

A analgesia preemptiva modula a assinatura de microRNAs no fluido inflamatório local após exodontia de terceiros molares inferiores impactados? Ensaio clínico randomizado, prospectivo e triplo-cego com avaliação de miR-1246, miR-335-5p e miR-193a-5p.

Resumo: A exodontia de terceiros molares inferiores impactados é um procedimento comum na prática odontológica, frequentemente associado a dor, edema, trismo e risco de complicações no pós-operatório. Nesse contexto, estratégias como a analgesia preemptiva têm sido investigadas para atenuar a morbidade pós-operatória, embora ainda haja incerteza sobre a magnitude e os mecanismos locais de ação de diferentes fármacos. O objetivo deste estudo é avaliar a influência de distintos protocolos medicamentosos preemptivos sobre desfechos clínicos e sobre a resposta inflamatória local precoce, por meio da expressão de microRNAs no fluido inflamatório coletado no sítio operado. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, triplo-cego, com quatro grupos experimentais: placebo, dexametasona (8 mg), etoricoxibe (90 mg) e amoxicilina (2 g), todos administrados por via oral uma hora antes da cirurgia. Os desfechos clínicos incluem intensidade da dor (EAV), mensuração do edema facial, quantificação do trismo e consumo de analgésico de resgate. Paralelamente, amostras de fluido inflamatório local serão coletadas com PerioPaper nos dias 3 e 7 de pós-operatório para extração de RNA total com recuperação de pequenos RNAs e quantificação de microRNAs por RT-qPCR utilizando estratégia clássica stem-loop com ensaios TaqMan. A integração entre dados clínicos e biomoleculares permitirá compreender se os fármacos preemptivos modulam o microambiente inflamatório inicial e sua transição para reparo, com potencial impacto na prática baseada em evidências e na formação de pesquisadores em cirurgia bucomaxilofacial.

Palavras-chave: Dente do siso, Exodontia, Dor

Abstract: The extraction of impacted mandibular third molars is a common procedure in dental practice and is frequently associated with postoperative pain, swelling, trismus, and risk of complications. In this context, preemptive drug strategies have been investigated to mitigate postoperative morbidity, yet uncertainty remains regarding the comparative effects of different regimens and their influence on the early local inflammatory response. The aim of this study is to evaluate the impact of different preemptive medication protocols—dexamethasone, etoricoxib, and amoxicillin—on clinical outcomes and on local microRNA expression in mandibular third molar surgery. This is a randomized, triple-blind clinical trial with four experimental groups: placebo, dexamethasone (8 mg), etoricoxib (90 mg), and amoxicillin (2 g), all administered orally one hour prior to surgery. Clinical outcomes will include pain intensity (VAS), facial swelling, trismus, and rescue analgesic consumption. In parallel, local inflammatory fluid will be collected in the early postoperative period using PerioPaper strips, followed by total RNA extraction with recovery of small RNAs and quantification of selected microRNAs by RT-qPCR using a classic stem-loop reverse transcription workflow with TaqMan assays. By integrating clinical endpoints with microRNA-based molecular markers, this study is expected to improve understanding of how preemptive medications modulate the early inflammatory microenvironment and its transition toward tissue repair, with potential implications for evidence-based practice and training in oral and maxillofacial surgery.

1- Introdução

A extração dos terceiros molares impactados é frequentemente referida como o procedimento mais comum na cirurgia bucomaxilofacial, devido à sua alta prevalência^{1,2}. Esse procedimento tem feito parte da prática clínica dos cirurgiões-dentistas desde o início do século XX, quando o primeiro guideline foi publicado pela National Dental Association ³. No Reino Unido, cerca de 60.000 extrações foram realizadas entre os anos de 2009 e 2010, sendo suas principais indicações clínicas: impactação por falta de espaço na arcada dentária; risco de pericoronarite, principalmente em casos de infecções locais recorrentes; e considerações ortodônticas, nas quais a presença desses elementos dentários pode comprometer a eficácia do tratamento ^{1,4-6}. Além disso, esse procedimento pode ser seguido de outras morbidades pós-operatórias, como dor, inflamação, edema, febre e trismo. No entanto, tais manifestações são geralmente de menor intensidade e podem ser controladas com o uso de fármacos específicos ^{4,7}.

O pós-operatório da cirurgia para remoção de terceiros molares impactados pode resultar em complicações inflamatórias, levando a disfunções durante a fase inicial do reparo ósseo ⁸. Nessa fase, há liberação de grandes quantidades de histaminas, bradicininas e citocinas, promovendo vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e migração de leucócitos para o sítio operado, resultando em dor, edema e trismo ^{9,10}. Logo, considerando que o procedimento cirúrgico exige acesso por retalho e remoção óssea, o grau de inflamação subsequente pode estar associado à dor de intensidade moderada a severa nas primeiras 12 horas após a cirurgia ¹¹⁻¹⁴.

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano real ou potencial aos tecidos, resultando em respostas protetoras. Quando mal controlada, pode prejudicar a qualidade de vida, retardar o retorno às atividades habituais e favorecer o desenvolvimento de dor crônica ^{15,16}. Uma das estratégias para controlar a liberação de mediadores inflamatórios e suprimir a transmissão dos sinais dolorosos é a analgesia preemptiva ¹⁷. Essa abordagem é caracterizada pela administração de medicamentos antes da ocorrência do trauma cirúrgico, com o objetivo de prevenir a hiperalgesia ¹⁸.

A prevenção da dor foi primeiramente aplicada na prática clínica por Crile em 1913 e posteriormente aprimorada por outros autores ^{19,20}. Atualmente, o controle da dor, do edema e do trismo nas cirurgias de terceiros molares é uma preocupação relevante na prática clínica, sendo comumente realizado com a prescrição de analgésicos, corticosteroides e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). No entanto, devido à ausência de consenso na literatura, a realização de estudos comparativos envolvendo diferentes fármacos no controle da hiperalgesia após a exodontia de terceiros molares inferiores tornou-se um tema importante de investigação clínica ^{21,22}.

Os AINEs atuam por meio da inibição da ciclooxigenase (COX), enzima responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas, mediadoras da inflamação e da hiperalgesia ²³. Existem duas isoformas principais da COX: a COX-1, expressa constitutivamente em diversos tecidos para manutenção de funções fisiológicas; e a COX-2, induzida em resposta a lesões teciduais e responsável pela produção de prostaglandinas pró-

inflamatórias ²⁴. Farmacologicamente os AINEs são categorizados em grupos de acordo com sua eficácia em inibir as COXs: Pouco seletivos, preferencialmente seletivos para COX-2 e seletivos para COX-2 ^{24,25}. Desde a descoberta da isoforma 2 na década de 90, a indústria farmacêutica desenvolveu medicamentos como o etoricoxibe que não influenciam na via constitutiva evitando problemas clínicos como irritação gástrica e agudização da insuficiência renal tornando-se a base da terapia anti-inflamatória para controle da dor ^{26,27}.

Os corticosteroides, por sua vez, são anti-inflamatórios que atuam na inibição da fosfolipase A2, bloqueando a formação de ácido araquidônico a partir da membrana celular e, conseqüentemente, reduzindo a produção de mediadores inflamatórios ²⁸. Sua ação envolve também a regulação negativa da expressão de genes pró-inflamatórios, incluindo a COX-2 ²⁹. Uma das drogas deste grupo que mais é prescrita na prática clínica é a dexametasona. ^{21,22,30}. Trata-se de um análogo sintético da prednisolona, com potência de 20 a 30 vezes superior à do cortisol e meia-vida plasmática entre 36 e 72 horas, o que a torna uma excelente opção para administração preemptiva e controle do edema e da hiperalgesia pós-operatória ²⁸.

