde as hemáceas por ocuparem o centro da

corrente axial deslocam as plaquetas em direção às paredes do vaso sanguíneo favorecendo a adesão, além de secretarem ADP que favorece a adesividade e posteriormente a agregação plaquetária. Assim, nesse sentido, a taxa de hemáceas, determina a frequência e a impulsão com que as plaquetas serão projetadas contra a superfície endotelial, bem como sua ativação.

Os resultados do Tempo de Sangria deste trabalho, bem como a determinação da Contagem de Plaquetas e Tempo de Coagulação foram analisados de duas maneiras: primeiramente comparando-se as médias obtidas período por período, para verificar se houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos per si e o controle e, posteriormente, foi analisado o perfil farmacológico para cada determinação, em cada um dos grupos, isto é, como o tratamento com Nimesulide e AAS se comportaram nos diversos períodos estudados.

6.1 - TEMPO DE SANGRIA E CONTAGEM DE PLAQUETAS

Observando as médias das Tabelas 2,4,7,10,13 e 16 que compara os tratamentos entre si e entre o grupo controle, período por período, observa-se que o Tempo de Sangria (TS) no grupo AAS se mostrou elevado em relação ao controle e ao Nimesulide em todos os períodos estudados pós-tratamento. O perfil farmacológico para esta determinação (Tabela 24) mostra o crescente prolongamento do Tempo de Sangria. O pico de elevação do TS foi atingido após 2h do tratamento com AAS ultrapassando em 15% o valor referência para esta determinação em ratos adultos jovens - 120 segundos (FARRIS & GRIFFITH, 1949 e LEWIS *et alii*, 1967)

Esses resultados confirmam os trabalhos de O'BRIEN, 1968; O'GRADY & MONCADA, 1978; PRESTON *et alii*, 1981; MIELKE, 1983;

THRONGREN *et alii*, 1983 e KALLMAN *et alii*, 1987, que apesar de estudarem de diferentes modos, a conclusão final de cada trabalho foi a mesma, a aspirina administrada em dose única ou em múltiplas doses pequenas prolonga o Tempo de Sangria em indivíduos e em ratos com contagem de plaquetas normais através da inibição da função qualitativa plaquetária (agregação).

O conhecimento da contagem de plaquetas é essencial para a exata interpretação do Tempo de Sangria pois como observado por HARKER & SLCHTER, 1972 a baixa contagem de plaquetas é responsável por prolongamento do Tempo de Sangria

Portanto, como as anormalidades plaquetárias podem ser devido alterações quantitativas ou qualitativas é através da determinação do Tempo de Sangria e da Contagem de Plaquetas que pode-se distinguir qual a natureza da anormalidade. Verificou-se que alguns pacientes com intensa trombocitopenia não apresentam sangramento e outros com redução menos intensa do número de plaquetas tem sangramento acentuado. Essa dissociação pode ser explicada então, por uma alteração na função qualitativa plaquetária. Em pacientes com funcionamento normal plaquetário, o Tempo de Sangria se correlaciona com a Contagem de Plaquetas, porém em pacientes com anormalidades qualitativas plaquetárias o Tempo de Sangria se apresenta aumentado com Contagem de Plaquetas normal (HARKER & SLCHTER, 1972).

Observando as Tabelas 49,51,53,55,57 e 59 verifica-se que as médias obtidas da Contagem de Plaquetas após tratamento com AAS não são significantemente (5%) diferentes das médias obtidas nos demais tratamentos , isto é , não houve alteração do número de plaquetas em nenhum dos nos períodos estudados, além do que, os valores da contagem se apresentam na faixa da normalidade segundo os trabalhos de FARRIS & GRIFFITH, 1949 e LEWIS *et alii*, 1985. O perfil farmacológico para esta determinação (Tab. 65) confirma que não houve alte-

ração da contagem em nenhum dos períodos estudados em relação aos animais deste mesmo grupo.

Sugere-se mais uma vez, que o prolongamento do Tempo de Sangria promovido pós-tratamento com AAS se deve a alterações qualitativas da função plaquetária e não a alterações quantitativas (trombocitopenias).

Esta alteração promovida pelo AAS se deve a inibição irreversível da cicloxigenase plaquetária (SMITH & WELLS, 1971; ROTH & SIOK, 1978; BURCH *et alii*, 1978), que uma vez bloqueada, inibe a formação de endoperóxidos cíclicos e tromboxana (TXA₂) (FITZGERALD *et alii*, 1983), substâncias estas que apresentam potente ação amplificadora da agregação plaquetária (HAMBERG *et alii*, 1974; HAMBERG & SAMUELSSON, 1974; BUNTING *et alii*, 1976; MONCADA & VANE, 1980; e BRASS, 1987). AAS também acetila a cicloxigenase das células endoteliais, (JAFFE & WEKSLER, 1979), inibindo a formação de Prostaciclina (PGI₂), que por sua vez, além de ser um potente inibidor da agregação plaquetária, é capaz de suprimir a ligação de agonistas plaquetários (trombina, ADP e etc) e fatores da coagulação como Fator VIII/Fator vW e fibrinogênio (SCHAFER *et alii*, 1979; EHRMAN & JAFFE, 1980). Porém, segundo PRESTON *et alii*, 1981 e WEKSLER *et alii*, 1983, a enzima endotelial é menos sensível que a enzima plaquetária a doses baixas de aspirina. Em contraste com as plaquetas, as células endoteliais submetidas à exposição da aspirina podem recorrer a atividade da cicloxigenase através da síntese de uma nova enzima. Isto justifica a utilização terapêutica da aspirina na prevenção do infarto e trombose em doses abaixo daquelas necessárias à atividade antiinflamatória.

Por outro lado, os resultados médios obtidos do Tempo de Sangria após tratamento com Nimesulide (Tabelas 2,4,7,10,13 e 16) mostraram que comparativamente não são significativamente diferentes

em relação ao controle , isto é, não houve prolongamento no Tempo de Sangria nos diversos períodos estudados porém, verificando-se o perfil farmacológico para esta determinação (Tabela 21) após tratamento com Nimesulide ,observa-se que houve um prolongamento crescente do Tempo de Sangria nos períodos 2h, 24h, 48h decrescendo um pouco em 72h, e voltando ao normal em 96h. A análise estatística confirma diferenças significantes ao nível de 5% entre os períodos de 2h a 72h em relação aos períodos antes e 96h para os animais deste mesmo grupo.

Estes resultados revelam que o tratamento com Nimesulide nesta dose não produziu elevações significantes(5%) no Tempo de Sangria quando comparado aos demais tratamentos, porém o perfil farmacológico deste mesmo grupo mostra prolongamentos significantes do Tempo de Sangria nos períodos 2h, 24h, 48h e 72h em relação aos períodos antes e 96h. Por outro lado, estes prolongamentos observados dentro do mesmo grupo analisados através do perfil farmacológico, para a respectiva determinação, não ultrapassou os valores limites de referência para este teste.

