

**EFEITOS DO FATOR XIII DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA NA CICATRIZAÇÃO DA
PELE DE RATOS EM USO DE DICLOFENACO SÓDICO**

**Dalton Lustosa de Figueirêdo
Dissertação de Mestrado
Faculdade de Medicina
Universidade de Brasília**

**Brasília
2006**

Dalton Lustosa de Figueirêdo

**EFEITOS DO FATOR XIII DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA NA CICATRIZAÇÃO DA
PELE DE RATOS EM USO DE DICLOFENACO SÓDICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira.

Brasília
Faculdade de Medicina
Universidade de Brasília

Dedicatória

Dedico esta Dissertação de Mestrado as pessoas que estiveram presentes nos momentos mais importantes da minha existência:

- Minha mãe Maria dos Remédios Lustosa de Figueirêdo, que desde o meu nascimento encontra-se ao meu lado em todos os momentos.
- Ao meu falecido pai Derivaldo de Figueirêdo Bezerra, que tinha a educação como princípio prioritário.
- Ao meu irmão Derivaldo de Figueirêdo Bezerra Filho, que além de irmão, é o Pai que esteve ao meu lado sempre.
- Aos meus irmãos Denise Lustosa de Figueirêdo e Delson Lustosa de Figueirêdo, professores Mestres, pelas opiniões durante o desenvolvimento da dissertação.
- Ao meu tio Dr. Edson Lustosa Machado, que é a razão primordial da minha união com Brasília.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos a todos que fizeram esta árdua tarefa possível de ser realizada:

- Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira, meu orientador que além da participação ativa no desenvolvimento, correções e na proposição de novos caminhos, pacientemente ouviu minhas sugestões.
- Prof. Dr. Florêncio Figueiredo Cavalcante Neto pelo altruísmo na realização da avaliação histopatológica deste estudo.
- Aos meus ex-residentes da Unidade de Cirurgia Geral do Hospital Regional de Sobradinho que me auxiliaram na realização do experimento: Dra. Márcia Schelb e Dr. Jairo Lira de Andrade Filho.
- Aos funcionários do Alojamento de Animais, especialmente na pessoa da Veterinária Gabriela Mariângela Farias de Oliveira, caracterizada pela compreensão e participação na realização da parte experimental.
- Aos funcionários do Laboratório LIB BIÓPSIA onde foi realizada toda a preparação do material para a avaliação histopatológica, especialmente na pessoa da funcionária Mauracilene Serafim Moreira.
- Ao colega de Mestrado Rômulo Medeiros Almeida pela ajuda no desenvolvimento da parte de recursos de informática.
- Aos colegas da Unidade de Cirurgia Geral do Hospital Regional de Sobradinho, especialmente os amigos Dr. Carlos Alberto Santa Rita Filho e Dr. Romildo Martins Rezende, que desempenharam cargo de Chefia na Unidade de Cirurgia Geral, pela compreensão em relação às dificuldades que tive que superar durante a realização do mestrado e ao mesmo tempo desempenhar o papel de cirurgião e preceptor.
- Aos funcionários da Secretária de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília.
- Ao Serviço de Informações Roche nas pessoas de Vera Lúcia Araújo e Cleide Ataíde pela disponibilização da maioria dos artigos originais utilizados.
- Aos meus familiares que sempre compreenderam meu afastamento e reclusão durante este período árduo.

Não chores, meu filho;
Não chores, que a vida
É luta renhida:
Viver é lutar.
A vida é combate,
Que os fracos abate,
Que os fortes, os bravos
Só pode exaltar.

(Canção do Tamoio - Gonçalves Dias)

RESUMO

O diclofenaco sódico apresenta efeitos deletérios sobre a cicatrização e em vários estudos foi demonstrada a eficácia do Fator XIII da coagulação sanguínea sobre a cicatrização nas mais variadas situações no pós-operatório. Este estudo foi idealizado no intuito de avaliar se o Fator XIII da coagulação sanguínea poderia bloquear estes efeitos deletérios provocados pelo diclofenaco sódico.

Este ensaio experimental randomizado duplo cego foi realizado com a utilização de 96 ratos da linhagem Winstar. Os animais foram distribuídos em quatro grupos de 24 animais de acordo com a utilização da drogas em estudo: DS (diclofenaco sódico), DSF (diclofenaco e Fator XIII da coagulação), SF (solução de NaCl a 0,9%) e F (Fator XIII da coagulação). Estes grupos foram realocados em três novos grupos cada de acordo com o dia de eutanásia (terceiro, sétimo e décimo - quarto) ficando cada grupo então com oito animais. Foi realizada incisão de 04 cm no dorso à esquerda com posterior sutura em pontos separados. A cicatrização foi avaliada quanto aos aspectos microscópicos do processo inflamatório cicatricial assim como a variação da resistência tênsil da ferida operatória no terceiro, sétimo e décimo - quarto dia de pós-operatório. Os resultados foram submetidos à análise estatística, tendo sido utilizado os testes Mann-Whitney Rank Sum Test e o t-test. Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.

O Fator XIII da coagulação sanguínea diminuiu o edema no pós-operatório no 3º. dpo em relação ao grupo controle ($p=0,015$). O grupo do Fator XIII da coagulação sanguínea apresentou no 3º. dpo aumento da resistência tênsil em relação ao grupo do diclofenaco sódico ($p=0,024$). O grupo do diclofenaco sódico apresentou diferença estatisticamente significativa com maior presença de leucócitos polimorfonucleares no sétimo dia de pós-operatório ($p=0,04$; $p=0,01$; $p=0,04$), maior presença de células mononucleares ($p=0,021$; $p=0,021$; $p=0,021$), maior neoformação vascular ($p=0,038$; $p<0,01$; $p=0,021$) e maior quantidade de tecido de granulação ($p=0,03$; $p=0,001$; $p=0,03$) no décimo quarto dia de pós-operatório em relação aos demais grupos avaliados.

O Fator XIII da coagulação sanguínea foi eficaz em bloquear parte dos efeitos deletérios na cicatrização provocados pelo diclofenaco sódico.

Palavras-chave: Cicatrização de Feridas, Fibronectina, Transglutaminases, Fator XIII da Coagulação Sanguínea, Diclofenaco Sódico e Prostaglandinas.

ABSTRACT

Diclofenac presents deleterious effects on the healing process and many studies showed effectiveness of Factor XIII in the healing of different kinds of post-operative situations. The aim of this study was to detect if Factor XIII could block this pernicious effects in the healing process promoted by diclofenac.

96 rats was randomized in four groups: group DS (diclofenac), group DSF (diclofenac + Factor XIII), group SF (NaCl 0,9%) and group F (Factor XIII). Each group was divided again in another three groups of eight animals. Four groups of each initial group were killed in the third, seventh and fourteenth post-operative day. The microscopic inflammatory healing process and the breaking strength of wound was examined in the third, seventh and fourteenth post-operative day. The Mann-Whitney Rank Sum Test and the T-test was utilized in the statistical analysis. It was considered statistical significant $p < 0,05$.

In third post-operative day the Factor XIII decreased edema in relation to the control group ($p=0,015$) and increased the breaking strength in relation to the diclofenac group ($p=0,024$). In the seventh post-operative day diclofenac increased the number of polymorfonuclear cells in relation to the other groups: DSF ($p=0,04$), SF ($p=0,01$) and F ($p=0,04$). In the fourteenth post-operative day diclofenac increased the number of mononuclear cells in relation to the other groups: DSF ($p=0,021$), SF ($p=0,021$) and F ($p=0,021$). Also diclofenac increased vascular neofomation in relation to the other groups respectively ($p=0,038$; $p<0,01$ and $p<0,021$) and granulation tissue ($p=0,03$; $p=0,001$ and $p=0,03$).

The coagulation Factor XIII was efficient in prevent part of deleterious diclofenac effects in the normal healing process.

Key-words: Wound Healing, Fibronectin, Transglutaminases, Coagulation Factor XIII, Sodium Diclofenac and Prostaglandin.



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICA - IBDB
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

14 de dezembro de 2004.

A QUEM POSSA INTERESSAR

Declaramos que o projeto intitulado **“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO FATOR XIII DA COAGULAÇÃO SOBRE A CICATRIZAÇÃO DA PELE DE RATOS EM USO DE DICLOFENACO SÓDICO”**. foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Maria Júlia Martins Silva
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL
PRESIDENTE

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Estrutura do Fator XIII da coagulação sanguínea	04
FIGURA 2 - Avaliação da presença de leucócitos polimorfonucleares no sétimo dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina com aumento de 40x (Grupo DS 7/Animais em uso de diclofenaco sódico)	37
FIGURA 3 - Avaliação da presença de leucócitos polimorfonucleares no sétimo dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina com aumento de 40x (Grupo SF 7/Animais em uso de solução de cloreto de sódio a 0,9%; foto A e B)	37
FIGURA 4 - Avaliação da presença de células mononucleares no décimo - quarto dia de pós-operatório, aumento 40x (Grupo DS 14 - foto A; Grupo DSF 14 –foto B)	38
FIGURA 5 - Avaliação da presença de vasos neoformados no décimo - quarto dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina com aumento 40x (Grupo DS 14 - foto A; Grupo DSF 14 - foto B)	38
FIGURA 6 - Avaliação da presença de tecido de granulação no décimo - quarto dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina com aumento 40x (Grupo DS 14 - foto A; Grupo DSF 14 - foto B)	38
FIGURA 7 – Algoritmo do experimento	84
FIGURA 8 – Animal fixado sobre prancha em decúbito ventral após a realização do procedimento anestésico	85
FIGURA 9 - Animal anestesiado fixado sobre prancha em decúbito ventral após a realização da tricotomia do dorso	85

FIGURA 10 - Animal anestesiado fixado sobre prancha em decúbito ventral após a realização da incisão dorsal de 04 cm de comprimento	86
FIGURA 11 - Animal anestesiado fixado sobre prancha em decúbito ventral após a realização sutura em pontos simples separados eqüidistantes com fio de nylon 4.0	86
GRÁFICO 1 - Avaliação da resistência tênsil no terceiro dia de pós-operatório entre os grupos DS 3, DSF 3, SF3 e F 3	29
GRÁFICO 2 - Avaliação da resistência tênsil no sétimo dia de pós-operatório entre os grupos DS 7, DSF 7, SF 7 e F 7	29
GRÁFICO 3 - Avaliação da resistência tênsil no décimo quarto dia de pós-operatório entre os grupos DS 14, DSF 14, SF 14 e F14	30
GRÁFICO 4 - Avaliação da freqüência da variável edema no subgrupo de estudo diclofenaco sódico no terceiro dia de pós-operatório	30
GRÁFICO 5 - Avaliação da freqüência da variável edema no subgrupo de estudo diclofenaco sódico + Fator XIII no terceiro dia de pós-operatório	31
GRÁFICO 6 - Avaliação da freqüência da variável edema no subgrupo de estudo controle (cloreto de sódio 0,9%) no terceiro dia de pós-operatório	31
GRÁFICO 7 - Avaliação da freqüência da variável edema no subgrupo de estudo Fator XIII no terceiro dia de pós-operatório	31

GRÁFICO 8 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no sétimo dia de pós-operatório	32
GRÁFICO 9 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + Fator XIII no sétimo dia de pós-operatório	32
GRÁFICO 10 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no sétimo dia de pós-operatório	32
GRÁFICO 11 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo Fator XIII no sétimo dia de pós-operatório	33
GRÁFICO 12 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo - quarto dia de pós-operatório	33
GRÁFICO 13 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório	33

GRÁFICO 14 - Avaliação da freqüência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....34

GRÁFICO 15 - Avaliação da freqüência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....34

GRÁFICO 16 - Avaliação da freqüência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....34

GRÁFICO 17 - Avaliação da freqüência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....35

GRÁFICO 18 - Avaliação da freqüência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....35

GRÁFICO 19 - Avaliação da freqüência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....35

GRÁFICO 20 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....36

GRÁFICO 21 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....36

GRÁFICO 22 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....36

GRÁFICO 23 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo Fator XIII no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....36

GRÁFICO 24 - Avaliação ponderal média dos grupos em estudo (DS, DSF, SF e F), no início do experimento, no pré-operatório imediato, no terceiro dia de pós-operatório e no décimo - quarto dia de pós-operatório

.....83

LISTA DE TABELAS

1 - Avaliação Histopatológica do Grupo DS 3 (terceiro dia de pós-operatório)	79
2 - Avaliação Histopatológica do Grupo DSF 3 (terceiro dia de pós-operatório)	79
3 - Avaliação Histopatológica do Grupo SF 3 (terceiro dia de pós-operatório)	79
4 - Avaliação Histopatológica do Grupo F 3 (terceiro dia de pós-operatório)	80
5 - Avaliação Histopatológica do Grupo DS 7 (sétimo dia de pós-operatório)	80
6 - Avaliação Histopatológica do Grupo DSF 7 (sétimo dia de pós-operatório)	80
7 - Avaliação Histopatológica do Grupo SF 7 (sétimo dia de pós-operatório)	81
8 - Avaliação Histopatológica do Grupo F 7 (sétimo dia de pós-operatório)	81
9 - Avaliação Histopatológica do Grupo DS 14(décimo - quarto dia de pós-operatório)	81
10 - Avaliação Histopatológica do Grupo DSF 14 (décimo - quarto dia de pós-operatório)	82

11 -Avaliação Histopatológica do Grupo SF 14 (décimo - quarto dia de pós-operatório)	82
12 - Avaliação Histopatológica do Grupo F 14 (décimo - quarto dia de pós-operatório)	82
13 - Avaliação Ponderal dos grupos em estudo no início do experimento, no terceiro dia de pós-operatório, no sétimo dia de pós-operatório e no décimo - quarto dia de pós-operatório	83

LISTA DE ABREVIATURAS

- FCP:** fator de crescimento plaquetário.
- FCT- β :** fator de crescimento transformador β .
- FAP:** fator ativador plaquetário.
- FXIIIa:** Fator XIII da coagulação sanguínea ativado.
- FNT- α :** Fator de necrose tumoral α .
- FCF:** Fator de Crescimento de Fibroblastos.
- IL-1:** Interleucina-1.
- AINES:** antiinflamatório não-esteroidais.
- PGs:** Prostaglandinas.
- DS 3:** grupo de estudo diclofenaco sódico (terceiro dia de pós-operatório).
- DS 7:** grupo de estudo diclofenaco sódico (sétimo dia de pós-operatório).
- DS 14:** grupo de estudo diclofenaco sódico (décimo - quarto dia de pós-operatório).
- DSF 3:** grupo de estudo diclofenaco sódico + Fator XIII da coagulação (terceiro dia de pós-operatório).
- DSF 7:** grupo de estudo diclofenaco sódico + Fator XIII da coagulação (sétimo dia de pós-operatório).
- DSF 14:** grupo de estudo diclofenaco sódico + Fator XIII da coagulação (décimo-quarto dia de pós-operatório).
- SF 3:** grupo de estudo solução de cloreto de sódio 0,9% (terceiro dia de pós-operatório).
- SF 7:** grupo de estudo solução de cloreto de sódio 0,9% (sétimo dia de pós-operatório).
- SF 14:** grupo de estudo solução de cloreto de sódio 0,9% (décimo-quarto dia de pós-operatório).
- F 3:** grupo de estudo Fator XIII da coagulação (terceiro dia de pós-operatório).
- F 7:** grupo de estudo Fator XIII da coagulação (sétimo dia de pós-operatório).
- F14:** grupo de estudo Fator XIII da coagulação (décimo-quarto dia de pós-operatório).
- UnB:** Universidade de Brasília.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	18
3. MATERIAL E MÉTODO.....	20
3.1. Considerações Gerais.....	21
3.2. Sorteio realizado para a formação dos grupos e subgrupos.....	21
3.3. Administração das drogas em estudo.....	21
3.4. Anestesia e técnica operatória.....	22
3.5. Pós-operatório e reoperação.....	23
3.6. Estudo da resistência tênsil.....	24
3.7. Estudo histopatológico.....	25
3.8. Análise estatística.....	26
4. RESULTADOS.....	27
4.1. Avaliação ponderal.....	28
4.2. Evolução clínica dos animais.....	28
4.3. Análise da resistência tênsil.....	28
4.4. Análise histopatológica.....	30
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO.....	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
8. APÊNDICE.....	78

1. INTRODUÇÃO

A função primária da pele é servir como barreira de proteção contra o meio externo. A perda da integridade de extensas porções de pele como resultado de lesão ou doença pode levar a grande disfunção ou mesmo morte. A cada ano nos Estados Unidos mais de 1,25 milhões de pessoas são vítimas de queimaduras e mais de 6,5 milhões apresentam grandes úlceras causadas por pressão, estase venosa ou diabetes melitus (Singer *et al*, 1999).

A ferida cirúrgica ou traumática é um desafio à prática clínica e o retardo na cicatrização é uma significativa causa de morbidade e mortalidade representando aumento do custo financeiro para o sistema de saúde (Barbul *et al*, 1994).

A cicatrização é um processo complexo e dinâmico que resulta na restauração da função e da continuidade anatômica. Fundamentalmente, todos os tipos de tecidos cicatrizam através de três mecanismos básicos: deposição da matriz extracelular, contração e epitelização (Diegelmann *et al*, 2004). A ferida em cicatrização é um tecido extremamente complexo e dinâmico que em determinados aspectos, poderia ser considerado como um órgão, mesmo que temporário (Kumar *et al*, 2004).

Após a agressão ocorre uma organizada e complexa cascata de eventos celulares e bioquímicos caracterizados por sequência ordenada de eventos que envolvem a resposta cicatricial, caracterizada pelo movimento de células especializadas para o sítio da lesão, resultando ao final na formação da ferida cicatrizada. Pode-se didaticamente dividir a cicatrização em três fases distintas que se interrelacionam: de hemostasia e inflamação, proliferativa e de maturação ou remodelação. A falha ou prolongamento de uma dessas fases pode resultar em retardo da cicatrização ou mesmo o não fechamento da ferida cirúrgica (Witte *et al*, 1997; Diegelmann *et al*, 2004).

Esta divisão do processo cicatricial em fases, contudo tem apenas um caráter didático visto que este a cicatrização caracteriza-se por sua continuidade e interrelação.

