

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIA MARIA ZORTEA

AVALIAÇÃO DE DIFERENÇAS SEXUAIS NO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO
IBUPROFENO, PARACETAMOL E CODEÍNA EM UM MODELO DE DOR PÓS-
OPERATÓRIA OROFACIAL EM RATOS

CURITIBA

2024

JULIA MARIA ZORTEA

AVALIAÇÃO DE DIFERENÇAS SEXUAIS NO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO
IBUPROFENO, PARACETAMOL E CODEÍNA EM UM MODELO DE DOR PÓS-
OPERATÓRIA OROFACIAL EM RATOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro.

CURITIBA

2024

**DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Zortea, Julia Maria

Avaliação de diferenças sexuais no efeito antinociceptivo do ibuprofeno, paracetamol e codeína em um modelo de dor pós-operatório orofacial em ratos / Julia Maria Zortea. – Curitiba, 2024.
1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Geremias Chichorro.

1. Incisão intraoral. 2. Dor orofacial. 3. Diferença sexual. 4. Hiperalgisia. 5. analgésicos. I. Chichorro, Juliana Geremias, 1975. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

Bibliotecária: Camila de Souza Dorneles CRB-9/2056



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FARMACOLOGIA -
40001016038P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JULIA MARIA ZORTEA** intitulada: **Avaliação de diferenças sexuais no efeito antinociceptivo do ibuprofeno, paracetamol e codeína em um modelo de dor pós-operatória orofacial em ratos**, sob orientação da Profa. Dra. JULIANA GEREMIAS CHICHORRO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 16 de Janeiro de 2024.

Assinatura Eletrônica

17/01/2024 15:38:33.0

JULIANA GEREMIAS CHICHORRO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

17/01/2024 16:20:34.0

JULIANA FELTRIN DE SOUZA CAPARROZ

Avaliador Externo (null)

Assinatura Eletrônica

17/01/2024 11:48:19.0

ALEXANDRA ACCO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531990 - Tel: (04) 1336-11693 - E-mail: pgfarmacologia@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 334325

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 334325

Aos meus pais, Lea e Milton, meu apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Juliana Geremias Chichorro. Nesses dois anos pude caminhar ao seu lado e conhecer a ciência pelos seus olhos, sendo sempre justa, confiável e querida. Agradeço imensamente por ter guiado meus passos profissionais e pessoais, por ter me acolhido mesmo com as minhas limitações e me encorajado em dias difíceis. Com você, aprendi o que jamais imaginei ser capaz. Tenho muito orgulho de ser a sua aluna.

Aos meus colegas de laboratório que se tornaram meus amigos, em especial a Darciane Baggio, fundamental no meu início, sempre receptiva e querida me ensinando as técnicas experimentais. Também a Fernanda da Luz, Fernando Spagnol e Vanessa Lejeune. Eu não sei o que seria do mestrado sem vocês, o trabalho em equipe e o apoio diariamente fizeram eu chegar aonde estou hoje. Guardo comigo o sorriso de cada um de vocês.

Aos meus amigos do departamento de Farmacologia da UFPR, Raquiline Silva, Ana Carolina, Vitor Hélio, Patricia Manuitt, Kauê Marcel.

Aos professores e funcionários do departamento de Farmacologia da UFPR.

Aos animais que cederam suas vidas em prol da ciência.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À minha grande família. Meus pais, Lea e Milton, por não desistir de me incentivar ao trabalho na saúde e por serem os meus maiores professores de vida. Meus irmãos, Aline, Marcello, Karina e Adriana, minha janela entre passado, presente e futuro. Minhas sobrinhas, Mariana, Fernanda e Adeline, as que exalam doçura e amor. E a minha cachorra, Lica, minha companheira.

Às minhas amigas, Letícia, Camila, Andressa, Carise, Clara, Viviane, Ana Luísa, Amanda, Patrycia e Isabella. Pelas intermináveis risadas, momentos maravilhosos, apoio, ombro amigo e conselhos.

Às minhas colegas de profissão que se tornaram minhas amigas, Renata, Luana, Ana Paula, Apoliana e Carina. Engraçado como os plantões ficaram divertidos com vocês. Sou muito grata pela amizade.

Ao meu namorado, Thomas, compartilhando juntos planos, sonhos e vida.

À Deus, por me oferecer tudo isso e ainda muito mais do eu possa agradecer.

Me lembro dos dias em que rezei por coisas
que tenho hoje (Autor Desconhecido).

RESUMO

Evidências recentes indicam que diferenças entre os sexos podem afetar o efeito de analgésicos. Entretanto, os estudos incluem, em sua maioria, animais ou indivíduos do sexo masculino, desconsiderando quaisquer diferenças. Portanto, o objetivo do estudo foi comparar a eficácia de três fármacos analgésicos (ibuprofeno 30 e 100 mg/kg, paracetamol 100 e 300 mg/kg e codeína 3 e 10 mg/kg), amplamente empregados na clínica odontológica na hiperalgesia térmica e mecânica (n=8 e 12, respectivamente), avaliação de dor espontânea (n=8) e locomoção (n=8) entre ratos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial. Para isso, os animais foram submetidos ao procedimento de incisão intraoral (i.e., incisão unilateral de 1 cm na mucosa jugal) ou procedimento controle. A hiperalgesia mecânica foi avaliada através da aplicação de filamentos de von Frey, enquanto a hiperalgesia térmica foi avaliada pela aproximação de uma fonte de calor radiante. O limiar mecânico e térmico dos animais foi avaliado anteriormente à cirurgia, bem como no dia 3 pós-cirúrgico (D3) antes dos tratamentos. A dor espontânea e locomoção foram observadas utilizando o teste do campo aberto, realizado no D3, entre a primeira e segunda hora, após a administração dos fármacos. O tratamento foi realizado em uma única dose em grupos independentes e, em seguida, as avaliações foram medidas em intervalos de 0,5 hora até a quarta hora pós-tratamento. Um fármaco mostrou diferença na eficácia analgésica entre sexos e, para avaliar a influência dos hormônios sexuais femininos, foi realizada a cirurgia de ovariectomia em um grupo independente de ratos fêmeas, 21 dias antes da cirurgia de incisão. Foi utilizada a ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni para analisar a evolução temporal da hiperalgesia térmica e mecânica, análise dos dados do TCA utilizamos o teste *t* de Student não pareado e para a análise da AUC, foi utilizada a ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni. Os principais achados do estudo foram: 1) o ibuprofeno reduziu significativamente a hiperalgesia térmica e mecânica e dor espontânea, sem afetar a locomoção em ratos machos e fêmeas; 2) o paracetamol reduziu a hiperalgesia mecânica e inibiu significativamente a hiperalgesia térmica e dor espontânea, mas causou sedação em ambos os sexos; 3) a codeína reduziu a hiperalgesia mecânica nos dois sexos, e reduziu a hiperalgesia térmica, mas as fêmeas mostraram menos sensíveis; 4) em fêmeas ovariectomizadas, a codeína em menor dose reduziu a hiperalgesia térmica, indicando possível influência dos hormônios sexuais no efeito antinociceptivo. Adicionalmente, a codeína reduziu o *grooming* em ambos os sexos, mas induziu aumento da locomoção em fêmeas. Como conclusão, os três analgésicos mostraram efeitos antinociceptivos em ratos machos e fêmeas submetidos a incisão intraoral. Porém, o efeito do paracetamol e codeína parecem estar associados a efeitos adversos, como sedação em ambos os sexos e hiperlocomoção em fêmeas. O ibuprofeno revelou o perfil mais favorável por reduzir mais de 50% a hiperalgesia térmica e mecânica e diminuir significativamente a dor espontânea em ambos os sexos, sem afetar a locomoção.

Palavras-chave: incisão intraoral, dor orofacial, diferença sexual, hiperalgesia, analgésicos.

ABSTRACT

Recent evidence indicates that differences between sexes may affect the effectiveness of analgesics. It is known that individuals of the female sex exhibit greater sensitivity and lower tolerance to pain. However, studies conducted in this area mostly include animals or individuals of the male sex, disregarding any differences. Therefore, this study aimed to compare the efficacy of three analgesic drugs (ibuprofen 30 and 100 mg/kg, paracetamol 100 and 300 mg/kg, and codeine 3 and 10 mg/kg), widely used in dental clinics, in heat and mechanical hyperalgesia (n=8 and 12, respectively), spontaneous pain assessment (n=8), and locomotion (n=8) among male and female rats subjected to a model of orofacial post-operative pain. For this purpose, the animals underwent the surgical procedure of intraoral incision (i.e., unilateral incision of 1 cm in the buccal mucosa) or a control procedure (sham-operated group). Mechanical hyperalgesia in the face was assessed by the application of von Frey filaments, while heat hyperalgesia was assessed by the approach of a radiant heat source to the ipsilateral side of the surgery. Spontaneous pain and locomotion were observed using the open field test, the former assessed by the time spent performing facial grooming behavior and the latter by the number of crossings made with all four limbs. The mechanical and heat threshold of the animals was evaluated prior to surgery, as well as on the 3rd day post-surgery before treatment. Treatment was administered in a single dose in independent groups, and then assessments were measured at intervals of 0.5 hours up to the fourth hour post-treatment. The open field test was conducted on the third postoperative day, between the first and second hour after drug administration. One drug showed a difference in analgesic efficacy between sexes, and to assess the influence of female sex hormones, ovariectomy surgery was performed in an independent group of female rats, 21 days before the incision surgery. The main findings of the study were: 1) ibuprofen significantly reduced heat and mechanical hyperalgesia and facial grooming behavior without affecting locomotion in both male and female rats; 2) paracetamol reduced mechanical hyperalgesia and significantly inhibited heat hyperalgesia and facial grooming behavior but caused sedation in both sexes; 3) codeine reduced mechanical hyperalgesia in male and female rats and reduced heat hyperalgesia, but females were less sensitive than males in this parameter; 4) in ovariectomized females, codeine at a lower dose reduced heat hyperalgesia, indicating a possible influence of sex hormones on the antinociceptive effect of codeine. Additionally, codeine reduced facial grooming in both sexes but induced increased locomotion in females. In conclusion, all three analgesics showed antinociceptive effects in heat hyperalgesia, mechanical hyperalgesia, and spontaneous pain models in male and female rats undergoing intraoral incision. However, the effects of paracetamol and codeine appear to be associated with adverse effects such as sedation in both sexes and hyperlocomotion in females. Ibuprofen showed the most favorable profile by reducing more than 50% of heat and mechanical hyperalgesia and significantly decreasing spontaneous pain in both sexes without affecting locomotion.

Keywords: intraoral incision; orofacial pain; sex difference; hyperalgesia; analgesics.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Mecanismo de ação do ibuprofeno	25
FIGURA 2: Mecanismo de ação do paracetamol	27
FIGURA 3: Mecanismo de ação dos opioides	28
FIGURA 4: Design experimental	34
FIGURA 5: Efeito do ibuprofeno em ratos machos	37
FIGURA 6: Efeito do ibuprofeno em ratos fêmeas	38
FIGURA 7: Comparação da área sob a curva (AUC) dos efeitos do ibuprofeno entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica	39
FIGURA 8: Efeito do paracetamol em ratos machos	43
FIGURA 9: Efeito do paracetamol em ratos fêmeas	44
FIGURA 10: Comparação da AUC dos efeitos de paracetamol entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica	45
FIGURA 11: Efeito da codeína em ratos machos	50
FIGURA 12: Efeito da codeína em ratos fêmeas	51
FIGURA 13: Comparação da AUC dos efeitos de codeína entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica	52
FIGURA 14: Efeito da codeína em ratos fêmeas ovariectomizadas	53

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Análise estatística dos resultados obtidos com o ibuprofeno.....	40
TABELA 2: Análise e resultados do porcentual de inibição do ibuprofeno	41
TABELA 3: Análise estatística dos resultados obtidos com o paracetamol.....	46
TABELA 4: Análise e resultados do porcentual de inibição do paracetamol	47
TABELA 5: Análise estatística dos resultados obtidos com a codeína.....	54
TABELA 6: Análise e resultados do porcentual de inibição da codeína	55

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
ANOVA	Análise de variância
AUC	Área sob a curva
CFA	Adjuvante completo de Freund
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CPM	Modulação da dor condicionada
CYP	Citocromo P450
GSH	Glutathiona reduzida
DMSO	Dimetilsulfóxido
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-10	Interleucina-10
IL-6	Interleucina-6
M3G	Morfina-3-glicuronídeo
M6G	Morfina-6-glicuronídeo
NAPQI	N-acetil-p-benzo-quinona imina
RNM	Núcleo magno da rafe
NRPG	Núcleo paragigantocelular
OVX	Ovariectomia
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
POX	Peroxidase
PPF	Propentofilina
RVM	Bulbo rostral ventromedial
TCA	Teste do campo aberto
TLR4	Receptor toll-like 4
TNF α	Fator de necrose tumoral- α
5-HT	Serotonina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 JUSTIFICATIVA	18
4 REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1 DOR PÓS-OPERATÓRIA	19
4.2 DIFERENÇAS SEXUAIS NA DOR	20
4.3 DIFERENÇAS SEXUAIS NO EFEITO DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS	22
4.4 PRINCIPAIS FÁRMACOS EMPREGADOS NO CONTROLE DA DOR AGUDA	24
4.4.1 <i>Ibuprofeno</i>	24
4.4.2 <i>Paracetamol</i>	25
4.4.3 <i>Codeína</i>	27
5 MATERIAL E MÉTODOS	29
5.1. ANIMAIS	29
5.2 DROGAS E SOLUÇÕES	29
5.3 MODELO DE DOR PÓS-OPERATÓRIA	30
5.3.1 <i>Incisão intraoral</i>	30
5.4 AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA TÉRMICA OROFACIAL	30
5.5 AVALIAÇÃO DE HIPERALGESIA MECÂNICA OROFACIAL	31
5.6 TESTE DO CAMPO ABERTO (TCA)	31
5.7 OVARIECTOMIA	31
5.8 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	32
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
6 RESULTADOS	36
6.1 EFEITO DO IBUPROFENO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS	36
6.2 EFEITO DO PARACETAMOL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS	42
6.3 EFEITO DA CODEÍNA EM RATOS MACHOS E FÊMEAS	48
7 DISCUSSÃO	56
8 CONCLUSÃO	60
9 REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

O manejo eficaz e seguro da dor é um objetivo primário na prática odontológica. Após procedimentos cirúrgicos, tal como a remoção de terceiros molares, mais de 90% dos pacientes relatam dor. De acordo com estudos clínicos, a dor mais intensa é relatada entre 5 a 6 horas após a conclusão do procedimento, atingindo seu pico durante o primeiro dia pós-operatório, quando é considerada moderada a severa. Assim, o maior consumo de analgésicos ocorre durante as primeiras 48-72 horas após o procedimento cirúrgico (KIM e SEO, 2020; MALAMED, 2023).