Em parte estas constatações podem ser respondidas através do trabalho de CARR *et alii*, 1984. Este autor utilizando uma dose de 10mg/Kg obteve 80% de inibição da agregação plaquetária, ou seja obteve 80% da inibição da função qualitativa plaquetária. Se o mesmo tivesse verificado o Tempo de Sangria certamente constataria prolongamentos anormais. Como a dose empregada neste trabalho foi inferior a dose utilizada pelo autor referido, o prolongamento ocorreu embora seja comparativamente inferior ao aumento produzido pelo tratamento com AAS e não tenha ultrapassado os valores de referência normais.

Estes resultados também podem ser apoiados indiretamente pelo trabalho de VIGDHAL & TUKEY, 1976 que observaram inibição da agregação plaquetária, in vitro, dose dependente com nimesulide.

Está claro, que a insensibilidade relativa de tal método não permite afirmar que o Nimesulide não altera a função qualitativa plaquetária em relação a aspirina. Seriam necessários testes mais específicos como agregação plaquetária, adesividade plaquetária e dosagens de TXA₂ plaquetária para poder se permitir tal conclusão.

Como foi observado no tratamento com aspirina, a Contagem de Plaquetas (Tabelas 49,51,53,55,57 e 59) comparativamente ao controle a ao tratamento com AAS não foi significativamente diferente (5%), bem como, o perfil (Tab. 63) também não se apresentou com alterações significantes ao longo dos períodos estudados. Isto sugere que, a tendência ao prolongamento da sangria se verifica através de uma alteração qualitativa da função plaquetária e não a uma alteração quantitativa.

6.2 - TEMPO DE COAGULAÇÃO

O Tempo de Coagulação como referido anteriormente nessa discussão é um exame preliminar da função dos fatores da coagulação. Significa o espaço de tempo que o sangue extraído do organismo consome em coagular-se completamente. O valor desta determinação varia conforme o método empregado . Neste caso o valor de referência se situa entre 240 a 480 segundos para o ser humano (WILLIAN, 1990) e em média, 150 segundos, para ratos adultos jovens (FARRIS & GRIF-FITH, 1949 e LEWIS *et alii*, 1985).

Este teste avalia a coagulação pela via intrínseca a partir da ativação do fator XII, até a formação do coágulo de fibrina, passando pela reação enzimática em cascata. O teste não é específico para determinado fator plasmático ou plaquetário. É um método pouco sensível, visto ser necessário que o fator deficiente esteja em con-

centração extremamente baixa para alterar o Tempo de coagulação. Mesmo assim, ainda é indicado como controle de tratamentos com heparina, em todos os casos em que há tendência hemorrágica, e rotineiramente antes de qualquer intervenção cirúrgica.

Neste tipo de determinação, a maioria do tempo é consumida na produção do ativador da protrombina, a tromboplastina plasmática. A conversão de protrombina em trombina e a do fibrinogênio em fibrina ocorrem em alguns segundos. Portanto, as deficiências moderadas dos fatores que participam da segunda e terceira fases do processo da coagulação, não alteram o Tempo de coagulação. As deficiências ou alterações dos fatores que tomam parte na primeira fase da coagulação (VIII, IX, XI, XII, X, V e fator plaquetário 3) são as que mais influem no Tempo de Coagulação (WILLIAN, 1990).

Como se pode perceber as plaquetas podem contribuir para a produção da formação da rede de fibrina através da liberação do fator plaquetário 3 que aumenta a ativação da protrombina (SCHICK et alii, 1983). Além disso, as plaquetas podem participar diretamente da formação da rede de fibrina por providenciar uma superfície para a reunião de vários complexos enzimáticos que precedem a geração de trombina (VERSTRAETE & VERMYLIN, 1989).

Embora as plaquetas venham a participar direta e indiretamente da formação da rede de fibrina, não se constatou até o momento que alterações no metabolismo do ácido araquidônico plaquetário, promovido pelos antiinflamatórios não esteróides venham a interferir com o Tempo de Coagulação, fase primária, a qual as plaquetas participam.

BJORNSSON et alii, 1989, verificaram que o AAS acetila significativamente o fibrinogênio em doses terapêuticas antiinflamatórias(3g), interferindo com a formação de fibrina.

Por outro lado, foi observado por CAETTANEO *et alii*, 1988 que a aspirina em doses terapêuticas antiinflamatórias não diminui significativamente a função dos fatores da coagulação dependentes da vitamina K (II, IX e X) e fator V os quais participam principalmente da primeira fase da coagulação, portanto não determinado alteração no Tempo de coagulação.

Assim, em doses baixas não se espera prolongamento do Tempo de Coagulação após tratamento com aspirina.

Os resultados médios obtidos do Tempo de Coagulação (Tabelas 27,29, 31, 34, 37,40) após tratamento com AAS se mostrou significativamente (5%) diferente e superior nos períodos 24h, 48h, 72h e 96h às medias obtidas nos demais tratamentos, porém essa elevação não ultrapassa os valores considerados normais (150seg)(FARRIS & GRIFFITH, 1949 e LEWIS *et alii*, 1985), o que confirma os achados da literatura citados anteriormente.

A análise do perfil farmacológico para esta determinação (Tabela 47) após tratamento com AAS mostra que o prolongamento ocorrido não foi significativamente (5%) diferente em nenhum do períodos estudados neste grupo de tratamento.

As médias obtidas da determinação do Tempo de Coagulação após 24h, 48h e 72h do tratamento com Nimesulide foram significate- mente (5%) maiores que as médias obtidas no grupo controle e infe- riores aquelas obtidas no grupo tratado com AAS. Cabe ressaltar mais uma vez, que embora estes resultados sejam superiores aos resultados do grupo controle esses valores não ultrapassam os valores de refe- rência, o que prova que o Nimesulide não prolongou realmente o Tempo de Coagulação acima dos valores considerados normais.

O perfil farmacológico para esta determinação (Tabela 45) após tratamento com Nimesulide mostra uma elevação transitória porém não significativa (5%) nos períodos 24h e 48h pós tratamento.

6.3 - MICROHEMATÓCRITO

Os resultados médios da determinação do microhematócrito (Tabelas 67) mostram que, embora tenham sido realizadas seis coletas de sangue durante todo o experimento, as mesmas não alteraram a taxa de hemáceas, comparativamente entre os três tratamentos, o que garante a fidelidade dos resultados obtidos na determinação do Tempo de Sangria e Coagulação após os tratamentos instituídos.

Esses resultados estão de acordo com relatos feito por GOODMAN & GILMAN, 1987, onde AAS não altera os valores do microhematócrito em doses terapêuticas antiinflamatórias em seres humano.

Deve-se ressaltar que esta investigação foi feita com ratos e a dose de AAS empregada é inferior a dose terapêutica antiinflamatória para ratos.

Assim, considerando que foram constadas prolongamentos no Tempo de Sangria com Contagem de plaquetas normais após tratamento com AAS, e que o volume de eritrócitos não se mostrou alterado em nenhum dos períodos estudados, sugere-se que tais anormalidades sejam realmente devido a modificações qualitativas da função plaquetária e não a alterações quantitativas no volume de eritrócitos que poderiam por sua vez, segundo VERSTRAETE E VERMYLEN, 1989, ser a causa de muitas alterações hemostáticas.