A hemostasia precede a inflamação; segue a ruptura de vasos com exposição do colágeno subendotelial às plaquetas, agregação plaquetária e posteriormente a ativação da via intrínseca da cascata da coagulação. O contato entre o colágeno e as plaquetas, assim como a presença da trombina, fibronectina, e seus fragmentos resulta na liberação de citocinas e fatores de crescimento provenientes dos grânulos α das plaquetas como: fator de crescimento plaquetário (FCP), fator de crescimento transformador β (FCT- β), fator ativador plaquetário (FAP), fibronectina e serotonina (Diegelmann *et al*, 2004). O coágulo de fibrina local serve como assoalho para as células migratórias, que são: os neutrófilos, os monócitos, os fibroblastos e as células endoteliais (Musbek *et al*, 1996). A formação inadequada do coágulo, como é observada na deficiência congênita do fator XIII da coagulação sanguínea (FIG.1), está associada com cicatrização deficiente, secundária a diminuição da adesão das células à área do processo inflamatório ou por diminuição da quimiotaxia (Beck *et al*, 1961; Duckert *et al*, 1972; Grinnell *et al*, 1981; Board *et al*, 1993; Eggbring *et al*, 1996; Corbett *et al*, 1997; Meili *et al*, 2002).

A fase inflamatória é uma fase essencial do processo cicatricial, caracterizada por permeabilidade vascular aumentada, quimiotaxia de células da circulação para a ferida, liberação de citocinas, fatores de crescimento e ativação de células migratórias (Witte *et al*, 1997).

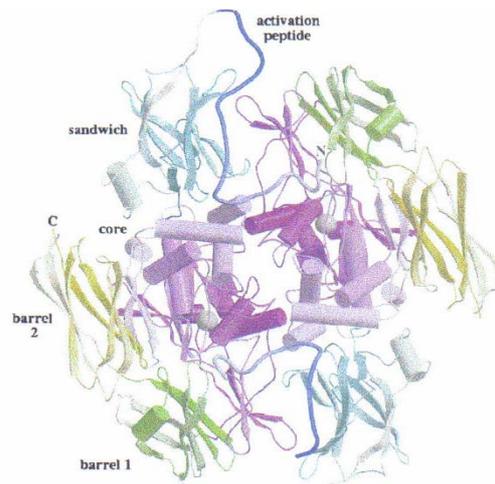


FIGURA 1 – Estrutura do Fator XIII da coagulação sanguínea
Fonte: Muszbek et al, 1999.

Os neutrófilos são as primeiras células que migram para a ferida cirúrgica. O aumento da permeabilidade devido à inflamação e liberação de prostaglandinas, junto com o gradiente de concentração de substâncias quimiotáticas como os fatores de complemento, interleucinas, fator de necrose tumoral α (FNT- α), FCT- β , fator plaquetário 4 e produtos elaborados por bactérias estimulariam a migração de neutrófilos (Kleiman *et al*, 1995; Witte *et al*, 1997).

Os dois mais importantes sinais para estimular a migração celular são decorrentes do fator derivado de plaquetas (FDP), que estaria relacionado à iniciação da quimiotaxia para os neutrófilos, macrófagos, células musculares lisas e fibroblastos, além de estimular a mitogênese dos fibroblastos e células musculares lisas; e do FCT- β , que atuaria atraindo e estimulando os macrófagos a secretar outras citocinas incluindo FCF (Fator de Crescimento de Fibroblastos), FCP, FNT- α e interleucina-1(IL-1), além de aumentar a quimiotaxia para os fibroblastos e as células musculares lisas, modular a expressão do colágeno e da colagenase (Diegelmann *et al*, 2004).

Os neutrófilos, os monócitos e os macrófagos são as células mais importantes na fase inflamatória, sendo que os neutrófilos apresentam vida muito curta, deixando de ser as células predominantes na ferida em torno do quinto dia da cicatrização, passando a ser substituídas preferencialmente pelos macrófagos. A tarefa primordial dos neutrófilos é a fagocitose, determinando a destruição das bactérias contaminantes, das células não funcionantes e dos tecidos danificados da matriz extracelular presentes na ferida (Lingen, 2001). Já os macrófagos atuam auxiliando o debridamento e a fagocitose bacteriana, agindo posteriormente na coordenação do processo cicatricial através da liberação de proteases e peptídeos vasoativos, assim como de fatores quimiotáticos e de crescimento para fibroblastos e células endoteliais. A presença dos macrófagos na ferida é um marcador que a fase inflamatória está em seu final e está se iniciando a fase proliferativa (Deodhar *et al*, 1997; Witte *et al*, 1997; Singer *et al*, 1997; Diegelmann *et al*, 2004).

O aumento da proliferação das células epiteliais provenientes das bordas da ferida, do epitélio dos folículos pilosos e de outros anexos da pele atinge o máximo em torno de 48 a 72 horas após o início da cicatrização. Os queratinócitos auxiliam o processo de reepitelização produzindo a fibronectina, as collagenases, os ativadores de plasminogênio, as proteases neutras e o colágeno tipo V. A fibronectina é um importante componente da matriz extracelular que promove adesão dos queratinócitos e auxilia em sua disposição ao longo da ferida. As collagenases e outras proteases são importantes no debridamento dos tecidos desvitalizados. A fibronectina tem papel importante na cicatrização, correspondendo a: formação de ligação

cruzada com a fibrina propiciando a adesão e a migração celular; funciona como componente inicial da matriz extracelular; se liga ao colágeno e interage com glicosaminoglicanas da matriz; atua como fator quimiotático para macrófagos, fibroblastos e células epidermais e endoteliais; promove a opsonização e a fagocitose; participa da formação do *fibronexus* e do arcabouço para a deposição do colágeno (Deodhar *et al*, 1997; Witte *et al*, 1997; Singer *et al*, 1999).

Durante a coagulação do plasma, a fibronectina se associa ao coágulo, através de ligação cruzada com a fibrina sob ação do Fator XIIIa da coagulação (fator estabilizador de fibrina) (Brown *et al*, 1988; Rapaport, 1990; Board *et al*, 1993; Musbek *et al*, 1996; Eggbring *et al*, 1996). A adesão do fibroblasto à fibrina requer a presença da fibronectina, sendo maior se a fibronectina estiver conectada a fibrina por ligações cruzadas (Bruhn *et al*, 1981; Brown *et al*, 1993; Corbett *et al*, 1997; Musbek *et al*, 1999). O fibroblasto não prolifera em coágulos preparados com fibrina em plasma deficiente em Fator XIIIa da coagulação, determinando então uma cicatrização deficiente (Beck *et al*, 1961; Duckert *et al*, 1972; Duckert *et al*, 1978; Hofbauer *et al*, 1979; Thavaraj *et al*, 1991; Meili *et al*, 2002; Inbal *et al*, 2005). A fibronectina também promove fagocitose de partículas, não apenas pelos macrófagos, mas também pelos fibroblastos. Finalmente, a deposição de colágeno pelo fibroblasto ocorre paralelamente à deposição da fibronectina. A fibronectina apresenta então profundos efeitos sobre a cicatrização, incluindo a formação do substrato próprio para a migração e o crescimento das células durante o desenvolvimento e a organização do tecido de granulação, assim como durante a remodelação e a ressíntese do

tecido conectivo da matriz (Grinnell *et al*, 1981; Powanda *et al*, 1981; Board *et al*, 1993; Deodhar *et al*, 1997; Corbett *et al*, 1997).

O tecido de granulação consiste em células inflamatórias, fibroblastos e uma matriz glicoproteica apresentando vasos em formação, colágeno e glicosaminoglicanas. Sua formação se inicia por volta de três a cinco dias, precedida pela fase inflamatória. O fibroblasto, que é a estrutura celular predominante na fase proliferativa, é a célula crítica na formação do tecido de granulação, não apenas produzindo colágeno como também formando elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases como as collagenases que são importantes na remodelação da ferida (Deodhar *et al*, 1997; Witte *et al*, 1997; Prathiba *et al*, 2000). Durante a fase inicial (primeiros quatro dias) da formação do tecido de granulação o ácido hialurônico é o componente proeminente da matriz. Nos estágios finais da formação do tecido de granulação o ácido hialurônico é substituído por uma variedade de proteoglicanas como sulfato de condroitina, sulfato de dermatan, sulfato de heparan e outros, contribuindo para a resistência tecidual e apresentando importante papel na regulação síntese de colágeno (Grinnell *et al*, 1981; Singer *et al*, 1999; Kumar *et al*, 2004).

A molécula de colágeno é secretada pelo fibroblasto, após a hidroxilação, sendo referida como procolágeno. Após os peptídeos terminais amino e carboxil serem removidos, a molécula passa a se chamar colágeno. As moléculas de colágeno formam ligações cruzadas entre si, determinando a formação de fibrilas e fibras, promovendo o aumento da resistência tênil da ferida (Forrest, 1983; Deodhar *et al*, 1997; Witte *et al*, 1997). Paralelamente à deposição do colágeno na ferida a fibronectina é

substituída gradualmente. As glicosaminoglicanas não sulfatadas e o ácido hialurônico são substituídos por proteoglicanas mais elásticas como o sulfato 4 de condroitina. Ocorrendo paralelamente diminuição da quantidade de água da ferida, permitindo que as fibras de colágeno e de outros componentes da matriz se aproximem, proporcionando pela formação destas ligações cruzadas mediadas pela lisil oxidase o aumento na resistência de ruptura da ferida. As fibras de colágeno gradualmente são reorientadas passando de uma disposição anárquica para uma forma de disposição paralela ao longo da ferida. Havendo substituição progressiva das fibras de colágeno tipo I pelas fibras de colágeno do tipo III, que estavam presentes em maior concentração na ferida no início do processo cicatricial (Grinell *et al*, 1981; Witte *et al*, 1997; Singer *et al*, 1999; Diegelmann *et al*, 2004).

Vários fatores tanto locais como sistêmicos podem determinar alteração no desenvolvimento do processo normal de cicatrização, levando a retardo ou mesmo prolongamento do processo cicatricial. Os fatores locais mais importantes que determinam alteração no processo cicatricial são: a infecção, a técnica cirúrgica, os hematomas na ferida, presença de corpos estranhos, a isquemia tecidual e os curativos. Têm sido relatados fatores sistêmicos que alteram a cicatrização como: a desnutrição, a obesidade, a diabetes, a sépsis, a deficiência de oligoelementos, a deficiência de vitaminas entre outros (Barbul *et al*, 1994; Mäkelä *et al*, 1995; Deodhar *et al*, 1997; Schaffer *et al*, 1998; Mandai *et al*, 2001).

Várias doenças estão associadas com alteração do processo cicatricial, dentre elas convém destacar a síndrome de Ehlers-Danlos, a

hemofilia, a doença de Von Willebrand, a deficiência de Fator XIII da coagulação, a hipofibrinogenemia de Werner, a insuficiência cardíaca congestiva, a aterosclerose, o diabetes melito, a síndrome de Cushing, as doenças hematológicas associadas com trombocitopenia, a insuficiência hepática e a síndrome de deficiência imunológica (Ragaz *et al*, 1976; Deodhar *et al*, 1997; Fujita *et al*, 2005).

A utilização de alguns medicamentos pode promover alteração no processo cicatricial. Os medicamentos frequentemente relacionados com distúrbios da cicatrização são: glicocorticóides, os antiinflamatórios não esteroidais, a colchicina, a ciclosporina e a penicilamina. Estas drogas atuam primordialmente determinando alteração no processo inflamatório e na atividade imune, revelando a interação entre o sistema imune e o sistema de cicatrização (Barbul *et al*, 1995; Deodhar *et al*, 1997; Witte *et al*, 1997). Dentre os medicamentos citados, convém ressaltar a redução da inflamação induzida pelos esteróides que promove alteração da migração, da proliferação e da angiogênese celular; podendo sua ação deletéria ser revertida parcialmente pela administração concomitante de vitamina A (Lee *et al*, 1970; Leibovich *et al*, 1975; Hunt *et al*, 1986).

Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINE) são drogas utilizadas rotineiramente na prática clínica, frequentemente usadas no tratamento pós-operatório imediato dos mais variados procedimentos cirúrgicos, após traumatismos diversos e no tratamento de doenças inflamatórias crônicas em vista de seu efeito analgésico (Lee *et al*, 1970; Ku *et al*, 1974; Menassé *et al*, 1978).

Embora os AINE sejam estruturalmente diferentes, apresentam mecanismo de ação semelhante que é atribuído, principalmente, ao bloqueio da biossíntese das prostaglandinas através da inibição da enzima ciclo-oxigenase e/ou da lipoxigenase (Ku *et al*, 1978; Menassé *et al*, 1978; Brogden *et al*, 1980; Higgs *et al*, 1980; Penhos *et al*, 1983; Todd *et al*, 1988). Ocorrem também efeitos sobre a função dos macrófagos, condrócitos e linfócitos acarretando alteração no processo inflamatório da cicatrização (Higgs *et al*, 1980; Prandi Filho *et al*, 1988).

As prostaglandinas (PGs) são metabólitos do ácido araquidônico, sintetizado a partir de ácidos graxos, cuja principal fonte são os fosfolípidos encontrados nas membranas celulares e, portanto, presentes em todos os tecidos. Ao contrário dos demais mediadores da inflamação, as PGs não se encontram armazenadas em compartimentos subcelulares, sendo produzidas de acordo com a demanda fisiológica (Jaffe *et al*, 1971; Itakura *et al* 1989). Esta condição, aliada à sua elevada instabilidade, provavelmente limitam sua ação no tecido lesado. Embora sejam produzidas relativamente cedo no processo inflamatório (principalmente as do tipo E), elas são formadas, em geral, subsequentemente à liberação de histamina e bradicinina, decorrente da necrose e do dano celular concomitante. Apresentam como ação primordial a mediação e a modulação do processo inflamatório (Menassé *et al*, 1978; Lee *et al*, 1970; Ku *et al*, 1974; Brogden *et al*, 1980; Higgs *et al*, 1980; Todd *et al*, 1988).

Em alguns estudos onde foi administrado o análogo da prostaglandina E1 (misoprostol) foi observado cicatrização mais rápida e mais completa de úlceras duodenais e gástricas (Agrawal *et al*, 1985;

Bright-Asare *et al*, 1986; Hui *et al*, 1986; Watkinson *et al*, 1987) assim como da cicatrização de anastomoses colônicas em ratos (Oliveira *et al*, 1994), demonstrando a importância das PGs no processo cicatricial.

O diclofenaco sódico é um antiinflamatório não hormonal utilizado para tratamento da dor e da inflamação de várias doenças. É bem tolerado, assim como outros antiinflamatórios não hormonais, raramente promove ulceração gastrointestinal ou outros tipos de efeitos colaterais quando utilizados no pós-operatório. É mais potente do que a aspirina, ibuprofeno, naproxeno e fenilbutazona, menos potente do que o piroxicam e de potência semelhante à indometacina (Ku *et al*, 1974; Menassé *et al*, 1978; Brogden *et al*, 1980; Todd *et al*, 1988). Apresenta potente inibição da ciclo-oxigenase *in vitro* e *in vivo*, levando à diminuição da síntese de prostaglandinas, prostaciclina e produtos da tromboxana (Bjarnason *et al*, 1986). Apresenta ação de inibição reversível da segunda fase da agregação plaquetária que não é atingida em doses usualmente utilizadas na prática clínica. Afeta a função dos polimorfonucleares, determinando diminuição da quimiotaxia e da produção de superóxidos e de proteases (Higgs *et al*, 1980; Todd *et al*, 1988). Em doses elevadas, também diminui a produção dos leucotrienos e esta ação não parece ser devida à inibição direta da enzima lipo-oxigenase (Lee, 1970; Ku, 1974; Menassé *et al*, 1978; Brogden *et al*, 1980; Higgs *et al*, 1980; Todd *et al*, 1988; Paulus *et al*, 1991).

Vários autores têm descrito retardo no processo de reparação tecidual, em animais de experimentação, com utilização de diversos agentes AINE (Gadacz *et al*, 1967; Lee *et al*, 1974; Diwan *et al*, 1986; Minossi *et al*, 1996).

Prandi Filho *et al.* (1988) em estudo experimental em ratos sobre o efeito do diclofenaco sódico na diminuição da reação inflamatória proporcionada por corpo estranho no subcutâneo, demonstraram atenuação do processo inflamatório, diminuição na proporção de leucócitos e de fibroblastos no segundo e no sétimo dia de pós-operatório. Contudo não observaram diferença significativa na proporção das fibras colágenas entre os dois grupos.

Tsurumi *et al.* (1973) em estudo experimental de cicatrização em ratos submetidos à administração de diclofenaco sódico, observaram no primeiro dia de pós-operatório redução significativa na força necessária para romper a ferida operatória. O efeito do diclofenaco sódico foi comparável à indometacina e maior do que o do ácido flufenâmico.

Tognini *et al.* (1998) demonstraram em estudo experimental de cicatrização na parede abdominal em ratos em que foi administrado diclofenaco sódico retardo no processo de reparação tecidual da ferida cirúrgica.

Vários autores relatam que os AINE apresentam efeitos deletérios também sobre a cicatrização intestinal, por estarem associados ao aumento da taxa de deiscência intestinal e de infecção, conseqüentemente, favorecendo uma maior taxa de mortalidade (Mastboom *et al.*, 1991; Calache Neto *et al.*, 1991; Sousa *et al.*, 1991; Sousa *et al.*, 1994) O diclofenaco sódico é um exemplo de AINE que proporciona importantes alterações na cicatrização de anastomoses intestinais, determinando diminuição e retardo na síntese de colágeno, formando cicatrizes menos

resistente (Brennan *et al*, 1984; Calache Neto *et al*, 1992; Verderese, 1995; Minossi *et al*, 1996).

Algumas drogas têm sido utilizadas na tentativa de bloquear os efeitos deletérios sobre a cicatrização provocados por utilização de antiinflamatórios hormonais e não hormonais.

O efeito benéfico da suplementação de vitamina A sobre a cicatrização em indivíduos com níveis séricos normais de vitamina A foi demonstrado. A suplementação com vitamina A poderia reverter parcialmente o efeito inibitório dos corticosteróides sobre a cicatrização. (Ehrlich *et al*, 1968; Hunt *et al*, 1986; Barbul *et al*, 1994) O efeito inibitório sobre a cicatrização proporcionado pela utilização por via oral de antiinflamatórios hormonais e não hormonais foi revertido pela aplicação tópica do ácido retinóico (Lee *et al*, 1970).

Medeiros *et al*. (2002) em estudo experimental avaliaram o efeito do Fator XIII da coagulação na cicatrização de feridas incisadas na pele de ratos tratados com corticosteróide. Demonstraram que o corticóide (metilprednisolona) dificultou a cicatrização e diminuiu a resistência à ruptura da ferida, ação que foi revertida pela utilização do Fator XIII da coagulação sanguínea.