Dentre os medicamentos mais avaliados em estudos clínicos para o controle da dor, destaca-se o paracetamol, amplamente utilizado tanto na analgesia pós-operatória quanto como medicação de resgate para dores de maior intensidade ^{7,14,31-33}. Trata-se de um fármaco eficaz no manejo de dores leves a moderadas, cujo mecanismo de ação envolve a modulação dos canais de cálcio nos tecidos periféricos e a inibição fraca das enzimas ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2). Embora seu efeito anti-inflamatório seja limitado em

comparação aos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), estudos indicam que, na fase aguda da resposta inflamatória, o paracetamol pode apresentar eficácia semelhante em termos analgésicos ^{26,34}. Além disso, sua boa tolerabilidade gástrica e baixo risco de efeitos adversos tornam-no uma opção segura e amplamente prescrita no contexto odontológico.

A literatura relata que a cavidade oral é colonizada por mais de 400 espécies de bactérias aeróbias e anaeróbias. Ainda assim, complicações infecciosas são frequentes, variando de alveolites, com incidência entre 25% e 30%, até infecções da ferida cirúrgica, que ocorrem em 2% a 13% dos casos ³⁵. Entretanto, complicações são frequentes indo desde a alveolite, com taxas variando de 25%-30%, a infecções da ferida cirúrgica, variando de 2% a 13% ³⁶⁻³⁸. Uma das estratégias descritas na literatura para reduzir essas complicações inclusive inflamatórias é a prescrição de antibióticos, especialmente em casos de terceiros molares impactados por osso e em posição horizontal ³⁹. Essa prática é adotada por 25% a 90% dos cirurgiões-dentistas em países como Suíça, Espanha e Nigéria ⁴⁰⁻⁴². Apesar das evidências de que a prescrição inadequada de antibióticos contribui para a resistência bacteriana, a administração oral pré-operatória em dose única de Amoxicilina pode garantir níveis plasmáticos suficientes para inibir o crescimento bacteriano, sendo eficaz na redução de infecções e complicações inflamatórias pós-operatórias, além de diminuir o consumo de analgésicos ^{39,43-45}.

Devido à inexistência, até o momento, de uma técnica laboratorial objetiva para a mensuração da dor, a avaliação subjetiva por meio da escala analógica visual (EAV) ainda é amplamente utilizada em estudos clínicos ^{46,47}. No entanto,

análises de expressão de microRNAs (miRNAs) podem estabelecer uma correlação objetiva entre os desfechos clínicos e a resposta tecidual local, uma vez que esses pequenos RNAs não codificantes regulam a expressão gênica de forma pós-transcricional e participam ativamente das vias de inflamação e cicatrização^{48,49}. Além disso, miRNAs são detectáveis em fluidos orais, incluindo o fluido crevicular gengival, o que os torna candidatos promissores a biomarcadores locais no pós-operatório⁵⁰. Assim, a quantificação da expressão de miRNAs por RT-qPCR, utilizando transcrição reversa específica, constitui uma abordagem altamente sensível e específica para investigar a resposta inflamatória inicial e a dinâmica precoce do reparo alveolar no período inicial após a exodontia⁵¹.

2- Justificativa para escolha do tema

Até o presente momento, há escassez de estudos clínicos que investiguem, em exodontias de terceiros molares inferiores, se diferentes protocolos medicamentosos preemptivos (como corticosteroide, inibidor seletivo de COX-2 e antibiótico) modulam, de forma objetiva, o microambiente inflamatório local no pós-operatório inicial por meio de biomarcadores epigenéticos mensuráveis no sítio operado. MicroRNAs (miRNAs) são reguladores pós-transcricionais com participação relevante nas fases de inflamação e cicatrização, e podem ser detectados em fluidos orais como o fluido crevicular gengival, permitindo uma leitura direta e local da resposta biológica ao trauma cirúrgico. Assim, a proposta é inovadora ao integrar desfechos clínicos (dor, edema, trismo e necessidade de analgésico de resgate) com a quantificação de miRNAs por RT-qPCR no pós-operatório inicial, oferecendo

uma abordagem mais sensível para compreender se e como a analgesia preemptiva influencia a resposta inflamatória precoce e sua transição para reparo, gerando evidência com potencial de impacto na prática clínica baseada em evidências em cirurgia bucomaxilofacial.

3- Objetivo

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito de diferentes protocolos medicamentosos preemptivos sobre a expressão de microRNAs no fluido inflamatório local após exodontia de terceiros molares inferiores impactados, como biomarcadores da resposta inflamatória local no período inicial de cicatrização.

4- Metodologia

O presente estudo prospectivo será conduzido na clínica de cirurgia oral da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (FOUFRJ) de acordo com as diretrizes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) seguindo a resolução ANS 466/12, lei federal nº 14.874, além da Declaração de Helsinque e suas emendas. O projeto foi anexado à Plataforma Brasil (<https://plataformabrasil.saude.gov.br/>) para apreciação ética juntamente com os documentos necessários para sua realização como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após a aprovação, este projeto também será enviado para registro do ensaio clínico (<https://ensaiosclinicos.gov.br/>) para garantir transparência metodológica, rastreabilidade dos dados e integridade ética da pesquisa assegurando assim, as exigências das principais revistas científicas. Para também garantir a

qualidade metodológica do projeto, a condução da pesquisa será baseando-se nas diretrizes do CONSORT ⁵².

4.1- Cálculo amostral

O tamanho amostral mínimo necessário foi estimado por meio de um Power Test, utilizando a plataforma disponível em <http://calculoamostral.bauru.usp.br/> (acesso em 11 de junho de 2025). Para o cálculo, foram considerados um erro alfa de 5% (nível de significância) e um erro beta de 20% (potência estatística de 80%). Com base em um estudo prévio ⁵³, adotou-se um desvio padrão de 1,75 e uma diferença mínima esperada entre os grupos de 1,87. O cálculo foi realizado considerando um teste monocaudal, o que resultou em um tamanho amostral mínimo de 15 terceiros molares por grupo.

4.2- Critérios de inclusão e exclusão

Serão incluídos no estudo pacientes com indicação de exodontia de terceiros molares inferiores, com idade entre 18 e 40 anos, em boas condições sistêmicas (classificação ASA I ou II, conforme a Sociedade Americana de Anestesiologia). Os terceiros molares devem estar impactados, classificados como All, Alll, BI, BII, BIII, CI, CII ou CII segundo Pell & Gregory ⁵⁴, independentemente da angulação de acordo com a classificação de Winter ⁵⁵, e não devem apresentar sinais clínicos de infecção ou inflamação local. Serão excluídos pacientes fumantes; gestantes ou lactantes; portadores de doenças sistêmicas como nefropatias, hepatopatias, doenças respiratórias ou cardiovasculares; e aqueles com histórico de hipersensibilidade a qualquer fármaco utilizado no protocolo do estudo. Pacientes em uso de medicamentos

nos 15 dias que antecedem a cirurgia também serão excluídos. Além disso, serão excluídos os casos em que houver necessidade de volume anestésico superior ao habitual (mais de 4 tubetes anestésicos) ou ocorrência de intercorrências transoperatórias que resultem em tempo cirúrgico significativamente prolongado.

4.3- Processo de obtenção do Consentimento Livre e Esclarecido

O processo de Consentimento Livre e Esclarecido será conduzido como um processo contínuo, baseado em diálogo e relação de confiança entre equipe de pesquisa e participante, em conformidade com o item IV.1 da Resolução CNS nº 466/2012. O convite à participação ocorrerá presencialmente, em ambiente reservado da clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia da UFRJ (garantindo privacidade e ausência de coerção), antes de qualquer procedimento relacionado à pesquisa e antes de eventual alocação em grupos. O esclarecimento será realizado pelo pesquisador responsável e/ou por um aluno de pós-graduação stricto sensu sendo cirurgião-dentista e integrante da equipe, formalmente designado e sob responsabilidade do pesquisador responsável, devidamente treinado para apresentar o estudo em linguagem acessível e responder a dúvidas. O potencial participante receberá o TCLE para leitura, será informado sobre objetivos, procedimentos, riscos/benefícios, voluntariedade, confidencialidade e direito de retirar o consentimento a qualquer momento, sem qualquer prejuízo assistencial. Será assegurado tempo suficiente para reflexão e decisão, com possibilidade de levar o documento para casa e retornar em outro momento, se desejar. Após anuência, o termo de consentimento será assinado em duas vias sendo uma entregue ao participante e a outra arquivada em

prontuário. Durante todo o acompanhamento, o participante será continuamente encorajado a dialogar e questionar, podendo solicitar novos esclarecimentos a qualquer tempo.