A primeira opção para controlar a dor pós-operatória consiste no emprego de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), sendo o ibuprofeno um dos mais prescritos por dentistas em todo o mundo (KIM e SEO, 2020; FRANCO-DE LA TORRE *et al.*, 2021), seguido pelo paracetamol, um analgésico não opioide (KIM e SEO, 2020). Além disso, os opioides estão entre os medicamentos mais prescritos após procedimentos cirúrgicos odontológicos, sendo a codeína a mais utilizada (KIM e SEO, 2020; MALAMED, 2023). Evidências recentes sugerem que alguns fatores podem contribuir para variação individuais na eficácia e segurança dos fármacos analgésicos. Dentre esses fatores podemos citar polimorfismos genéticos nas enzimas envolvidas no metabolismo dos fármacos e características sexuais (NASSER e AFIFY, 2019; MIDAVINE *et al.*, 2021).

Em relação a esse último, existem inúmeras evidências de diferenças sexuais na percepção da dor, devido a fatores biológicos, emocionais, sociais e culturais (MIDAVINE *et al.*, 2021). Da mesma forma, estudos tem sugerido diferenças sexuais na eficácia clínica de fármacos analgésicos, a qual pode ser atribuída a características biológicas que influenciam a farmacocinética, mas também pode estar relacionada à influência dos hormônios sexuais em vias de sinalização envolvidas no efeito analgésico (FRANCONI *et al.*, 2007). Segundo a literatura, as mulheres fazem parte do maior grupo acometido com dor crônica, é o grupo com maior sensibilidade e que percebe a dor com maior intensidade, porém, os estudos são realizados principalmente em indivíduos do sexo masculino, desconsiderando tais diferenças (MOGIL, 2012; MOGIL, 2020).

OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a eficácia de três fármacos analgésicos, amplamente empregados na clínica odontológica, entre ratos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficácia do ibuprofeno em reduzir a hiperalgesia térmica, mecânica e dor espontânea entre ratos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial;
- Avaliar a eficácia do paracetamol em reduzir a hiperalgesia térmica, mecânica e dor espontânea entre ratos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial;
- Avaliar a eficácia da codeína em reduzir a hiperalgesia térmica, mecânica e dor espontânea entre ratos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial;
- Investigar a influência dos três fármacos na locomoção dos animais;
- Investigar a influência da ovariectomia no efeito antinociceptivo da codeína em ratos fêmeas submetidos a um modelo de dor pós-operatória orofacial.

3 JUSTIFICATIVA

As mulheres fazem parte do maior grupo acometido com dor crônica, é o grupo com maior sensibilidade e que percebe a dor com maior intensidade. Por outro lado, a grande maioria dos estudos na área de dor é realizado em indivíduos do sexo masculino. Da mesma forma, na pesquisa pré-clínica, estudos feitos na área de dor incluem, em sua maioria, animais machos, alguns artigos não especificam qual o sexo utilizado e a minoria utilizam machos e fêmeas. Tal fato pode contribuir para reduzir o aspecto translacional da pesquisa básica, bem como em consequências clínicas, tais como, erros ou atrasos de diagnóstico, falhas no tratamento e até mesmo surgimento de novos efeitos adversos. Alguns pesquisadores da área básica justificam essa preferência pela dificuldade de análise do ciclo hormonal das fêmeas, ou ainda no manejo animal, porém, é indiscutível que os estudos deveriam incluir fêmeas e machos de maneira igual. Esses dados podem contribuir para elucidar diferenças sexuais no entendimento e manejo da dor (MOGIL, 2012; MOGIL, 2020).

Segundo a literatura, o ibuprofeno, o paracetamol e a codeína são os analgésicos mais prescritos pelos cirurgiões-dentistas no Brasil (SCHÄFERS *et al.*, 2004; KAUR, BIJJEM e SHARMA, 2011; STEPANOVIC-PETROVIC *et al.*, 2011; GARCIA *et al.*, 2019; HOSHIJIMA *et al.*, 2021). No entanto, existem poucos estudos sobre diferenças sexuais na eficácia desses fármacos. Portanto, estudos são necessários para investigar possíveis diferenças sexuais na eficácia e segurança dos analgésicos, bem como para elucidar os mecanismos que contribuem para essas diferenças. Esses resultados poderão contribuir para o controle clínico mais efetivo e seguro da dor, baseado em terapias que levem a variável sexo em consideração.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 DOR PÓS-OPERATÓRIA

Segundo a Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP, em inglês), a dor é “uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano.” Dentre os diversos tipos de dor, a dor aguda possui caráter biológico protetivo, alertando o indivíduo e induzindo-o a uma reação (PERGOLIZZI *et al.*, 2013).

A dor pós-operatória aguda é resultante de uma lesão tecidual causada por procedimentos invasivos, sendo classificada como inflamatória. Essa sensação dolorosa é decorrente da síntese e liberação de múltiplos mediadores químicos do processo inflamatório (bradicinina, substância P, prostaglandinas, histamina, citocinas e aminas simpatomiméticas), que podem ativar e/ou sensibilizar os nociceptores (PERGOLIZZI *et al.*, 2013).

Em relação à intensidade da percepção da dor, vários fatores estão associados, tais como o tempo de procedimento, local da incisão, porte e intensidade do trauma cirúrgico, estado físico e até mesmo questões emocionais do paciente. O controle da dor e do processo inflamatório são cruciais para o sucesso pós-operatório, e exige planejamento, análise dos aspectos individuais do paciente, e o conhecimento da farmacologia e seleção dos medicamentos a serem prescritos (PEREIRA *et al.*, 2013; LYNGSTAD *et al.*, 2023).

Em estudos pré-clínicos, a cirurgia de incisão intraoral tem sido caracterizada como um modelo animal para o estudo da dor pós-operatória orofacial. Após o procedimento, os ratos desenvolvem hiperalgesia facial térmica e mecânica transitória, além de dor espontânea, que podem ser observadas no intervalo entre 1 e 5 dias (URATA *et al.*, 2015; ARAYA *et al.*, 2020; 2020). Entretanto, esse modelo só foi validado em ratos do sexo masculino.

Ademais, um estudo prévio do nosso grupo mostrou que a dor facial aguda (teste de formalina e modelo de dor pós-operatória) acarreta o desenvolvimento de alterações comportamentais e afetivas persistentes em ratos, tais como dor não evocada, interação social reduzida e comportamento do tipo ansioso. Algumas dessas

mudanças podem estar associadas a alterações na via dopaminérgica mesolímbica (via que modula a dor emocional). Esses dados indicam a necessidade de novos estudos para observar a persistência das alterações e do correto manejo da dor aguda pelos profissionais clínicos (ARAYA *et al.*, 2020).

4.2 DIFERENÇAS SEXUAIS NA DOR

Diversos fatores contribuem para as diferenças sexuais na percepção da dor, tais como os fatores biológicos (diferenças anatômicas, genéticas e fisiológicas), fatores emocionais (enfrentamento da dor e potencial de catastrofização), sociais e culturais (geralmente influenciados por papéis diferentes que cada sexo possui frente à sociedade, como expressa a sensação de dor ou até mesmo a diferença entre o tratamento/manejo da dor quando o paciente é do sexo feminino ou do sexo masculino) (MIDAVAINÉ *et al.*, 2021).

Em relação às diferenças biológicas, a maioria das evidências refere-se aos hormônios sexuais. Existem múltiplas ações reportadas sobre hormônios sexuais, podendo ser tanto pró- quanto anti-nociceptivas (NASSER e AFIFY, 2019). Do mesmo modo, são influenciadas por diversos fatores, como a concentração de hormônio presente e o seu sítio de ação. A testosterona, hormônio produzido principalmente no sexo masculino, possui papel majoritariamente antinociceptivo, bem como anti-inflamatório (NASSER e AFIFY, 2019). Tem sido demonstrado que a testosterona pode ter ações inibitórias em células T ou Th1, reduzindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, e em células Th2, causando sua ativação e induzindo a liberação de citocinas anti-inflamatórias (por exemplo, IL-10). Em adição, a testosterona pode induzir o aumento da expressão de receptores μ -opioides em alguns tipos celulares, favorecendo a analgesia induzida por agonistas μ , tal como a morfina (NASSER e AFIFY, 2019). O estrogênio, um dos principais hormônios sexuais femininos, também exerce grande influência e possui papel diferente dependendo da concentração e/ou sítio de ação. Estudos sugerem que períodos de maior dor coincidem com menores níveis de estrogênio no organismo, sendo que o contrário também é verdadeiro (NASSER e AFIFY, 2019). Concentrações mais baixas de estrogênio estão associadas à ativação das células T e liberação de citocinas pró-inflamatórias.

Enquanto concentrações mais altas estão associadas com a inibição de células T e inibição de citocinas pró-inflamatórias, bem como inibição de astrócitos e da micróglia, com consequente redução da liberação de TNF- α , IL-6, IL-1 β . Adicionalmente, o estrogênio também pode ter uma ação permissiva em macrófagos, estimulando-os a liberarem citocinas pró-inflamatórias (NASSER e AFIFY, 2019; MIDAVAINÉ *et al.*, 2021).

Os hormônios sexuais também parecem ter influência nos mecanismos de sinalização da dor. Em um estudo que utilizou modelo de dor neuropática, foi demonstrado que a ativação da micróglia contribuía para a hiperalgesia em animais machos, enquanto que nas fêmeas, não foi observado esse mecanismo, mas sim o envolvimento de células T. Ademais, foi observado que quando a testosterona estava em menor quantidade, os camundongos do sexo masculino paravam de sinalizar pela via da micróglia e começavam a utilizar a mesma via das fêmeas, corroborando a hipótese da influência do hormônio sexual nessa sinalização. Por outro lado, fêmeas com baixa taxa de células T ou durante a gestação, paravam de sinalizar via células T e começavam a sinalizar a hiperalgesia através da micróglia. Portanto, mecanismos diferentes parecem contribuir para a dor crônica no sexo feminino e masculino, e os hormônios sexuais contribuem para a dicotomia nos mecanismos de sinalização (SORGE *et al.*, 2015).

Ainda nesse sentido, um estudo do nosso grupo demonstrou diferenças sexuais nos mecanismos de dor craniofacial. Nesse estudo, foi injetado CGRP (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina) no gânglio do trigêmeo dos animais para indução de alodinia cutânea periorbital, uma resposta associada à migrânea. Foi observado que, tanto ratos do sexo masculino, quanto do sexo feminino, desenvolveram alodinia cutânea periorbital pós injeção de CGRP. Nos animais do sexo masculino, a alodinia durou cerca de 4 horas, enquanto nas fêmeas, persistiu durante 6 horas. Quando foi realizado o tratamento com inibidores das células da glia (minociclina ou propentofilina – PPF) previamente à injeção de CGRP, observou-se que o tratamento foi capaz de atenuar a alodinia cutânea periorbital no sexo masculino, no entanto, não afetou a alodinia em ratos do sexo feminino. Tais dados corroboram evidências anteriores que as células da glia parecem mediar a dor no sexo

masculino, mas não participam da dor ou da hiperalgesia no sexo feminino (ARAYA *et al.*, 2020).

Ainda com relação às diferenças biológicas, estudos têm sugerido que homens têm maior capacidade de ativar mecanismos de controle endógeno da dor em relação às mulheres. Nesse sentido, um estudo de revisão sistemática, avaliou o percentual de modulação da dor condicionada (CPM, em inglês) em homens e mulheres saudáveis, isto é, sem dor crônica (POPESCU *et al.*, 2010). O CPM avalia a eficiência de um dos sistemas endógenos de controle da dor através do paradigma “dor inibe dor”. Os estudos avaliados (com apenas uma exceção), apresentaram um percentual maior de CPM no sexo masculino, isso significa uma maior eficácia de sistema inibitório da dor em homens em relação às mulheres. Esses achados fornecem evidências adicionais de diferenças sexuais na dor.

Em relação aos fatores sociais e culturais, o gênero (interação do sexo com a sociedade e fatores culturais) também possui grau de importância. Em algumas culturas, a diferença da experiência da dor leva em conta a forma de expressão e/ou relato da mesma, e popularmente considera-se que mulheres são mais resistentes à dor. No entanto, um estudo sobre diferenças sexuais na percepção da dor mostra que o sexo feminino é mais sensível e menos tolerante à dor, dado que contraria a crença de que o sexo que faz o trabalho de parto é naturalmente mais resistente a dor (MOGIL, 2020). Além disso, outro estudo observou que as mulheres parecem ter maneiras diferentes e mais variadas de enfrentamento à dor em relação aos homens, fazendo maior uso de apoio social, autoafirmações positivas, técnicas de relaxamento e tentativas de evitação, enquanto os homens buscam enfrentamento focado, formas de distração e atividades de redução de tensão, como o uso do álcool (KEOGH e ECCLESTON, 2006).

4.3 DIFERENÇAS SEXUAIS NO EFEITO DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS

A variação sexual na farmacocinética é considerada um fator determinante para o sucesso da eficácia clínica medicamentosa. Em relação aos quatro principais determinantes da variabilidade farmacocinética (biodisponibilidade, distribuição, metabolismo e eliminação), suas alternâncias podem vir de diferenças entre sexos por

fatores como o peso corporal, volume plasmático, níveis de proteína plasmáticas, atividade das enzimas do citocromo P450 (CYP), extensão da ligação do fármaco a proteínas plasmáticas, transportadores e até mesmo taxa de depuração. Diferentes sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo de drogas apresentam variações de acordo com o sexo. Um exemplo disso é a taxa de glicuronidação do paracetamol, que é aumentada em indivíduos do sexo masculino. Ademais, tanto o paracetamol quanto outros fármacos metabolizados via CYP2D6 apresentam diferenças no metabolismo, sendo considerado mais rápido em homens em relação às mulheres (FRANCONI *et al.*, 2007).