O Fator XIII é um zimógeno que requer a trombina e o cálcio para a sua ativação. No plasma, o Fator XIII apresenta-se em duas subunidades, a subunidade a, que é a forma ativa da enzima, e a subunidade b que é uma proteína carreadora (Takahashi *et al*, 1986; Ádány *et al*, 1988; Juprelle-Soret *et al*, 1988; Ádány *et al*, 1996). O Fator XIII ativado modifica a estrutura do coágulo pela formação de ligações cruzadas entre a fibrina

através de uma ligação ϵ (γ -glutamil) lisina (Rapaport, 1990). Ela também se liga a outras proteínas, incluindo a fibronectina e o inibidor α -2-plasmina (α -2PI), dentro do coágulo através do mesmo tipo de ligação (Sakata *et al*, 1980; Upchurch *et al*, 1990). O coágulo modificado pelo Fator XIII é fisicamente mais forte e relativamente mais resistente à fibrinólise e poderia ser um meio mais favorável para o crescimento dos fibroblastos (Board *et al*, 1993; Aeschlimann *et al*, 1994; Toida *et al*, 1995).

Vários estudos comprovaram a importância do Fator XIII da coagulação sanguínea na cicatrização das feridas (Hofbauer *et al*, 1979; Staindl *et al*, 1979; Baer *et al*, 1980; Mishima *et al*, 1984; Gerngross *et al*, 1987; Jorgesen *et al*, 1987; Aeschlimann *et al*, 1996; Brockmeier *et al*, 1998; Cario *et al*, 1999; Ohwada *et al*, 2000; Becker *et al*, 2001; Hasegawa *et al*, 2004; Inbal *et al*, 2005; Kilian *et al*, 2005).

Foi observada a sua ação na estabilização da fibrina, estimulação dos fibroblastos e a sua adesão aos filamentos de fibrina além de promover a migração dessas células, no coágulo de fibrina (Rasche *et al*, 1975; Pohl *et al*, 1979; Schwering *et al*, 1981; Murtaugh *et al*, 1983; Achyuthan *et al*, 1988; Francis *et al*, 1988). O Fator XIII ativado (Fator XIIIa) cataliza a ligação cruzada e incorpora a fibronectina na matriz extracelular em cultura de fibroblastos. Quando o Fator XIIIa é incluído no meio, a acumulação de fibronectina na forma insolúvel com ligação cruzada em agregados com alto peso é aumentada na matriz extracelular (Mosher *et al*, 1975; Mosher *et al*, 1979; Cohen *et al*, 1980; Mosher *et al*, 1984; Barry *et al*, 1988a; Barry *et al*, 1988b; Barry *et al*, 1990; Mosher *et al*, 1991), promovendo a formação de uma superfície para adesão de células envolvidas na cicatrização,

facilitando a proliferação dos fibroblastos e a síntese de colágeno (Brown *et al*, 1993; Board *et al*, 1993; Keski-oja *et al*, 1996; Gentile *et al*, 1992; Wozniak *et al*, 2002; Marx *et al*, 2002). A proliferação normal dos fibroblastos pode ser restaurada através da adição do Fator XIII purificado (Marktl *et al*, 1974; Ueyama *et al*, 1978; Bruhn *et al*, 1981; Karges *et al*, 1988; Paye *et al*, 1989; Isogai *et al*, 1990; Barry *et al*, 1990; Brown *et al*, 1993). O Fator XIII promove elevação dos níveis de Fator de Crescimento para Células Epidermais e FCT- β durante a cicatrização (Fujita *et al*, 2006).

Baseada na atividade de transglutaminase do Fator XIII há um aumento da estabilidade do coágulo de fibrina devido à formação de ligações covalentes entre os polímeros de fibrina. Além de determinar estabilização do tecido de cicatrização devido à formação de ligações cruzadas entre as moléculas de fibrina favorecendo o aumento da migração de fibroblastos, possui alguma função quimiotática (Baer *et al*, 1980; Folk, 1980; Bruhn *et al*, 1981). A formação de ligações cruzadas com as proteínas adesivas como a fibronectina, vitronectina, actina, miosina e o colágeno pode também contribuir para a formação do tecido de granulação. Ocorre prolongamento da estabilidade da formação das ligações cruzadas decorrente do aumento da resistência a fibrinólise (Barry *et al*, 1988a; Barry *et al*, 1988b). Talvez, a ligação da fibrina com a antiplasmina, especialmente através do Fator XIII apenas com duas cadeias A, comparada com a ligação do Fator Plasmático XIII com duas cadeias A e duas Cadeias B, leve a um aumento da resistência a fibrinólise local (Francis *et al*, 1988; Ichinose *et al*, 1990; Wozniak *et al*, 1996).

Vários estudos demonstraram a ação do Fator XIII da coagulação sanguínea sobre a cicatrização quando administrado concomitantemente no pré-operatório e pós-operatório, determinando aumento na proliferação dos fibroblastos e da deposição de colágeno na ferida operatória (Hellere *et al*, 1980; Mishima *et al*, 1984; Claes *et al*, 1985; El-Hakim *et al*, 1999; Wang *et al*, 1992; Ogawa *et al*, 1995; Wozniak *et al*, 1996; Benfer *et al*, 1997; Corbett *et al*, 1997; Brockmeier *et al*, 1998; Hasegawa *et al*, 2004; Inbal *et al*, 2005).

O Fator XIII da coagulação sanguínea vem sendo utilizado também como marcador do grau de inflamação e da atividade das doenças inflamatórias intestinais (retocolite ulcerativa e doença de Crohn), tendo sua atividade sérica relação inversa com o nível de atividade da doença (D'Argenio *et al*, 1990; Stadnicki *et al*, 1991; D'Argenio *et al*, 1994; D'Argenio *et al*, 1995; Seitz *et al*, 1994; Chamouard *et al*, 1998).

Lorenz *et al*. (1994) através de estudo piloto em seres humanos demonstraram que a administração intravenosa de Fator XIIIa (1250 UI, Fibrogammin® HS, Behringwerke, Germany) como terapia suplementar em pacientes com retocolite ulcerativa refratária ao tratamento com ácido 5-aminosalicílico e corticosteróide, determinou a diminuição das queixas e da frequência das evacuações, melhora do índice de atividade clínica e da avaliação endoscópica. Foi observado inicialmente também nível baixo do índice de atividade do Fator XIII, que após a terapia de reposição aumentou significativamente.

D'Argenio *et al*. (2000) em estudo experimental de colite inflamatória induzida em ratos, observaram que a administração exógena de Fator XIII recombinante proporcionou a diminuição do nível da atividade da doença

com redução da extensão e da gravidade das lesões inflamatórias intestinais já estabelecidas e em desenvolvimento, determinando melhora na cicatrização persistente após pelo menos 18 dias do término do tratamento suplementar com o Fator XIII recombinante.

Observando os efeitos deletérios promovidos pelo diclofenaco sódico quando utilizados no período perioperatório como anteriormente demonstrado em vários estudos experimentais e os possíveis efeitos positivos promovidos pelo Fator XIII da coagulação sanguínea quando utilizado durante o processo cicatricial, aventamos a possibilidade da reversão destes efeitos promovidos pelo diclofenaco sódico com a utilização concomitante do Fator XIII da coagulação sanguínea.

2. OBJETIVOS

Observar se os efeitos deletérios da administração do diclofenaco sódico sobre a cicatrização poderiam ser revertidos com administração concomitante do Fator XIII da coagulação sanguínea.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Considerações Gerais

Este estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília-UnB e no laboratório de Patologia LIB-BIÓPSIA de Brasília.

Foram utilizados 96 ratos, *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, machos, aparentemente saudáveis, com peso corporal inicial entre 280 e 340 gramas e com 90 dias de vida no início do experimento. Os animais foram fornecidos pela Bioagri Ltda., alimentados com dieta padrão de laboratório (Labina®, ração para Ratos, Camundongos e Hamsters-Ralston Purina do Brasil Ltda. – Campinas-SP) e água *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 16 gaiolas com seis animais cada, permanecendo no Alojamento de Animais do Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília durante uma semana antes do início da administração dos medicamentos no pré-operatório para a correta ambientação.

3.2 Sorteio e nomeação dos grupos e subgrupos

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos nomeados DS, DSF, SF e F; com 24 animais cada, sendo redistribuídos posteriormente em três grupos de oito animais cada, conforme o dia da eutanásia programada: terceiro dia, sétimo dia e décimo - quarto dia de pós-operatório (Campana *et al*, 2001; Callegari-Jacques *et al*, 2004). Os animais então ficaram então alocados em subgrupos nomeados como: DS 3, DS 7, DS 14, DSF 3, DSF 7, DSF 14, SF 3, SF 7, SF 14, F 3, F 7 e F 14.

3.3 Administração das drogas em estudo

Os 48 animais pertencentes aos grupos DS 3, DS 7, DS 14, DSF 3, DSF 7 e DSF 14 foram submetidos à administração diária de diclofenaco sódico (Novartis) na dose de 5mg/kg de peso por via intramuscular na face medial da coxa das patas traseiras durante cinco consecutivos no pré-operatório, alternando os membros

inferiores, sendo o último dia de administração o dia em que foi realizado o procedimento cirúrgico.

Aos 48 animais pertencentes aos grupos SF 3, SF 7, SF 14, F 3, F 7 e F 14 foram administradas dose volume equivalente de solução de NaCl a 0,9% (solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, BAXTER HOSPITALAR LTDA – São Paulo-São Paulo) por via intramuscular na face medial da coxa das patas traseiras durante cinco dias consecutivos no período pré-operatório, alternando os membros inferiores, sendo o último dia de administração no pós-operatório imediato.

Os 16 animais pertencentes aos grupos DS 3 e SF 3 foram submetidos à administração de solução de NaCl a 0,9% por via intravenosa, em dose volume equivalente ao que seria administrado de Fator XIII da coagulação sanguínea (Fibrogammim®) no pós-operatório imediato.

Os 16 animais pertencentes aos grupos DSF 3 e F 3 foram submetidos à administração de Fator XIII da coagulação sanguínea, 50UI/kg de peso, por via intravenosa, no pós-operatório imediato.

Os 32 animais pertencentes aos grupos DS 7, DS 14, SF 7 e SF 14 foram submetidos à administração de solução de NaCl a 0,9% por via intravenosa, em dose volume equivalente ao que seria administrado de Fator XIII da coagulação sanguínea no terceiro dia de pós-operatório.

Os 32 animais pertencentes aos grupos DSF 7, DS 14, F 7 e F 14 foram submetidos à administração de Fator XIII da coagulação sanguínea, 50UI/kg de peso, por via intravenosa, no terceiro dia pós-operatório imediato.

3.4 Anestesia e técnica operatória

Após 12 horas de jejum, com água *ad libitum*, os animais foram submetidos à anestesia geral com utilização de cloridrato de ketamina (Dopalen®, Sespo Indústria e Comércio Ltda, Jacareí-SP) na dose de 1ml/Kg de peso intramuscular e xilasina (Rompum, Bayer S.A., São Paulo-SP) na dose de 1 ml/Kg de peso intramuscular, foram fixados pelos membros sobre prancha em decúbito ventral, submetidos a depilação do dorso à esquerda, antissepsia da região dorsal com álcool iodado a 70% sendo encaminhados para a sala de procedimento cirúrgico sem o conhecimento pelo cirurgião sobre a que grupo pertencia cada animal.

Durante a realização do procedimento anestésico foi observado um êxito letal durante a indução anestésica de um animal proveniente do grupo SF 14. O animal não foi substituído. Não ocorreram outras intercorrências anestésicas relevantes.

O procedimento cirúrgico realizado após anestesia constou da confecção de uma incisão dorsal de 04 cm de comprimento longitudinal, localizada entre a coluna dorsal superiormente e a região lateral do abdômen inferiormente atingindo a pele e o tecido celular subcutâneo, realização de sutura com fio de nylon 4.0 (sete pontos simples com distância igual entre si) englobando pele e tecido celular subcutâneo (Kharmandayan *et al*, 1995; Sahin *et al*, 2001). Todos os procedimentos cirúrgicos assim como a administração das drogas em estudo foram realizados pelo mesmo cirurgião.

Após o término do procedimento cirúrgico era informado ao cirurgião a que grupo pertencia o animal. Sendo então administrado a solução de cloreto de sódio a 0,9% ou Fator XIII da coagulação sanguínea por via intravenosa.

Após o procedimento cirúrgico os animais foram observados em gaiolas com seis animais cada, onde havia água e alimento *ad libitum*.

3.5 Pós-operatório e reoperação em estudo

Os animais foram acompanhados no pós-operatório diariamente, para a identificação de infecção e deiscência da ferida operatória.

No dia da eutanásia os animais foram novamente pesados.

Os animais pertencentes aos grupos DS3, DSF 3, SF 3 e F3 foram submetidos a eutanásia no terceiro dia de pós-operatório. Os animais pertencentes aos grupos DS7, DSF 7, SF 7 e F 7 foram submetidos à eutanásia no sétimo dia de pós-operatório. Os animais pertencentes aos grupos DS 14, DSF 14, SF 14 e F 14 foram submetidos à eutanásia no décimo - quarto dia de pós-operatório.

Foi ressecado um retângulo com dimensões de 3 x 5 cm do dorso a esquerda de cada animal incluindo a pele e o tecido celular subcutâneo com a ferida operatória disposta centralmente. Posteriormente este fragmento foi submetido a quatro divisões transversais, sendo a cicatriz dividida em quatro fragmentos de igual comprimento e largura (1,0cm). Foi desprezado posteriormente 0,5cm de cada extremidade do fragmento ressecado, passando o fragmento a ter três centímetros de comprimento por um centímetro de largura.

Foram utilizados dois fragmentos de cada animal, sendo um fragmento para a avaliação da resistência tênsil e um fragmento utilizado para estudo histopatológico preservado em formol a 10%. Sendo que os fragmentos utilizados para estudo sempre foram dois fragmentos centrais.

Após a realização do procedimento cirúrgico para a ressecção da ferida, os animais foram submetidos à eutanásia através de exsanguinação por toracolaparotomia e seção dos vasos da base.

3.6 Estudo da resistência tênsil

O fragmento central da ferida de cada animal foi utilizado após a retirada dos pontos de nylon 4.0 para a avaliação da resistência tênsil pelo Versa-Test. Foram retirados os pontos que fixavam a ferida operatória antes da realização do teste de resistência tênsil.

A avaliação da força de ruptura da ferida operatória foi realizada através da utilização de análise computadorizada dos dados obtidos em tensiômetro de força constante, com capacidade de tração de 2500N (máquina de ensaio vertical Versa

Test Mecmesin), acoplada a dinamômetro digital (AGF Panambro Indústria Técnica S.A. – SP). A velocidade do teste de ruptura foi de 75 mm/min.

3.7 Estudo histopatológico

A avaliação histopatológica foi realizada no laboratório de Patologia LIB-BIÓPSIA de Brasília.

O segundo fragmento foi fixado em formol a 10% e levado para realização de exame histopatológico através das colorações de Hematoxilina-Eosina e Picrosyrius.

As lâminas foram examinadas em relação à quantificação dos elementos da reação inflamatória e a evolução processo de cicatrização tecidual. O processo de cicatrização foi analisado em virtude da presença dos seguintes indicadores: congestão, edema, hemorragia, ulceração, necrose, presença de polimorfonucleares, presença de mononucleares, vasos neoformados, granulação e fibrose. Cada lâmina apresentava os fragmentos dos animais de cada subgrupo.

Avaliação histopatológica por microscopia de luz foi realizada por um patologista experiente que desconhecia a que grupo e subgrupo pertencia cada lâmina avaliada. Os indicadores acima supracitados foram classificados quantitativamente em cruces: (0) ausente; (+) leve; (++) moderado, (+++) marcante e (+++++) intenso.

3.8 Análise estatística

Os resultados foram analisados sob ponto de vista estatístico. Foram avaliados os pesos iniciais no início do experimento, no dia da operação, no terceiro dia de pós-operatório e no dia da eutanásia, sendo utilizado então o Mann-Whitney Rank Sum Test e o t-test de student. A avaliação histopatológica e da resistência tênsil foram realizadas no terceiro, sétimo e décimo-quarto dia de pós-operatório utilizando-se para isso o Mann-Whitney Rank Sum Test e o t-test (Tognini *et al*, 2000, Carney *et al*, 2005). O nível de significância em todos os testes realizados foi de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação Ponderal

Os animais tiveram seus pesos mensurados no início do estudo e no dia da eutanásia. Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos no início do experimento e no dia da eutanásia ($p>0,05$). Todos os grupos de animais apresentaram ganho ponderal durante a realização do experimento. Os animais apresentaram perda de peso após a realização do procedimento cirúrgico quando reavaliados no terceiro dia de pós-operatório, sem que apresentassem, entretanto, diferença estatística significativa em relação ao peso inicial.

4.2 Evolução Clínica dos Animais

Os animais se alimentaram de maneira adequada com preservação das funções fisiológicas. Não ocorreu óbito após a realização dos procedimentos cirúrgicos. A ferida operatória dos animais dos grupos em que foi administrado o diclofenaco sódico isoladamente e quando associado ao Fator XIII da coagulação apresentavam-se mais espessas e úmidas do que o grupo controle e do que o grupo em uso de Fator XIII da coagulação isoladamente. Não observamos a presença de drenagem de secreção purulenta na ferida operatória, contudo foi observada deiscência parcial da ferida operatória nas extremidades das feridas em doze animais, sendo cinco animais do grupo DS, dois animais do grupo DSF, quatro animais do grupo SF e um animal do grupo F. Não foi encontrada diferença estatística significativa quanto à taxa de deiscência entre os grupos avaliados ($p>0,05$).

4.3 Análise da Resistência Tênsil

Foi observado diferença estatisticamente significativa no terceiro dia de pós-operatório entre o grupo em uso de diclofenaco sódico (DS 3) e o grupo em uso de Fator XIII da coagulação (F 3) ($p=0,024$), (GRAF. 1).

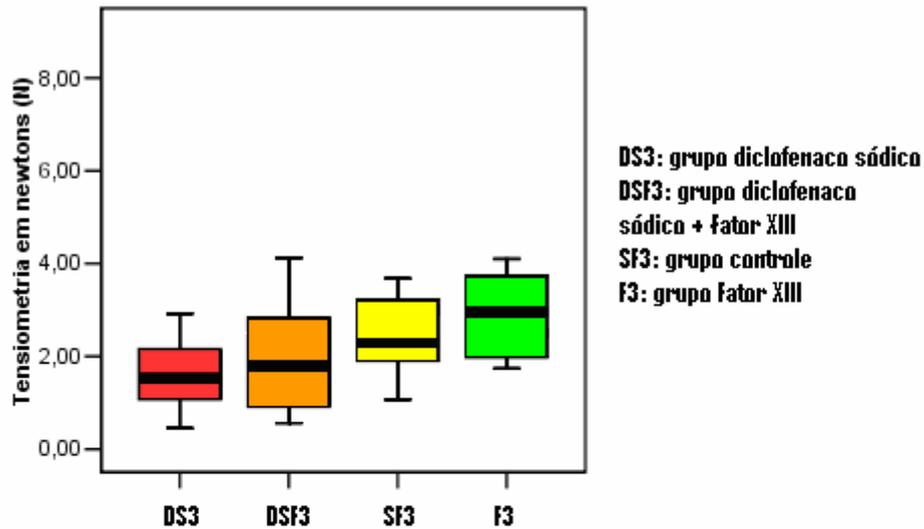


GRÁFICO 1 - Mediana e valores intervalares típicos da resistência tênsil da ferida operatória à ruptura por tração nos diversos subgrupos no terceiro dia de pós-operatório ($p < 0,05$)

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no sétimo (GRAF. 2) e décimo - quarto dia de pós-operatório (GRAF.3), ($p > 0,05$).