4.4 Randomização

Os participantes serão alocados aleatoriamente em quatro grupos experimentais, conforme o protocolo medicamentoso preemptivo a ser administrado: placebo, dexametasona, etoricoxibe ou amoxicilina. A randomização será realizada por meio do website <https://Random.org/>, garantindo a alocação imparcial dos participantes. A distribuição será feita em blocos permutados para manter o equilíbrio entre os grupos ao longo do recrutamento. A sequência de randomização será realizada por um pesquisador que não participará da aplicação dos medicamentos nem da coleta de dados, assegurando o sigilo da alocação (allocation concealment). Nos casos em que o mesmo paciente apresentar indicação para exodontia de terceiros molares inferiores bilaterais, será garantido que cada lado seja submetido a um protocolo medicamentoso distinto, com intervalo mínimo de 30 dias entre os procedimentos. Os envelopes opacos, numerados sequencialmente e lacrados, conterão a designação do grupo e serão abertos apenas no momento da intervenção.

4.5- Cegamento

Pacientes elegíveis serão conduzidos a uma sala por um pesquisador assistente, onde os envelopes contendo a alocação do tratamento serão abertos. Esses envelopes serão previamente lacrados, opacos, numerados

sequencialmente e conterão informações sobre a combinação medicamentosa a ser administrada, bem como o lado a ser operado. Após a abertura, o pesquisador assistente registrará os dados em planilha padronizada e comunicará exclusivamente ao cirurgião o lado a ser operado, fornecendo os medicamentos correspondentes para administração uma hora antes da cirurgia. Para garantir o mascaramento da intervenção, as cápsulas serão manipuladas de forma a apresentar cor e tamanho padronizados, sendo acondicionadas em frascos idênticos, numerados de 1 a 4, correspondendo a placebo, dexametasona, etoricoxibe e amoxicilina, respectivamente. O cirurgião, o paciente e o pesquisador responsável pelas avaliações pós-operatórias permanecerão cegos quanto à alocação medicamentosa. O código de randomização será mantido oculto até a conclusão da coleta de dados, exceto em situações clínicas excepcionais que exijam a revelação, devidamente justificadas e documentadas. Este procedimento caracteriza um delineamento de estudo triplo-cego, minimizando vieses de performance, detecção e informações.

4.6- Grupos a serem avaliados

Grupo 1: Placebo

Os pacientes receberão uma cápsula placebo administrada por via oral, 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

Grupo 2: Dexametasona 8 mg

Os pacientes receberão uma dose de 8 mg de dexametasona administrada por via oral, 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

Grupo 3: Etoricoxibe 90 mg

Os pacientes receberão uma dose de 90 mg de etoricoxibe administrada por via oral, 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

Grupo 4: Amoxicilina 2 g

Os pacientes receberão uma dose de 2 g de amoxicilina administrada por via oral, 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

Em todos os grupos, para garantir padronização terapêutica, segurança dos participantes e comparabilidade dos desfechos, o manejo analgésico pós-operatório será idêntico. Após a cirurgia, todos os participantes receberão dois frascos idênticos, padronizados e codificados, contendo paracetamol 750 mg. O Frasco 1 será destinado à analgesia programada nas primeiras 24 horas, com orientação para uso regular a cada 6 horas. O Frasco 2 será destinado à analgesia de resgate, com orientação para uso apenas em caso de dor a partir do segundo dia, respeitando intervalo mínimo de 6 horas entre as doses, com uso permitido até o terceiro dia pós-operatório. Os participantes serão orientados a registrar os horários de tomada e a intensidade da dor na escala visual analógica, e o consumo de analgésico de resgate será quantificado com base no número de comprimidos efetivamente utilizados do Frasco 2. Para manter o delineamento, as cápsulas pré-operatórias e os frascos de paracetamol serão apresentados com rotulagem neutra e codificação padronizada, de modo que cirurgião, participante e avaliador permaneçam cegos quanto à alocação do grupo.

Os produtos utilizados neste estudo (medicamentos administrados nos grupos experimentais e no pós-operatório) correspondem a medicamentos de uso clínico rotineiro, regularizados e com registro vigente na Anvisa, disponíveis na rede farmacêutica. Serão utilizadas apenas apresentações comerciais devidamente regularizadas, adquiridas por canais formais, com rastreabilidade (nome do produto, princípio ativo, fabricante, número do lote, validade e, quando aplicável, número de registro na Anvisa). A situação de regularização/registo será verificada e documentada por meio do sistema oficial de consulta de medicamentos registrados da Anvisa. No grupo controle, o placebo será preparado de modo a manter o cegamento, com rastreabilidade de lote/validade e registro do responsável pelo preparo, sendo formulado na Farmácia Universitária da UFRJ, sem alterar o risco esperado do estudo, permanecendo aplicável a vigilância de eventos adversos e o monitoramento de segurança previstos no protocolo.

4.7- Procedimento cirúrgico

A cirurgia será realizada pelo mesmo cirurgião, com mais de 10 anos de experiência, em ambiente asséptico. Será realizada antissepsia intraoral com digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard® – Colgate-Palmolive, São Paulo, Brasil) e antissepsia extraoral com clorexidina alcoólica a 2% (Riohex® – Rioquímica S/A, São José do Rio Preto, Brasil), seguida da colocação de campos estéreis. Todos os pacientes serão anestesiados com mepivacaina a 2% associada à epinefrina 1:100.000 (DFL Indústria e Comércio S/A – Curicica, Brasil). Em seguida, será realizado um retalho mucoperiosteal triangular, seguido do descolamento com periostótomo tipo Molt nº 9 (Fig. 1). A ostectomia

e a odontosecção serão realizadas com brocas tipo 702, acopladas a uma peça de mão multiplicadora 1:5 (NSK – Joinville, Brasil), acionada por motor elétrico, sob irrigação contínua com soro fisiológico a 0,9% (Equipex – Aparecida de Goiânia, Brasil). Após a exodontia, o alvéolo será abundantemente irrigado com soro fisiológico a 0,9%, e o retalho será suturado com fio de náilon 4-0 (Ethicon - Johnson & Johnson MedTech – São Paulo, Brasil).



Figura 1. a) imagem ilustrativa do retalho em triangular; b) Imagem clínica transoperatória do retalho triangular; c) Imagem clínica do retalho afastado expondo o elemento dentário e o osso. (Chen et al ⁵⁶, Synan & Stein ⁵⁷)

4.8- Pós-operatório

Os pacientes serão orientados quanto aos medicamentos que irão tomar no pós-operatório assim como preencher a escala visual analógica da dor. Os pacientes serão orientados a realizarem bochechos com clorexidina 0,12% 3 vezes ao dia por 5 dias como antimicrobiano tópico. Os pontos serão removidos no 7º dia de pós-operatório.

4.9- Variáveis

As variáveis desfecho:

a) Intensidade da dor pós operatória:

A dor pós-operatória será avaliada por meio de uma escala visual analógica de 11 pontos, composta por 11 caixas idênticas que representam uma gradação da dor, variando de 0 (sem dor) até 10 (pior dor possível) como preconizado por Ramires et al.²¹ (Fig. 2). Os pacientes serão previamente orientados quanto ao preenchimento da escala e receberão um lembrete por telefone para registrarem a presença e a intensidade da dor nos seguintes períodos pós-operatórios: 6, 12, 24, 48 e 72 horas. Uma nova avaliação será realizada ao sétimo dia após o procedimento. Cada paciente receberá uma ficha específica com a escala, na qual deverá marcar um “X” na caixa que melhor represente o nível de dor sentido em cada momento. Esse material será entregue imediatamente após o término da cirurgia, com instruções claras para o registro da dor e também do uso do medicamento analgésico, caso seja necessário.