Por outro lado, a literatura não registrou até o presente momento, estudos com o Nimesulide e o volume de eritrócitos. Os resultados médios obtidos na determinação do microhematócrito após tratamento com Nimesulide (Tabela 67) também não se mostraram alterados em nenhum dos períodos estudados. Deste modo, o Nimesulide nesta dose, promove prolongamentos do Tempo de Sangria que não ultrapassam os valores de referência , não altera a Contagem de Plaquetas em nenhum dos períodos estudados e não promove alterações no volume eritrocítico que poderiam ser a causa da sutil elevação do TS.

7- CONCLUSÕES

Os resultados obtidos dentro das condições estabelecidas neste experimento, permitiu concluir que:

7.1 - O antiinflamatório Nimesulide na posologia e dose empregada, em ratos :

- não demonstrou prolongar o Tempo de Sangria e Contagem de Plaquetas em nenhum período estudado, quando comparado ao grupo controle;
- produziu prolongamento no Tempo de Coagulação em relação ao grupo controle nos períodos 24h e 48h que não ultrapassaram os valores de referência;
- o perfil para a determinação do TS apresentou prolongamentos menores que aqueles produzidos pelo AAS, mostrando interferir com a atividade funcional plaquetária em proporções menores que o AAS;

7.2 - O ácido acetilsalicílico na posologia e dose empregada, em ratos:

- promoveu elevação do Tempo de Sangria em todos os períodos estudados, em relação aos grupos controle e Nimesulide, porém não interferiu com a Contagem de Plaquetas, mostrando que as alterações na hemostasia são devido a alterações qualitativas da função plaquetária;
- produziu prolongamento do Tempo de Coagulação em relação ao grupo controle nos períodos 24h, 48h, 72h e 96h;
- produziu prolongamento no Tempo de Coagulação em relação ao grupo tratado com Nimesulide nos períodos 72h e 96h;
- embora tenha ocorrido prolongamento no Tempo de Coagulação os valores não ultrapassaram a referência máxima para tal determinação;

7.3 - O AAS e o Nimesulide não promoveram alterações nos valores do microhematócrito, demonstrando então, que o prolongamento no Tempo de Sangria são devido a interferências qualitativas da função plaquetária.

8 - RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de um antiinflamatório não esteróide, (Nimesulide) recentemente introduzido no mercado farmacêutico, sobre os tempos de sangria (TS), coagulação (TC) e contagem de plaquetas em ratos, comparando-os àqueles proporcionados pelo Ácido Acetilsalicílico (AAS) cuja interferência nestes mecanismos hemostáticos já foi comprovada. Para isso foram utilizados 30 ratos, wistar, machos (280 ± 10 g), divididos em tres grupos experimentais de 10 animais cada, que receberam tratamentos distintos, por via oral : Grupo I - AAS¹, em dose única 5 mg/Kg ; Grupo II - Nimesulide², em 2 doses de 3 mg/Kg com intervalo de 6 horas e o Grupo III - Soro fisiológico em volume equivalente aos demais grupos (constituindo-se o grupo controle). A contagem de plaquetas, o TS e o TC foram medidos antes da administração das drogas (tempo zero) e nos tempos de 2, 24, 48, 72 e 96 horas pós-medicação. Os resultados obtidos mostraram que o AAS aumentou o TS em todos os tempos estudados e o TC a partir de 24 horas mantendo-se alterado até 96 horas, porém não alterou o número de plaquetas em nenhum dos tempos, confirmando os resultados de pesquisas anteriores. Por outro lado, com o Nimesulide embora a tendência ao aumento do TS tenha ocorrido, não ultrapassou o valor mínimo de referência. A contagem de plaquetas não se alterou em nenhum dos períodos estudados, entretanto o TC mostrou-se elevado nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Estes resultados sugerem que o Nimesulide utilizado nesta dosagem interfere com mecanismos hemostáticos, com intensidade inferior ao AAS, em ratos.

9 - SUMMARY

The present paper has had as a purpose to evaluate the effects of an antiphlogistic non steroid, (Nimesulide) recently put on the pharmaceutical market about bleeding time (TS), coagulation (TC) and platelet counting in rats, comparing them to those provided by Acetylsalicylic Acid (AAS) whose interference in these hemostatic mechanisms has already been proved. For this purpose, 30 wistar, male rats (280 ± 10 g) have been used, divided into 3 experimental groups with 10 animals each, which have received different treatment, orally taken : Group I : AAS¹ 5 mg/Kg unique dose ; Group II : Nimesulide² 3 mg/Kg in two doses on a 6 hour interval and Group III physiologic serum in equivalent volume to the other groups (being constituted in the control group). Blood platelet counting, the TS and the TC were mesured before drugs administration (Zero time) and in the following times : 2, 24, 48, 72 and 96 hours after medication. The results obtained has shown that AAS has increased the TS in all the times studied and TC as of 24 hours keeping alterated until 96 hours, after that however, there was no alteration in the numbers of platelet in none of the times, proving to be true the results of the early researches. On the other hand, with the Nimesulide although the tendency of TS increase has taken place it hasn't had any change in any of the period studied, nevertheless the TC has presented elevated in the times : 24, 48 and 72 hours. These results suggest that Nimesulide utilized in this dosage interferen with the hemostatic mechanisms, with lower intensity than AAS, in rats.

10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHARONY, D.; SMITH, J.B.; SILVER M.J. Inhibition of platelet aggregation, malonydialdehyde formation and thromboxane function by hydroperoxides of arachidonic acid. Biochim. Biophysiol. Acta, 718: 193, 1982.
- AKTORIES, K. & JAKOBS, K.H. Mediated inhibition of human platelet adenylate cyclase by thrombin. Eur. Biochim., 145: 333, 1984.
- ALI, M. & McDONALD, J.M.D. Reversible and irreversible inhibition of platelet cyclooxygenase and serotonin release by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Thromb. Res., 13: 1057, 1978.
- BELL, R.L.; KENNERLEY, D.A.; STANDFORD, N.; MAJERUS, P.W. Diglyceride lipase: pathway for arachidonate release from human platelets. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 3238, 1979.
- BERGSTROM, S.; DANIELSSON, H.; SAMUELSSON, B. The enzymatic formation of prostaglandin E₂ arachidonic acid. Prostaglandins and related factors 32. Biochim. Biophys. Acta, 90: 207, 1964.
- BERNDT, M.C.; GREGORY, C.; DOUDEN, G. Thrombin interactions with platelet membrane proteins. Ann NY Acad. Sci., 485: 374, 1982.
- BEVILACQUA, M.; VAGO, T.; BERETTA, A. Nimesulide as inhibitor of superoxide anions (O₂⁻) production by human polymorphonuclear leukocytes. Pain and Reproduction, 31: 265, 1988.

BILLS, T.K.; SMITH, J.B.; SILVER, M.J. Metabolism of ^{14}C - arachidonic by human platelets. Biochim. Biophys. Acta., 424: 303, 1976.

_____ ; _____ ; _____ Seletive release of arachdonic acid from the phospholipids of human platelets in response to thrombin. J. Clin. Invest., 60: 1, 1977.