Outro exemplo bastante reportado em estudos pré-clínicos de diferença sexual no metabolismo de analgésicos refere-se à morfina. A morfina quando metabolizada via glicuronidação, origina dois metabólitos principais; morfina-3-glicuronídeo (M3G) e morfina-6-glicuronídeo (M6G). O metabólito M3G apresenta alta afinidade de ligação pelo receptor Toll-like tipo 4 que, quando ativado, ativa células da glia, resultando na liberação de citocinas pró-inflamatórias. Em roedores do sexo feminino, observa-se maior produção do metabólito M3G em relação ao M6G, esse excesso de M3G nas fêmeas contribui para o processo de inflamação e reduz a eficácia analgésica da morfina. Já em roedores do sexo masculino, a metabolização da morfina resulta em, em maior quantidade de M6G, metabólito que possui mais afinidade para receptores μ -opioides, contribuindo com o efeito analgésico da droga. Ademais, os roedores machos formam menor quantidade do metabólito M3G, o que resulta em menor ativação da via da neuro inflamação, mediada pelo receptor TLR4. Estudos adicionais são necessários para mostrar essa diferença no metabolismo da morfina em humanos, mas tal evidência indica que diferenças sexuais podem afetar a eficácia de drogas analgésicas (SHANSKY e MURPLY, 2020).

O estudo de Averitt e colaboradores (2019) demonstrou outro mecanismo que pode contribuir para a diferença sexual na resposta analgésica da morfina em roedores. O mecanismo endógeno do controle da dor formado pela substância cinzenta periaquedutal (PAG) e suas projeções descendentes para o bulbo rostral ventromedial (RVM) atua como um potente “sistema de freio” no corno dorsal da medula espinhal, principalmente através da liberação de serotonina e noradrenalina. Foi demonstrado que, após indução de um processo inflamatório e doloroso em

animais de laboratório, a via PAG-RVM é ativada de forma mais evidente em roedores do sexo masculino em comparação ao sexo feminino, revelando que o controle da dor é mais eficiente no primeiro. Ademais, quando a morfina é administrada para o controle da dor, foi observado que os ratos do sexo masculino apresentaram maior ativação da via inibitória da dor (PAG-RVM), conseqüentemente, maior controle da dor mediada por morfina em relação às fêmeas. Por outro lado, em um estudo que avaliou o efeito da morfina administrada durante 7 dias consecutivos após a injeção de CFA (adjuvante completo de Freund) como modelo de dor inflamatória persistente, mostrou que machos são mais sensíveis a morfina na hiperalgesia térmica no primeiro dia, mas a diferença entre sexos já não estava presentes após 7 dias de tratamento (ARMENDARIZ e NAZARIAN, 2018). Esse estudo sugere que o efeito antinociceptivo da morfina torna-se mais evidente à medida que a inflamação persiste nas fêmeas.

Apesar dessas evidências, não temos conhecimento de estudos que tenham explorado diferenças sexuais no efeito de outros fármacos analgésicos, de ampla prescrição e/ou consumo pela população em geral.

4.4 PRINCIPAIS FÁRMACOS EMPREGADOS NO CONTROLE DA DOR AGUDA

De acordo com a literatura, os fármacos mais utilizados pelos cirurgiões-dentistas no Brasil para o controle da dor são: ibuprofeno (DRESCH, AMADOR e HEINECK, 2016; CRUZ *et al.*, 2017); paracetamol (DRESCH, AMADOR e HEINECK, 2016; CRUZ *et al.*, 2017); e codeína (NOGUEIRA *et al.*, 2017; LINO *et al.*, 2019; MAIA, DALDEGAN-BUENO e FISCHER, 2021), os quais também são amplamente utilizados para o controle da dor em outras especialidades (MAIA, DALDEGAN-BUENO e FISCHER, 2021).

4.4.1 Ibuprofeno

O ibuprofeno é um fármaco de venda livre, faz parte da classe dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e é considerado um dos medicamentos mais comercializados para efeito analgésico, antipirético e anti-inflamatório. Tais efeitos ocorrem por conta da inibição de prostaglandinas derivadas da ciclooxigenase (COX-

1 e COX-2), as quais parecem ser inibidas de forma equivalente pelo ibuprofeno (Figura 1) (FERREIRA e LOPES, 2016).

É rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal superior e apresenta rápido início de ação. O fármaco em questão possui ampla ligação a proteínas plasmáticas (>98%) e seu metabolismo é predominantemente hepático, realizado pelas enzimas CYP2C8, CYP2C9 e CYP2C10 do sistema enzimático CYP450, bem como a conjugação com ácido glicurônico, dando origem aos metabólitos hidroxil, carboxil e glucoronil (farmacologicamente inativos). A excreção é realizada via renal e se completa após 24 horas da ingestão da última dose (BARBAGALLO e SACERDOTE, 2019).

Possui baixa toxicidade e é considerado o AINE com os menores efeitos adversos de uso clínico, raramente associado a mortes por grandes quantidades ingeridas. Os principais efeitos adversos do ibuprofeno são de origem gastrointestinal, resultantes da sua atividade inibitória na síntese de prostaglandinas E2 (CRAFT, HEWITT e BRITCH, 2021).

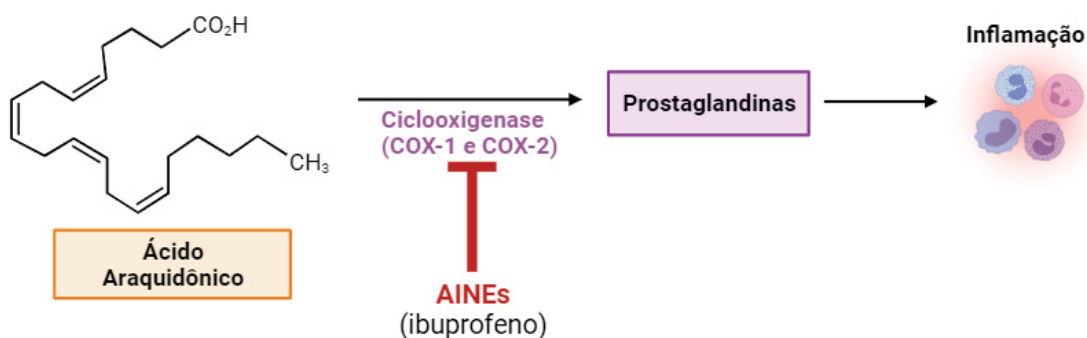


Figura 1: Mecanismo de ação do ibuprofeno. O efeito analgésico do ibuprofeno envolve o bloqueio não seletivo da ciclooxigenase (COX), impedindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias. AINES: anti-inflamatórios não esteroidais. Produzido com biorender.com.

4.4.2 Paracetamol

O paracetamol, ou acetaminofeno, é um analgésico não opioide, com propriedades antitérmicas, considerado um dos fármacos de venda livre mais consumidos no mundo (OHASHI e KOHNO, 2020). Seu mecanismo de ação não é completamente esclarecido. Pode ser classificado como AINE, devido à sua capacidade de inibir a COX, mas atua no sítio peroxidase (POX) da enzima, ao

contrário dos outros AINEs. Essa diferença no mecanismo de ação parece estar relacionada ao fato de que o paracetamol não promove atividade anti-inflamatória significativa. Ademais, atua preferencialmente na COX-2 no sistema nervoso central, mecanismo que está relacionado com seu efeito antitérmico. O efeito analgésico envolve múltiplos mecanismos como o aumento dos níveis de canabinoides endógenos (anandamida) no sistema nervoso central (passagem do metabólito AM404 pela barreira hematoencefálica) através da ativação de receptores CB e 1R, a ativação da via descendente endógena da dor mediada por serotonina (5-HT) e recrutamento do sistema opioide endógeno de controle da dor (Figura 2) (OHASHI e KOHNO, 2020).

Possui rápida absorção após administração via oral, baixa taxa de ligação a proteínas plasmáticas (10 a 25%) e alta disponibilidade (cerca de 80%). Distribui-se amplamente pelos tecidos, sendo capaz de atravessar as barreiras placentárias e hematoencefálicas. O metabolismo é principalmente hepático e a maior proporção da droga é conjugada com ácido glicurônico (entre 40 e 70%) e sulfato (entre 20 e 50%). Cerca de 5 a 15% do paracetamol sofre metabolismo oxidativo mediado pelo sistema enzimático do citocromo P450, mais precisamente, o CYP2E1. A hepatotoxicidade do paracetamol está relacionada com essa via de metabolismo, por formar o metabólito tóxico N-acetil-p-benzo-quinona imina (NAPQI). Esse metabólito é neutralizado pela conjugação com a glutathiona reduzida (GSH), gerando um metabólito não tóxico que será eliminado pela bile e urina. Em doses elevadas, ocorre a saturação da via de conjugação, resultando em NAPQI livre para interagir com diversos alvos nos hepatócitos, resultando em morte celular (GHANEM *et al.*, 2016). Outros efeitos adversos incluem náuseas, cefaleia e reação alérgica. Ademais, é amplamente associado com AINEs e analgésicos opioides para potencializar o efeito analgésico (JÓŹWIAK-BEBENISTA e NOWAK, 2014; HOSHIJIMA *et al.*, 2021).

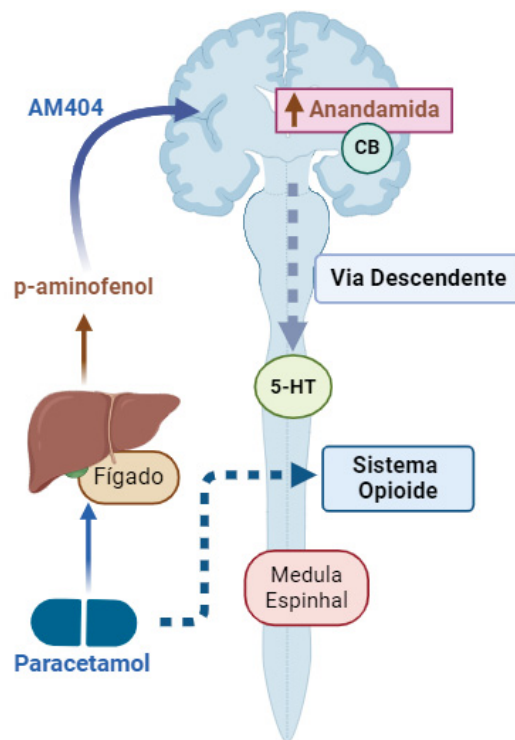


Figura 2: Mecanismo de ação do paracetamol. O efeito analgésico do paracetamol envolve múltiplos mecanismos: aumento dos níveis de canabinoides endógenos (anandamida) através dos receptores canabinoides CB1 no sistema nervoso central, ativação da via descendente endógena da dor mediada por serotonina (5-HT) e recrutamento do sistema opioide endógeno de controle da dor. Produzido por biorender.com.

4.4.3 Codeína

A codeína é um analgésico opioide fraco utilizado para controle da dor moderada, e que necessita de prescrição médica ou odontológica (BENINI e BARBI, 2014). A codeína é considerada uma pró-droga. É convertida em morfina no fígado através da enzima CYP2D6 e o efeito analgésico depende dessa conversão. A morfina é metabolizada pelo fígado, gerando os metabólitos M3G e a M6G (LYNGSTAD *et al.*, 2023). Sua eliminação primária é essencialmente realizada no rim, variando entre 5 e 15%, sendo destes, 10% são excretados sem modificação (Figura 3) (LOPES *et al.*, 2020).

Aproximadamente, 1 a cada 10 indivíduos é resistente ao seu efeito analgésico, a explicação se dá ao fato de não possuírem a enzima que desmetila a codeína (CYP2D6) e, conseqüentemente, não a converte em morfina. No caso da codeína, doses mais altas não significam melhores efeitos analgésicos e comparada à morfina, possui somente 20% ou menos da ação analgésica (LOPES *et al.*, 2020).

Alguns pacientes podem converter a codeína em morfina mais rapidamente do que o normal (metabolizadores ultrarrápidos), resultando em níveis elevados de morfina na corrente sanguínea, podendo acarretar efeitos tóxicos, tais como dificuldade respiratória. Outros efeitos adversos que podem ocorrer em indivíduos que fazem o uso de codeína, são náuseas, dispepsia, constipação e sedação. A droga também é comumente associada ao paracetamol para aliviar dores leves a moderadas, sendo uma alternativa válida aos AINEs, especialmente quando o paciente tratado apresenta hemorragia ou alto risco de hemorragia (LYNGSTAD *et al.*, 2023).

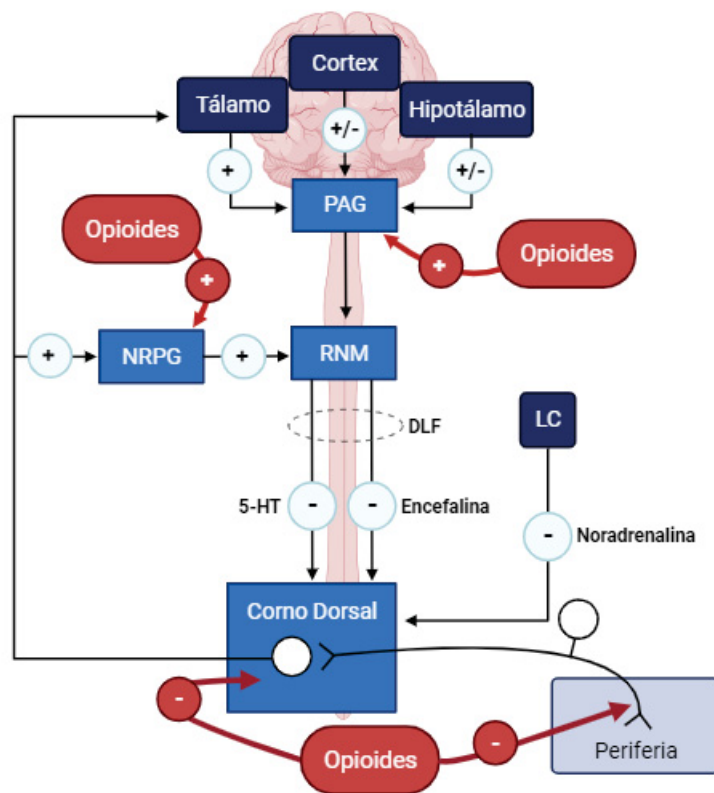


Figura 3: Mecanismo de ação dos opioides. A analgesia dos opioides ocorre por ativação de receptores opioides tanto no sistema nervoso central quanto no sistema nervoso periférico. Os receptores presentes na PAG e no núcleo paraventricular (NRPG) podem ativar o núcleo magno da raia (RNM), assim estimulam as vias descendentes da dor e conseqüentemente, acarreta a liberação de serotonina (5-HT) e encefalina, além de promover a liberação de noradrenalina através do Locus coeruleus (LC) que leva a inibição do corno dorsal da medula espinhal. Existe a ativação de receptores opioides na própria medula espinhal, levando a interrupção da sinalização das vias ascendentes da dor. Além disso, receptores periféricos quando em condições de inflamação, aumentam a sua expressão e possuem a capacidade de inibir os *inputs* das terminações aferentes nociceptivas na periferia. Produzido por biorender.com.