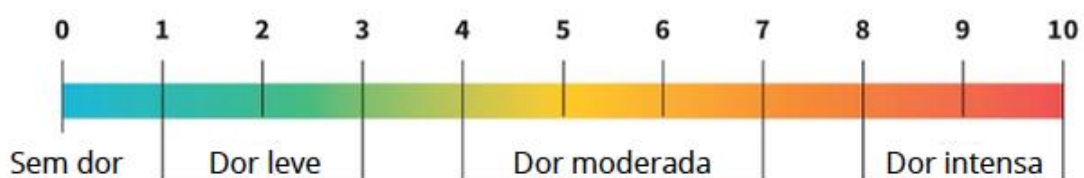


Figura 2. Escala visual analógica que será entregue aos pacientes para preenchimento durante a avaliação subjetiva da dor

b) Mensuração do edema facial:

O edema facial será avaliado em 3 tempos distintos: pré-operatório, após 3 e 7 dias do procedimento cirúrgico. Serão demarcados 5 pontos e suas distancias mensuradas em mm a partir do ângulo da mandíbula: I- ângulo da mandíbula a tragus; II- ângulo da mandíbula a canto externo do olho, III- ângulo da mandíbula a borda nasal; IV- ângulo da mandíbula a comissura labial e V-

ângulo da mandíbula a pogônio mole conforme preconizado por Menezes & Cury²⁵. As distâncias serão medidas com um fio de seda 2.0 (Ethicon - Johnson & Johnson MedTech – São Paulo, Brasil) e levadas a uma régua milimetrada. (Fig.

3)

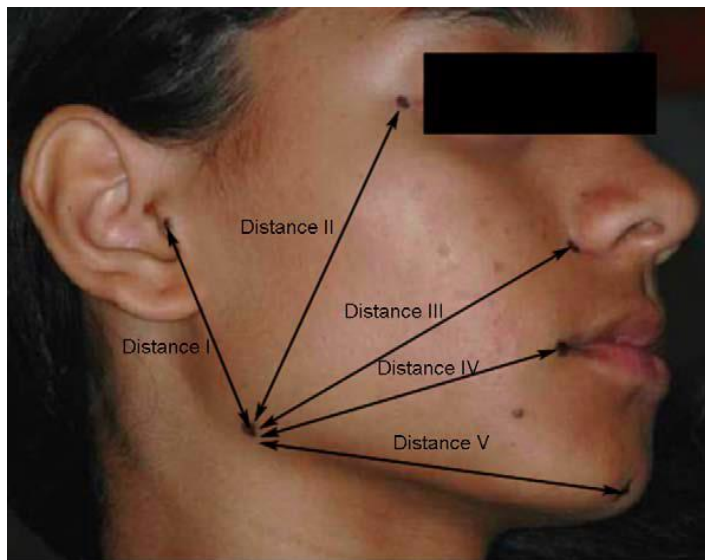


Figura 3: Imagem ilustrativa das distâncias a serem mensuradas para análise do edema facial. (Menezes & Cury²⁵)

c) Abertura bucal:

A avaliação da abertura bucal será realizada com um paquímetro entre os incisivos superiores e inferiores também em três momentos: pré-operatório e após 3 e 7 dias do procedimento cirúrgico. Os resultados serão expressados em mm.

d) Consumo de analgésico de resgate:

Os pacientes expressarão quando e em que momento do pós-operatório necessitaram tomar o analgésico de resgate. Esses dados serão posteriormente tabulados e confrontados entre cada grupo para indicar qual terapia é mais

satisfatória no controle dor e que necessite tomar o menor numero de analgésico de resgate.

e) Análise de marcadores relacionados à inflamação e ao metabolismo ósseo

e.1 - Coleta do fluido inflamatório local e extração de RNA total (com recuperação de microRNAs)

A coleta do fluido inflamatório local será realizada na face distal dos segundos molares inferiores (elementos 37 ou 47), nos dias 3 e 7 após a cirurgia. Para a coleta, serão utilizadas tiras estéreis de PerioPaper® (Oraflow Inc., Nova Iorque, EUA). O sítio de coleta será seco com gaze estéril e isolado com roletes de algodão para minimizar contaminação salivar. A tira será inserida suavemente no sulco gengival por aproximadamente 1 mm e mantida em posição por 30 segundos. Amostras com contaminação sanguínea visível serão descartadas. Para cada ponto de coleta, serão utilizadas de duas a quatro tiras por participante, com o objetivo de obter volume biológico suficiente para as análises moleculares. Imediatamente após a coleta, as tiras serão acondicionadas em microtubos livres de RNase e armazenadas a -80 °C até o processamento, em freezer do Laboratório Experimental em Odontologia do Departamento de Clínica Odontológica da Faculdade de odontologia da UFRJ, com identificação exclusivamente por código e acesso restrito à equipe do estudo. O material será utilizado apenas para as análises previstas neste protocolo, não será enviado ao exterior e não será empregado em outras pesquisas sem nova autorização do participante e aprovação do CEP, quando aplicável. Após a conclusão das análises e encerramento do estudo, o material remanescente será descartado

conforme normas de biossegurança, em conformidade com a Resolução CNS nº 441/2011 e a Portaria MS nº 2.201/2011.

Todas as etapas laboratoriais serão conduzidas em condições rigorosamente livres de RNase. Para a extração do RNA total (incluindo pequenos RNAs), as tiras de PerioPaper® serão incubadas diretamente em 700–750 µL de TRIzol LS® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Após adição do reagente, as amostras serão submetidas à agitação vigorosa em vortex por 30 segundos e incubadas por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, os tubos serão centrifugados por 1 minuto a 12.000 × g para favorecer a liberação do material retido no papel, e as tiras serão removidas. Para separação de fases, serão adicionados 140–150 µL de clorofórmio ao lisado, seguido de agitação vigorosa por 15 segundos e incubação por 2–3 minutos à temperatura ambiente. As amostras serão centrifugadas por 15 minutos a 12.000 × g, a 4 °C, para obtenção da fase aquosa.

A fase aquosa superior será cuidadosamente transferida para um novo microtubo RNase-free. Considerando o baixo conteúdo de RNA esperado em amostras orais de pequeno volume, será adicionado carreador (por exemplo, 1,0 µL de glicogênio, totalizando aproximadamente 20 µg) antes da precipitação, com o objetivo de aumentar o rendimento e facilitar a visualização do pellet. O RNA será precipitado pela adição de isopropanol gelado, e as amostras serão incubadas a –20 °C overnight (ou, no mínimo, por 2 horas), visando maximizar a recuperação, incluindo microRNAs.

Após a incubação, as amostras serão centrifugadas por 30 minutos a 12.000 × g, a 4 °C, e o sobrenadante será cuidadosamente descartado. O pellet de RNA será lavado com etanol 70% e centrifugado por 5–10 minutos a 7.500–

12.000 × g, a 4 °C. O etanol será removido, e o pellet será seco à temperatura ambiente, evitando ressecamento excessivo. Em seguida, o RNA será ressuspenso em 10 µL de água livre de RNase e mantido em gelo até a etapa de quantificação.

e.2 - Síntese de cDNA para microRNAs (transcrição reversa específica – estratégia stem-loop)

Após a quantificação do RNA, as amostras serão submetidas à síntese de cDNA específica para microRNAs por transcrição reversa, utilizando o TaqMan™ MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems/Thermo Fisher Scientific), conforme instruções do fabricante.

Os microRNAs de interesse serão:

- miR-1246 – associado à modulação de vias pró-inflamatórias e sinalização de estresse tecidual ⁵⁸.
- miR-335-5p – relacionado a vias osteogênicas e processos de diferenciação/reparo, com potencial vínculo com remodelação óssea inicial ⁵⁹.
- miR-193a-5p – implicado em processos de cicatrização e regulação do microambiente inflamatório, com associação descrita em contextos de reparo tecidual e ósseo ⁶⁰.

Como controles endógenos, serão utilizados:

- miR-16 – frequentemente empregado como referência em ensaios de qPCR, relacionado a mecanismos de homeostase celular ⁶¹.

- let-7d – amplamente utilizado como controle endógeno em estudos de expressão, com perfil tipicamente estável; sua estabilidade também será confirmada no conjunto de amostras ⁶².