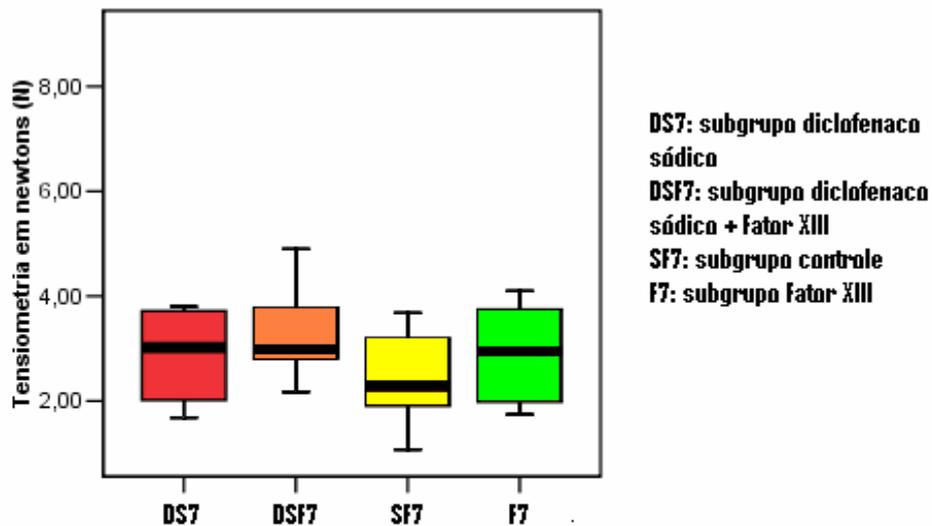


GRÁFICO 2 - Mediana e valores intervalares típicos da resistência tênsil da ferida operatória à ruptura por tração nos diversos subgrupos no sétimo dia de pós-operatório ($p > 0,05$).

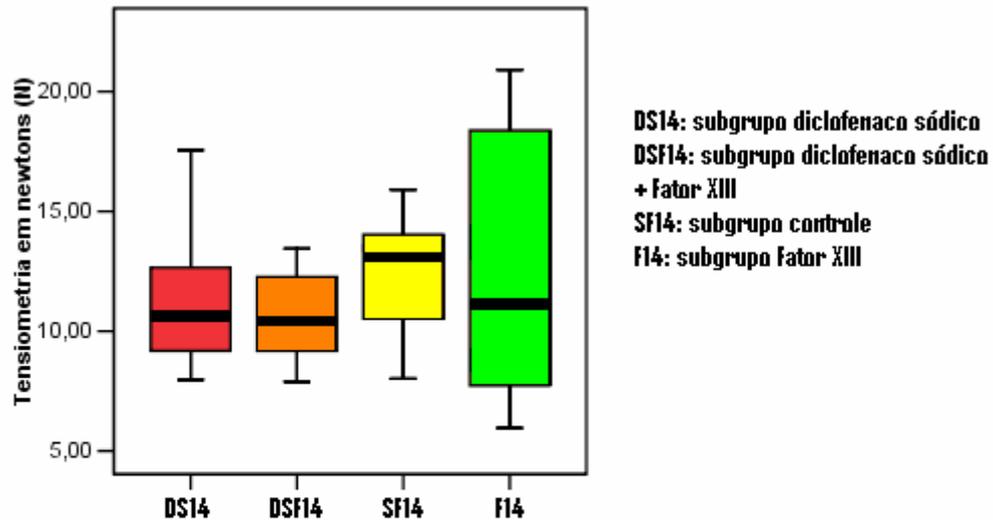


GRÁFICO 3 - Mediana e valores intervalares típicos da resistência tênsil da ferida operatória à ruptura por tração no décimo-quarto dia de pós-operatório nas diversas subgrupos ($p > 0,05$)

4.4 Análise Histopatológica

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo SF 3 e o grupo F 3 quanto à presença de edema no terceiro dia de pós-operatório ($P=0,015$), (GRAF. 4).

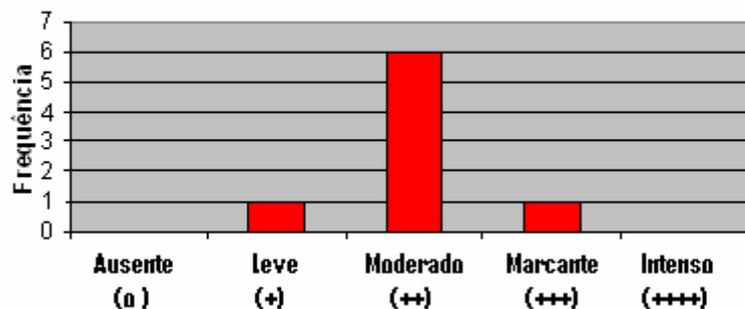


Gráfico 4 - Avaliação da frequência da variável edema no subgrupo de estudo diclofenaco sódico no terceiro dia de pós-operatório

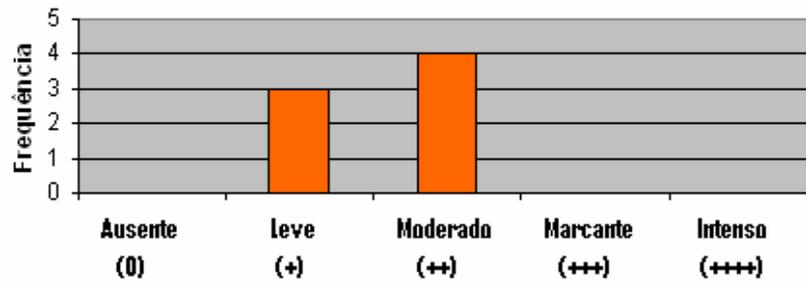


GRÁFICO 5 - Avaliação da frequência da variável edema no subgrupo de estudo diclofenaco sódico + fator XIII no terceiro dia de pós-operatório

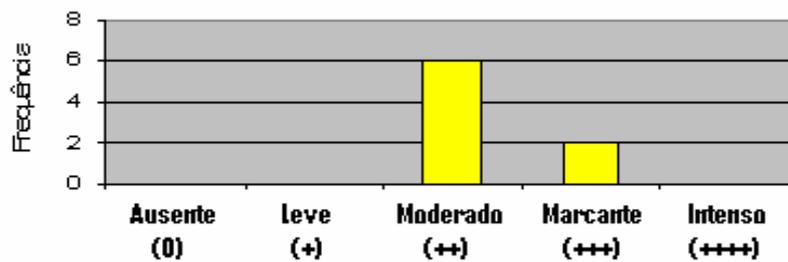


Gráfico 6 - Avaliação da frequência da variável edema no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no terceiro dia de pós-operatório

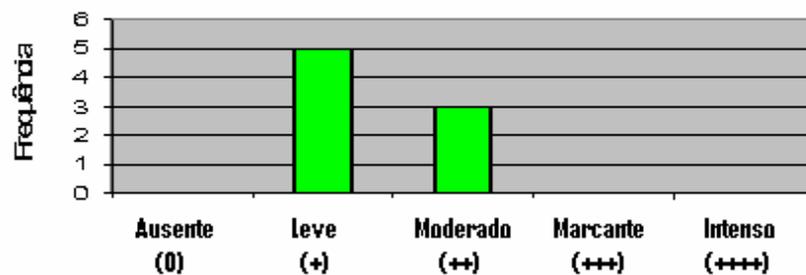


GRÁFICO 7 - Avaliação da frequência da variável edema no subgrupo fator XIII no terceiro dia de pós-operatório

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo DS 7 e os demais grupos (DSF 7, SF 7 e F 7) quanto a presença de polimorfonucleares no sétimo dia de pós-operatório (GRAF. 8, 9, 10 e 11). A diferença entre a média dos valores foi significativa entre os seguintes grupos avaliados: DS7 e DSF 7 ($p=0,04$), DS 7 e SF 7 ($p=0,01$), DS 7 e F 7 ($p=0,04$).

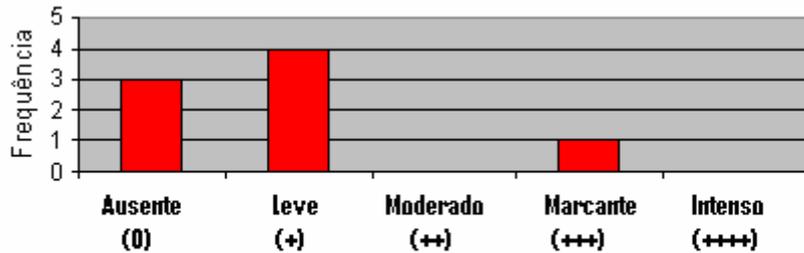


GRÁFICO 8 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no sétimo dia de pós-operatório

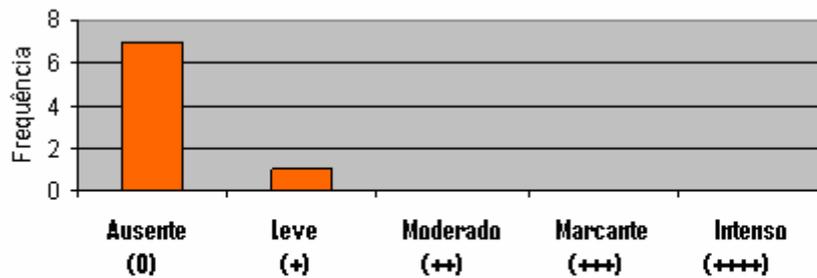


GRÁFICO 9 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + fator XIII no sétimo dia de pós-operatório

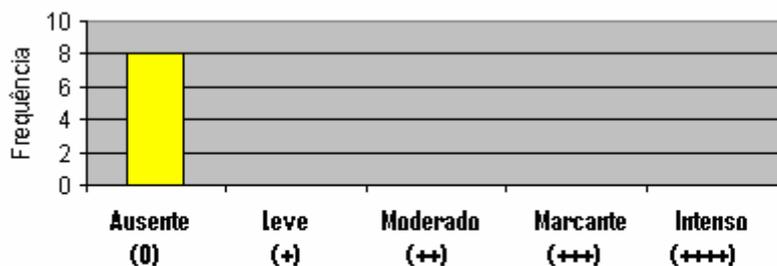


GRÁFICO 10 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no sétimo dia de pós-operatório

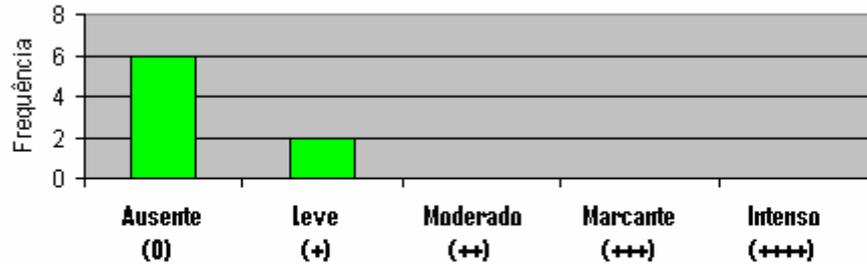


GRÁFICO 11 - Avaliação da frequência da variável presença de células polimorfonucleares na ferida operatória no subgrupo fator XIII no sétimo dia de pós-operatório

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo DS 14 e os demais grupos (DSF 14, SF 14 e F 14) quanto à presença de mononucleares no décimo - quarto dia de pós-operatório (GRAF. 12, 13, 14 e 15). A diferença entre a média dos valores foi significativa entre os seguintes grupos avaliados: DS 14 e DSF 14 ($p=0,021$), DS 14 e SF 14 ($p=0,021$) e DS 14 e F 14 ($p=0,021$).

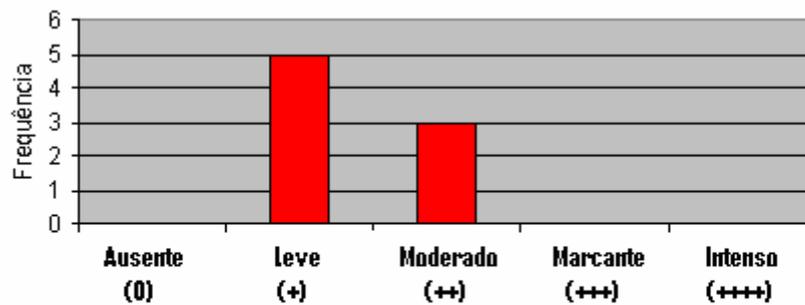


GRÁFICO 12 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo-quarto dia de pós-operatório

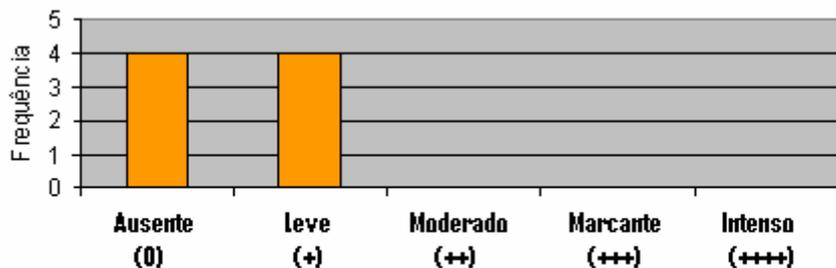


GRÁFICO 13 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + fator XIII no décimo quarto dia de pós-operatório

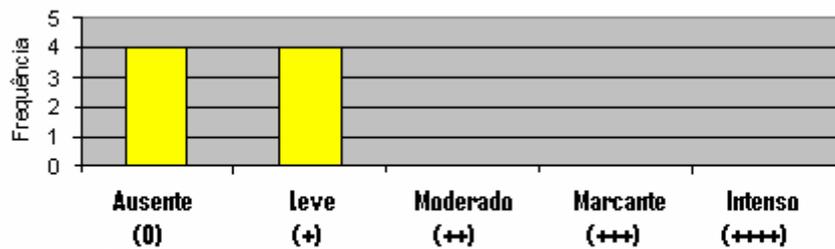


GRÁFICO 14 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no décimo quarto dia de pós-operatório

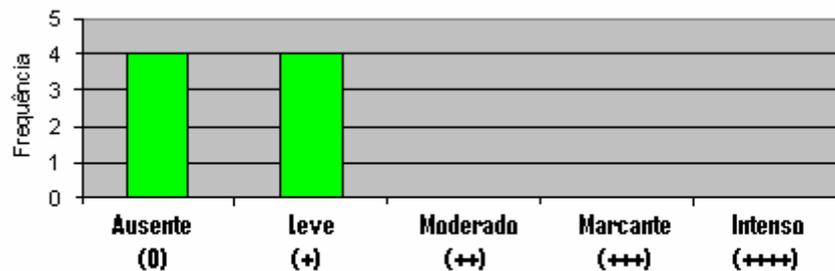


GRÁFICO 15 - Avaliação da frequência da variável presença de células mononucleares na ferida operatória no subgrupo fator XIII no décimo quarto dia de pós-operatório

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo DS 14 e os demais grupos (DSF 14, SF 14 e F 14) quanto à presença de vasos neoformados no décimo - quarto dia de pós-operatório (GRAF. 16, 17, 18 e 19). A diferença entre a média dos valores foi significativa entre os seguintes grupos avaliados: DS 14 e DSF 14 ($p=0,038$), DS 14 e SF 14 ($p<0,001$) e DS 14 e F 14 ($p=0,021$).

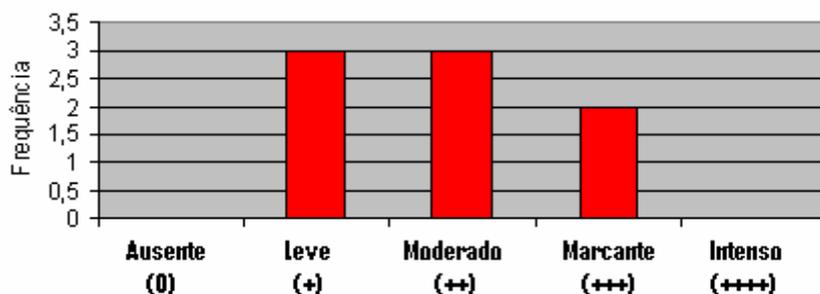


GRÁFICO 16 - Avaliação da frequência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo quarto dia de pós-operatório

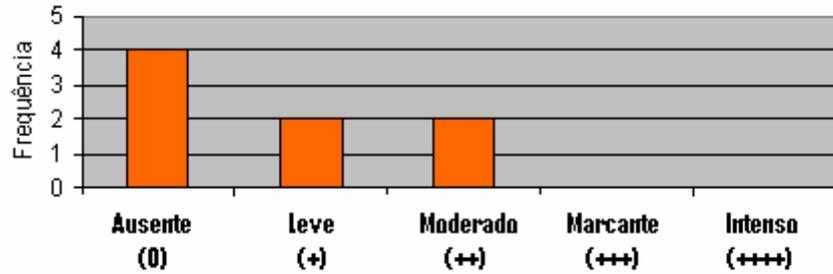


GRÁFICO 17 - Avaliação da frequência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + fator XIII no décimo-quarto dia de pós-operatório

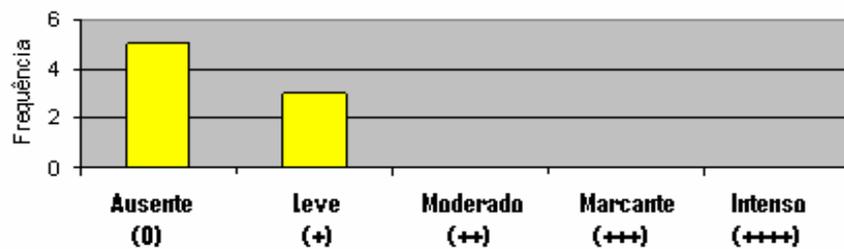


GRÁFICO 18 - Avaliação da frequência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo controle (cloro de sódio 0,9%) no décimo-quarto dia de pós-operatório

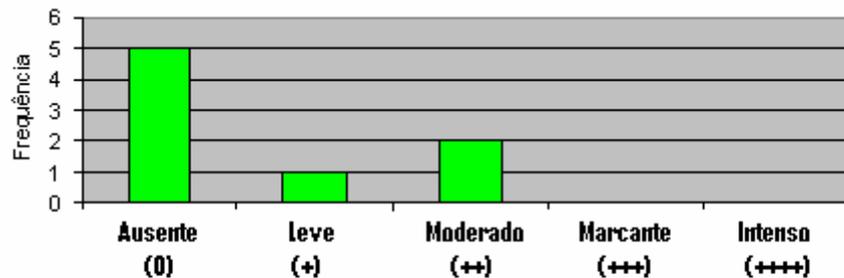


GRÁFICO 19 - Avaliação da frequência da variável presença de neoformação vascular na ferida operatória no subgrupo fator XIII no décimo quarto dia de pós-operatório

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo DS 14 e os demais grupos (DSF 14, SF 14 e F 14) quanto à presença de tecido de granulação no décimo - quarto dia de pós-operatório (GRAF. 8). A diferença entre a média dos valores foi significativa entre os seguintes grupos avaliados: DS 14 e DSF 14 ($p=0,003$), DS 14 e SF 14 ($p=0,001$) e DS 14 e F 14 ($p=0,003$).