Como o sexo feminino é apontado como o mais sensível à dor e que percebe a dor com maior intensidade e a grande maioria dos estudos na área de dor é realizada

em indivíduos do sexo masculino, desconsiderando tais fatos ou diferenças biológicas, levantamos a hipótese de haver diferenças entre sexos no efeito antinociceptivo dos três fármacos analgésicos altamente prescritos (ibuprofeno, paracetamol e codeína) e ressaltar a importância de novos estudos pré-clínicos e clínicos utilizando ambos os sexos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1. ANIMAIS

Foram utilizados um total de 240 ratos machos e 304 ratos fêmeas adultos *Rattus norvegicus* variedade *Wistar*, com peso variando entre 200-250 g, provenientes do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná para a realização desse estudo. Antes de iniciar a experimentação, os animais foram mantidos no biotério do laboratório por dois dias para ambientação, em condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), luz (ciclo claro/escuro de 12 horas), umidade ($55 \pm 10\%$) e sistema de exaustão, com livre acesso de ração e água, tendo a maravalha trocada em dias alternados.

Foram mantidos quatro animais por caixa, as quais continham objetos para enriquecimento ambiental. O cálculo amostral foi determinado utilizando o programa G*Power. Os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do ARRIVE, e esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados e reduzir seu estresse e sofrimento, respeitando os princípios dos 3 Rs. Todos os protocolos utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR #1464).

5.2 DROGAS E SOLUÇÕES

As drogas utilizadas para esse estudo foram: Ibuprofeno, 30 e 100 mg/kg - Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil (SCHÄFERS *et al.*, 2004; KAUR, BIJJEM e SHARMA, 2011; STEPANOVIC-PETROVIC *et al.*, 2011), Paracetamol, 100 e 300

mg/kg – Santa Cruz Biotechnology, Texas, EUA (HOSHIJIMA *et al.*, 2021) e Fosfato de Codeína, 3 e 10 mg/kg – Cristalia, São Paulo, Brasil (GARCIA *et al.*, 2019). O veículo do ibuprofeno e do fosfato de codeína foi salina estéril 0,9% e o do paracetamol foi 42% dimetilsulfóxido (DMSO) e 42% propilenoglicol, etanol 15% e acetona 1% (DESEURE e HANS, 2017). As doses foram baseadas em estudos anteriores (STEPANOVIC-PETROVIC *et al.*, 2011; GARCIA *et al.*, 2019; HOSHIJIMA *et al.*, 2021). A cetamina (Vetnil, São Paulo, Brasil) e a xilazina (Syntec, São Paulo, Brasil) foram diluídas em solução salina estéril 0,9%.

5.3 MODELO DE DOR PÓS-OPERATÓRIA

5.3.1 Incisão intraoral

Os animais foram anestesiados com cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via i.p., e em seguida, posicionados individualmente em um aparato de acrílico para manter a cavidade oral aberta. Após instalação da anestesia, foi realizada a incisão com o auxílio de lâmina de bisturi nº15, na mucosa jugal do lado direito do animal (cerca de 2 mm de profundidade e 1 cm de comprimento). O tempo de duração de cada procedimento cirúrgico não ultrapassou 5 minutos. Posteriormente, foi realizada a sutura com fio de seda 4.0 no centro da incisão (Figura 4A). A anestesia e a simulação da posição cirúrgica foram também realizadas em animais controle (i.e. falso-operados), os quais foram mantidos no aparato durante um tempo semelhante ao grupo operado, porém, sem realizar a incisão (ARAYA *et al.*, 2020).

5.4 AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA TÉRMICA OROFACIAL

Para avaliação da hiperalgesia térmica, o animal foi contido com uma das mãos do experimentador e com a outra, foi feita a aproximação de uma fonte de calor de aproximadamente 50° C à cerca de 1 cm da área de inserção das vibrissas, do lado ipsilateral à cirurgia. Em seguida, foi registrado o tempo para que o animal exibisse reações de afastar vigorosamente a cabeça da fonte de calor ou apresentasse movimentos rápidos e consecutivos das vibrissas (n = 8) (CHICHORRO

et al., 2006). Foi estipulado um tempo máximo de 20 segundos para evitar danos teciduais.

5.5 AVALIAÇÃO DE HIPERALGESIA MECÂNICA OROFACIAL

Anteriormente à avaliação, os animais foram habituados por pelo menos 2 horas em caixas de observação. Após o tempo estabelecido, foi realizada uma pré-seleção dos animais a qual consistiu na aplicação em ordem crescente de 8 filamentos de Von Frey (Semmes-Weinstein monofilaments, Stoelting, USA, 0,04; 0,07; 0,16; 0,4; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 g) na região inervada pelo infraorbital, no lado direito da face. Cada filamento foi aplicado 3 vezes consecutivas, mantendo um intervalo de 30 s entre cada aplicação (Figura 4B). Foi considerado o limiar de resposta dos animais à estimulação mecânica o filamento que evocou, por duas vezes, comportamentos como retirada rápida da cabeça, *grooming* facial e reações de ataque/escape. Foram incluídos nos experimentos apenas os animais que apresentavam um limiar de resposta à estimulação mecânica igual ou superior a 8 g (n = 12) (ARAYA *et al.*, 2020).

5.6 TESTE DO CAMPO ABERTO (TCA)

A locomoção e o comportamento de *grooming* foram analisados no teste do campo aberto, conforme previamente descrito (LEJEUNE *et al.*, 2023). Os ratos foram colocados individualmente no centro de uma arena (50 x 50 x 40 cm) com paredes fechadas e nove quadrantes desenhados no piso (n = 8). O comportamento dos animais foi gravado por 5 minutos para posterior avaliação de número de cruzamentos feitos com os quatro membros e o tempo de comportamento de *grooming* direcionado para a região orofacial (Figura 4C). Um estudo anterior do nosso grupo mostrou que o tempo de *grooming* está relacionado a dor espontânea orofacial (LEJEUNE *et al.*, 2023) e a locomoção foi avaliada para analisar possível sedação dos fármacos administrados.

5.7 OVARIECTOMIA

Para esse procedimento, um grupo independente de ratos fêmeas com 45 dias, foram anestesiados com cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via i.p. (n = 8). Sob condições assépticas, foi realizada a laparotomia de 2 cm na linha média. Os ovários e as trompas de falópio foram separados. As trompas foram ligadas por sutura, os ovários foram removidos e a cavidade abdominal foi suturada em seguida com fio catgut na região muscular e fio de seda 4.0 na região superficial (Figura 4D). Após a cirurgia, os animais foram tratados com cloridrato de oxitetraciclina (400 mg/kg, via intramuscular) (MABA, CRUZ, e ZAMPRONIO, 2021), e imediatamente com naproxeno (10 mg/kg, i.p.) (MIRANDA *et al.*, 2019). Os animais do grupo controle foram submetidos ao mesmo procedimento, mas os ovários e as trompas foram mantidos intactos (BRITO *et al.*, 2016). O anestro foi confirmado após 21 dias e foi determinado através da lavagem vaginal seguida de exame microscópico (JAMES *et al.*, 1982; MABA, CRUZ, e ZAMPRONIO, 2021).

Os esfregaços vaginais foram realizados de acordo com o método descrito por Nelson e colaboradores (1982). Para isso, 10 µl de solução salina estéril a 0,9% foi cuidadosamente inserida na vagina de ratos fêmeas submetidas à ovariectomia e não submetidas à ovariectomia com o auxílio de uma pipeta. A solução salina foi aspirada após a aplicação e o material foi analisado no microscópio. Passados 21 dias, os animais foram submetidos à cirurgia intraoral.

5.8 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

A responsividade basal dos animais aos estímulos térmicos (n = 8) e mecânicos (n = 12) foi avaliada anteriormente à cirurgia (dia 0), em grupos independentes. Dividimos os grupos experimentais em 5: falso-operado e tratado com veículo (FO-Vei), falso-operado e tratado com o fármaco correspondente na maior dose (FO-Fármaco x mg/kg), submetido à cirurgia de incisão e tratado com veículo (Cirurgia-Vei), submetido à cirurgia de incisão e tratamento com o fármaco na menor dose (Cirurgia-Fármaco x mg/kg) e grupo submetido à cirurgia de incisão e tratamento com o fármaco na maior dose (Cirurgia-Fármaco x mg/kg). No dia 3 após a cirurgia, uma nova medida do limiar mecânico ou térmico na face foi realizada, antes de qualquer tratamento. Em seguida, os animais foram tratados, em grupos diferentes,

com ibuprofeno (30 e 100 mg/kg), paracetamol (100 e 300 mg/kg), codeína (3 e 10 mg/kg), ou com os veículos correspondentes (em volume equivalente) por via intraperitoneal. As medidas dos limiares mecânicos e térmicos da face foram realizadas em intervalos hora em hora após cada tratamento até a quarta hora, conforme descrito na Figura 4. O TCA (n = 8) foi realizado no intervalo entre a primeira e segunda hora após a administração de cada fármaco, utilizando os mesmos animais submetidos às medidas do modelo de dor evocada. O dia de avaliação foi definido de acordo com o decurso temporal da hiperalgesia nesse modelo, o qual apresenta o pico no dia 3 após a cirurgia (ARAYA *et al.* 2020).

No caso da codeína, a qual foi identificada diferença entre sexos significativa no seu efeito antinociceptivo, o mesmo foi reavaliado em ratas previamente submetidas à ovariectomia (item 5.5). A cirurgia de incisão da mucosa foi realizada 21 dias após a ovariectomia seguida de confirmação do sucesso do anestro. Os animais ovariectomizados e seus respectivos controles passaram pelo mesmo tratamento com a codeína como descrito acima e por avaliação da hiperalgesia térmica.

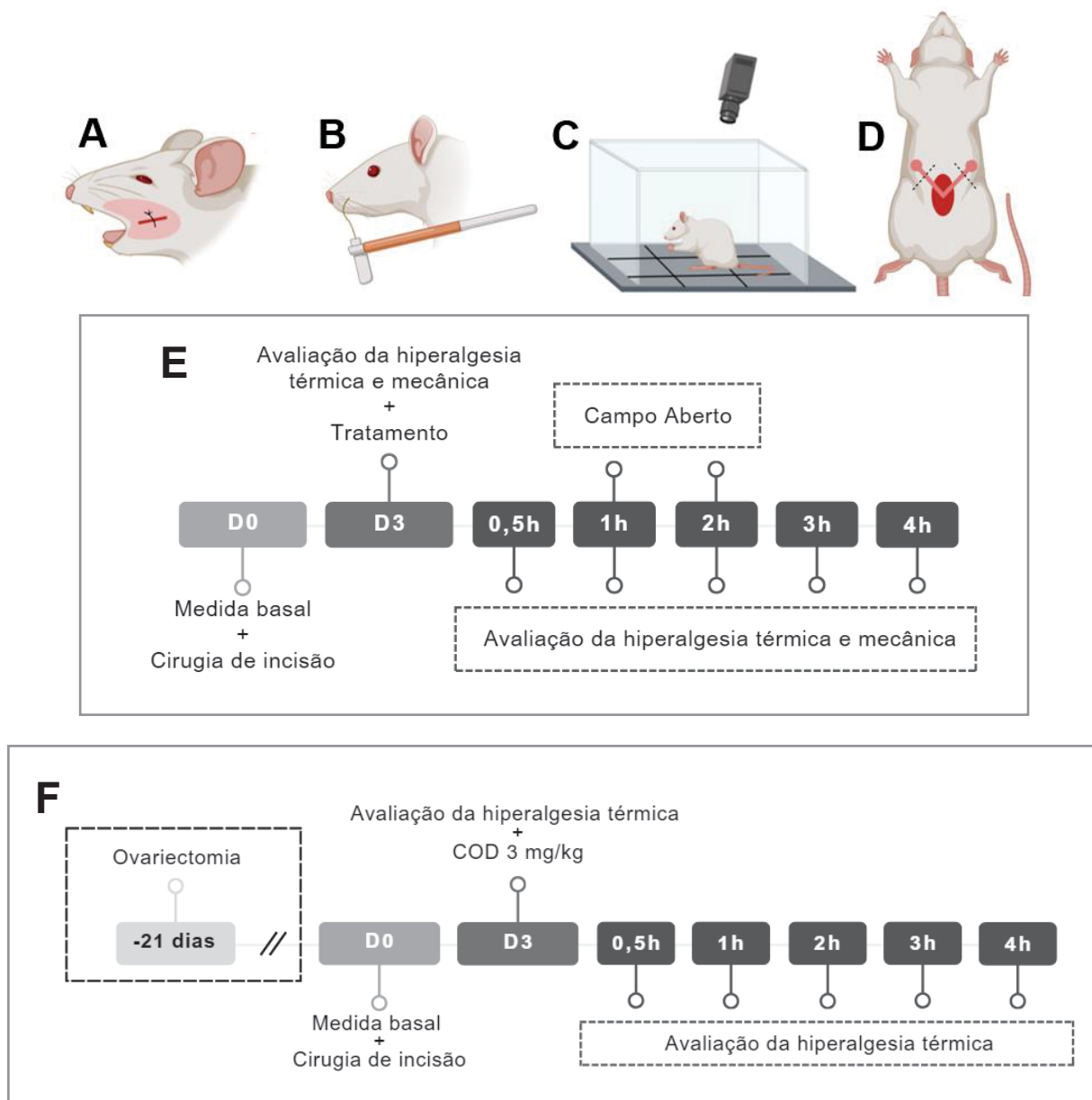


Figura 4: Design experimental. (A) Representação da cirurgia de incisão intraoral. (B) Avaliação da hiperalgesia mecânica (n = 12). (C) Teste do campo aberto (n = 8). (D) Representação da cirurgia de ovariectomia. (E) Decurso temporal. D0 é descrito como o primeiro dia do experimento e D3 como o terceiro dia pós-cirúrgico. O tratamento se refere a administração de ibuprofeno (30 e 100 mg/kg); paracetamol (100 e 300 mg/kg); codeína (3 e 10 mg/kg); ou seus respectivos veículos (1 mL/kg), administrados por via intraperitoneal (i.p.). (F) Um grupo independente de ratos fêmeas foi submetido à ovariectomia e, 21 dias após foi submetido ao procedimento de incisão intraoral e, posteriormente, os mesmos protocolos realizados nos grupos anteriores e tratamento com codeína 3 mg/kg. Produzido por canva.com.