Serão preparadas reações individuais contendo RNA total em quantidade padronizada entre as amostras, tampão de transcrição reversa, dNTPs, inibidor de RNase, transcriptase reversa e o primer específico do ensaio TaqMan (stem-loop). As reações serão incubadas em termociclador nas condições recomendadas pelo fabricante para obtenção do cDNA, e o produto resultante será mantido sob refrigeração imediata ou armazenado a -20 °C até a etapa de amplificação por qPCR. Quando necessário, o cDNA será diluído em água livre de RNase para padronização do volume de entrada nas reações de PCR em tempo real.

e.3 - Quantificação da expressão de microRNAs por PCR quantitativa em tempo real (qPCR – TaqMan)

A quantificação da expressão dos microRNAs será realizada por qPCR em tempo real utilizando TaqMan™ Universal Master Mix II em conjunto com os ensaios TaqMan específicos para cada microRNA de interesse e para os controles endógenos selecionados, em sistema QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems®, Life Technologies). As reações serão realizadas em triplicata técnica, incluindo controles negativos apropriados. A expressão relativa dos microRNAs será determinada por métodos de normalização apropriados, com base nos controles endógenos previamente validados quanto à estabilidade, e os resultados serão expressos como valores relativos.

e.4 - Expressão gênica (mRNA) de marcadores inflamatórios e de metabolismo ósseo por qPCR

Com o objetivo de explorar a relação entre a expressão de microRNAs, a resposta inflamatória e os processos de remodelação óssea, poderá ser avaliada, de forma secundária, a expressão gênica (mRNA) de marcadores inflamatórios e relacionados ao metabolismo ósseo. Esta etapa será realizada apenas quando o rendimento e a qualidade do RNA total permitirem, considerando o baixo volume biológico inerente à coleta com PerioPaper®.

Os genes Runx2, VEGF, IL-6, IL-10, TNF- α e TGF- β serão considerados por representarem mediadores relevantes de inflamação, angiogênese e reparo. Os primers específicos para os genes inflamatórios e osteogênicos serão desenhados com ferramentas in silico (por exemplo, Nucleotide/NCBI, UCSC Genome Browser e Gene Runner), respeitando critérios de especificidade, ausência de dímeros e eficiência de amplificação. O gene β -actina (ACTB) será utilizado como controle endógeno para normalização.

Para análise de mRNA, a síntese de cDNA será realizada a partir de RNA total previamente quantificado, utilizando kit comercial apropriado para transcrição reversa de mRNA, conforme instruções do fabricante. A amplificação por qPCR será conduzida com SYBR Green Master Mix em sistema QuantStudio™ 5, com reações em triplicata técnica e inclusão dos controles necessários. A eficiência dos primers será previamente avaliada e as curvas de dissociação (melting curves) serão analisadas ao final de cada corrida para confirmação da especificidade dos produtos amplificados. A expressão gênica relativa será calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, utilizando ACTB como normalizador.

Por fim, os níveis de expressão dos genes (mRNA), quando obtidos, serão correlacionados com a expressão dos microRNAs, permitindo explorar mecanismos potenciais de regulação pós-transcricional relacionados à inflamação induzida pelo procedimento cirúrgico, à modulação da dor e à resposta inicial de reparo.

4.10- Covariáveis

As covariáveis a serem analisadas serão os dados demográficos dos pacientes (sexo, idade, raça), dados clínicos (tempo de cirurgia e grau de remoção óssea), complicações pós-operatórias (infecção da ferida cirúrgica, alveolite e parestesia), lado operado, posição do elemento dentário em relação a impactação conforme Pell & Gregory e de acordo com a angulação de Winter^{54,55}.

O tempo de cirurgia será expressado em segundos e o grau de remoção óssea será avaliado por scores sendo 0- remoção oclusal; 1- remoção vestibular; 2- remoção oclusal e vestibular; 3- remoção vestibular e distal e 4- remoção vestibular, distal e oclusal.

4.11- Riscos e benefícios

A participação neste estudo envolve riscos principalmente relacionados à exodontia de terceiros molares inferiores e ao uso dos fármacos avaliados em regime preemptivo, além da medicação pós-operatória padronizada e do acompanhamento clínico previsto. Como riscos esperados do procedimento cirúrgico, podem ocorrer dor, edema, trismo, sangramento, hematoma, infecção, alveolite e, mais raramente, parestesia/alterações sensitivas, intercorrências

anestésicas locais e necessidade de atendimentos não programados; em relação aos medicamentos, podem ocorrer eventos adversos compatíveis com o perfil de cada fármaco (por exemplo, desconforto gastrointestinal, cefaleia, tontura e reações de hipersensibilidade), os quais serão monitorados e manejados conforme conduta clínica. Ressalta-se que os medicamentos empregados são amplamente conhecidos, com perfil de segurança bem estabelecido e aprovados para uso clínico, sendo rotineiramente utilizados na prática assistencial, respeitadas as indicações, contraindicações e avaliação individual. Quanto aos benefícios, embora não haja garantia de benefício direto, os participantes poderão apresentar melhor controle de dor e inflamação pós-operatórias, com potencial redução de edema e trismo, favorecendo retorno mais rápido às atividades habituais, além de acompanhamento pós-operatório sistematizado; adicionalmente, o estudo poderá gerar evidências para otimizar protocolos na exodontia de terceiros molares inferiores e contribuir para o avanço do conhecimento sobre marcadores locais (microRNAs) relacionados à resposta inflamatória e cicatrização.

Os dados coletados serão utilizados exclusivamente para fins científicos, com codificação e sem identificação nominal dos participantes, garantindo a privacidade e a segurança das informações. O tratamento e a proteção dos dados observarão a Resolução CNS nº 466/2012 e a Lei Federal nº 13.709/2018 (Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais – LGPD). Os procedimentos adotados nesta pesquisa respeitam os princípios éticos aplicáveis (autonomia, beneficência, não maleficência, justiça e equidade), não implicando qualquer afronta à dignidade do participante, assegurando-se ainda o direito de

esclarecimento, recusa e desistência a qualquer momento, sem prejuízo de seu atendimento

4.11.1- Plano de acompanhamento, registro e análise de eventos adversos

A. Definições operacionais

Para fins deste estudo, será adotada a terminologia do Sistema CEP/Conep: Evento Adverso (EA): qualquer ocorrência clínica desfavorável (sinal, sintoma, achado ou condição), relatada espontaneamente ou identificada ativamente, após a assinatura do TCLE, independentemente de relação causal com a intervenção/procedimento.

Evento Adverso Grave (EAG) / Evento Adverso Sério: qualquer EA que resulte em óbito, ameaça à vida, necessidade de hospitalização ou seu prolongamento, incapacidade/dano permanente, anomalia congênita ou ocorrência médica clinicamente significativa que requeira intervenção para prevenir desfechos graves.

B. Estratégia de acompanhamento e detecção ativa

O acompanhamento de segurança será realizado por equipe treinada, sob responsabilidade do pesquisador responsável (cirurgião-dentista), incluindo:

- a. Triagem pré-procedimento: revisão de critérios de inclusão/exclusão, histórico de alergias/reações prévias, uso de medicamentos e comorbidades relevantes.

- b. Monitoramento intraoperatório e pós-imediato: registro de intercorrências (ex.: sangramento fora do esperado, lipotimia, reações de hipersensibilidade).
- c. Seguimento pós-operatório conforme o cronograma do estudo (visitas presenciais e/ou contatos programados): investigação padronizada de sinais/sintomas e complicações, além de canal de contato direto para intercorrências entre as avaliações.
- d. Orientação ao participante: comunicar imediatamente sinais de alerta (ex.: sangramento persistente, febre, piora progressiva, sintomas sistêmicos, manifestações alérgicas, necessidade de atendimento não programado).

C. Sistema de notação e critérios de avaliação (classificação/graduação)

Será utilizado um sistema padronizado para caracterização dos eventos, contemplando gravidade (severidade), seriedade (grave vs. não grave), relação causal e desfecho, conforme exigência do Ofício Circular nº 24/2022.