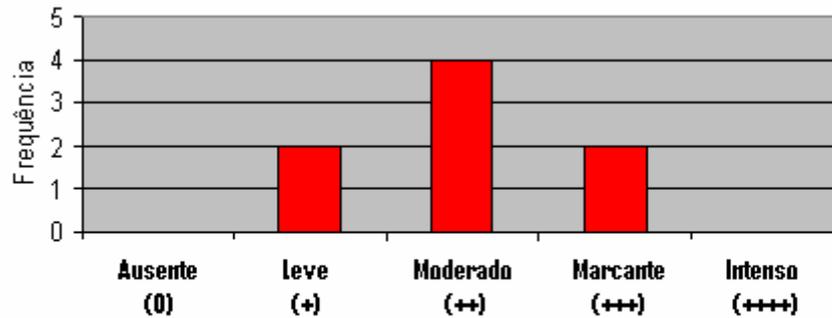


GRÁFICO 20 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico no décimo-quarto dia de pós-operatório

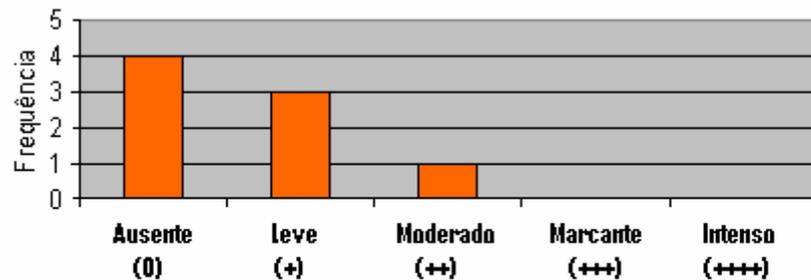


GRÁFICO 21 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo diclofenaco sódico + fator XIII no décimo-quarto dia de pós-operatório

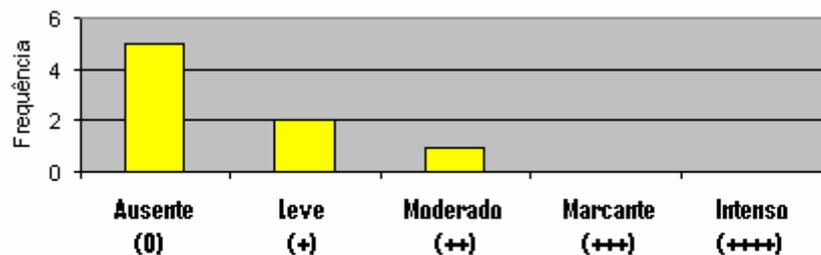


GRÁFICO 22 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo controle (cloreto de sódio 0,9%) no décimo-quarto dia de pós-operatório

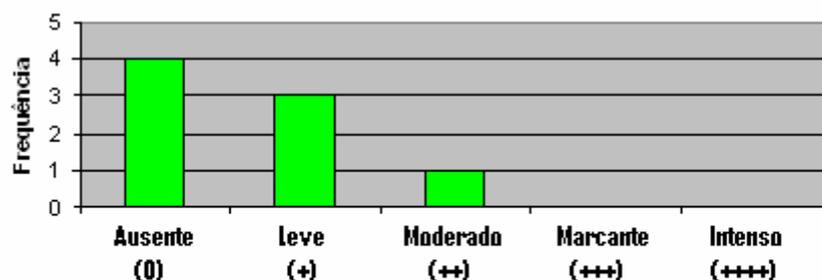


GRÁFICO 23 - Avaliação da frequência da variável presença de tecido de granulação na ferida operatória no subgrupo fator XIII no décimo-quarto dia de pós-operatório

Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos avaliados nos três diferentes períodos mensurados: congestão, hemorragia, ulceração, necrose e fibrose ($p>0,05$).

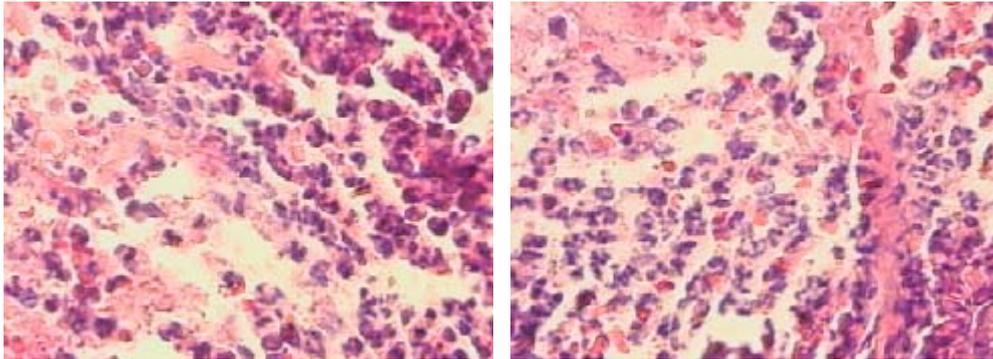


Figura 2 - Avaliação da presença de leucócitos polimorfonucleares no sétimo dia pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina, aumento de 40x (Grupo DS 7 / Animais em uso de diclofenaco sódico).

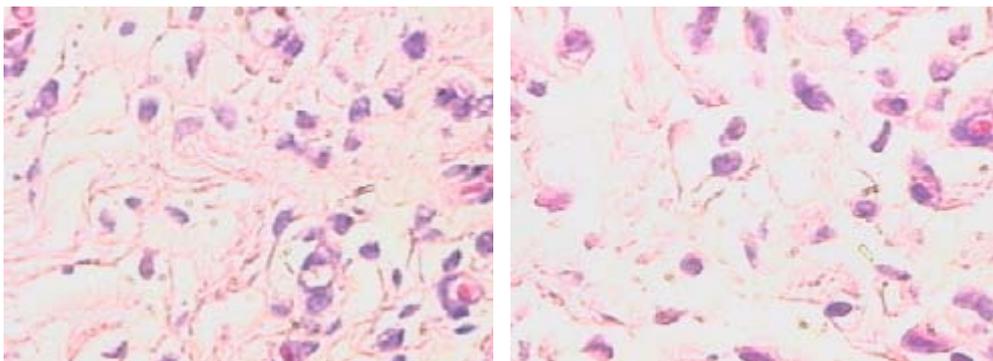


FOTO A

FOTO B

Figura 3 - Avaliação da presença de leucócitos polimorfonucleares no sétimo dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina, aumento de 40x (Grupo SF 7 / Animais em uso de soro fisiológico; foto A e B).

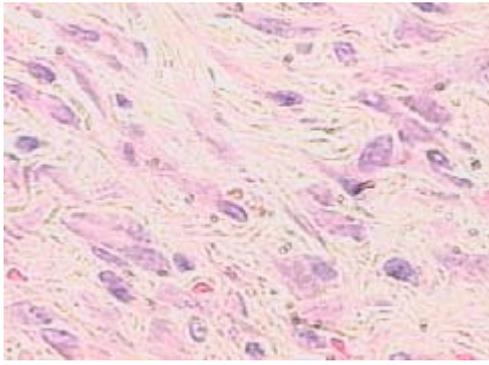


FOTO A

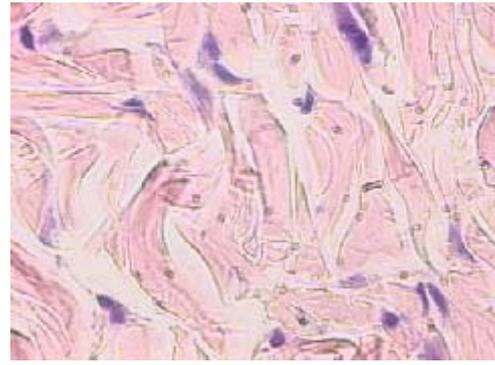


FOTO B

Figura 4 - Avaliação da presença de células mononucleares no décimo - quarto dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina, aumento de 40x (Grupo DS 14 - foto A; Grupo DSF 14 - foto B).

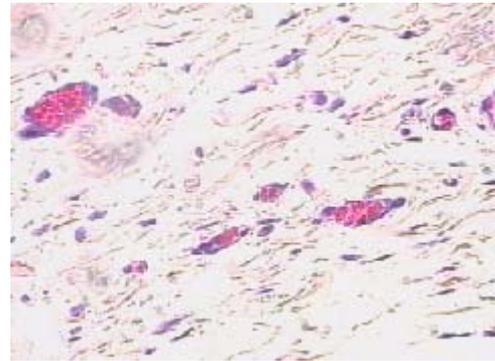
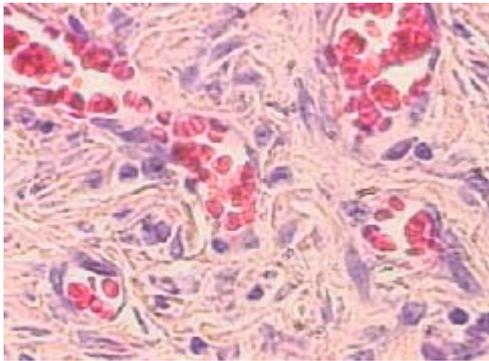


Figura 5 - Avaliação da presença de vasos neoformados no décimo - quarto dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina, aumento de 40x (Grupo DS 14 – foto A; Grupo DSF 14 - foto B).

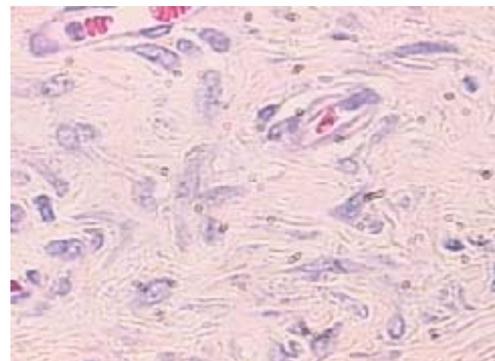
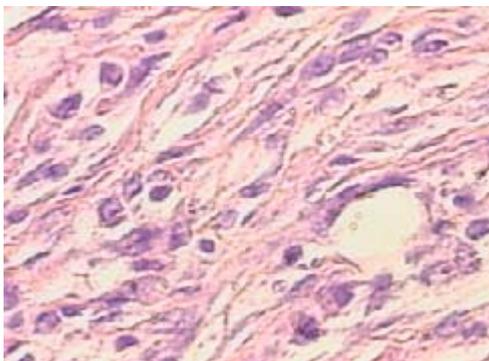


Figura 6 - Avaliação da presença de tecido de granulação no décimo - quarto dia de pós-operatório, coloração hematoxilina-eosina, aumento de 40x (Grupo DS 14 - foto A; Grupo DSF 14 - foto B).

5. DISCUSSÃO

A cicatrização constitui um fenômeno químico, físico e biológico que ocorre após lesão de qualquer natureza, composta por várias fases que se superpõem e se relacionam reciprocamente, constituindo um processo harmônico, único e contínuo (Hunt *et al*, 1993).

O processo cicatricial caracteriza-se por apresentar-se de forma progressiva e simultânea. Inicialmente a lesão tissular leva a desgranulação das plaquetas e ativação do Fator de Hageman, dando início à ativação de um sistema de amplificação biológico, incluindo o complemento, cininas, fatores da coagulação e cascata de derivados da plasmina. Essa alça biológica serve para amplificar o sinal de injúria original e determinar não apenas a formação do coágulo, que une a parede da ferida, mas também a acumulação de mitógenos e fatores quimiotáticos na ferida. As cininas e as prostaglandinas promovem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, determinando a formação de edema caracterizando a fase inflamatória. Caso não ocorra infecção ou contaminação, a fase inflamatória é curta sendo seguida então pela fase proliferativa em torno do terceiro dia após a injúria, caracterizada pela formação do tecido de granulação, que consiste de fibroblastos, células inflamatórias e vasos neoformados dispostos em uma matriz extracelular rica em colágeno, fibronectina e ácido hialurônico (Barbul *et al*, 1995).

O processo cicatricial caracteriza-se por ser uma resposta inespecífica às mais diversas agressões ou fatores irritantes, desencadeando-se nos tecidos uma reação inflamatória. Esta reação compreende uma seqüência ordenada de fenômenos que, possibilitam a restauração da área lesada, caso haja cessação do fator desencadeante,

ou cronificação do processo, caso permaneça o fator irritante. A inflamação, portanto, é todo um processo e não apenas uma fase na reparação do tecido. Drogas que interfiram na resposta inflamatória devem modificar o processo de reparação tecidual (Prandi Filho *et al*, 1988).

Carrel (citado por Prandi Filho *et al*, 1988) em 1921 mostrou que alguma inflamação é necessária para que ocorra a cicatrização normal. Por outro lado, reação inflamatória exagerada, como foi observada em feridas infectadas, retardam a cicatrização. Deve haver então algum grau de inflamação ótimo para o processo de cicatrização e tem sido aceito que existe um processo de reação inflamatória em feridas limpas até com pouco grau de dano tecidual (Brunius *et al*, 1965).

Vários experimentos foram realizados nos últimos anos na tentativa de aperfeiçoar o mecanismo da cicatrização procurando aumentar a rapidez ou mesmo corrigir o processo cicatricial, quando este se desenvolve de maneira insatisfatória.

No presente estudo foi avaliado os possíveis efeitos do Fator XIII da coagulação sanguínea na cicatrização da pele de ratos tratados com diclofenaco sódico. Os parâmetros avaliados foram aspectos microscópicos e macroscópicos do processo de cicatrização e a resistência tênsil.

O rato foi o animal utilizado para a realização do experimento considerando sua padronização, baixo dispêndio financeiro, facilidade de acomodação no laboratório e sua capacidade de resistir às infecções (Gadacz *et al*, 1967; Tsurumi *et al*, 1973; Lee *et al*, 1974; Prandi Filho *et al*, 1988; Calache Neto *et al*, 1992; Minossi *et al*, 1996; Tognini *et al*, 1998).

A avaliação ponderal não mostrou alteração estatística significativa entre os grupos no início da administração das drogas em estudo. Após o procedimento cirúrgico ocorreu nos três primeiros dias de experimento perda de peso inferior a 5% do valor mensurado inicialmente semelhante ao encontrado em outros estudos publicados (Fatureto *et al*, 1991). O procedimento cirúrgico em si constava de uma incisão no dorso do rato, não alterando, portanto ou mesmo impedindo o funcionamento do trato gastrointestinal. Durante a realização da eutanásia no terceiro, sétimo e décimo quarto dia de pós-operatório não foi observado a presença de perfurações no trato gastrointestinal ou ulcerações no estômago nem observados efeitos quanto ao desenvolvimento de ulcerações no trato gastrointestinal ou diarreia como relatado em outros estudos (Tsurumi *et al*, 1973; Prandi *et al*, 1988; Robinson *et al*, 1988; Calache Neto *et al*, 1992; Minossi *et al*, 1996; Tognini *et al*, 1998).

Vários estudos foram realizados no intuito de comprovar se haveria também alteração na cicatrização com a utilização dos antiinflamatórios não esteroidais e esteroidais (Gadacz *et al*, 1967; Lee *et al*, 1970; Tsurumi *et al*, 1973; Prandi Filho *et al*, 1988; Calache Neto *et al*, 1992; Sousa *et al*, 1994; Verderese *et al*, 1995; Minossi *et al*, 1996; Quirinia *et al*, 1996; Tognini *et al*, 1998). Os AINES apresentam mecanismo de ação semelhante através principalmente do bloqueio da biossíntese das prostaglandinas, por inibição da enzima ciclo-oxigenase e/ou da lipoxigenase (Ku *et al*, 1974; Menassé *et al*, 1978; Higgs *et al*, 1980; Penhos *et al*, 1983; Todd *et al*, 1988; Rang *et al*, 1993). O diclofenaco sódico determina alteração na função dos macrófagos, condrócitos e linfócitos, proporcionando diminuição da quimiotaxia e da

produção de superóxidos e de proteases, acarretando alteração no processo inflamatório da cicatrização (Prandi Filho *et al*, 1988). Afeta ainda a função dos polimorfonucleares determinando diminuição da quimiotaxia e da produção de superóxidos e de proteases (Todd, 1988).

Foi observado no presente experimento, no sétimo dia de pós-operatório, maior número de polimorfonucleares no subgrupo que recebeu diclofenaco sódico (DS 7) isoladamente (GRAF. 8, GRAF. 9, GRAF. 10 e GRAF. 11) em relação aos outros três grupos estudados (DSF 7, SF 7 e F 7). Este efeito ocorreu provavelmente em decorrência da ação do diclofenaco sódico na inibição da atividade da ciclo-oxigenase, determinando diminuição da geração de agentes quimiotáticos que proporcionariam a migração dos leucócitos, que posteriormente estabeleceriam a produção de substâncias que atrairiam os mononucleares (GRAF. 12, GRAF. 13, GRAF. 14 e GRAF. 15). Por outro lado o Fator XIII da coagulação sanguínea reverteu o atraso na migração dos leucócitos proporcionado pelo diclofenaco sódico. Não houve diferença estatisticamente significante entre os outros três grupos avaliados (DSF 7, SF 7 e F 7) quanto à presença de polimorfonucleares. Caso o dia de avaliação tivesse sido mais precoce em torno do 5º. dia de pós-operatório é provável que o grupo do diclofenaco sódico apresentasse menor número de polimorfonucleares do que os demais grupos estudados em decorrência do atraso da quimiotaxia decorrente da utilização do diclofenaco sódico.