BJORNSSON, T.D.; SCHNEIDER, D.E.; BERGER, H.J. Aspirin acetylates fibrinogeen and enhances fubrinolysis. Fibrinolytic effect is independent of changes in plasminogen activator levels. J. Pharm Exp. Ther., 250: 154, 1989.

BRACE, L.D.; VENTON, D.L.; LE BRETON, G.C. Tromboxane A_2 / Prostaglandin H_2 mobilizes calcium in human blood platelets. Am. J. Physiol., 249: 171, 1985.

BRASS, L.F.; SHALLER, C.C.; BELMONTE, E.J. Inositol 1,4,5-triphosphase - induced granule secretion in platelets. Evidence that activation of phospholipase C mediated by platelet thromboxane receptors involves a guanine nucleotide binding protein dependent mechanism distinct from that of thrombin. J. Clin. Invest., 79: 1296, 1987.

BRECHER, G. & CRONKITE, E.P. Estimation of the number of platelets by phase microscopy. In TOCANTINS, L.M. and KAZAL, L.A. Blood Coagulation, Hemorrhage and Thrombosis, New York, Grune & Shatton, Inc., 1964.

BROEKMAN, M.J. Phospholipid metabolism in stimulated human platelets. Changes in phosphatidylinositol, phosphatidic acid and lysophospholipids. J. Clin. Invest., 66: 275-283, 1980.

- BROW, Z.; NEIL de GILT; LEWIS G.P. Mechanism of inhibition of prostacyclin synthesis by cyclosporine in cultured human umbilical vein endothelial cells. Transplant. Proc., 20 (Supply 3): 654, 1988.
- BUNTING, S. ; MONCADA, S.; VANE, J.R. The effects of prostaglandin endoperoxides and thromboxane A₂ on strip of rabbit coeliac artery and other smooth muscle preparations. Brit. J. Pharmacol., 57: 462P, 1976.
- BURCH, J.W.; STANFORD, N.; MAJERUS, P.W. Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin. J. Clin. Invest., 61: 314, 1978.
- _____ & MAJERUS, P.W. The role of prostaglandins in platelet function. Sem. Hematol., 16: 96-207, 1979.
- CAREY, F.; MENASHI, S.; GRAWFORD, N. Localization of cyclo-oxygenase and thromboxane synthetase in human platelet intracellular membranes. Biochem. J., 204: 847, 1982.
- CARR, D.P.; HENN, R.; GREEN, J. R.; BOTTCHEER, I. Comparison of systemic of thromboxane synthesis, anti-inflammatory activity and gastro-intestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the rat. Agents and Action, 19: 5-6, 1986.
- CASCIARRI, I.; TOFANETTI, O.; CIPOLLA, P.V. Effect of new anti-inflammatory drug nimeulide on 6-Keto-PGF₁ alfa, PGE₂ and TXB₂ gastric production, compared with acetylsalicylic acid and salsalate. (Apresentado ao XXII Congresso Della Società Italiana Di Farmacologia, 10-13, Ottobre, 1984.)
- CASTILHO, R. & BASTIDA, E. Hematologia Clínica, 2 ed., Barcelona, Doyma, Barcelona, 1988. p.547-641.

- CATTANED, M.; D'ANGELO, A.; CANCIANI, M.T. Effect of oral aspirin on plasm levels of vitamin K-dependent clotting factos studies in healthy volunteers. Thromb. Haemost., 59: 540, 1988.
- CHANG, S.F.; MILLER, A.M.; OBER, R.E.; SWINGLE, K.F. Metabolism of R-805, a new non carbossilic acid, non steroid anti-inflammatory agent in rats, Fed. Proc., 35: 774, 1976.
- CHARO, I.F. ; FEINMAN, R.D.; DETWILER, T.C. Interrelations of platelet aggregation and secretion. J. Clin. Invest., 60: 866, 1977.
- CLARCK, J.G.; BENJAMIN, N.; LARKIN, S.W. Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. Am. J. Physiol., 257: H 2033, 1989.
- COLMAN, R.W. Platelet activation. Role of an ADP receptor. Semin. Hematol., 23: 119-128, 1986.
- CONYBEARE, G. & LESLIE, G.B. Improved oral dosing technique for rats. J. Pharmacol.Meth., 12: 109-116, 1988.
- CZERVIONKE, R.L.; SMITH, J.B.; FRY, G.L. Inhibition of prostacyclin by treatment with aspirin correlation with platelet adherence. J. Clin. Invest., 63: 1089, 1979.
- DAVIE, E.W. & RATNOFF, O.D. Waterfall sequence for intrinsic blood dothing. Sci., 145: 1310, 1964.
- DAY H.J. & LAO, A.K. Evaluation of platelet function. Semin. Hematol., 23: 89-101, 1986.
- DUKE, W.W. The relation of blood platelets to hemorrhagic. JAMA, 55: 1185, 1910.

- EGEM, R.W.; PASTON, J.; KUCHL, F.A.Jr. Mechanism for irreversible self de activation of prostaglandin synthetase. J. Biol. Chem. 251: 7329-7335, 1976.
- EHRMAN, M.L. & JAFFE, E.A. Prostacyclin man platelets of ADP and arachidonic acid-induced shape change and procoagulant activity. Prostaglandins, 20: 1103, 1980.
- ENOUF, J.; BREDOUR, R.; BOURDEAU, N.; LEVYTOLEDANO, S. Two different Ca⁺⁺ transporting systems are associated with plasma and intracellular human platelet membranes. J. Biol. Chem., 262: 9293, 1987.
- ERICEL, E. & ZARGADE, M. 15-hydroxyeicosatetraenoic acid inhibits human platelet aggregation. Lipids, 15: 472, 1980.
- FARRIS, E.J. & GRIFFITH, J.Q. The Rat in Laboratory investigation, 2 ed., New York, Hafner Publishing Company, 1949. p.407-419.
- FITZGERALD, G.A.; CATES, J.A.; HAWIGER, J. Endogenous biosynthesis of prostacyclin and thromboxane and platelet function during chronic administration of aspirin in man. J. Clin. Invest., 71: 676, 1983.
- FLOWER, R.J. Steroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of phospholipase A₂. In Cath. C. et al. ed Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research, 3: 105, 1978.
- _____ & BLACKWELL, G.L. The importance of phospholipase in prostaglandin biosynthesis. Biochem. Pharmacol., 25: 285-291, 1976.