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni para analisar a evolução temporal da hiperalgesia térmica e

mecânica. A análise dos dados do TCA foi realizada utilizando o teste *t* de Student não pareado. Para a análise das diferenças entre os sexos em diferentes doses dos fármacos na AUC, foi utilizada a ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni. Todos os dados passaram pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e foram expressos como média e erro padrão da média (EPM), e os resultados foram considerados estatisticamente significativos se $P < 0,05$. Definimos como variáveis o tempo, tratamento, cirurgia e sexo do animal. O software GraphPad Prism versão 9 para Windows foi utilizado para a análise estatística dos dados (GraphPad Software, San Diego, CA).

6 RESULTADOS

6.1 EFEITO DO IBUPROFENO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS

A Figura 5A mostra que o ibuprofeno (30 mg/kg) não alterou a latência de resposta em ratos machos submetidos à incisão ou ao procedimento controle (i.e., falso-operados, FO), mas, na dose de 100 mg/kg, atenuou a hiperalgesia térmica dos animais operados no intervalo de 30 minutos até 2 horas após o tratamento (Tabela 1). O ibuprofeno, em ambas as doses, reduziu a hiperalgesia mecânica por até 3 horas (Figura 5B; Tabela 1), mas não alterou as respostas dos ratos machos falso-operados (Figura 5A e 5B). O ibuprofeno (100 mg/kg) não alterou o número de cruzamentos dos ratos machos em comparação com o grupo controle (Figura 5C; Tabela 1), mas reduziu significativamente o comportamento de *grooming* facial (Figura 5D; Tabela 1).

Em ratos fêmeas, ambas as doses de ibuprofeno reduziram a hiperalgesia térmica 1 hora após o tratamento, e a dose mais alta teve um efeito mais prolongado e robusto (Figura 6A; Tabela 1). Ambas as doses de ibuprofeno causaram uma redução significativa da hiperalgesia mecânica de 0,5 até 3 horas após o tratamento em comparação com o grupo incisão-veículo, mas a dose mais alta foi mais eficaz (Figura 6B; Tabela 1). O tratamento com ibuprofeno não afetou o limiar térmico ou mecânico dos ratos falso-operados. A Figura 6C mostra que não houve diferença no número de cruzamentos entre os grupos incisão tratados com veículo ou ibuprofeno (Tabela 1), mas o ibuprofeno reduziu o tempo de *grooming* em comparação com o grupo controle (Figura 6D; Tabela 1).

Na análise da área sob a curva do período entre a primeira e segunda hora, não foi detectada diferença entre sexos no efeito do ibuprofeno na hiperalgesia térmica, o qual produziu efeito antinociceptivo apenas na maior dose em machos e fêmeas (Figura 7A; Tabela 1). Na hiperalgesia mecânica, as duas doses de ibuprofeno promoveram efeito antinociceptivo semelhante em machos, porém em fêmeas apenas a maior dose foi eficaz (Figura 7B; Tabela 1). Não houve diferença estatística entre machos e fêmeas entre os grupos controles (Figura 7A e 7B).

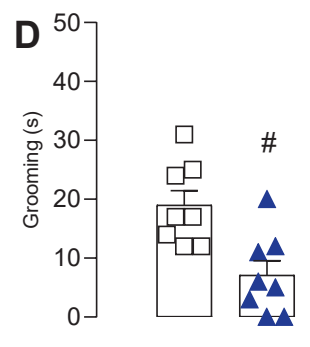
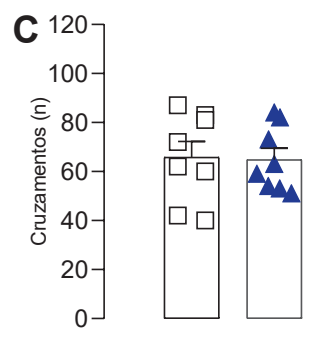
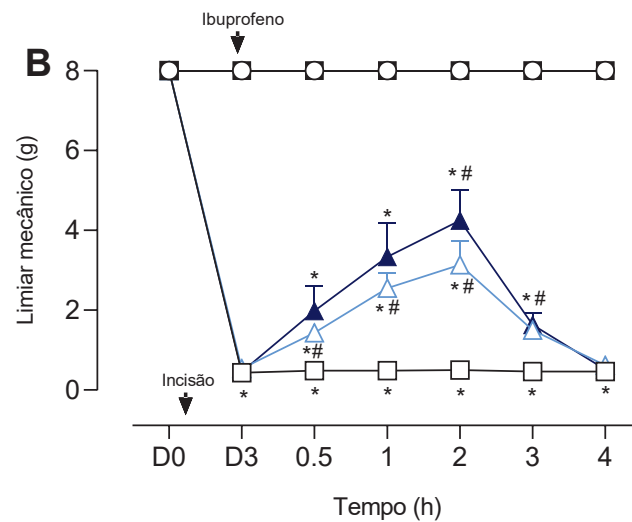
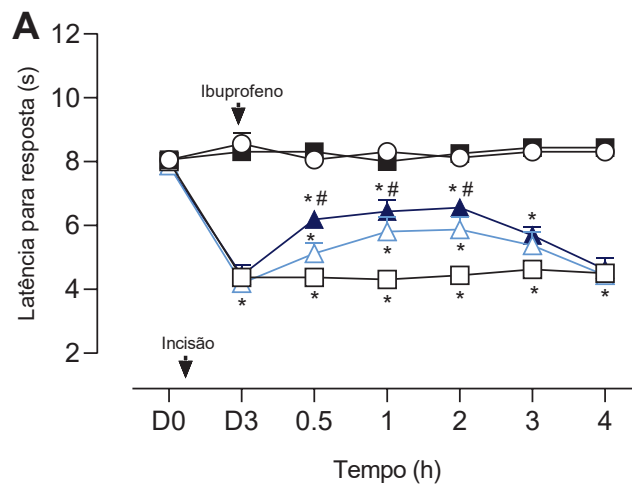
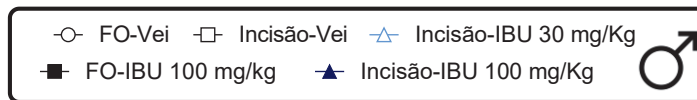


Figura 5: Efeito do ibuprofeno em ratos machos. No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = Falso-operado), os ratos foram tratados com ibuprofeno (IBU, 30 e 100 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média \pm EPM. * $P < 0,05$ em comparação com o grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ em comparação com o grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni (A e B) e teste *t* de Student não pareado (C e D).

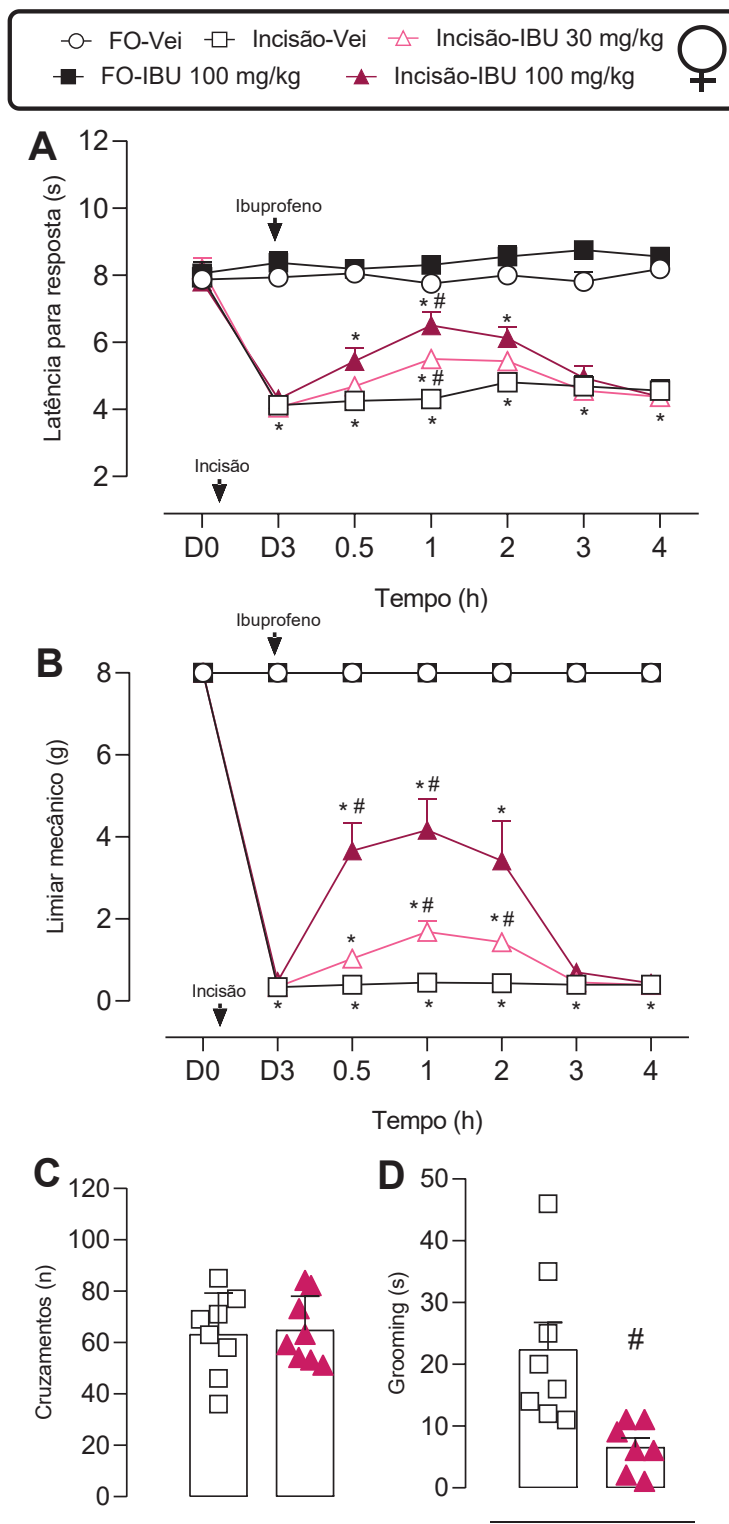


Figura 6: Efeito do ibuprofeno em ratos fêmeas. No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = Falso-operado), as ratas foram tratadas com ibuprofeno (IBU, 30 e 100 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média ± EPM. * $P < 0,05$ em comparação com o grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ em comparação com o grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni (A e B) e teste *t* de Student não pareado (C e D).

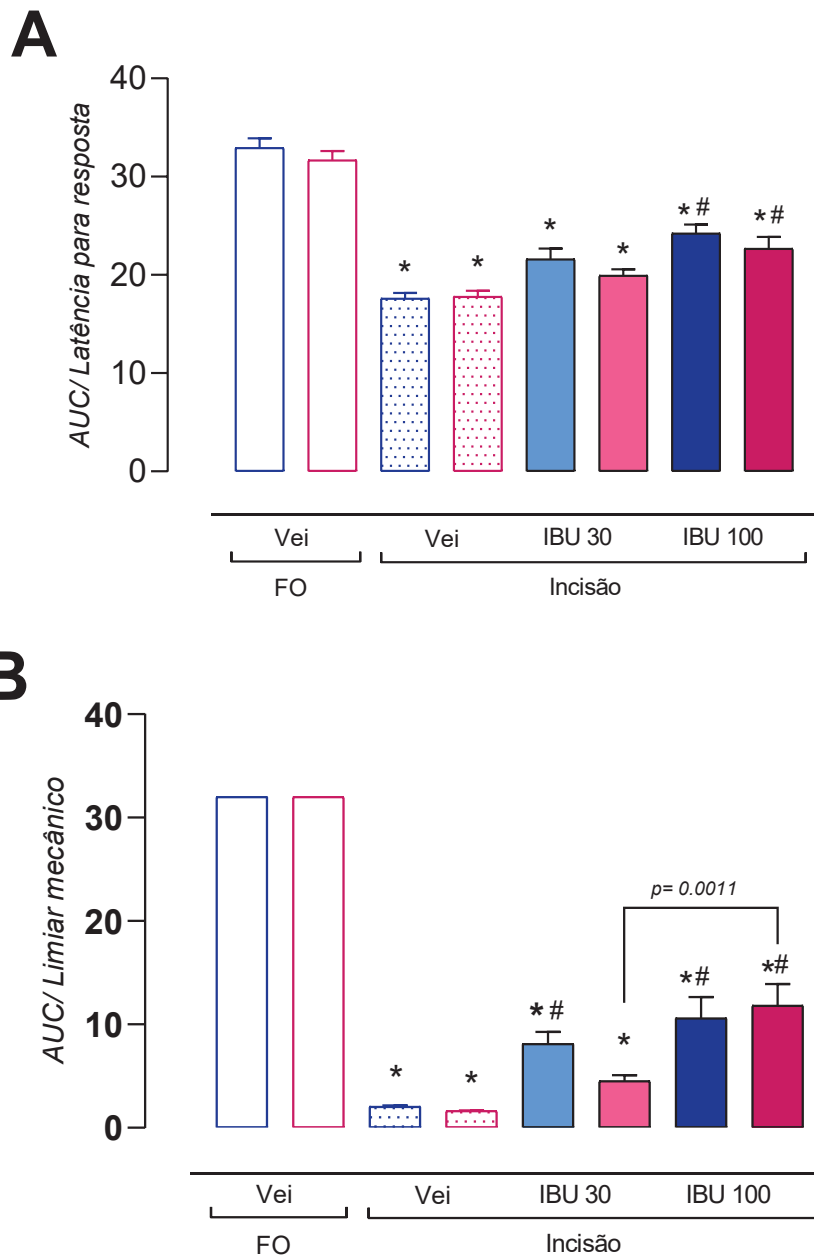


Figura 7: Comparação da área sob a curva (AUC) dos efeitos do ibuprofeno entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica. Efeito do ibuprofeno (IBU, 30 e 100 mg/kg) e veículo (Vei) na hiperalgesia térmica (A) e mecânica (B) em ratos machos (azul) e fêmeas (rosa) submetidos a cirurgia de incisão (FO = Falso-operado). Os dados são expressos como média \pm EPM (n=8-12). * $P < 0,05$ em comparação com o grupo FO-Vei, # $P < 0,05$ em comparação com o grupo Incisão-Vei. O valor de P acima das colunas de IBU 30 e 100 mg/kg em fêmeas indica diferença estatística entre doses na hiperalgesia mecânica. ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

TABELA 1 – Análise estatística dos resultados obtidos com o ibuprofeno.