Este processo de atraso na quimiotaxia dos polimorfonucleares e mononucleares se correlacionaria com o atraso no processo cicatricial proporcionado pelo diclofenaco sódico em relação aos demais grupos

avaliados. Isso foi comprovado pela presença de maior neoformação vascular (GRAF. 16) e de tecido de granulação (GRAF. 20) no subgrupo do diclofenaco sódico em relação aos outros três grupos estudados no décimo - quarto dia de pós-operatório. Foi observado que nos grupos DSF 14, SF 14 e F 14 o processo cicatricial de remodelação encontrava-se mais adiantado com rearranjo vascular em regressão (GRAF. 17, GRAF. 18 e GRAF. 19) e diminuição do tecido de granulação (GRAF. 21, GRAF. 22 e GRAF. 23), caracterizando uma fase de remodelação mais adiantada.

A avaliação da força tênsil foi realizada no terceiro, sétimo e décimo - quarto dias de pós-operatório, sendo observada diferença estatística significativa entre o grupo do Fator XIII e o grupo do diclofenaco sódico no terceiro dia de pós-operatório (GRAF. 1). Foi observado efeito positivo do Fator XIII da coagulação sanguínea sobre a resistência tênsil decorrente provavelmente da formação de ligações cruzadas entre a fibrina, a fibronectina e o colágeno, proporcionando a formação de um coágulo mais resistente à fibrinólise e favorecendo a migração celular na matriz extracelular. O efeito negativo do diclofenaco sódico sobre a resistência tênsil da ferida foi parcialmente combatido pelo uso do Fator XIII da coagulação, não chegando a revertê-lo na dose em que foi utilizada. Não podemos estabelecer que esta diferença na resistência tênsil fosse decorrente da maior deposição de colágeno, visto que nesta fase da cicatrização a deposição de colágeno ainda é incipiente. Não encontramos diferenças estatísticas significantes em relação ao sétimo e décimo - quarto dia de pós-operatório entre os grupos avaliados (GRAF. 2 e GRAF. 3). Com isso podemos inferir que na dose utilizada de diclofenaco sódico e de Fator

XIII da coagulação sanguínea não encontramos variação na deposição e disposição do colágeno entre os grupos avaliados, revelado indiretamente pelo teste de resistência tênil.

Vários estudos experimentais realizados em ratos demonstraram diminuição na resistência tênil e aumento na taxa de deiscência de ferida operatória com doses sempre maiores do que 5 mg/Kg/dia de diclofenaco sódico. O uso de diclofenaco sódico em dose maior do que 7 mg/Kg/dia acarretou efeitos colaterais expressivos com perfurações intestinais freqüentes (Lee *et al*, 1970; Tsurumi *et al*, 1973; Prandi Filho *et al*, 1988; Bjarnason *et al*, 1990; Whitan *et al*, 1991; Calache Neto *et al*, 1992; Verderese *et al*, 1995; Minossi *et al*, 1996; Quirinia *et al*, 1996; Hirschowitz, 1996; Tognini *et al*, 1998). No presente estudo foi utilizado a dose de 5 mg/Kg/dia. Provavelmente com a utilização de dose maior do que 10 mg/Kg/dia os efeitos sobre a deposição de colágeno e conseqüentemente sobre a resistência da ferida operatória fossem mais evidentes como anteriormente relatado na literatura (Prandi Filho *et al*, 1988; Calache Neto *et al*, 1992).

O Fator XIII plasmático está relacionado com a inflamação e a cicatrização, sendo necessário para a estabilização da fibrina e a interação com o tecido conectivo e as proteínas adesivas e células (Rasche, 1975; Duckert *et al*, 1978; Takahashi *et al*, 1986; Rapaport, 1990; Seitz *et al*, 1994; D'Argenio *et al*, 2001; Wozniak *et al*, 2002; Meili, 2002). O efeito do Fator XIII da coagulação sanguínea na integridade do coágulo é muito intenso. As ligações cruzadas entre a fibrina-fibronectina-colágeno poderia ser vista

como uma firme ancoragem do coágulo na ferida. O coágulo por si é fortificado pelas ligações cruzadas entre a fibrina (Board *et al*, 1993).

D'Argenio *et al* (1994) em modelo animal, demonstraram que a transglutaminase colônica (FXIIIa), aumentada com o tratamento com butirato de sódio, migra para a matriz extracelular e promove a formação de uma rede de fibronectina com ligação cruzada, a qual é importante para a reepitelização e aumento da resistência tênsil do tecido afetado. Além disso, a subunidade "a" do Fator XIII do plasma a fibronectina poderia se associar com a matriz extracelular, contribuindo para o processo de cicatrização.

Foi observada a redução do edema no terceiro dia de pós-operatório no grupo do Fator XIII da coagulação sanguínea (F 3) em relação ao grupo que fez uso de solução de cloreto de sódio a 0,9% (SF 3) demonstrando o efeito na diminuição da permeabilidade proporcionado pelo Fator XIIIa. Não houve diferença estatística significativa entre os três primeiros grupos (diclofenaco sódico, diclofenaco sódico-Fator XIIIa e solução de cloreto de sódio), não sendo observado assim efeito cumulativo entre o uso do Fator XIII da coagulação e o diclofenaco sódico na diminuição do edema (GRAF. 4, GRAF. 5, GRAF 6 e GRAF 7). Essa ação na diminuição da permeabilidade vascular já foi anteriormente demonstrada por outros estudos em que o Fato XIII teve ação antiinflamatória inibindo a oxidação nos macrófagos e neutrófilos através da estabilização da fibrina (D'Argenio *et al*, 2000). Em estudos sobre cicatrização de feridas crônicas em membros inferiores com insuficiência venosa crônica, o Fator XIII da coagulação sanguínea contribuiu como uma proteína antiinflamatória tópica, determinando redução da permeabilidade endotelial imunológica e

promoveu a diminuição da produção local de secreção, favorecendo, através da redução da permeabilidade vascular, redução do extravasamento de macromoléculas como o fibrinogênio, assim como a possível redução da reabsorção de macromoléculas tóxicas, que poderiam favorecer ao aumento da permeabilidade capilar (Vanscheidt *et al*, 1991; Wozniak *et al*, 1996; Peschen *et al*, 1998; Herouy *et al*, 2000).

No presente estudo foi possível demonstrar o efeito positivo do Fator XIII da coagulação sanguínea sobre a cicatrização, bloqueando parcialmente os efeitos deletérios proporcionado pelo uso do diclofenaco sódico sobre a migração dos polimorfonucleares e mononucleares, neoformação vascular e formação de tecido de granulação. Além de proporcionar aumento da resistência tênsil no início da cicatrização.

6. CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o presente estudo a administração do Fator XIII da coagulação sanguínea reverteu parcialmente os efeitos deletérios do diclofenaco sódico sobre a cicatrização da pele de ratos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHYUTHAN, K.E.; MARY, A.; GREENBERG, C.S. The Binding Sites on Fibrin(ogen) for Guinea Pig Liver Transglutaminase Are Similar to Those of Blood Coagulation Factor XIII. *J. Biol. Chem., U.S.A.*, v. 263, p. 14296-14301, Oct. 1988.

ÁDÁNY, R. Intracellular Factor XIII: Cellular Distribution of Factor XIII Subunit a in Humans. *Semin Thromb Hemost, U.S.A.*, v. 22, p. 399-408, 1996.

ÁDÁNY R.; GLUKHOVA, M.A.; KABAKOV, A.Y.; MUSZBEK, L. Characterization of Connective Tissue Cells Containing Factor XIII Subunit a. *J Clin Pathol, Great Britain*, v. 41, p. 49-56, 1988.

AESCHLIMANN, D.; MOSHER, D.; PAULSSON, M. Tissue Transglutaminase and Factor XIII in Cartilage and Bone Remodeling. *Semin Thromb Hemost, United States*, v. 22, p. 437-442, 1996.

AESCHLIMANN, D.; PAULSSON, M. Transglutaminases: Protein Cross-Linking Enzymes in Tissues and Body Fluids. *Thromb Haemost, Germany*, v. 71, p. 402-415, 1994.

AGRAWAL, N.M.; SAFFOURI, B.; KRUSS, D.M.; CALLISON, D.A.; DAJANI, E.Z. Healing of Benign Gastric Ulcer. A placebo-controlled Comparison of Two Dosage Regimens of Misoprostol, a Synthetic

Analog of Prostragladin E1. Dig Dis Sci, United States, v. 30(11), p. 164S-170S, Nov. 1985.

AUN, F. – Problemas clínicos em pacientes cirúrgicos. In: AUN, F.; BEVILACQUA, R.G. Manual de Cirurgia. 1ed. São Paulo: E.P.U., 1995. Cap. 5, p. 147-151.

BAER, J.; BAUKNECHT, J.; STANGL, T.; HARING, R. Lessening the Impairment of Wound Healing by Pre-or-postoperative Quantitative Factor-XIII Substitution (Author's Transl). Zentralbl Chir, Germany, v. 105(10), p. 642-651, 1980.

BAILAR, J.C.; MOSTELLER, F. Medical Uses of Statistics. 2ed (inglês), Boston-Massachusetts: NEJM Books, 1992.

BARBUL, A.; PURTILL, W.A. Nutrition in Wound Healing. Clin Dermatol, U.S.A., v. 12, p. 133-140, 1994.

BARBUL, A.; REGAN, M.C. Immune Involvement in Wound Healing. Otolaryngol Clin of North Am, U.S.A., v. 28, p. 955-968, 1995.

BARRY, E.L.R.; MOSHER, D.F. Binding and Degradation of Blood Coagulation Factor XIII by Cultured Fibroblasts. J Biol Chem, U.S.A., v. 265, p. 9302-9307, June, 1990.

BARRY, E.L.R.; MOSHER D.F. Factor XIII Cross-linking of Fibronectin at Cellular Matrix Assembly Sites. J Biol Chem, U.S.A., v. 263, p. 10464-10469, Mar. 1988.

BARRY, E.L.R.; MOSHER D.F. Factor XIII_a-mediated Cross-linking of Fibronectin in Fibroblast Cell Layers. J Biol Chem, U.S.A., v. 264, p. 4179-4185, Oct, 1988.

BECK E.; DUCKERT F.; ERNST M. The Influence of Fibrin Stabilizing Factor on the Growth of Fibroblast in Vitro and Wound Healing. Thromb Diath Haemorrh, U.S.A., v. 6, p. 485-491, 1961.

BECKER, S.W.J.; WEIDT, F. RÖHL, K. The Role of Plasma Transglutaminase (F XIII) in Wound Healing of Complicated Pressure Sores After Spinal Cord Injury. Spinal Cord, United Kingdom, v. 39, p. 114-117, 2001.

BENFER, J.; STRUCK, H. Factor XIII and Fracture Healing. An Experimental Study. Eur Surg Res, v. 9(3), p. 217-223, 1977.

BISQUERA, R.; SARRIERA, J.C.; MARTÍNEZ, F. Introdução à Estatística: Enfoque Informático com o Pacote Estatístico SPSS. Porto Alegre: Art Med, 2004.

BJARNASON, I.; WILLIAMS, P.; SOMETHURST, P.; PETERS, T.J.; LEVI, A.J. Effect of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Prostaglandins on the Permeability of the Human Small Intestine. *Gut, Great Britian*, v. 27, p. 1292-1297, 1986.

BJARNASON, I.; SOMETHURST, P.; HAYLLAR, J.; LEVI, A.J. Nsaid Enteropathy; The Main Site of Chronic Blood Loss in Patients on Nsaid. *Gut, Great Britian*, v. 91, p. 1203, 1990.

BOARD, P.G.; LOSOWSKY, M.S.; MILOSZEWSKI. Factor XIII: Inherited and Acquired Deficiency. *Blood Rev, Scotland*, v. 7, p. 229-242, 1993.

BRENNAN, S.S. FOSTER, M.E. MORGAN, A. LEAPER, D.J. Prostagladins in Colonic Anastomotic Healing. *Dis Colon Rectum* v. 27, p. 723-725, Nov 1984.

BRIGHT-ASARE, P.; SONTAG, S.J.; GOLD, R.J.; BRAND, D.L.; ROUFAL, W.M. Efficacy of Misoprostol (Twice Daily Dosage) in Acute Healing of Duodenal Ulcer. A Multicenter Double-blind Controlled Trial. *Dig Dis Sci, United States*, v. 31(2), p. 63S-67S, Feb. 1986.

BROCKMEIER, S.J.; SCHWUB, D.; GLODDEK, B. Is the Use of Factor XIII for Delayed Wound Healing in Patients With Head-Neck Tumors of Value? *Laryngorhinootologie, Germany*, v. 77(12), p. 715-718, Dec. 1998.

BROGDEN, R.N.; HEEL, R.C.; PARKES, G.E.; SPEIGHT, T.M.; AVERY, G.S. Diclofenac Sodium: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Rheumatic Diseases and Pain of Varying Origin. *Drugs, Australia*, v. 20, p. 24-48, 1980.

BROWN, L.F.; LANIR, N.; MCDONAGH, J.; TOGNAZZI, K.; DVORAK, A.M.; DVORAK, H.F. Fibroblast Migration in Fibrin Gel Matrices. *Am J Pathol, U.S.A.*, v. 142, p. 273-283, Jan. 1993.

BROWN, L.F.; WATER, L.V.; HARVEY, V.S.; DVORAK, H.F. Fibrinogen Influx and Accumulation of Cross-linked Fibrin in Healing Wounds and in Tumor Stroma, *Am J Pathol, U.S.A.*, v. 130, p. 455-465, Mar., 1988.

BRUHN, H.D.; POLH, J. Growth Regulation of Fibroblast by Thrombin, Factor XIII and Fibronectin. *Klin Wochenschr, Germany*, v. 59(3), p. 145-146, Feb. 2, 1981.

BRUNIUS, U.; ZEDERFELDT, B. Effects of Antiinflammatory Treatment on Wound Healing, *Acta Chir Scand, Sweden*, v. 129, p. 462-467, 1965.

CALACHE NETO, J.E.; AUN, F.; YOUNES, R.N. Efeitos da Administração do diclofenaco sódico a ratos submetidos a suturas cólicas. *Rev Bras Colo-Proctol, Brasil*, v. 12, p. 37-46, 1991.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. Bioestatística Principios e Aplicações. Porto Alegre: Art Med, 2003.

CAMPANA, A.O.; PANDOVANI, C.R.; IARIA, C.T.; FREITAS, C.B.D.; PAIVA, S.A.R.; HOSSNE, W.S. Investigação Científica na Área Médica. Barueri SP: Ed. Manole, 2001.

CARIO E.; GOEBELL, H.; DIGNASS, A.U. Factor XIII Modulates Intestinal Epithelial Wound Healing in Vitro. Scand J Gastroenterol, Norway, v. 34(5), p. 485-490, May. 1999.

CARNEY, S.; DOLL, H. Introduction to Biostatistics: Part 1. Measurement Scales and Their Summary Statistics. ACP Club, United States, v. 143, p. A-8 –A-9, Jul-Aug 2005.

CARREL, A.; Cicatrization of Wounds. XII. Factors Initiating Regeneration. J Exp Med, Japan, v. 34, p. 425, 1921. *apud* PRANDI FILHO, W.; SIMÕES, M.J.; KULAY JR., L.; GONDENBERG, S. Aspectos Morfológicos e Morfométricos do Processo Inflamatório Provocado por Fio de Algodão no Subcutâneo de Ratos Tratados com Diclofenaco Sódico, Acta Cir Bras, Brasil, v. 3, p. 32-37, 1988.

CHAMOULARD, P.; GRUNEBAUM, L.; WIESEL, M.L.; SIBILIA, J. COUMAROS, G.; WITTERSHEIM, C.; BAUMANN, R. CAZENAVE, J.P.

Significance of Diminished Factor XIII in Crohn's Disease. *Am J Gastroenterol*, U.S.A., v. 93, p. 610-614, Apr. 1998.

CLAES, L.; BURRI, C.; GERNGROSS, H.; MUTSCHLER, W. Bone Healing Stimulated by Plasma Factor XIII. Osteotomy Experiments in Sheep. *Acta Orthop Scand*, England, v. 56(1), p. 57-62, Feb. 1985.

COHEN, I.; BLANKBERG, T.A.; BORDEN, D.; KAHN D.R.; VEIS, A. Factor XIIIa-Catalyzed Cross-linking of Platelet and Muscle Actin. *Biochim Biophys Acta*, Netherland, v. 628, p. 365-375, 1980.

CORBETT, S. A., LEE, L., WILSON, C.L., SCHWARZBAUER, J.E. Covalent Cross-linking of Fibronectin to Fibrin is Required for Maximal Cell Adhesion to a Fibronectin-Fibrin Matrix. *J Biol Chem*, U.S.A., v. 272, p. 24999-25005, Oct. 1997.

D'ARGENIO, G.; CIACCI, C.; SORRENTINI, I.; IOVINO, P.; GATTO, A.; CONSENZA, V.; MAZZACCA, G. Serum Transglutaminase in Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Gastroenterol*, U.S.A., v.12, p. 400-404, 1990.

D'ARGENIO, G.; CONSENZA, V.; SORRENTINI, I.; DE RITIS, F.; GATTO, A.; CAVE, M.D.; D'ARMIENTO, F.P.; MAZZACCA, G. Butyrate, Mesalamine, and Factor XIII in Experimental Colitis in the Rat: Effects on Transglutaminase Activity. *Gastroenterol*, U.S.A., v. 106, p. 399-404, 1994.

D'ARGENIO, G.; BIANCONE, L.; CONSENZA, V.; VALLE, N.D.;
D'ARMIENTO, F.P.; BORIVANT, M.; PALLONE, F.; MAZZACCA, G.
Transglutaminases in Crohn's Disease, Gut, Great Britian, v. 37, p. 690-
695, 1995.

D'ARGENIO, G.; GROSSMAN, A.; CONSENZA, V.; VALLE, N.D.;
MAZZACCA, G.; BISHOP, P.D. Recombinant Factor XIII Improves
Established Experimental Colitis in Rats. Dig Dis Sci, U.S.A., v. 45, p.
987-997, May. 2000.

D'ARGENIO, G.; IOVINO, P.; CONSENZA, V.; VALLE, N.D.; De RITTIS,
F.; MAZZACCA, G. Factor XIII Improves Gastric Stress Lesions in Rats.
Digest, Switzerland, v. 63, p. 220-228, 2001.

DAWSON, B.; TRAPP, R.G. Bioestatística: Básica e Clínica. 3^a ed. Rio
de Janeiro: Mc Graw-Hill Interamericana do Brasil, 2003.