- GASPARI, F.; VIGANO, G.; ORISCO, S. Aspirin prolongs bleeding time in uremia by mechanism distinct from platelet cyclooxygenase inhibition. J. Clin. Invest., 79: 1788, 1987.
- GEORGE, N.J. & SANFORD, J.S. - Hematology. In: _____ Acquired Disorders of Platelet Function. New York, 1990. Part. VI, p. 1530. il.
- GERRARD, J.M. ; WHITE, J.G. ; PETERSON, D.A. The platelet dense tubular system: its relationship to prostaglandin synthesis and calcium flux. Thromb. Haemost., 40: 224, 1978.
- _____ & _____ Prostaglandins and thromboxanes: "Middlemen" modulating platelet function in hemostasis and thrombosis. Prog. Hemost. Tromb., 4: 87, 1978.
- _____ & CARROL, R.C. Stimulation of protein phosphorylation by arachidonic acid and endoperoxide analog. Prostaglandins, 22: 81, 1981.
- GOLDBLAT, M.W. Properties of human seminal fluid. J. Physiol. (Londres), 84: 208, 1935.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. In FLOWER, R.J. et alii, orgs. Substâncias Antiinflamatórias e Analgésicas - Antipiréticas; Drogas Empregadas no Tratamento da Gota. Trad. Silva Penildon et alii. Rio de Janeiro, Guanabara Kosgan, 1987. p.443- 469.
- GORMAN, R.R.; BINTING, S. ; MELER, O.V. Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX). Prostaglandins, 13: 377-388, 1977.

HAMBERG, M.; SWENSSON, J.; WAKABAYASHI, J.; SAMUELSSON, B. Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that cause platelet aggregation. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71: 435, 1974.

_____ & SAMUELSSON, B. Prostaglandin endoperoxides. Novel transformations of arachidonic acid in human platelets. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 71: 3400, 1974.

_____ & _____ Novel Transformations of arachidonic acid in human platelets. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71: 3400-3404, 1974.

_____ ; SWENSSON, J.; _____ Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72: 2994, 1975.

HANSON, S.H.; HARKER, L.A.; BJORNSSON, T.D. Effects of platelet modifying drugs on arterial thromboembolism in baboons aspirin potentiates the antithrombotic actions of dipyridamole and sulfinpyrazone by mechanism independent of platelet cyclooxygenase inhibition. J. Clin. Invest., 75: 1591, 1985.

HARKER, L.A. & SLICHTER, S.J. The bleeding time as a screening test for evaluation of platelet function. N. Engl. J. Med., 287: 155, 1972a.

HERCKER, M. & ULLRICH, U. Studies on the interaction of minoxidil with prostacyclin synthetase in vitro. Biochem. Pharmacol., 37: 3363, 1988.

HOFFMAN, R.; JUNIOR, E.B.; SHATTIL, S.J. and COHEN, H.J. Hematology Basic Principles and Pratics. Ed. Churchill Livingstone, New York, 1991.

- HOLMSEN, H. & NEWS, H.J. Secretable storage pools in platelets. Annu. Rev. Med., 30: 119, 1979.
- HULLIN, F.; RAYNAL, P.; RAGAB-THOMAS, J.M.F. Effect of dexamethasone on prostaglandin synthesis and on lipocortin status in human endothelial cells. Inhibition of prostaglandin I₂ synthesis occurring without alteration of arachidonic acid liberation and of lipocortin synthesis. J. Biol. Chem., 264: 3506, 1989.
- HULTIN, M.B. Role of human factor VIII in factor X activation. J. Clin. Invest., 69: 950, 1982.
- JAFFE, E.A. & WEKSLER, B.B. Recovery of endothelial cell prostacyclin production after inhibition by low doses of aspirin. J. Clin. Invest., 63: 532-535, 1979.
- JESSE, R.L. & FRANSON, R.C. Modulation of purified phospholipase A₂ activity from human platelets by calcium and indomethacin. Biochim. Biophys. Acta, 575: 467, 1979.
- KALLMANN, R. NIEUWENHUS, H.K.; de GROOT, P.G. Effects of low doses of aspirin, 10mg and 30mg daily, on bleeding time, thromboxane production and 6-Keto-PGF₁α excretion in healthy subjects. Thromb Res., 45: 355, 1987.
- KANE, W.H. & MAJERUS, P.W. The interaction of human coagulation factor Va with platelets. J. Biol. Chem., 257: 3963, 1982.
- KAZER GLANZMANN, R.; JAKÁBOVÁ, M.; GEORGE, J.N.; LUSCHER, E.F. Stimulation of calcium uptake in platelet membrane vesicles by adenosine 3'5'-cyclic monophosphate and protein kinase. Biochim. Biophys. Acta, 466: 429, 1977.

- KIEFFER, N.; GEUCHARD, J.; FARCET J.P. Biosynthesis of major platelet proteins in human blood platelets. Eur. J. Biochem., 164: 189, 1987.
- KUHL, F.A.Jr.; HUMES, J.L.; EGAN, R.W.; HAM, Z.A.; BEVERIDGE, G.C.; van ARMAN, C.G. Role of prostaglandin endoperoxide PGG₂ in inflammatory process. Nature, (Lond.), 265: 170, 1977.
- _____ & EGAN, R.W. Prostaglandins, arachidonic acid and inflammation. Sci., 210: 978, 1980.
- KURZROK, R. & LIEB, C.C. Biochemical studies of human semen. II. The action of semen on the human uterus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 28: 268, 1930.
- LAPETINA, E.G. & CUATRECASAS, P. Rapid inactivation of cyclo-oxygenase activity after simulation of intact platelet. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 121, 1979.
- LEWIS, J.H.; van THIEL, D.H.; HASIBA, V.; SPERO, J.A.; GAVALER, J. Comparative Hematology and coagulation studies on rodinha (rats). Comp. Biochim. Physiol., 82A(1): 211-215, 1985.
- MAFFEI, R.F.; CARINI, M.; BRAMBILLA, A.; CASCIARRI, I.; SCARIABAROZZI, O; TOFANETTI, O. Metabolism of Nimesulide in man and radical scavenging activity of its main metabolites. (Apresentado na 3ª Interscience World Conference on Antirheumatics, Analgesics, Immunomodulators, 1989)
- MARCUS, A.J.; NEKSLER, B.B.; JAFFE, E.A. Synthesis of prostacyclin from platelet derived endoperoxides by cultured human endothelial cells. J. Clin. Invest., 66: 979, 1980.

- MARGUERIE, G.A.; PLOW, E.F.; EDGINGTON, R.S. Human platelets possess an inducible and saturable receptor specific for fibrinogen. J. Biol. Chem., 254: 5357, 1979.
- MARLER, R.A. An alternate extrinsic pathway of human blood coagulation. Blood, 60: 1353, 1982.
- MARTIN, J.F. *et alii* Relationship between platelet and megakaryocyte volumes. Thromb. Res., 28: 447, 1982.
- MASON, R.P. & CHIGNELL, C.F. Free radicals in pharmacology and toxicology. Selected Topics. Pharmacol. Rev., 33 (4): 189-211, 1982.
- Mc QUEEM, E.G. & FACCOORY, B Non-steroidal anti-inflammatory drugs platelets function. N.Z. Med. J., 99: 358, 1986.
- MIELKE, C.H.Jr.; HEEDEN, D.; BRITTEN, A.F. Hemostasis, Antipyretic and mild analgesics: acetaminophen vs aspirin. JAMA, 235: 613, 1976.
- _____ Influence of aspirin on platelets and the bleeding time. Am. J. Med., 14: 72-8, 1983.
- MILETICH, J.P.; JACKSON, C.M.; MAJERUS, P.W. Properties of the factor Xa binding site on human platelets. J. Biol. Chem., 253: 6900, 1978.
- MILLER, D.V. & GORMAN, R.R. Evidence for distinct prostaglandin I₂ and D₂ receptors in human platelets. J. Pharmacol. Exp. Ther., 210: 134-140, 1979.