C.1. Severidade (intensidade clínica)

A severidade será graduada em escala ordinal (Grau 1 a 5), de forma compatível com sistemas internacionalmente aceitos (ex.: CTCAE), com critérios operacionais:

Grau 1 (leve): desconforto mínimo; sem necessidade de intervenção adicional; sem limitação funcional relevante.

Grau 2 (moderado): requer intervenção mínima/medicação adicional simples; limitação funcional discreta.

Grau 3 (grave): limitação funcional importante e/ou necessidade de atendimento não programado; intervenção clínica relevante.

Grau 4 (ameaça à vida): risco imediato; requer intervenção urgente/emergencial.

Grau 5: óbito.

C.2. Seriedade (EAG)

A classificação EAG (sim/não) seguirá os critérios formais descritos na Carta Circular nº 13/2020 (óbito, risco de vida, hospitalização, dano permanente etc.).

C.3. Causalidade (relação com produto/procedimento do estudo)

A relação causal do evento com a intervenção/procedimento será categorizada em quatro níveis, conforme a Carta Circular nº 13/2020:

- Não relacionado
- Possivelmente relacionado
- Provavelmente relacionado
- Definitivamente relacionado

D. Conduta clínica, manejo e medidas de minimização de risco

Todo EA identificado será avaliado clinicamente pelo pesquisador responsável e receberá assistência imediata e adequada, incluindo medidas terapêuticas, encaminhamento e/ou atendimento hospitalar quando indicado.

Havendo suspeita de reação medicamentosa, serão adotadas medidas de suspensão da exposição, tratamento do evento e registro detalhado da assistência prestada.

O participante poderá ser retirado do estudo a qualquer momento por decisão clínica (segurança), por solicitação do participante, ou por ocorrência de evento que contraindique a continuidade.

Quando necessário para segurança do participante, poderá haver quebra de cegamento estritamente para manejo clínico.

E. Registro, documentação e notificação ao Sistema CEP/Conep

Todos os eventos serão registrados em formulário próprio (CRF), com data, descrição, condutas, evolução e desfecho.

EAG ocorridos no Brasil serão notificados ao CEP via Plataforma Brasil, por meio da funcionalidade “Notificação”, conforme a Carta Circular nº 13/2020. A notificação será atualizada a cada evento subsequente e conterá, no mínimo: identificação do estudo (título/CAAE), centro, pesquisador, participante codificado, descrição do evento índice e subsequentes, tipo de EAG, causalidade, assistência prestada e situação do participante.

A notificação de eventos não graves poderá ser realizada quando pertinente, a critério do pesquisador, sem prejuízo do registro sistemático.

F. Consolidação e análise de segurança

Será elaborado resumo consolidado dos EAG (quando houver) para submissão ao CEP por ocasião dos relatórios parcial e final, incluindo distribuição, descrição de casos com sequelas/óbito (se aplicável) e outras demandas relevantes, conforme a Carta Circular nº 13/2020.

Adicionalmente, serão descritas em relatório as intercorrências clínicas relevantes observadas durante o estudo, reforçando o compromisso de monitoramento contínuo de riscos, em consonância com as diretrizes éticas aplicáveis.

G. Comitê Independente de Monitoramento de Segurança (CIMS)

Em conformidade com o Ofício Circular nº 24/2022/CONEP/SECNS/DGIP/SE/MS, será instituído um Comitê Independente de Monitoramento de Segurança (CIMS) para acompanhamento dos eventos adversos e da segurança dos participantes durante a condução do ensaio clínico.

G.1 Composição e independência

O CIMS será composto por 03 membros, todos independentes da equipe executora do estudo (sem participação em recrutamento, coleta, intervenção, análise de desfechos, e sem conflito de interesses declarado):

- -Cirurgião-dentista (Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) com experiência em exodontia de terceiros molares e manejo de complicações;
- Profissional de saúde com experiência em farmacovigilância/terapêutica medicamentosa (dentista);

Os membros assinarão declaração de independência e ausência de conflito de interesses e termo de confidencialidade.

G.2 Objetivo e atribuições

O CIMS terá como responsabilidades:

- Revisar periodicamente o perfil de segurança do estudo, com base nos registros de eventos adversos (EA) e eventos adversos graves (EAG);
- Avaliar gravidade/severidade, seriedade (EAG) e causalidade dos eventos relatados, bem como a adequação das condutas adotadas;
- Recomendar a continuidade, modificação, suspensão temporária ou encerramento do estudo por motivos de segurança, quando aplicável;
- Recomendar, quando necessário para manejo clínico e segurança, procedimentos de quebra de cegamento estritamente nos termos previstos no protocolo.

H. Plano de atividades e periodicidade

- Reunião inicial (pré-inclusão): validação do plano de segurança, instrumentos de registro, fluxo de notificação e critérios de suspensão/encerramento por segurança.
- Reuniões periódicas: no mínimo mensais (ou por marco de inclusão, o que ocorrer primeiro), com análise consolidada de EA/EAG e de qualquer intercorrência relevante.

- Reuniões extraordinárias: convocadas imediatamente após ocorrência de EAG, de evento inesperado relevante, ou de sinal de risco aumentado.

I. Critérios de sinalização e recomendação (gatilhos de segurança)

O CIMS emitirá recomendação formal (manter/ajustar/pausar/encerrar) caso ocorra, por exemplo:

- a) Qualquer EAG provavelmente/definitivamente relacionado à intervenção/procedimento do estudo;
- b) Aumento relevante e não esperado na frequência/severidade de EA em qualquer grupo;
- c) Evidência de risco que exceda o previsto no protocolo, ou necessidade de mudanças que impactem risco/benefício.

J. Registro e comunicação

As recomendações do CIMS serão registradas em atas/relatórios datados, arquivados pelo pesquisador responsável e utilizados para orientar medidas corretivas. A notificação de EAG ao Sistema CEP/Conep será realizada por meio da Plataforma Brasil, conforme normativas aplicáveis, independentemente da deliberação do CIMS.

4.10.2 Plano de análises interinas

Não estão previstas análises interinas estatísticas de eficácia, em razão de amostra fixa e desfechos de curto prazo. Será realizado, contudo, monitoramento interino descritivo de segurança, com revisão periódica de EA/EAG pelo CIMS e convocação extraordinária em caso de EAG ou sinal de

risco aumentado, podendo recomendar continuidade, ajustes, suspensão temporária ou encerramento por motivo de segurança.

4.11.3 Critérios de suspensão temporária e/ou encerramento da pesquisa

Em conformidade com o Ofício Circular nº 24/2022/CONEP/SECNS/DGIP/SE/MS, ficam explicitados os critérios para suspensão temporária e/ou encerramento do estudo, priorizando a segurança e a proteção dos participantes:

1. Suspensão temporária do estudo (pausa de inclusões e/ou intervenções)

A pesquisa poderá ser suspensa temporariamente (total ou parcialmente) pelo pesquisador responsável, por recomendação do Comitê Independente de Monitoramento de Segurança (CIMS), ou por determinação do CEP/Conep, caso ocorra qualquer uma das condições abaixo:

- a) Ocorrência de Evento Adverso Grave (EAG) provavelmente ou definitivamente relacionado ao(s) procedimento(s) ou ao(s) medicamento(s) do estudo;
- b) Evidência de risco aumentado ou padrão inesperado de eventos adversos acima do previsto no protocolo, ainda que sem EAG;
- c) Ocorrência de evento inesperado clinicamente relevante que demande reavaliação imediata da relação risco/benefício;
- d) Identificação de desvio de protocolo com potencial impacto sobre a segurança dos participantes ou sobre a integridade ética do estudo;
- e) Determinação do CEP/Conep ou de autoridade competente, quando aplicável, por motivo de segurança e proteção do participante.

Durante a suspensão, não serão realizadas novas inclusões e serão implementadas medidas corretivas (treinamento, ajustes operacionais e/ou em documentos). Participantes já incluídos permanecerão sob acompanhamento clínico, conforme necessidade.