DEODHAR, A.K.; RANA, R.E. Surgical Phisiology of Wound Healing: a
Review. J Postgrad Med, U.S.A., v. 43, p. 52-56, June. 1997.

DIEGELMANN, R.F.; EVANS, M.C. Wound Healing: an Overview of
Acute, Fibrotic and Delayed Healing. Front Biosci, U.S.A., v. 9, p. 283-
289, Jan. 2004.

DIWAN, P.V.; KULKARNI, D.R. Effects of Nonsteroidal Antiinflammatory Agents (NSAIDS) on Wound Healing. Indian J Exp Biol, Indian, v. 24, p. 640-643, Oct. 1986.

DUCKERT, F.; NYMAN, D. Factor XIII, Fibrin and Collagen. Suppl Thromb Haemost, Germany, v.63, p. 391-396, 1978.

DUCKERT, F. Documentation of the Plasma Factor XIII Deficiency in Man. Ann N Y Acad Sci, United States, v. 8, p. 190-199, dec 1972.

EGBRING, R.; KRÖNINGER, A.; SEITZ, R. Factor XIII Deficiency: Pathogenic Mechanisms and Clinical Significance. Semin Thromb Hemost, U.S.A., v. 22, p. 419-425, 1996.

EHRlich H.P.; HUNT, T.K. Effects of Cortisone and Vitamin A on Wound Healing. Ann Surg, United States, v.167, p. 324-328, Mar 1968.

EL-HAKIM, I.E. The Effect of Fibrin Stabilizing Factor (F.XIII) on Healing of Bone Defects in Normal and Uncontrolled Diabetic Rats. Int J Oral Maxillofac Surg, Denmark, v. 28(4), p. 304-308, Aug. 1999.

FATURETO, M.C.; GOMES, R.A.S.; HIAL, V.; TEIXEIRA, V.P.A.; GOLDENBERG, S. Curva Ponderal Pós-operatória em Ratos Tratados com Diclofenaco Sódico. Acta Cir Bras, Brazil, v. 6 (1), p. 41-44, 1991.

FOLK, J.E. Transglutaminases. *Ann Ver Biochem, United States*, v.49, p. 517-531, 1980.

FORREST, L. Current Concepts in Soft Connective Tissue Wound Healing. *Br J Surg, Great Britian*, v. 70, p.133-140, 1983.

FRANÇA, J. L.; VASCONCELLOS, A. C. Manual para Normalização de Publicações Técnico-científicas. 7^a. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2004.

FRANCIS, C.W.; MARDER, V.J. Increased Resistance to Plasmic Degradation of Fibrin with Highly Cross-linked α -Polymer Chains Formed at High Factor XIII Concentrations. *Blood, U.S.A.*, v. 71, p 1361-1365, May. 1988.

FUJITA, I.; KIYAMA, T.; MIZUTANI, T.; OKUDA, T.; YOSHIYUKI, T.; TOKUNAGA, A.; TAJIRI, T. Factor XIII of Anastomotic Leak, and Circulating Growth Factors. *J Nippon Med Sch, Nippon*, v. 73, p. 18-23, 2006.

GADACZ, T.; MENGUY, R.B. Effects of Anti-inflammatory Drug Oxyphenbutazone on the Rate of Wound Healing and the Biochemical Composition of Wound Tissue. *Surg Forum, United States*, v. 18, p. 58-60, 1967.

GRINNELL, F.; BILLINGHAM, R.E.; BURGESS, L. Distribution of Fibronectin During Wound Healing *in Vivo*. J Invest Dermatol, U.S.A., v. 76, p. 181-189, 1981.

GENTILE, V.; THOMAZY, V.; PIACENTINI, M.; FESUS, L.; DAVIES, P.J.A. Expression of Tissue Transglutaminase in Balb-C 3T3 Fibroblast: Effect on Cellular Morphology and Adhesion. J Cell Biol, U.S.A., v. 119, p. 463-474, Oct. 1992.

GERNGROSS, H.; STEINMANN, R.; GRAF, K. Factor XIII and Bone Union A Comparative Clinical Trials of Its Effect on Healing of Pseudoarthroses. Med Welt, Germany, v. 38, p. 1533-1538, 1987.

HOGSTRÖM, H.; HAGLUND, U. Postoperative Decrease in Suture Holding Capacity in Laparotomy Wounds and Anastomoses. Acta Cir Scand, Sweden, v. 151, p. 533-535, Dec 1985.

HASEGAWA, H.; EGUCHI, Y. ENDOH, K.; YOSHIDA, T.; OKABE, H.; TANI, T. Effectiveness of Coagulation Factor XIII Concentrate for Reversing Loss of Tensile Strength of Rat Intestinal Anastomoses. Eur Surg Res, Switzerland, v. 36(1), p. 53-58, Jan-Feb. 2004.

HELLERE, O.; BRUCKNER, W.L.; FREY, K.W.; WESTERBURG, K.W.; KLESSINGER, U. Fracture Healing Under Factor XIII Medication. Arch Orthop Trauma Surg, Germany, v. 97(2), p. 157-159, 1980.

HEROUY, Y.; HELLSTERN, M.O.; VANSCHIEDT, W.; SCHOPF, E.; NORGAUER, J. Factor XIII-mediated Inhibition of Fibrinolysis and Venous Leg Ulcers. *Lancet, England*, v. 355(9219), p. 1970-1971, Jun. 2000.

HIGGS, G.A.; EAKINS, K.E.; MUGRIDGE, K.G.; MONCADA, S.; VANE, J.R. The Effects of Non-steroid Anti-inflammatory Drugs on Leukocyte Migration in Carrageenin-Induced Inflammation. *Eur J Pharmacol, Netherlands*, v. 66, p. 81-86, 1980.

HIRSCHOWITZ, B.I. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and the Gut. *South Med J, United States*, v. 89, p. 259-263, Mar 1996.

HOFBAUER, F.; ROKA, R.; ZEKERT, F. Factor XIII and the Risk of Postoperative Impaired Wound Healing and Bleeding. *Wien Klin Wochenschr, Austria*, v. 91(8), p. 265-266, Apr. 1979.

HUI, W.M.; LAM, S.K.; HO, J.; LUI, I.; LAI, C.L.; LOK, A.S.; LAU, W.Y.; POON, G.P.; CHOI, S. Chronic Antral Gastritis in Duodenal Ulcer. Natural History and Treatment with Prostaglandin E1. *Gastroenterology, United States*, v. 91(5), p. 1095-1101, Nov. 1986.

HUNT, T.K.; GOODSON, W.H. – Cicatrização das feridas. In: Way, L.W. Cirurgia Diagnóstico e Tratamento. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap. 8, p. 67-75.

INBAL, A.; LUBSTESKY, A.; KRAPP, T.; CASTEL, D.; SHAISH, A.; DICKNEITTE, G.; MODIS, L.; MUSZBEK, L. Impaired Wound Healing in Factor XIII Deficient Mice. *Thromb Haemost*, Germany, v. 94(2), p. 432-437, Aug. 2005.

ICHINOSE, A.; BOTTENUS, R.; DAVIE, E.W. Structure of Transglutaminases. *J Biol Chem*, United States, v. 265, p.13411-13414, Aug 1990.

ISOGAI, N.; UEDA, Y.; KUROZUMI, N.; KAMISHI, H. Wound Healing at the Site of Microvascular Anastomosis; Fibrin-stabilizing Factor XIII Administration and Its Effects. *Microsurgery*, United States, v. 11, p. 40-46, 1990.

ITAKURA, M.; NAKAZAWA, S.; KOIKE, M. In Vitro on PGE2 Production and Function in Human Hepatocelular Carcinoma. *J Gastroenterol*, Japan, v. 86, p. 227-236, 1989.

JAFFE, B.M.; PARKER, C.N.; PHILPOTT, G.W. Immunochemical Measurement of Prostagladin of Prostagladin-like Activity from Normal

and Neoplastic Cultured Tissue. Surg Forum, United States, v. 2, p. 22-90, 1971.

JORGENSEN, P.H.; JENSEN, K.H.; ANDREASSEN, T.T. Mechanical Strength in Rat Skin Incisional Wounds Treated with Fibrin Sealant. J Surg Res, United States, v. 42(3), p. 237-241, Mar. 1987.

JUPRELLE-SORET, M.; WATTIAUX-DE CONINCK, S.; WATTIAUX, R. Subcellular localization of transglutaminase. Biochem J, Great Britain, v. 250, p. 421-427, 1988.

KARGES, H.E.; CLEMENS, R. Factor XIII: Enzymatic and Clinical Aspects. Behring Inst Mitt, Germany, v. 82, p. 43-58, 1988.

KESKI-OJA, J.; MOSHER, D.F.; VAHERI, A. Cross-Linking of a Major Fibroblast Surface-Associated Glycoprotein (Fibronectin) Catalyzed by Blood Coagulation Factor XIII. Cell, United States, v. 9, p. 29-35, Sept. 1996.

KHARMADAYAN, P.; GOLDENBERG, S.; VILLA, N. Morphologic and Morphometric Aspects of Connective Tissue Evolution in Skin Sutures with Nylon, Polypropylene and Polyglactin, in Rats. Acta Cir Bras, Brazil, v. 10 (1), p. 4-8, 1995.

KILIAN, O.; FURHMANN, R.; ALT, V.; NOLL, T.; COSKUN, S.; DINGELDEIN, E.; SCHNETTLER, R.; FRANKE, R.P. Plasma Transglutaminase Factor XIII Induces Microvessel Ingrowth Into Biodegradable Hydroxyapatite Implants in Rats. *Biomaterials*, England, v. 26(14), p. 1819-1827, May. 2005.

KLEIMAN, I.; SIMÕES, M.J.; GOLDENBERG, S. Aspectos atuais do processo de reparação tecidual. *Acta Cir. Bras.*, Brasil, v. 10, p. 2-8, 1995.

KU, E.C.; WASVARY, J.M.; CASH, W.D. Diclofenac Sodium (GP 45840, Voltaren) A Potent Inhibitor of Prostaglandin Synthetase. *Biochem Pharmacol*, England, v. 24, p. 641-643, 1975.

KUMAR, S.; WONG, P.F.; LEAPER, D.J. What's New in Wound Healing? *Turk J Med Sci*, Turkey, v. 34, p. 147-160, Jun. 2004.

LEE, K.H., TONG, T.G. Mechanism of Action of Salicylates VIII: Effect of Topical Application of Retinoic Acid on Wound-Healing Retardation Action of a Few Anti-Inflammatory Agents. *J Pharm Sci*, United States, v. 59, p. 1036-1038, 1970.

LEIBOVICH, S.J.; ROSS, R. The Role of Macrophage in Wound Repair. A Study with Hydrocortisone and Antimacrophage Serum. *Am J Pathol*, United States, v.78, p.71-99, Jan. 1975.

LINGEN, M.W. Role of Leukocytes and Endothelial Cells in the Development of Angiogenesis in Inflammation and Wound Healing. Arch Pathol Lab Med, United States, v. 125, p. 67-71, Jan 2001.

LORENZ, R.; BORN, P.; CLASSEN, M. Substitution von Faktor-XIII-Konzentrat bei Therapieresistenter Colitis Ulcerosa. Eine Prospektive Pilotstudie. Med Klin, Germany, v. 89, p. 534-537, 1994.

MANDAI, R.; EGUCHI, Y. TANAKA, M. SAI, Y. NOSAKA, S. Effects of Profund Hemodilution on Small-Intestinal Wound Healing in Rabbits. J Surg Res, United States, v. 99, p. 107-113, 2001.

MÄKELÄ, J.T.; KIVINIEMI, H.; JUVONEN, T.; LAITINEN, S. Factors Influencing Wound Dehiscence After Midline Laparotomy. Am J Surg, United States, v. 1760, p. 387-390, Oct. 1995.

MARX, GERARD; MOU, XIAODE. Characterizing Fibrin Glue Performance as Modulated by Heparin, Aprotinin, and Factor XIII. J Lab Clin Med, United States, v. 140, p. 152-160, Sep. 2002.

MARKTL, W.; RUDAS, B. The Effect of Factor XIII on Wound Granulation in the Rat. Thromb Diasth Haemorrh, Germany, v. 32, p. 578-581, 1974.

MASTBOOM, W.J.B.; HENDRINS, T.; van ELTEREN, P.H. de BOER, H.H.M. The Influence of NSAIDS on Experimental Intestinal Anastomoses. *Dis Colon Rectum, United States*, v. 34, p. 236-243, 1991.

MISHIMA, Y.; NAGAO, F.; ISHIBIKI, K.; MATSUDA, M.; NAKAMURA, N. Factor XIII in the Treatment of Postoperative Refractory Wound-healing Disorders. Results of a Controlled Study. *Chirurg, Germany*, v. 55 (12), p. 803-808, Dec. 1984.

MEDEIROS, A.C.; SILVA, A.V.; LIMA, F.P.; VASCONCELOS, C.V.; MACEDO, L.M.B.; MELO, N.M.C. Efeito do Fator XIII da Coagulação na Cicatrização da Pele de Ratos em Uso de Corticosteróide. *Rev Bras Cir, Brasil*, v. 29, p. 324-329, Nov. 2002.

MEILI, E.O. Clinical Course and Management of Severe Congenital Factor XIII Deficiency. *Hamostaseologie, Germany*, v. 22(1), p. 48-52, Feb. 2002.

MENASSÉ, R.; HEDWALL, P.R.; KRAETZ, J.; PERICIN, C.; RIESTERER, L.; SALLMANN, A.; ZIEL, R.; JAQUES, R. Pharmacological Properties of Diclofenac Sodium and Its Metabolites. *Scand J Rheumatology, Sweden, Suppl. 22*: p. 5-16, 1978.

MINOSSI, J.G.; LEITE, C.V.S.; NARESSE, L.E.; RODRIGUES, M.A.M.; CURI, P.R.; KOBAYASI, S. Ação do Diclofenaco de Sódio em

Anastomoses Realizadas no Cólon Distal de Ratos. Acta Cir Bras, Brasil, v. 11, p. 116-120, 1996.

MINOSSI, J.G.; LEITE, C.V.S.; NARESSE, L.E.; RODRIGUES, M.A.M.; CURI, P.R.; KOBAYASI, S. Ação do Diclofenaco de Sódio em Anastomoses Realizadas no Intestino Delgado de Ratos. Acta Cir Bras, Brasil, v. 13, p. 37-43, Jan. 1998.

MOSHER, D.F.; FOGERTY, F.J.; CHERNOUSOV, M.A.; BARRY, E.L.R.. Assembly of Fibronectin into Extracelular Matrix. Ann N Y Acad Sci, United States, v. 614, p. 167-180, 1991.

MOSHER, D.F. Cross-Linking of Cold-insoluble Globulin by Fibrin-stabilizing Factor. J Biol Chem, United States, v. 250, p. 6614-6621, Aug. 1975.

MOSHER, D.F. Cross-linking of Fibronectin to Collagenous Proteins. Mol Cell Biochem, Netherlands, v. 58, p. 63-68, 1984.

MOSHER, D.F.; SCHAD, P.E. Cross-Linking of Fibronectin to Collagen by Blood Coagulation Factor XIIIa. J Clin Invest, United States, v. 64, p. 781-787, Sep. 1979.

MURTAUGH, M.P.; MEHTA, K.; JOHNSON, J.; MYERS, M.; JULIANO, R.L.; DAVIES, P.J.A. Induction of Tissue Transglutaminase in Mouse

Peritoneal Macrophages. J Biol Chem, United States, v. 258, p. 11074-11081, Sep. 1983.

MUSZBEK L.; YEE V.C.; HEVESSEY Z. Blood Coagulation Factor XIII: Structure and Function. Thromb Res, United States, v. 94, p. 271-305, Jan. 1999.

MUSZBEK L., ADANY R., NIKKOLLA H. Novel aspects of blood coagulation factor XIII. I – Structure, distribution, activation and function. United States, Crit Rev Clin Lab Sci, v. 33, p. 357-421, 1996.

OHWADA, S. SATO, Y. TOYAMA, Y. OKANO, T. NAKASONE, Y. OGAWA, T. MORISHITA, Y. Effects of Transfusion on Gastrointestinal Anastomotic Wound Healing and Leukocyte Function in Rats. Eur Surg Res, Switzerland, v. 32, p. 353-358, 2000.

OGAWA, T.; MORIOKA, Y.; INOUE, T.; TAKANO, M.; TSUDA, S. Involvement of Blood Coagulation Factor XIII in Burn Healing in the Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury Model in Rats. Inflamm Res, Switzerland, v. 44, p. 264-268, 1995.

OLIVEIRA, P.G.; SOARES, E.G.; APRILLI, F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog, on the healing of colonic anastomoses in rats. Dis Colon Rectum, v. 37, n. 7, p. 660-663, Jul. 1994.

PAULUS, H.E. Nonsteroidal Anti-inflammatory-Drugs: Major Side Effects. *J Muscoloskel Med*, United States, v. 8, p. 29-33, 1991.

PAYE, M.; NUSGENS, B.V.; LAPIÈRE, C.M. Factor XIII of Blood Coagulation Modulates Biosynthesis by Fibroblast in Vitro. *Haemostasis*, Switzerland, v.19, p.274-283, 1989.

PENHOS, J.C. Inhibidores de la síntesis de prostaglandinas. *Acta Bioquim Clin Latinoam*, Argentina, v.18, p. 233-248, 1983.

PESCHEN, M.; THIMM, C.; WEYL, A.; WEISS, J.M.; KURZ, H.; AUGUSTIN, M.; SIMON, J.C.; SCHOPF, E.; VANSCHIEDT, W. Possible Role of Coagulation Factor XIII in the Pathogenesis of Venous Leg Ulcers. *Vasa*, Switzerland, v. 77(12), p. 89-93, May. 1998.

POHL, J.; BRUHN, H.D.; CHRISTOPHERS, E. Thrombin and Fibrin-induced Growth of Fibroblasts: Role in Wound Repair and Thrombus Organization. *Klin Wochenschr*, Germany, v. 57, p. 273-277, 1979.

POWANDA, M.C.; MOYER, E.D. Plasma Proteins and Wound Healing. *Sur Gynecol Obstet*, United States, v.153, p.749-745, 1981.

PRANDI FILHO, W.; SIMÕES, M.J.; KULAY JR., L.; GONDENBERG, S. Aspectos Morfológicos e Morfométricos do Processo Inflamatório

Provocado por Fio de Algodão no Subcutâneo de Ratos Tratados com Diclofenaco Sódico, Acta Cir Bras, Brasil, v. 3, p. 32-37, 1988.

PRATHIBA, V.; GUPTA, P.D. Cutaneous Wound Healing: Significance of Proteoglycans in Scar Formation. Curr Sci, Indian, v. 78, p. 1-5, mar 2000.