MILLS, D.C. ; ROBB, I.A.; ROBERTS, G.C.K. The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine and enzymes from human blood platelets during aggregation. J. Physiol., 195: 715, 1960.

_____ & SMITH, J.B. The influence on platelet aggregation of drugs that affect the accumulation of adenosine 3'5'cyclic monophosphate in platelets. Biochim. J., 121: 185, 1972.

MINNOG, G. di; SILVER, M.J.; GAETANO, G. Prostaglandins as inhibitors of human. Brit. J. Haematol., 43: 637-647, 1979.

MONCADA, S. & VANE, J.R. Pharmacology and Endogenous Roles of Prostaglandin Endoperoxides, Thromboxane A₂, and Prostacyclin. Pharmacol. Rev., 30: 293-331, 1979.

_____ & _____ Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelet and blood vessel walls. New Engl. J. Med., 300: 1142-1147, 1979.

_____ Biological importance of prostacyclin. Br. J. Pharmacol., 76: 3-31, 1982.

_____ & HIGGS, E.A. Arachidonate metabolism in blood cells the vessel wall. Clin. Haematol., 15: 273-292, 1986.

MURERE, E.H. The role of platelet calcium. Semin. Haematol., 22: 313-323, 1985.

NEULFELD, E.J. & MAGERUS, P.W. Arachidonate release and phosphatidic acid turnover in stimulated human platelets. J. Biol. Chem., 258: 2461, 1983.

NUGTEREN, D.H. Arachidonate lipoxigenase in blood platelets. Biochim. Biophysiol. Acta, 380: 299-307, 1975.

O'BRIEN, J.R. A comparison of platelet aggregation produced by seven compounds and comparison of their inhibitors. J. Clin. Pathol., 17: 275, 1964.

_____ Effect of antiinflammatory agents on platelets. Lancet., I: 874, 1968.

_____; FINCH, W.; CLAIR, E. A comparison of an effect of different anti-inflammatory drugs on human platelets. J. Clin Pathol., 23: 522, 1970.

O'GRADY, J. & MONCADA, S. Aspirin: a paradoxical effect on bleeding time. Lancet., II: 780, 1978.

PATRIGNANI, P.; FILABOZZI, P.; PATRONO, C. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. J. Clin. Invest., 69:1366, 1982.

PIPER, P.J. & VANE, J.R. Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by antiinflammatory drugs. Nature, 223: 29, 1969.

PRESCOTT, S.M. & MAJERUS, P.W. Characterization of 1,2 - diacylglycerol hydrolysis in human platelets. J. Biol. Chem., 258: 764, 1983.

PRESTON, F.E.; WHIPPS, S.; JACKSON, C.A. Inhibition of prostacyclin and platelet thromboxane A_2 after low-dose aspirin. N. Engl. J. Med., 304: 76, 1981.

- PRYDZ, H. The role of factor VII in the intrinsic pathway: a brief review. Haemostasis, 13: 156, 1983.
- RAMWELL, P.W.; LEDVEY, E.M.K.; SINTETOS, A.L. Regulation of the arachidonic acid cascade. Biol. Reprod., 16: 70-87, 1977.
- RAO, A.K. & KOWALSKA, M.A. ADP induced platelet shape change and mobilization of cytoplasmatic ionized calcium are mediated by distinct binding sites on platelets: 5'-p-fluorosulfonylbenzoyl-adenosine is a weak platelet agonist. Blood, 70: 751, 1987.
- ROTH, G.J. & MAJERUS P.W. The mechanism of the effect of aspirin on human platelets I. Acetylation of a particulate fraction protein. J. Clin. Invest., 56: 624, 1975.
- _____ & SIOK, C.J. Acetylation of the NH₂-terminal serine of prostaglandin synthetase by aspirin. J. Biol. Chem., 253: 3782, 1978.
- RUFER, C.; SCHILLINGER, E.; BOETTCHER, I.; REPENTHIN, W. and HERRMANN, C.H. Non-steroidal anti-inflammatory XII: mode of action of anti-inflammatory methane sulphonanilides. Biochem. Pharmacol., 31 (2): 3591-96, 1982.
- SABRAZES, J. Procédés pratiques pour determine au lite malade le début de la coagulation du sang et pour facilites l'examen du caillot rt duserum. Folia. Haemt., 1: 394, 1904.
- SAMUELSSON, B. Biosynthesis of prostaglandins. Ed. Proc., 31: 1442-60, 1972.

SANFORD, J.S.; GEORGE, J.N.; ISENBERG, W.M.; BRASS, L.F.; PLOW, E.F.;
LAFTE, E.A. Hematology, 3rd ed., new York, 1990.

SCHAFER, A.L. Identification of platelet receptors for prostaglan-
din I₂ and D₂. J. Biol. Chem., 254: 2914, 1979.

_____ ; RODRIGUES, R.; LOSCALZO, J. Inhibition of vascular endot-
helial cell prostacyclin synthesis by plasmin. Blood, 74: 1015,
1989.

SCHICK, P.K. The role of platelet membrane lipids in platelet he-
mostatic activits. Semin. Hematol., 16: 221, 1979.

_____ Human platelet cytoskeletons: specific content of glyco-
lipds and phospholipids. Blood, 61: 163, 1983.

SIEGEL, M.I.; MC CONNELL, R.T.; ABRAHAMS, S.L. Regulation of ara-
chidonate metabolism via lipoxxygenase and cicloxigenase by 12-
HPETE the product of human platelet lipoxxygenase. Biochem.
Biophysiol. Res. Commun., 89: 1273, 1979.

SIMON, L.S. & MILLS, J.A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs.
N. Engl. J. Med., 302: 1179, 1980.

SINGER, R. Aspirin a probable cause for secondary post tonsille he-
morrhage. Arch. Otorynalog. (Chicago), 42: 19, 1945.

SMITH, J.B. & WELLS, A.L. Aspirin selectively inibits prostaglan-
din production in human platelets. Nature (Lond), 231: 235, 1971.

_____ The eicosanoids and their biochemical mechanism of action.
Biochem. J., 259: 315, 1989.

- STEER, M.L. & WOOD, A. Regulation of human platelet adenylate cyclase by epinephrine, prostaglandin E₁, and guanine nucleotides sites mediating stimulation and inhibition. J. Biol. Chem., 254: 10791, 1979.
- STERMERMANN, M.B.; BAUMGARTNER, H.R.; SPAET, T.H. The subendothelial microfibril and platelet adhesion. Lab. Invest., 24: 179, 1971.
- STRAUB, W. & RUCKERT, F. The formation of the extrinsic prothrombin activator. Thromb. Diath. Haemorrh., 5: 402, 1961.
- TAVASSOLI, M. Megakaryocyte-platelet axis and the process of formation and release. Blood, 55: 537, 1980.
- TELDEBERG, W. & SAXENA, P.N. Fever produced by prostaglandin E₁. J. Physiol. (London), 217: 547, 1971.
- THOMAS, D.P. Effect of catecholamines on platelet aggregation caused by thrombin. Nature, 215: 298, 1967.
- THOMAZ, G. & WEST, G.B. Prostaglandins, kinin and inflammation in rat. Brist. J. Pharmacol., 50: 231-35, 1974.
- THONGREN, M. & GUSTAFSON, A. Effects of acetylsalicylic acid and dietary intervention on primary hemostasis. Am. J. Med., Jun., 14: 66-71, 1983.
- TODD, SANFORD, DAVIDSOHN Diagnósticos Clínicos e conduta Terapêutica por Exames Laboratoriais by JOHN BERNAT HENRY. In: FREDERICK R. DAVEY, M.D.. Vasos Sanguíneos e Hemostasia. Trad. Dra maria A. Madail & Dr. A. Filipe da Cunha .10^o ed., São Paulo, Manole, 1989. v. 1, cap. 31, p. 1203-1231.