Figura	Descrição	Análise	Valor de P	Valor de F ou t	n/grupo
5A	Ibuprofeno (machos) - hiperalgisia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,001$	$F(24, 210) = 13,62$	8
5B	Ibuprofeno (machos) - hiperalgisia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,001$	$F(24, 330) = 50,22$	12
5C	Ibuprofeno (machos) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,9013$	$t(14) = 0,1263$	8
5D	Ibuprofeno (machos) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0039$	$t(14) = 3,446$	8
6A	Ibuprofeno (fêmeas) - hiperalgisia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,001$	$F(24, 210) = 18,11$	8
6B	Ibuprofeno (fêmeas) - hiperalgisia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,001$	$F(24, 330) = 51,38$	12
6C	Ibuprofeno (fêmeas) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,8156$	$t(14) = 0,2376$	8
6D	Ibuprofeno (fêmeas) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0068$	$t(13) = 3,211$	8
7A	AUC Ibuprofeno (machos e fêmeas) - hiperalgisia térmica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	$F(7, 56) = 0,9096$	8
7B	AUC Ibuprofeno (machos e fêmeas) - hiperalgisia mecânica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	$F(7, 88) = 7,784$	12

FONTE: A autora (2024).

TABELA 2 – Análise e resultados do porcentual de inibição do ibuprofeno.

	Térmico			Mecânico		
	Machos	Fêmeas	Significante? M x F	Machos	Fêmeas	Significante? M x F
Ibuprofeno 30 mg/kg	ns	71%	-	39,10%	21%	Sim (P=0,0416)
Ibuprofeno 100 mg/kg	77,40%	83,90%	Não	52,10%	53,10%	Não

FONTE: A autora (2024).

6.2 EFEITO DO PARACETAMOL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS

O paracetamol causou uma redução dependente da dose na latência para resposta, que durou até 3 horas em ratos machos (Figura 8A; Tabela 2). A hiperalgesia mecânica foi reduzida pelo paracetamol na dose 100 mg/kg apenas 30 minutos após o tratamento e pelo paracetamol na dose de 300 mg/kg em 30 minutos e 1 hora após o tratamento (Figura 8B, Tabela 2). Não houve efeito do paracetamol na resposta do grupo falso-operado (Figuras 8A e 8B). No TCA, o paracetamol reduziu o número de cruzamentos (Figura 8C, Tabela 2) e o tempo de *grooming* facial (Figura 8D, Tabela 2).

A Figura 9A ilustra que o paracetamol na dose de 100 mg/kg reduziu a hiperalgesia térmica em ratos fêmeas dos 30 minutos até 3 horas e, na dose de 300 mg/kg, reverteu completamente a hiperalgesia 30 minutos após a injeção até 2 horas (Tabela 2). A hiperalgesia mecânica foi reduzida pelo paracetamol (ambas as doses) em ratos fêmeas na primeira e segunda hora após o tratamento (Figura 9B; Tabela 2). A dose mais alta de paracetamol não alterou as respostas térmicas e mecânicas dos ratos falso-operados. O paracetamol na dose mais alta reduziu o número de cruzamentos (Figura 9C; Tabela 2) e o tempo de *grooming* facial (Figura 9D; Tabela 2) dos ratos de incisão em comparação com o grupo tratado com veículo.

Na análise da área sob a curva do período entre a primeira e segunda hora, não foi detectada diferença entre sexos no efeito do paracetamol na hiperalgesia térmica, porém em machos o efeito antinociceptivo foi dose-dependente (Figura 10A; Tabela 2). Não foi detectada diferença entre sexos ou diferença entre doses no efeito do paracetamol na hiperalgesia mecânica, sendo que ambas as doses foram eficazes nos dois sexos (Figura 10B, Tabela 2). Não houve diferença estatística entre machos e fêmeas entre os grupos controles (Figura 10A e 10B).

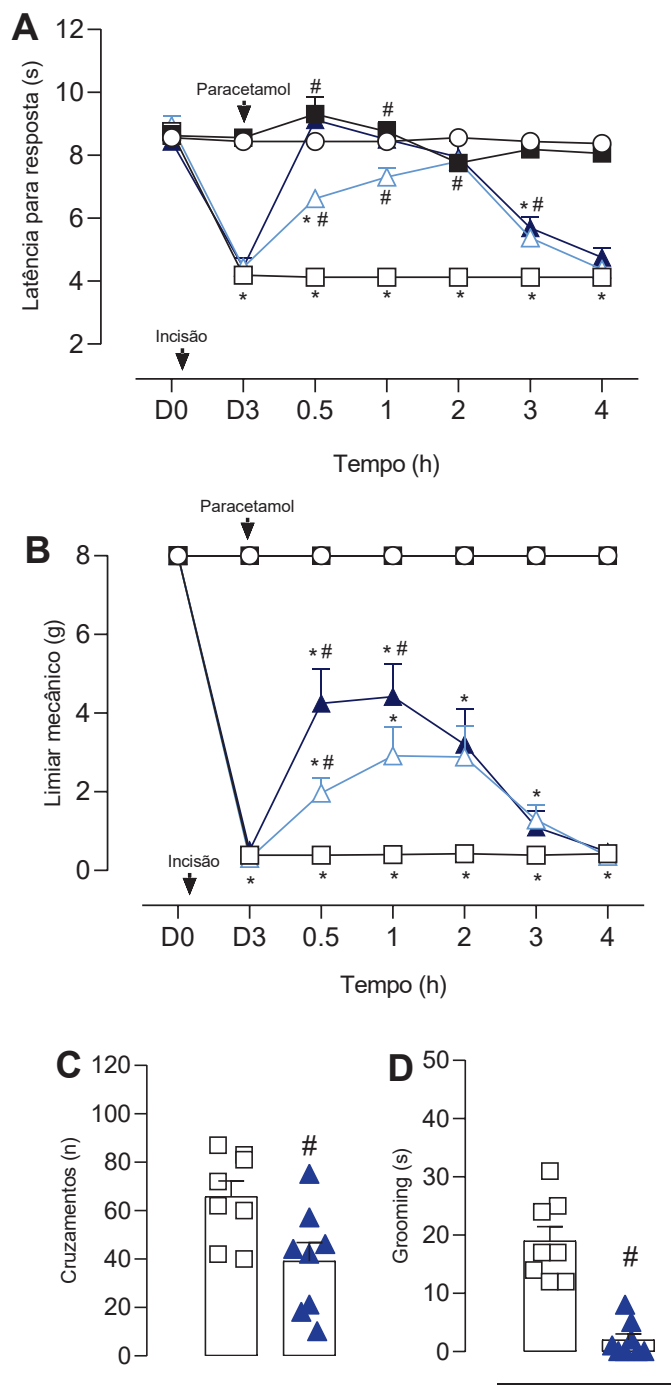
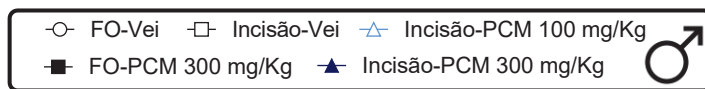


Figura 8: Efeito do paracetamol em ratos machos. No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = Falso-operado), os ratos foram tratados com paracetamol (PCM, 100 e 300 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média \pm EPM. * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste post hoc de Bonferroni (A e B) e teste *t* de Student não pareado (C e D).

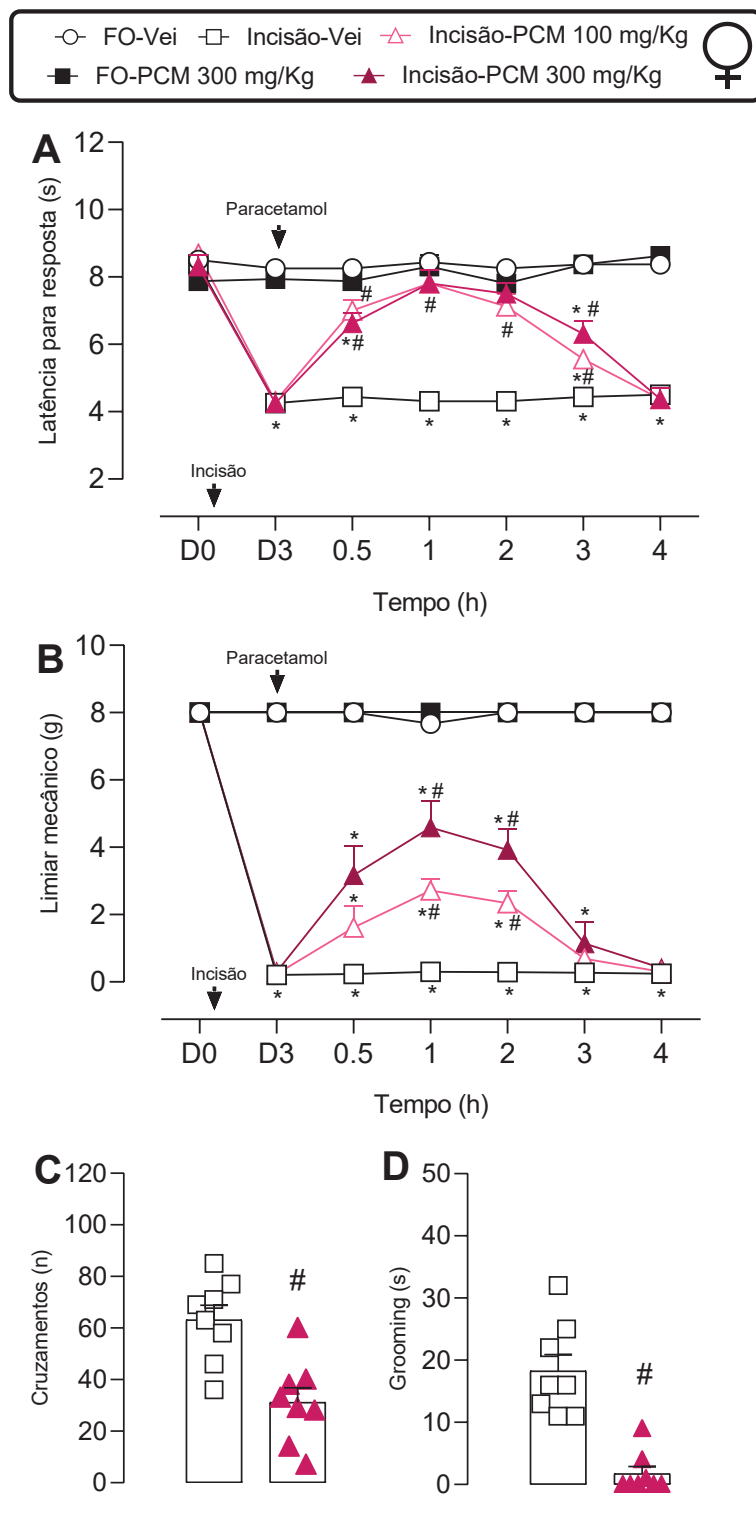


Figura 9: Efeito do paracetamol em ratos fêmeas. No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = Falso-operado), as ratas foram tratadas com paracetamol (PCM, 100 e 300 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média ± EPM. * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni (A e B) e teste *t* de Student não pareado (C e D).

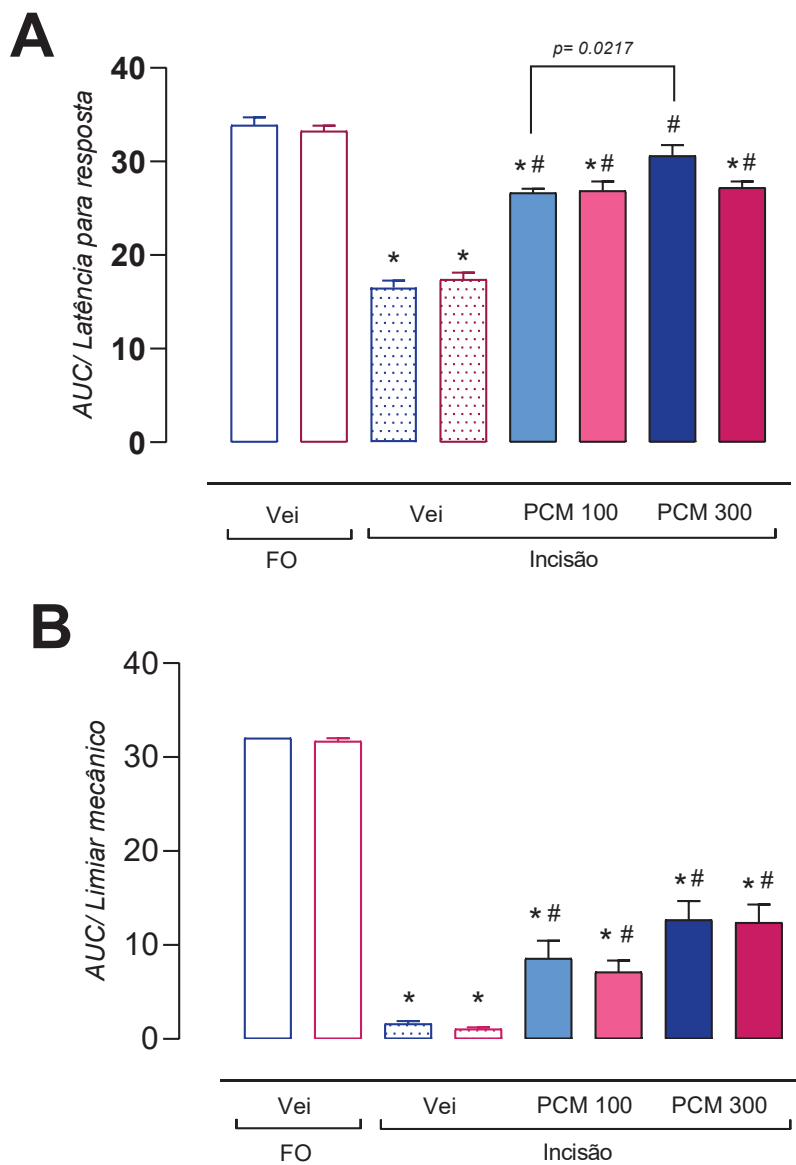


Figura 10: Comparação da AUC dos efeitos de paracetamol entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica. Efeito do paracetamol (PCM, 100 e 300 mg/kg) na hiperalgesia térmica (A) e mecânica (B) em ratos machos (azul) e fêmeas (rosa) após cirurgia de incisão (FO = falso-operado). Os dados são expressos como média \pm EPM (n=8-12). * P <0,05 em comparação com o grupo FO-Vei e # P <0,05 em comparação com o grupo Incisão-Vei. O valor de P acima das colunas de PCM 100 e 300 mg/kg machos indica diferença estatística entre doses na hiperalgesia térmica. ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

TABELA 3 – Análise estatística dos resultados obtidos com o paracetamol.