2. Encerramento do estudo (interrupção definitiva)

A pesquisa será encerrada se houver:

- a) Confirmação de que os riscos passaram a ser maiores do que os benefícios esperados, tornando eticamente injustificável a continuidade;
- b) Ocorrência de EAG relacionado que, por julgamento clínico e recomendação do CIMS, configure risco inaceitável para continuidade;
- c) Determinação formal do CEP/Conep para interrupção/encerramento por motivos éticos e de segurança;
- d) Impossibilidade superveniente de conduzir o estudo conforme o protocolo aprovado, de forma a preservar segurança, privacidade e direitos dos participantes (por exemplo, limitações estruturais que comprometam o monitoramento e o atendimento de intercorrências).

3. Descontinuação individual do participante (sem necessariamente encerrar o estudo)

Um participante poderá ser retirado do estudo por critério clínico/segurança, sem prejuízo do atendimento, quando houver:

- a) Reação de hipersensibilidade/alérgica ou contraindicação superveniente ao(s) medicamento(s) do protocolo;

- b) Necessidade de conduta terapêutica que contraindique a continuidade no protocolo;
- c) Solicitação do próprio participante (direito de desistência a qualquer momento);
- d) Não adesão relevante ao acompanhamento que comprometa segurança.

4. Comunicação ao CEP/Conep e documentação

- EAG será notificado ao CEP/Conep por meio da Plataforma Brasil (funcionalidade “Notificação”), conforme Carta Circular nº 13/2020.

- Decisões de suspensão/encerramento e recomendações do CIMS serão registradas em ata/relatório e comunicadas ao CEP, quando aplicável, mantendo-se arquivamento e rastreabilidade.

5- Análise estatística

A análise estatística será realizada utilizando o software JAMOV (versão 2.6, Sydney, AUS). Os dados demográficos serão apresentados como porcentagens para variáveis categóricas e como médias com desvios-padrão para variáveis contínuas. As variáveis contínuas serão avaliadas pelo teste Shapiro-Wilk para determinar a distribuição dos dados seguidos das análises estatísticas adequadas. As variáveis categóricas serão avaliadas pelo teste exato de Fisher. A regressão logística binomial será realizada para estimar a razão de chances (odds ratio – OR) da variável preditora em relação aos desfechos. Valores de P inferiores a 0,05 serão considerados estatisticamente significativos.

6- Resultados esperados

Espera-se que os resultados deste ensaio clínico randomizado forneçam evidências consistentes sobre a influência de diferentes protocolos medicamentosos preemptivos na morbidade pós-operatória e na modulação do microambiente inflamatório local nos períodos iniciais após a exodontia, por meio da quantificação de microRNAs no fluido inflamatório coletado no sítio operado. A integração entre desfechos clínicos e marcadores biomoleculares deverá gerar conhecimento original com potencial de aplicabilidade na prática odontológica baseada em evidências, além de fortalecer a formação de recursos humanos em farmacologia e cirurgia bucomaxilofacial em nível de graduação e pós-graduação. Os achados serão divulgados em jornadas acadêmicas e congressos nacionais e internacionais da área, e espera-se a submissão dos resultados para publicação em periódicos de referência em cirurgia bucomaxilofacial, como o *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery (JOMS)* e o *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery (IJOMS)*, contribuindo para o avanço do conhecimento e para a consolidação de linhas de pesquisa translacional na área.

7- Referências

1. Kautto A, Vehkalahti MM, Ventä I. Age of patient at the extraction of the third molar. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2018; **47**(7): 947-51.
2. Kim SH, Kim S, Kim YS, Song MK, Kang JY. Application of sequential multimodal analgesia before and after impacted mandibular third molar extraction: Protocol for a randomized controlled trial. *Contemp Clin Trials Commun* 2023; **32**: 101078.

3. Sifuentes-Cervantes JS, Carrillo-Morales F, Castro-Nunez J, Cunningham LL, Van Sickels JE. Third molar surgery: Past, present, and the future. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2021; **132**(5): 523-31.
4. Mariscal-Cazalla MDM, Manzano-Moreno FJ, García-Vázquez M, Vallecillo-Capilla MF, Olmedo-Gaya MV. Do perioperative antibiotics reduce complications of mandibular third molar removal? A double-blind randomized controlled clinical trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2021; **131**(3): 286-94.
5. Steel BJ, Surendran KSB, Braithwaite C, Mehta D, Keith DJW. Current thinking in lower third molar surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2022; **60**(3): 257-65.
6. Renton T, Al-Haboubi M, Pau A, Shepherd J, Gallagher JE. What has been the United Kingdom's experience with retention of third molars? *J Oral Maxillofac Surg* 2012; **70**(9 Suppl 1): S48-57.
7. Bezerra TP, Studart-Soares EC, Scaparo HC, Pita-Neto IC, Batista SH, Fonteles CS. Prophylaxis versus placebo treatment for infective and inflammatory complications of surgical third molar removal: a split-mouth, double-blind, controlled, clinical trial with amoxicillin (500 mg). *J Oral Maxillofac Surg* 2011; **69**(11): e333-9.
8. Santos BFE, Costa FO, Pinto Junior AAC, Araujo AVA, Cyrino RM, Cota LOM. Postoperative pain and edema control following different protocols of preemptive analgesia in the surgical removal of impacted third molars: A triple-blind parallel randomized placebo-controlled clinical trial. *J Craniomaxillofac Surg* 2021; **49**(8): 694-704.

9. Gersema L, Baker K. Use of corticosteroids in oral surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; **50**(3): 270-7.
10. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol* 2011; **335**(1): 2-13.
11. Avelar RL, Primo BT, Vogt BF, et al. Effect of partially selective cyclooxygenase-2 inhibitor in the removal of third molars. *J Craniofac Surg* 2012; **23**(2): e108-12.
12. Bocanegra M, Seijas A, González Yibirín M. Effectiveness and tolerability of once-daily nimesulide versus ibuprofen in pain management after surgical extraction of an impacted third molar: A 24-hour, double-blind, randomized, double-dummy, parallel-group study. *Curr Ther Res Clin Exp* 2005; **66**(3): 172-80.
13. Bortoluzzi MC, Guollo A, Capella DL. Pain levels after third molar surgical removal: an evaluation of predictive variables. *J Contemp Dent Pract* 2011; **12**(4): 239-44.
14. Khorshidi Khiavi R, Pourallahverdi M, Pourallahverdi A, Ghorani Khiavi S, Ghertasi Oskouei S, Mokhtari H. Pain control following impacted third molar surgery with bupivacaine irrigation of tooth socket: a prospective study. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2010; **4**(4): 105-9.
15. Dionne RA, Khan AA, Gordon SM. Analgesia and COX-2 inhibition. *Clin Exp Rheumatol* 2001; **19**(6 Suppl 25): S63-70.
16. Woolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 2004; **140**(6): 441-51.

17. Penprase B, Brunetto E, Dahmani E, Forthoffer JJ, Kapoor S. The efficacy of preemptive analgesia for postoperative pain control: a systematic review of the literature. *AORN J* 2015; **101**(1): 94-105 e8.
18. Kissin I. Preemptive analgesia. *Anesthesiology* 2000; **93**(4): 1138-43.
19. Woolf CJ, Chong MS. Preemptive analgesia--treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993; **77**(2): 362-79.
20. Wall PD. The prevention of postoperative pain. *Pain* 1988; **33**(3): 289-90.
21. Ramires GAD, de Souza Santos AM, Momesso GAC, et al. Combination of etodolac and dexamethasone improves preemptive analgesia in third molar surgery: a randomized study. *Clin Oral Investig* 2021; **25**(4): 2297-305.
22. Priyanga R, Balamurugan R, Rajan PS. Comparison of dexamethasone administration through sublingual and intramuscular routes for evaluation of pain, swelling, and trismus after impacted mandibular third molar surgery-a prospective randomized controlled study. *Oral Maxillofac Surg* 2022; **26**(1): 155-9.
23. Lee Y, Rodriguez C, Dionne RA. The role of COX-2 in acute pain and the use of selective COX-2 inhibitors for acute pain relief. *Curr Pharm Des* 2005; **11**(14): 1737-55.
24. Katori M, Majima M. Cyclooxygenase-2: its rich diversity of roles and possible application of its selective inhibitors. *Inflamm Res* 2000; **49**(8): 367-92.
25. De Menezes SA, Cury PR. Efficacy of nimesulide versus meloxicam in the control of pain, swelling and trismus following extraction of impacted lower third molar. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; **39**(6): 580-4.
26. Sinniah A, Yazid S, Flower RJ. From NSAIDs to Glucocorticoids and Beyond. *Cells* 2021; **10**(12).