- TRACY, P.B. & MARXN, K.G. A model for assembly of coagulation factor complexes on cell surface: Prothrombin activation on platelets. in biochemistry of platelets, ed. by Dr. Phillips and M.A. Shuman, Orlando, Academic., 1986. p. 296.
- _____ ; NESHEIM, M.E.; MANN, K.G. Coordinate binding of factor Va and factor Xa to the unstimulated platelet. J. Biol. Chem., 256: 743, 1981.
- TRANZER, J.P. & BAUMGARTHER, H.R. Filling gaps in the vascular endothelium with blood platelets. Nature, 216: 1126, 1967.
- VAN DIEYEN, G. The role of phospholipid and factor VIIIa in the activation of bovine factor X. J. Biol. Chem., 256: 3433, 1981.
- VAN DORP, D.A.; BERTHUIS, R.K.; MUGTEREN, D.H.; VONKEMAN, H. Enzymatic conversion of cells as - polyunsaturated fatty acids in to prostaglandins. Nature, 203: 839, 1964.
- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nature New Biol., 231: 232, 1971.
- VERSTRAETE, M. & VERMYLEN, J. Trombose. In: _____ Determinantes Celulares, Químicos e Reológicos da Trombose e Fibrinólise. Trad. Aparecida Yoshiko Fujimura et alii . São Paulo, Sarvier, 1989. cap. 1, p. 1-45.
- VIEIRA, S. Introdução à Biostatística, 6ª ed., Campus, Rio de Janeiro, 1989.
- VIGDAHL, R. & TUKEY, R. Mechanism of action of novel anti-inflammatory drugs diflumidone and R-805. Biochem. Pharmacol., 26: 307-311, 1977.

VON EULER, V.S. On the specific vasodilating and plain muscle stimulating substance from accessory genital glands in man and certain animals (prostaglandin and vesiglandin). J. Physiol. (Lond), 88: 213, 1936.

WALSH, P.N. & BIGGS, R. The role of platelets in intrinsic factor Xa formation. Br. J. Haematol., 22: 743, 1972.

_____ ; SINHA, D. ; KOSHY, A. *et alii* Functional characterization of platelet bound factor XIa: Retention of factor XIa activity on the platelet surface. Blood, 68: 225, 1986.

WEISMANN, G. Aspirin. Sci. Am., Jan, 58-64, 1991.

WEISS, H.J. & ALEDORT, L.M. Impaired platelet connective tissue reaction in men after aspirin ingestion. Lancet, 2: 495, 1967.

_____ ; _____ ; KOCHWA, S. The effect of salicylates on the hemostatic properties of platelets in men. J. Clin. Invest., 47: 2169, 1968.

WEKSLER, B.B. ; PETT, S.B. ; ALONSO, D. *et alii* Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients. N. Engl. J. Med., 308: 800, 1983.

_____ Heparin and acidic fibroblast growth factor interact to decrease prostacyclin synthesis in human endothelial cells by affecting both prostaglandin synthase and prostacyclin synthase. J. Cell Physiol., 142: 514, 1990.

WILLIAN J.WILLIAMS, M.D. *et alii* Hematology, 4 ed., New York. Mc. Graw Hill, 1990. p. 1161-1369.

WINTROB, M.M.; LEE, G.R.; BOGGS, D.R.; BITHELL, T.C.; ATHENS, J.W.;
FOERTER, J. Clinical Hematology, 7 ed., Philadelphia, Lea and
Febiger, 1974.

WISLOFF, F. & GODAL, H.C. Prolonged bleeding time with adequate
platelet count in hospital patients. Scand. J. Haematol., 27: 45,
1981.

WONG, P.Y. & CHEUNG, W.Y. Calmodulin stimulates human platelet
phospholipase A₂. Biochim. Biophysiol. Res. Commun., 90: 473,
1979.

ZUCKER, M.B. Platelet agglutination and vasoconstriction as factors
in spontaneous hemostasis in normal, thrombocytopenic, heparini-
zed, and hypoprothrombinemic rats. Am. J. Physiol., 148: 275,
1947.

_____ & BORELLI, J. Quantity assay and release of serotonin in
human platelets. J. Appl. Physiol., 2: 425, 1955.

_____ & PETERSON, J. Effect of acetylsalicylic acid, other
nonsteroidal antiinflammatory agents and dipyridamol on human
blood platelets. J. Lab. Clin. Med., 76: 66, 1970.

_____ The functionament of blood platelets. Sci. Am., 212 (6):
70-89, 1980.

11- ANEXOS

Anexo 1 - Tabela de Pesos das unidades experimentais.

Anexo 2 - Tabelas dos resultados das determinações individuais das unidades experimentais.

Anexo 3 - Tabelas complementares da determinação dos microhematócritos.

ANEXO 1

TABELA DE PESOS DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS SUBMETIDAS AOS TRATAMENTOS DISTINTOS.

Tabela 1.1 - Peso das unidades experimentais dos grupos submetidos a tratamentos distintos

RATO	TRATAMENTO		
	NaCl 0,9%	NMSL	AAS
1	290	290	265
2	285	275	280
3	280	282	285
4	265	265	285
5	285	285	265
6	290	240	245
7	275	250	250
8	230	245	220
9	265	270	310
10	275	275	300
x	274	267	270

ANEXO 2

TABELAS DOS RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES INDIVIDUAIS DAS
UNIDADES EXPERIMENTAIS

Tabela 2.1 - Tempo de sangria (em segundos) em ratos, tratados com dose única de salina 0.9% através de administração via oral, em volume equivalente aos demais tratamentos, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE SANGRIA (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	135	120	105	90	105	90
2	90	75	105	120	90	105
3	60	105	120	90	90	90
4	75	105	105	90	90	105
5	75	90	120	90	120	90
6	105	90	-	-	-	-
7	120	90	90	-	-	-
8	120	120	90	90	90	105
9	120	90	105	135	75	105
10	90	105	90	105	90	105
x	100,0	99,0	103,3	101,3	99,4	99,4

Tabela 2.2 - Tempo de sangria (em segundos) em ratos, tratados com dose única de Nimesulide 6mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE SANGRIA (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	105	105	165	135	120	105
2	90	105	105	105	135	105
3	75	105	105	120	120	105
4	90	135	120	120	120	90
5	105	120	120	120	150	105
6	90	135	120	120	105	105
7	75	90	120	105	105	105
8	105	135	120	105	105	105
9	90	120	105	105	105	90
10	75	120	105	105	120	105
x	90,0	117,0	118,5	114,0	118,5	102,0