QUIRINIA, A.; VIIDIK, A. Diclofenac and Indomethacin Influence the Healing of Normal and Ischamic Incisional Wounds in Skin. Scand J Plast Reconstr Hand Surg, Sweden, v. 31, p. 213-219, 1997.

RAGAZ, S. KEMP, G.; FURLAN, M.; BECK, E.A. Bleeding Disorder with Abnormal Wound Healing, Acid-soluble Clots and Normal Factor XIII. Thromb Haemost, Germany, v. 36(3), p. 537-541, Dec. 1976.

RANG, H.P.; DALE, M.M. – Drogas usadas em supressão de reações inflamatórias e imunológicas. In: RANG, H.P.; DALE, M.M. FARMACOLOGIA. 2ed. Rio Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. p. 175-193.

RAPAPORT, S. I. Introdução a Hematologia, 2.ed, São Paulo, Roca, 1990.

RASCHE, H. Blood Coagulation Factor XIII and Fibrin Stabilization. Klin Wochenschr, Germany, v. 53(24), p. 1137-1145, Dec. 1975.

ROBINSON, D.R. Management of Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal anti-inflammatory Drugs During the Therapy of Rheumatic Diseases: the Rheumatologist's Perspective. *Am J Med*, United States, v. 84, p. 1-4, 1988.

SAHIN, M.; KARADEMIR, M.; OZER, S.; AVSAR, F.M.; CAGLAYAN, O.; AKSOY, F. AKTAN, M. The Effects of Different Suture Techniques on Wound Healing in Abdominal Wall Closure. *Turk J Med Sci*, Turkey, v. 31, p. 391-394, 2001.

SAKATA, Y.; AOKI, N. Cross-Linking of α_2 -Plasmin Inhibitor to Fibrin-stabilizing Factor. *J Clin Invest*, United States, v. 65, p. 290-297, Feb. 1980.

SCHAFFER, M.; BARBUL, A. Lymphocyte Function in Wound Healing and Following Injury. *Br J Surg*, Great Britian, v. 85, p. 444-460, April 1998.

SCHWERING, H.; ZIMMERMANN, R.E.; WITTRIN, G. KESSLER, B. Theoretical and Clinical Aspects of Fibrin Stabilization in the Post-operative Phase. *Chirurg*, Germany, v. 52(1), p. 41-45, Jan. 1981.

SEITZ, R.; LEUGNER, F.; KATSCHINSKI, M.; IMMEL, A.; KRAUS, M.; EGBRING, R.; GÖKE, B. Ulcerative Colitis and Crohn's Disease: Factor

XIII, Inflammation and Haemostasis, Digestion, Switzerland, v. 55, p. 361-367, 1994.

SINGER, A.J.; CLARK, R.A.F. Mechanisms of Disease: Cutaneous Wound Healing. N Eng J Med, United States, v. 341, p. 738-746, Sep. 1999.

SOUSA, J.B.; SOARES, E.G.; APRILLI, F. Effects of Diclofenac Sodium on Intestinal Anastomotic Healing. Experimental Study on the Small Intestine of Rabbits. Dis Colon Rectum, United States, v. 34, p. 613-617, 1991.

SOUSA, J.B.; Evolução da cicatrização de anastomoses colônicas sob ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório. Estudo experimental em coelhos. Ribeirão Preto, 1994. 65p. Tese (Doutoramento). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP.

STADNICKI, A., KLOCZKO, J., NORWAK, A.; SIERKA, E. SLIWINSKI, Z. Factor XIII Subunits in Relation to Some Other Hemostatic Parameters in Ulcerative Colitis, Am J Gastroenterol, United States, v. 86, p. 690-693, 1991.

STAINDL, O. The Healing of Wounds and Scar Formation Under the Influence of a Tissue Adhesion System with Fibrinogen, Thrombin, and

Coagulation Factor XIII. Arch Otorhinolaryngol, Germany, v. 222(4), p. 241-245, 1979.

TAKAHASHI, N.; TAKAHASHI, Y.; PUTNAM, F.W. Primary Structure of Blood Coagulation Factor XIIIa (Fibrinoligase, transglutaminase) from Human Placenta. Proc Natl Acad Sci U S A, United States, v. 83(21), p. 8019-8023, Nov. 1986.

THAVARAJ, V.; SINGH, Y.; CHOUDHHARY, V.P. SARAYA, A.K. Congenital Factor XIII Deficiency. A Family Report. Haematologia, Netherlands, v. 24(2), p. 107-111, 1991.

TODD, P.A.; SORKIN, E.M. Diclofenacum Sodium: A Reappraisal of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. Drugs, United Kingdom, v. 35, p. 244-285, 1988.

TOIDA, M.; OKA, N.; TAKAMI, T.; ÁDÁNY, R. Accumulation of Cells Containing Factor XIII Subunit a Around the Foci of Intense Fibrosis in Human Epulides. Histochem J, Netherlands, v. 27, p. 440-448, 1995.

TOGNINI, J.R.F.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; MELO, R.L.; ORTIZ, P.L.A. – Efeito do Diclofenaco Sódico na Cicatrização da Parede Abdominal de Ratos. Acta Cir Bras, v. 13, 1998.

TOGNINI, J.R.F.; FAGUNDES, D.J.; NOVO, N.F.; JULIANO, Y. Estudo Biomecânico e Morfológico da Cicatrização da Parede Abdominal sob Ação de Meloxicam. *Acta Cir Bras*, Brazil, v.15, Jul, 2000.

TSURUMI, K.; HIRAMATSU, Y.; YAMAGUCHI, A.; HAYASHI, M.; SHIBUYA, T.; FUJIMURA, H. Effects of GP-45, 840 on subchronic experimental inflammation. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, Japan, v. 69, p. 319-334, 1973.

UEYAMA, M.; URAYAMA, T. The Role of Factor XIII in Fibroblast Proliferation. *J Exp Med*, Japan, v. 48, p. 135-142, 1978.

UPCHURCH, H.F.; CONWAY, E.; PATTERSON, JR.; MAXWELL, M.D. Localization of Cellular Transglutaminase on the Extracellular Matrix After Wounding: Characteristics of the Matrix Bound Enzyme. *J Cell Physiol*, v. 149, p. 375-382, 1991.

VANSCHIEDT, W.; HASLER, K.; WOKALEK, H.; NIEDNER, R.; SCHOPF, E. Factor XIII-deficiency in the Blood of Venous Leg Ulcer Patients. *Acta Derm Venereol*, Norway, v. 71(1), p. 55-57, 1991.

VERDERESE, L.R.M.; NARESSE, L.E.; LEITE, C.V.S.; MERCADANTE, M.C.S.; SADATSUNE, T. CURI, P.R.; BURINI, R.C.; KOBAYASI, S. Ação do Diclofenaco Sódico, após Interrupção da Peritonite Estercorácea, no Cólon de Ratos. Estudo da Resistência Mecânica e

Colágeno Tecidual. Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo, Brazil, v. 50, p. 254-258, 1995.

WANG, J.; JOHNSON, L.R. Role of Transglutaminase and Protein Cross-linking in the Repair of Mucosal Erosions. Am J Physiol, United States, v. 262, p. G818-G825, 1992.

WATKINSON, G.; AKBAR, F.A. Misoprostol in Peptic Ulcer Disease. Prostaglandins, Untited States, v. 33, p. 78-92, 1987.

WITHAN, R. Voltaren (Diclofenac Sodium)-induced Ileocolitis. Am J Gastroenterology, United States, v. 86, p. 246, 1991.

WITTE, M.B.; BARBUL, A. General Principles of Wound Healing. Surg Clin North Am, United States, v. 77, p. 509-528, June. 1997.

WOZNIAK, G.; NOLL, T. Factor XIII and Wound Healing. Hamostaseologie, Germany, v. 22(1), p. 59-62, Feb. 2002.

WOZNIAK, G.; DAPPER, F.; ALEMANY, J. Factor XIII in Ulcerative Leg Disease: Background and Preliminary Clinical Results. Semin Thromb Hemost, United States, v. 22, p. 445-450, 1996.

8. APÊNDICE

Apêndice A – Tabela 1: Avaliação Histopatológica do Grupo DS 3 (terceiro dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	++++	++	++	++	+++	++	++	++
Edema	+++	++	++	+	++	++	++	++
Hemorragia	+	0	+	0	0	++	+	0
Ulceração	0	+	+	0	0	0	0	0
Necrose	0	++	+	0	0	0	0	+

Polimorfonuclear	+	+++	++	+	+	+	+	+
Mononuclear	+++	+	++	++	+	+	++	++
Vasos neoformados	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulação	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrose	0	0	0	0	0	0	0	0

NOTA: DS (Diclofenaco Sódico)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

Apêndice B – Tabela 2: Avaliação Histopatológica do Grupo DSF 3 (terceiro dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	+	+	+++	+	+	++	++	
Edema	++	++	+	+	++	++	+	
Hemorragia	0	0	0	0	0	0	0	
Ulceração	0	0	0	++	+	0	0	
Necrose	0	0	0	++	++	0	0	
Polimorfonuclear	++	++	+	+++	+++	+	+	
Mononuclear	++	++	+++	0	+	++	+++	
Vasos neoformados	0	0	0	0	0	0	0	
Granulação	0	0	0	0	0	0	0	
Fibrose	0	0	0	0	0	0	0	

NOTA: DSF (Diclofenaco Sódico + Fator XIII da Coagulação Sanguínea)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

Apêndice C – Tabela 3: Avaliação Histopatológica do Grupo SF 3 (terceiro dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	++	++	++	+	+++	++	++	+
Edema	++	++	++	+++	++	++	+++	++
Hemorragia	0	0	++	0	0	0	0	+
Ulceração	0	0	0	0	++	0	0	0
Necrose	0	0	0	0	+++	0	0	0
Polimorfonuclear	+	++	+	+	+++	+	+	+
Mononuclear	+	++	+++	+	+	++	+++	+++
Vasos neoformados	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulação	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrose	0	0	0	0	0	0	0	0

NOTA: SF (Solução de Cloreto de Sódio a 0,9%)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

Apêndice D – Tabela 4: Avaliação Histopatológica do Grupo F 3 (terceiro dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	++	+++	+	+	+	+++	+	+++
Edema	++	++	+	+	+	+	+	++
Hemorragia	0	0	0	0	0	+	0	0
Ulceração	0	0	0	0	+	0	0	0
Necrose	0	0	0	0	++	0	0	0

Polimorfonuclear	0	0	0	0	0	0	0	0
Mononuclear	+	+	+	+	0	0	0	0
Vasos neoformados	++	++	+	+	0	0	0	0
Granulação	++	+	+	+	0	0	0	0
Fibrose	++	+	+	+	0	0	0	0

NOTA: DSF (Grupo do Diclofenaco Sódico + Fator XIII da Coagulação Sanguínea décimo-quarto dia de pós-operatório)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

Apêndice K- Tabela 11: Avaliação Histopatológica do Grupo SF 14 (décimo-quarto dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	0	0	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorragia	0	0	0	0	0	0	0	0
Ulceração	0	0	0	0	0	0	0	0
Necrose	0	0	0	0	0	0	0	0
Polimorfonuclear	0	0	0	0	0	0	0	0
Mononuclear	+	0	+	+	+	0	0	0
Vasos neoformados	+	0	+	+	0	0	0	0
Granulação	++	0	+	+	0	0	0	0
Fibrose	++	0	+	++	+	0	0	0

NOTA: SF 14(Grupo da Solução de Cloreto de Sódio a 0,9% décimo-quarto dia de pós-operatório)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

Apêndice L – Tabela 12: Avaliação Histopatológica do Grupo F 14 (décimo-quarto dia de pós-operatório).

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Congestão	0	++	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorragia	0	0	0	0	0	0	0	0
Ulceração	0	0	0	0	0	0	0	0
Necrose	0	0	0	0	0	0	0	0
Polimorfonuclear	0	0	0	0	0	0	0	0
Mononuclear	+	+	0	0	+	+	0	0
Vasos neoformados	0	++	0	0	+	++	0	0
Granulação	+	+	0	0	+	++	0	0
Fibrose	0	++	0	0	++	++	0	0

NOTA: F 14 (Grupo do Fator XIII da Coagulação Sanguínea no décimo-quarto dia de pós-operatório)

Ausente (0) Leve(+) Moderada(++) Marcante(+++) Intensa(++++)

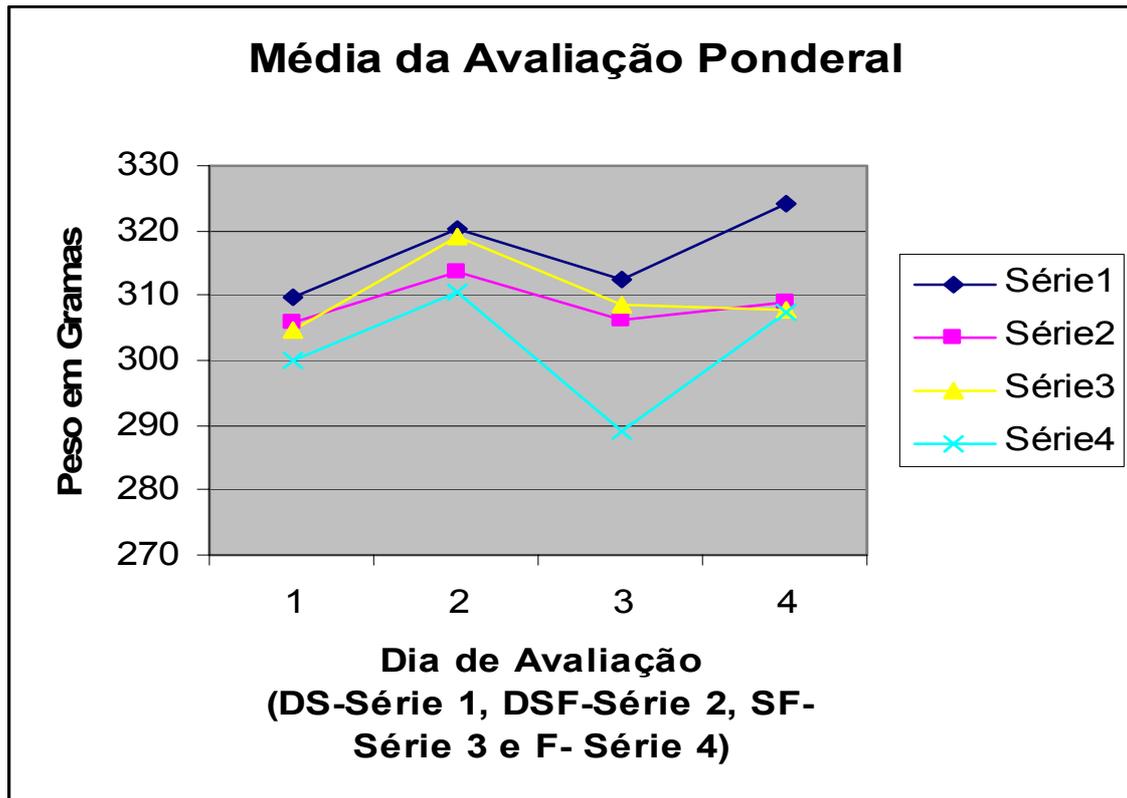
Apêndice M – Tabela 13: Avaliação Ponderal dos Grupos em Estudo.

GRUPOS	início do experimento	cirurgia	3 ^o . dpo	14 ^o . dpo
I (DS)	309,625	320,165	312,545	323,98
II (DSF)	305,955	313,7875	306,27	308,9125
III (SF)	304,52	319,1475	308,73	307,8

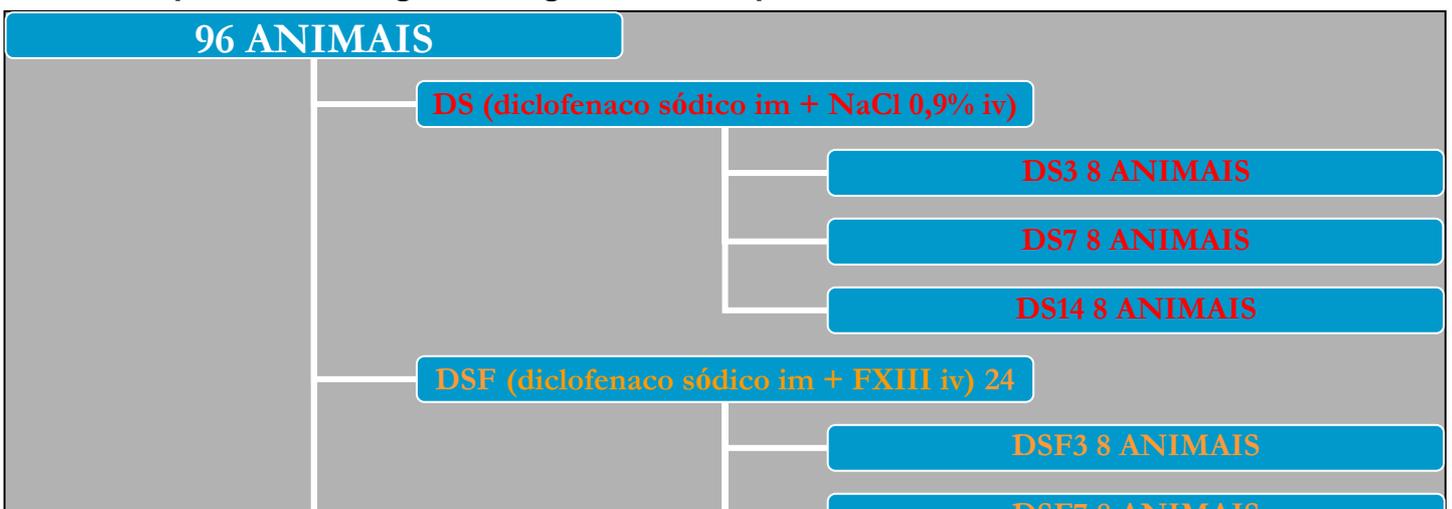
IV (F)	299,8275	310,5825	289,2075	307,275
--------	----------	----------	----------	---------

NOTA: média do peso em gramas dos grupos avaliados.

Apêndice N – Gráfico 24: Média do Peso dos Grupos em Estudo.



Apêndice O – Figura 7: Algoritmo do experimento





Apêndice P – Figura 8: Foto do rato em decúbito ventral após procedimento anestésico



Apêndice Q – Figura 9: Foto do rato em decúbito ventral após tricotomia no dorso



Apêndice R – Figura 10: Foto do rato após incisão no dorso de 04 cm de comprimento



Apêndice S – Figura 11: Foto do rato após síntese do dorso com pontos simples separados eqüidistantes com nylon 4.0