Figura	Descrição	Análise	Valor de P	Valor de F ou t	n/grupo
8A	Paracetamol (machos) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 210) = 27,20	8
8B	Paracetamol (machos) - hiperalgesia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,001$	F (24, 330) = 28,96	12
8C	Paracetamol (machos) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P < 0,0001$	<i>t</i> (14) = 6,377	8
8D	Paracetamol (machos) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0182$	<i>t</i> (14) = 2,674	8
9A	Paracetamol (fêmeas) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 210) = 20,71	8
9B	Paracetamol (fêmeas) - hiperalgesia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 330) = 37,60	12
9C	Paracetamol (fêmeas) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0182$	<i>t</i> (14) = 2,674	8
9D	Paracetamol (fêmeas) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P < 0,0001$	<i>t</i> (14) = 5,726	8
10A	AUC Paracetamol (machos e fêmeas) - hiperalgesia térmica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	F (7, 56) = 0,7529	8
10B	AUC Paracetamol (machos e fêmeas) - hiperalgesia mecânica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	F (7, 88) = 6,553	12

FONTE: A autora (2024).

TABELA 4 – Análise e resultados do porcentual de inibição do paracetamol.

	Térmico			Mecânico		
	Machos	Fêmeas	Significante? M x F	Machos	Fêmeas	Significante? M x F
Paracetamol 100 mg/kg	91,20%	92,60%	Não	24,50%	35,40%	Não
Paracetamol 300 mg/kg	100%	92,60%	Sim (P=0,0447)	55,20%	59,80%	Não

FONTE: A autora (2024).

6.3 EFEITO DA CODEÍNA EM RATOS MACHOS E FÊMEAS

Ambas as doses de codeína (3 e 10 mg/kg) reduziram a hiperalgesia térmica em ratos machos dos 30 minutos até 3 horas após o tratamento (Figura 11A; Tabela 3). A codeína mostrou um efeito dependente da dose na hiperalgesia mecânica (Figura 11B). A codeína na dose de 3 mg/kg reduziu a hiperalgesia mecânica na primeira hora após a injeção ($P < 0,0001$) e, na dose mais alta, reverteu completamente a hiperalgesia mecânica dos 30 minutos até 2 horas (Tabela 3). Não foram detectadas mudanças em animais do grupo falso-operado (Figuras 11A e 11B). A codeína na dose de 10 mg/kg não alterou o número de cruzamentos em animais de incisão em comparação com ratos machos tratados com veículo (Figura 11C; Tabela 3), mas reduziu significativamente o tempo de *grooming* facial (Figura 11D; Tabela 3).

Em ratos fêmeas, a codeína mostrou um efeito dependente da dose na hiperalgesia térmica e mecânica (Figura 12A e 12B). A codeína em 3 mg/kg reduziu a hiperalgesia térmica em ratas fêmeas em 0,5 hora após a injeção, enquanto a dose mais alta (10 mg/kg) reverteu a hiperalgesia entre 0,5 até 3 horas (Figura 12A; Tabela 3). A codeína, em ambas as doses, reduziu a hiperalgesia mecânica em fêmeas dos 30 minutos até 3 horas (Figura 12B; Tabela 3). Ratos falso-operados não foram afetados pelo tratamento com codeína (Figuras 12A e 12B). A Figura 12C mostra que a codeína na dose de 10 mg/kg aumentou a locomoção das ratas fêmeas em comparação com o grupo correspondente tratado com veículo (Tabela 3), mas reduziu o tempo de *grooming* facial (Figura 12D; Tabela 3).

Na análise da área sobe a curva do período entre a primeira e segunda hora, foi detectada diferença entre sexos no efeito da codeína na hiperalgesia térmica, a qual produziu efeito antinociceptivo apenas na maior dose em fêmeas (Figura 13A; Tabela 3), enquanto na maior dose, não houve diferença significativa entre os sexos (Figura 13B; Tabela 3). Na hiperalgesia mecânica, não foi evidenciada diferença entre sexos no efeito antinociceptivo da codeína, o qual se apresentou de forma dose-dependente para ambos os sexos (Figura 13B; Tabela 3).

Para avaliar a influência dos hormônios sexuais femininos na redução do efeito antinociceptivo da codeína na menor dose, foi realizada a incisão e análise de

hiperalgesia térmica em fêmeas ovariectomizadas (Figura 14A). O sucesso da ovariectomia foi confirmado pela análise do lavado vaginal 21 dias após o procedimento (Figura 14B e 14C). Houve redução na latência para resposta em fêmeas ovariectomizadas submetidas à cirurgia de incisão, no terceiro dia após o procedimento ($P < 0.0001$). Naquelas tratadas com o veículo, a diferença permaneceu ao longo do experimento, enquanto o tratamento com codeína (3 mg/kg; i.p.) foi diferente do grupo tratado com veículo 30 minutos após a injeção até 3 horas. Neste período, a codeína (3 mg/kg; i.p.) reverteu completamente (93,2% de inibição) a hiperalgesia no intervalo entre a primeira e a segunda hora após o tratamento (Figura 14; Tabela 3). Na comparação direta entre fêmeas ovariectomizadas e machos, não foi encontrada diferença no efeito da codeína (Figura 14; Tabela 3), mas houve diferença na comparação entre as fêmeas dos dois grupos (Figura 14; Tabela 3).

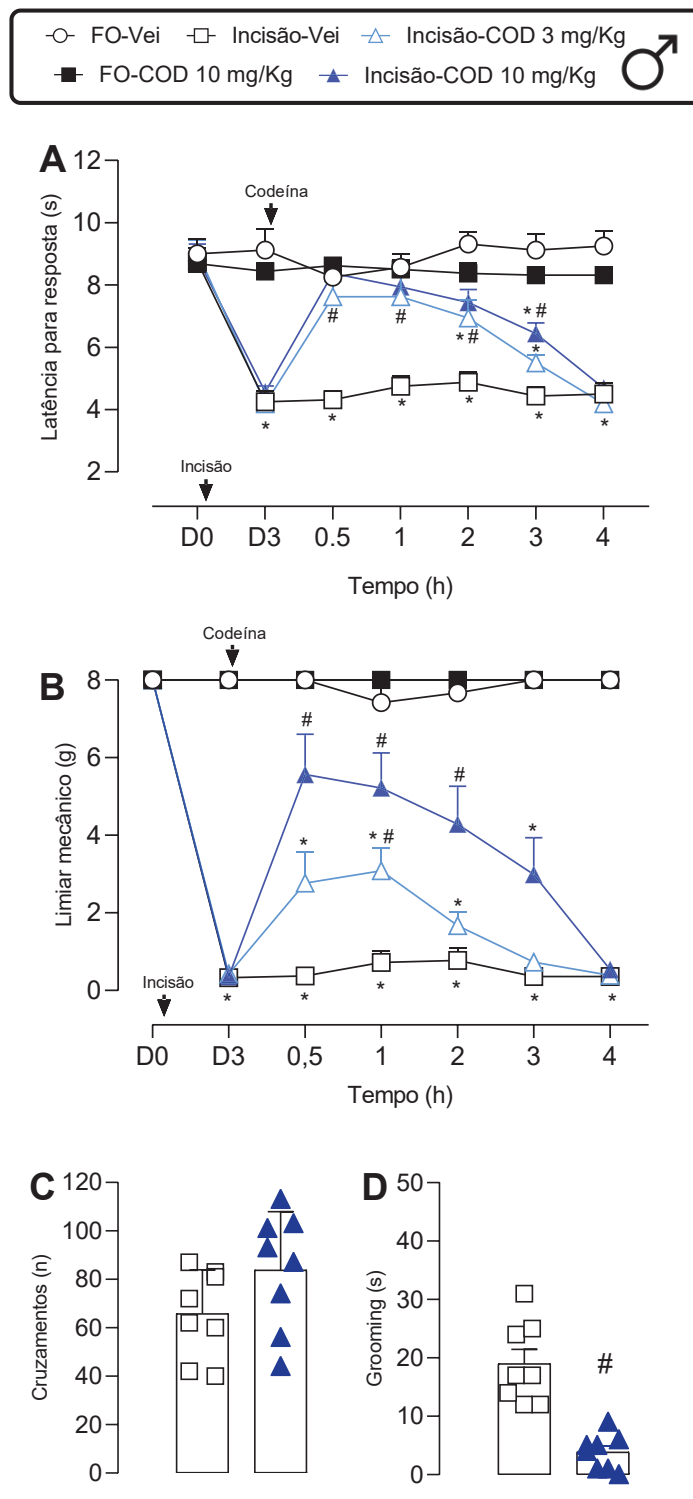


Figura 11: Efeito da codeína em ratos machos. No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = falso-operado), os ratos foram tratados com codeína (COD, 3 e 10 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média ± EPM. * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni (A e B) e teste *t* de Student não pareado (C e D).

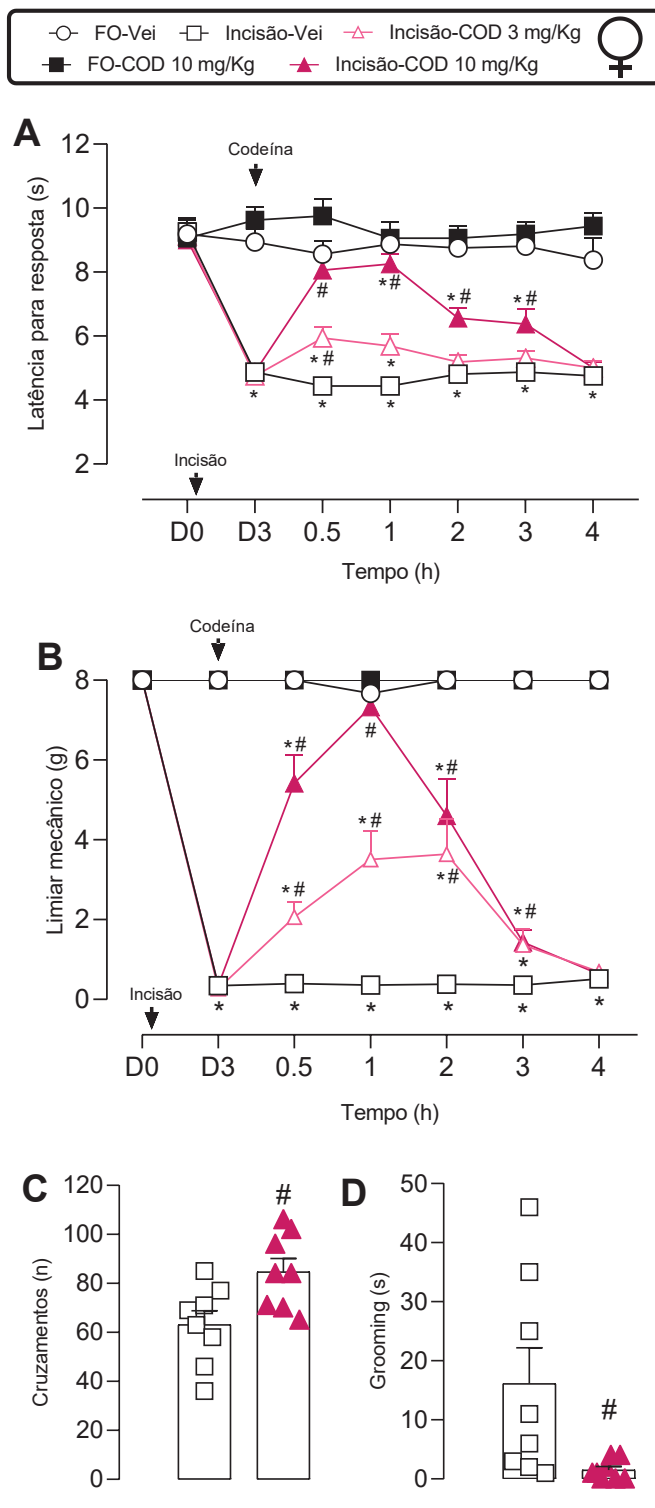


Figura 12: Efeito da codeína em ratos fêmeas. O terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral (FO = falso-operado), os ratos foram tratados com codeína (COD, 3 e 10 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação de (A) hiperalgesia térmica (n=8); (B) hiperalgesia mecânica (n=12); (C) número de cruzamentos no TCA (n=8); e (D) tempo de *grooming* facial (em segundos) (n=8). Os dados são expressos como média ± EPM. * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo FO-Vei e # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni (A, B e C) e teste *t* de Student não pareado (D e E).