27. Cairns JA. The coxibs and traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a current perspective on cardiovascular risks. *Can J Cardiol* 2007; **23**(2): 125-31.
28. Barbalho JC, Vasconcellos RJ, de Moraes HH, et al. Effects of co-administered dexamethasone and nimesulide on pain, swelling, and trismus following third molar surgery: a randomized, triple-blind, controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2017; **46**(2): 236-42.
29. Sun H, Sheveleva E, Xu B, Inoue H, Bowden TG, Chen QM. Corticosteroids induce COX-2 expression in cardiomyocytes: role of glucocorticoid receptor and C/EBP-beta. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; **295**(4): C915-22.
30. Klongnoi B, Kaewpradub P, Boonsiriseth K, Wongsirichat N. Effect of single dose preoperative intramuscular dexamethasone injection on lower impacted third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012; **41**(3): 376-9.
31. Furtado de Carvalho M, Slusarenko da Silva Y, Reher P, Naclerio-Homem MDG. Analgesia and side effects of codeine phosphate associated with paracetamol vs. paracetamol after the extraction of mandibular third molars: a randomized double-blind clinical trial using the split-mouth model. *Oral Maxillofac Surg* 2021; **25**(1): 49-53.
32. Best AD, De Silva RK, Thomson WM, Tong DC, Cameron CM, De Silva HL. Efficacy of Codeine When Added to Paracetamol (Acetaminophen) and Ibuprofen for Relief of Postoperative Pain After Surgical Removal of Impacted Third Molars: A Double-Blinded Randomized Control Trial. *J Oral Maxillofac Surg* 2017; **75**(10): 2063-9.
33. Chopra D, Rehan HS, Mehra P, Kakkar AK. A randomized, double-blind, placebo-controlled study comparing the efficacy and safety of paracetamol,

serratiopeptidase, ibuprofen and betamethasone using the dental impaction pain model. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; **38**(4): 350-5.

34. Freo U. Paracetamol for multimodal analgesia. *Pain Manag* 2022; **12**(6): 737-50.

35. Xue P, Wang J, Wu B, Ma Y, Wu F, Hou R. Efficacy of antibiotic prophylaxis on postoperative inflammatory complications in Chinese patients having impacted mandibular third molars removed: a split-mouth, double-blind, self-controlled, clinical trial. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2015; **53**(5): 416-20.

36. Blum IR. Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; **31**(3): 309-17.

37. Osborn TP, Frederickson G, Jr., Small IA, Torgerson TS. A prospective study of complications related to mandibular third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; **43**(10): 767-9.

38. Chiapasco M, De Cicco L, Marrone G. Side effects and complications associated with third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; **76**(4): 412-20.

39. Arteagoitia I, Diez A, Barbier L, Santamaria G, Santamaria J. Efficacy of amoxicillin/clavulanic acid in preventing infectious and inflammatory complications following impacted mandibular third molar extraction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; **100**(1): e11-8.

40. Sancho-Puchades M, Herraiz-Vilas JM, Valmaseda-Castellon E, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Analysis of the antibiotic prophylaxis prescribed by Spanish Oral Surgeons. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; **14**(10): e533-7.

41. Vlcek D, Razavi A, Kuttenger JJ. Antibiotics in third molar surgery. *Swiss Dent J* 2014; **124**(3): 294-302.
42. Goud S, Nagesh L, Fernandes S. Are we eliminating cures with antibiotic abuse? A study among dentists. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2012; **15**(2): 151-5.
43. Lopez-Cedrun JL, Pijoan JI, Fernandez S, Santamaria J, Hernandez G. Efficacy of amoxicillin treatment in preventing postoperative complications in patients undergoing third molar surgery: a prospective, randomized, double-blind controlled study. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; **69**(6): e5-14.
44. Monaco G, Tavernese L, Agostini R, Marchetti C. Evaluation of antibiotic prophylaxis in reducing postoperative infection after mandibular third molar extraction in young patients. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**(7): 1467-72.
45. Milic T, Raidoo P, Gebauer D. Antibiotic prophylaxis in oral and maxillofacial surgery: a systematic review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2021; **59**(6): 633-42.
46. da Costa Araujo FA, de Santana Santos T, de Moraes HH, Laureano Filho JR, de Oliveira ESED, Vasconcellos RJ. Comparative analysis of preemptive analgesic effect of tramadol chlorhydrate and nimesulide following third molar surgery. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; **40**(8): e346-9.
47. McQuay HJ, Moore RA. Postoperative analgesia and vomiting, with special reference to day-case surgery: a systematic review. *Health Technol Assess* 1998; **2**(12): 1-236.
48. Azevedo ML, Silveira RG, Nedel F, Lund RG. MicroRNAs expressed during normal wound healing and their associated pathways: A systematic review and bioinformatics analysis. *PLoS One* 2023; **18**(4): e0281913.

49. Jiang Y, Xu X, Xiao L, Wang L, Qiang S. The Role of microRNA in the Inflammatory Response of Wound Healing. *Front Immunol* 2022; **13**: 852419.
50. Alminana-Pastor PJ, Alpiste-Illueca FM, Mico-Martinez P, Garcia-Gimenez JL, Garcia-Lopez E, Lopez-Roldan A. MicroRNAs in Gingival Crevicular Fluid: An Observational Case-Control Study of Differential Expression in Periodontitis. *Noncoding RNA* 2023; **9**(6).
51. Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, et al. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; **33**(20): e179.
52. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg* 2011; **9**(8): 672-7.
53. Lima TC, Bagordakis E, Falci SGM, Dos Santos CRR, Pinheiro MLP. Pre-Emptive Effect of Dexamethasone and Diclofenac Sodium Associated With Codeine on Pain, Swelling, and Trismus After Third Molar Surgery: A Split-Mouth, Randomized, Triple-Blind, Controlled Clinical Trial. *J Oral Maxillofac Surg* 2018; **76**(1): 60-6.
54. Pell GJ. Impacted mandibular third molars, classification and modified technique for removal. *Dental Digest* 1933; **39**: 330-8.
55. Winter GB. Principles of exodontia as applied to the impacted mandibular third molar: a complete treatise on the operative technic with clinical diagnoses and radiographic interpretations: American medical book company; 1926.
56. Chen YW, Lee CT, Hum L, Chuang SK. Effect of flap design on periodontal healing after impacted third molar extraction: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2017; **46**(3): 363-72.

57. Synan W, Stein K. Management of Impacted Third Molars. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2020; **32**(4): 519-59.
58. Bott A, Erdem N, Lerrer S, et al. miRNA-1246 induces pro-inflammatory responses in mesenchymal stem/stromal cells by regulating PKA and PP2A. *Oncotarget* 2017; **8**(27): 43897-914.
59. Zhang J, Tu Q, Bonewald LF, et al. Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation by specifically downregulating Wnt antagonist DKK1. *J Bone Miner Res* 2011; **26**(8): 1953-63.
60. Fan Y, Yang J, Xie Y, et al. Inflammatory memory-activated biomimetic nanovesicles regulate neutrophil plasticity and metabolic reprogramming for rapid diabetic wound healing via targeting miR-193a-5p/TLR4/JNK/P38 MAPK pathways. *J Nanobiotechnology* 2025; **23**(1): 115.
61. Donati S, Ciuffi S, Brandi ML. Human Circulating miRNAs Real-time qRT-PCR-based Analysis: An Overview of Endogenous Reference Genes Used for Data Normalization. *Int J Mol Sci* 2019; **20**(18).
62. Chen X, Liang H, Guan D, et al. A combination of Let-7d, Let-7g and Let-7i serves as a stable reference for normalization of serum microRNAs. *PLoS One* 2013; **8**(11): e79652.