Tabela 2.3 - Tempo de sangria (em segundos) em ratos, tratados com dose única de A.S.S 5mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE SANGRIA (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	105	120	135	120	120	120
2	105	150	135	135	135	135
3	120	165	150	150	165	165
4	120	165	135	120	120	150
5	105	150	135	135	150	-
6	105	165	150	120	120	120
7	90	120	120	120	120	150
8	90	180	165	-	-	-
9	105	150	150	165	135	105
10	90	135	120	120	120	120
x	103,5	150,0	139,5	131,7	131,7	133,1

Tabela 2.4 - Tempo de coagulação (em segundos) em ratos, tratados com dose única de salina 0.9% através de administração via oral, em volume equivalente aos demais tratamentos, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE COAGULAÇÃO (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	120	120	150	90	120	120
2	105	90	120	90	90	60
3	105	105	90	90	90	120
4	120	120	90	90	90	90
5	90	90	90	90	120	90
6	150	150	-	-	-	-
7	120	150	60	-	-	-
8	105	120	90	120	120	90
9	90	90	90	120	120	60
10	90	90	90	120	120	120
x	109,5	112,5	96,7	101,3	108,8	93,8

Tabela 2.5 - Tempo de coagulação (em segundos) em ratos, tratados com dose única de Nimesulide 6mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE COAGULAÇÃO (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	120	90	90	90	90	120
2	120	90	120	150	180	120
3	120	90	120	90	90	90
4	90	120	120	120	120	120
5	120	135	120	150	180	120
6	120	150	150	150	150	120
7	90	120	150	150	120	90
8	90	120	120	120	150	120
9	120	180	120	120	150	120
10	120	150	120	120	150	90
x	111,0	124,5	123,0	126,0	138,0	111,0

Tabela 2.6 - Tempo de coagulação (em segundos) em ratos, tratados com dose única de A.S.S 5mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE COAGULAÇÃO (seg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	90	90	150	150	150	150
2	90	120	120	120	150	150
3	120	120	120	120	150	180
4	90	120	120	150	120	-
5	90	120	120	120	120	-
6	120	150	150	150	180	180
7	150	150	165	150	120	90
8	120	150	150	-	-	-
9	120	150	150	150	150	150
10	120	120	120	120	180	90
x	111,0	136,5	136,5	136,7	146,7	141,4

Tabela 2.7 - Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) em ratos, tratados com dose única de salina 0.9% através de administração via oral, em volume equivalente aos demais tratamentos, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	CONTAGEM DE PLAQUETAS (mil/ml sg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	507	465	519	410	580	525
2	600	455	431	535	620	585
3	800	550	560	431	525	640
4	406	365	447	495	415	545
5	520	440	445	560	635	425
6	495	435	-	-	-	-
7	650	495	515	-	-	-
8	615	775	610	675	497	420
9	740	535	690	615	585	475
10	640	710	515	597	550	680
x	607,3	522,5	525,7	539,7	550,8	536,8

Tabela 2.8 - Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) em ratos, tratados com dose única de Nimesulide 6mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	CONTAGEM DE PLAQUETAS (mil/ml sg)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	705	670	522	570	505	510
2	665	575	495	430	475	310
3	550	535	494	492	530	455
4	550	470	585	563	430	300
5	445	430	435	545	520	475
6	577	635	725	627	500	625
7	660	770	627	645	545	535
8	550	610	570	455	405	535
9	510	605	645	520	395	360
10	740	645	560	595	450	470
x	595,2	594,5	565,8	544,2	475,5	457,5

Tabela 2.9 - Contagem de Plaquetas (mil/ml sg) em ratos, tratados com dose única de A.S.S 5mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	TEMPO DE COAGULAÇÃO (em seg.)				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	415	510	450	505	530	500
2	625	600	522	495	575	500
3	620	594	345	300	655	445
4	560	480	605	554	665	610
5	625	615	505	447	615	-
6	740	519	562	475	340	422
7	630	515	470	430	465	560
8	750	677	760	-	-	-
9	565	530	617	593	500	572
10	635	487	430	415	425	525
x	616,5	526,6	526,6	468,2	530,0	516,7

ANEXO 3

TABELAS COMPLEMENTARES DA DETERMINAÇÃO DO MICROHEMATÓCRITO

Tabela 3.1 - Microhematócritos de ratos, tratados com dose única de salina 0.9% através de administração via oral, em volume equivalente aos demais tratamentos, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	MICROHEMATÓCRITOS				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	47	44	39	40	35	30
2	46	41	38	36	35	29
3	44	41	34	37	31	24
4	46	40	36	30	28	24
5	45	44	40	39	32	29
6	48	45	-	-	-	-
7	47	44	38	-	-	-
8	47	43	39	36	30	28
9	42	40	30	35	37	33
10	41	40	31	36	37	29
x	45	42	36	36	33	28

Tabela 3.2 - Microhematócritos de ratos, tratados com dose única de Nimesulide 6mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	MICROHEMATÓCRITOS				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	45	42	35	39	33	27
2	44	43	38	37	33	30
3	44	42	33	29	28	27
4	47	42	34	33	29	27
5	44	40	35	30	29	25
6	45	37	40	30	30	29
7	47	44	38	35	38	34
8	45	42	35	30	25	24
9	46	42	38	31	34	20
10	47	44	37	32	31	22
x	45	42	36	33	31	26

Tabela 3.3 - Microhematócritos de ratos, tratados com dose única de A.S.S 5mg/Kg de peso, através de administração via oral, antes e após 2, 24, 48, 72 e 96 horas.

ANIMAL	ANTES	MICROHEMATÓCRITOS				
		2h	24h	48h	72h	96h
1	44	42	40	35	33	29
2	44	40	33	33	30	34
3	45	39	34	36	31	32
4	45	43	40	36	34	28
5	46	42	41	35	34	-
6	48	44	40	31	22	24
7	44	43	36	29	30	24
8	47	39	37	-	-	-
9	45	39	40	38	35	34
10	45	39	40	28	29	27
x	45	39	40	28	29	27

A presente Tese foi apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, em exame para obtenção do Título de Mestre em Ciências, Área de Farmacologia, no dia 06 de fevereiro de 1992 e considerada aprovada com o conceito A e menção "Distinção", cuja banca examinadora foi composta por:

Prof.Dr. Thales Rocha de Mattos Filho - Faculdade de Odontologia
de Piracicaba - UNICAMP

Prof.Dr. Eduardo Dias Andrade - Faculdade de Odontologia de Piraci-
caba - UNICAMP

Profa. Dra. Estera Finkelfarb - Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade São Francisco- Bragan-
ca Paulista.

Prof. Dr. José Ranali - Faculdade de Odontologia de Piracicaba-
UNICAMP

Este exemplar foi devidamente corrigido conforme Resolução
CCPG/UNICAMP 036/83.

Piracicaba, 10 de março de 1992.