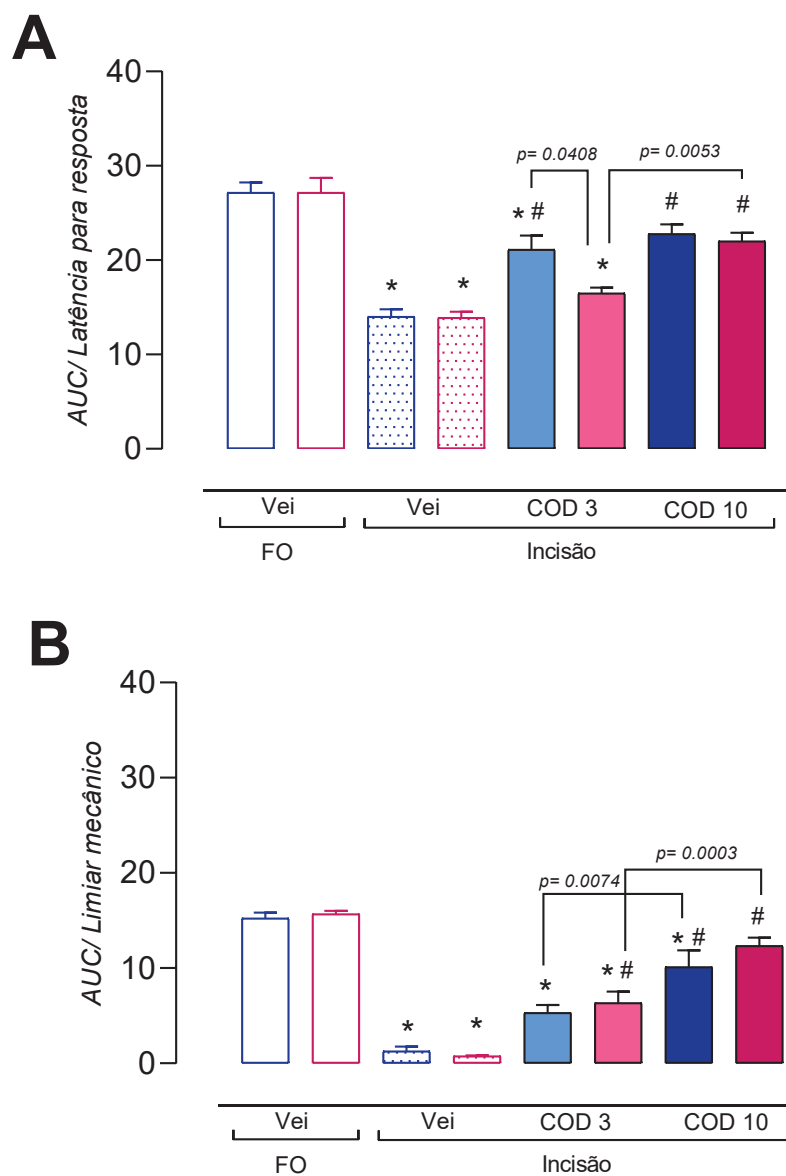


Figura 13: Comparação da AUC dos efeitos de codeína entre machos e fêmeas na hiperalgesia térmica e mecânica. Os dados analisados incluíram a primeira medição no terceiro dia após a incisão (FO = falso-operado) (D3) até a terceira hora após o tratamento. Efeito da codeína (COD, 3 e 10 mg/kg) e veículo (Vei) na hiperalgesia térmica (A) e mecânica (B) em ratos machos (azul) e fêmeas (rosa). Os dados são expressos como média ± EPM (n=8-12). * $P < 0,05$ em comparação com o grupo FO-Vei, # $P < 0,05$ em comparação com o grupo Incisão-Vei. Na hiperalgesia térmica, o valor de P acima das colunas de COD 3 e 10 mg/kg em fêmeas indica diferença estatística entre doses, já nas colunas de COD na menor dose indica diferença estatística entre sexos. Na hiperalgesia mecânica os valores de P acima das colunas de COD 3 e 10 mg/kg em fêmeas e machos indicam diferença estatística entre doses. ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

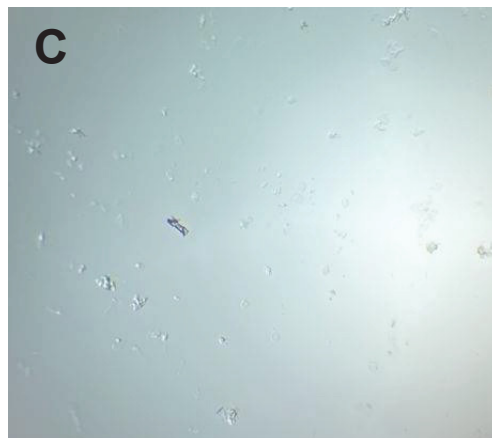
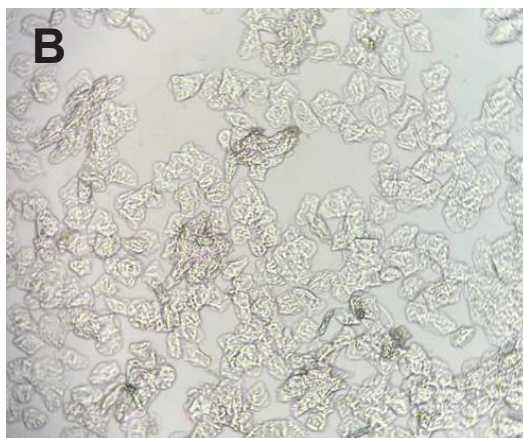
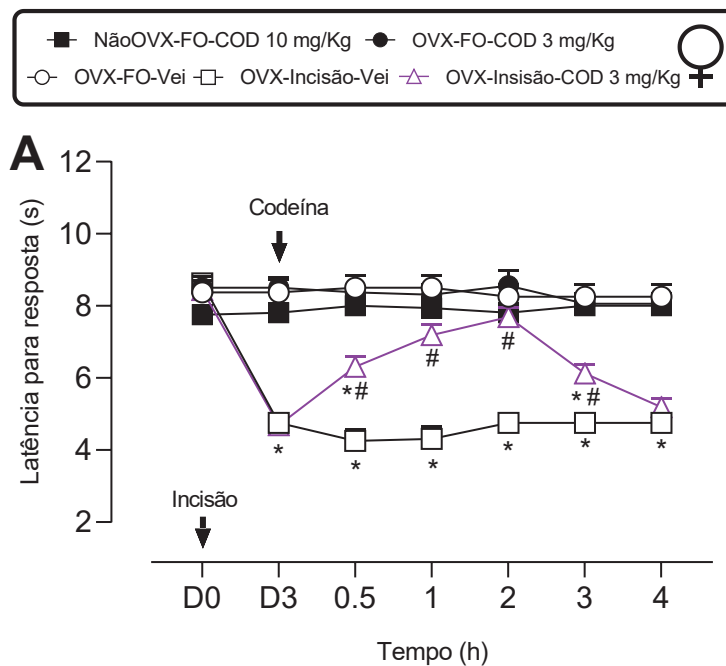


Figura 14: Efeito da codeína em ratos fêmeas ovariectomizadas. (A) No terceiro dia após a cirurgia de incisão intraoral e falso-operado (FO), os ratos foram tratados com codeína (COD, 3 mg/kg) ou veículo (Vei), seguido pela avaliação da hiperalgesia térmica em fêmeas previamente submetidas a ovariectomia (OVX) ou grupo falso-operado da ovariectomia (NãoOVX) (n=8). Os dados são expressos como média \pm EPM. * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo OVX-FO-Vei e # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo OVX-Incisão-Vei. ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni; (B) Imagem representativa de lavado vaginal de fêmea não ovariectomizada em estro; (C) Imagem representativa de lavado vaginal de fêmea ovariectomizada após 21 dias à cirurgia.

TABELA 5 – Análise estatística dos resultados obtidos com a codeína.

Figura	Descrição	Análise	Valor de P	Valor de F ou t	n/grupo
11A	Codeína (machos) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 210) = 13,67	8
11B	Codeína (machos) - hiperalgesia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 330) = 23,74	12
11C	Codeína (machos) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,1133$	<i>t</i> (14) = 1,689	8
11D	Codeína (machos) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0001$	<i>t</i> (14) = 5,653	8
12A	Codeína (fêmeas) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 210) = 13,81	8
12B	Codeína (fêmeas) - hiperalgesia mecânica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (24, 330) = 23,74	12
12C	Codeína (fêmeas) - TCA cruzamentos	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0161$	<i>t</i> (14) = 2,737	8
12D	Codeína (fêmeas) - TCA <i>grooming</i>	Teste <i>t</i> de Student não pareado	$P = 0,0308$	<i>t</i> (14) = 2,402	8
13A	AUC Codeína (machos e fêmeas) - hiperalgesia térmica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	F (7,50) = 1,728	8
13B	AUC Codeína (machos e fêmeas) - hiperalgesia mecânica	ANOVA uma via - <i>post hoc</i> Bonferroni	$P < 0,0001$	F (7, 88) = 7,844	12
14A	Codeína (fêmeas OVX) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P < 0,0001$	F (4.711, 32.98) = 14.80	8
14A	Codeína (fêmeas OVX vs machos) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P = 0,9217$	<i>t</i> (14) = 0.1001	8
14A	Codeína (fêmeas OVX vs fêmeas NãoOVX) - hiperalgesia térmica	ANOVA duas vias - <i>post hoc</i> de Bonferroni	$P = 0,011$	<i>t</i> (14) = 4.103	8

FONTE: A autora (2024).

TABELA 6 – Análise e resultados do porcentual de inibição da codeína.

	Térmico			Mecânico		
	Machos	Fêmeas	Significante? M x F	Machos	Fêmeas	Significante? M x F
Codeína 3 mg/kg	92,40%	69,30%	Sim (P=0,0221)	41,60%	45,50%	Não
Codeína 10 mg/kg	100%	91%	Não	64,50%	95,60%	Não

FONTE: A autora (2024).

7 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que os três fármacos proporcionaram efeitos antinociceptivos significativos e reduziram o comportamento de dor espontânea após a indução de dor pós-operatória em ratos machos e fêmeas. Os machos foram sensíveis ao ibuprofeno e à codeína, já que os efeitos antinociceptivos foram detectados em doses mais baixas. O ibuprofeno não afetou a locomoção, já a codeína induziu hiperlocomoção em ratos fêmeas. Não houve influência do sexo no efeito do paracetamol, que foi eficaz em ambos os sexos, mas causou sedação na dose mais alta testada em fêmeas.

O ibuprofeno é um AINE com ação seletiva equilibrada entre COX-1 e COX-2, o que contribui para seu efeito anti-inflamatório e perfil de segurança (VARRASSI *et al.*, 2020). Neste estudo, foi identificada diferença de sexo no efeito do ibuprofeno, sendo as ratas fêmeas mais sensíveis à menor dose (ou seja, 30 mg/kg) na hiperalgesia térmica, mas os machos foram mais sensíveis ao seu efeito quando a hiperalgesia mecânica foi avaliada. A diferença de sexo não foi observada com o ibuprofeno a 100 mg/kg, que reduziu a hiperalgesia térmica facial em cerca de 80% e a hiperalgesia mecânica em mais de 50% em ambos os sexos. É importante notar que mesmo a dose mais alta testada aqui está abaixo das doses usadas na prática clínica (ROMERO-REYES *et al.*, 2013). A maior dose de ibuprofeno reduziu significativamente o comportamento de *grooming* facial em ratos machos e fêmeas. Apesar do comportamento de *grooming* estar associado a ansiedade em outras avaliações em roedores, essa medida também é considerada um reflexo da dor orofacial espontânea, uma vez que o comportamento é reduzido após administração de fármacos comprovadamente eficazes na antinocicepção, conforme demonstrado em um estudo anterior do nosso grupo (ARAYA *et al.*, 2020). A avaliação da dor espontânea é um parâmetro bastante relevante, visto que difere mecanisticamente da hiperalgesia térmica e mecânica facial, apresentando sensibilidade diferente aos analgésicos e maior valor translacional (GHANEM *et al.*, 2016; DESEURE e HANS, 2017; ARAYA *et al.*, 2020). Além disso, o ibuprofeno não afetou a locomoção de ratos de ambos os sexos, o que representa uma clara vantagem em comparação com os outros fármacos testados.

O paracetamol é frequentemente prescrito como uma alternativa ao uso de AINEs para o controle da dor leve a moderada, ou em associação com ibuprofeno para melhorar o manejo da dor. Devido à atividade periférica limitada de inibição da COX, a atividade anti-inflamatória é considerada irrelevante e não causa os mesmos efeitos adversos que os AINEs. É considerado seguro, desde que se respeite a dose diária máxima recomendada (3-4 gramas) (GHANEM *et al.*, 2016; DESEURE e HANS, 2017). No entanto, um recente estudo de meta-análise mostrou que o paracetamol é menos eficaz do que o ibuprofeno no controle da dor pós-operatória após a remoção de terceiros molares (FRANCO-DE LA TORRE *et al.*; 2021). De acordo com os nossos dados, o paracetamol é menos eficaz no controle da hiperalgesia mecânica do que térmica, o que corrobora um estudo anterior que mostrou que o paracetamol causou inibição máxima de 30% da hiperalgesia mecânica em modelo de artrite em ratos, mesmo quando doses mais altas foram empregadas (MALLETT *et al.*, 2023). Também contrastando dados da literatura de que o paracetamol não é eficaz no alívio da hiperalgesia térmica (BERTORELLI *et al.*, 1999; GHANEM *et al.*, 2016). Nossos resultados mostraram que o paracetamol causou mais de 90% de inibição da hiperalgesia térmica em ambos os sexos. A razão dessa discrepância ainda precisa ser investigada, e seria importante determinar se o paracetamol é mais eficaz no controle da dor orofacial em relação à a dor de origem espinhal.

A diferença de sexo não foi detectada no efeito do paracetamol, e a dose mais alta testada reduziu a hiperalgesia mecânica em 60% e a hiperalgesia térmica em cerca de 90%, aproximadamente, em ambos os sexos. Vários mecanismos foram propostos para o efeito analgésico do paracetamol, o qual parece envolver a ativação do sistema endocanabinoide, opioides e vias serotoninérgicas (GHANEM *et al.*, 2016; MALLETT *et al.*, 2023). O paracetamol aboliu o comportamento de *grooming* facial em ratos machos e fêmeas, indicando um potencial para o controle da dor espontânea. No entanto, essa redução foi alcançada com uma dose que também causou sedação em ambos os sexos. É possível que o efeito sedativo tenha interferido na avaliação dos comportamentos dos ratos nos outros testes, tornando difícil determinar o efeito exato do paracetamol na dose mais alta utilizada. Os resultados sobre a sedação causada pelo paracetamol são escassos na literatura, mas os dados apresentados corroboram um relato anterior de que o paracetamol reduz significativamente a

locomoção e o comportamento de *grooming* no TCA (CHEN *et al.*, 2018). Esses efeitos do paracetamol precisam de mais investigação, mas, interessante, foi relatado que é frequentemente usado por idosos sem queixas de dor para problemas de sono, indicando um potencial efeito sedativo (VAN DE GLIND *et al.*, 2014).

A codeína é metabolizada no fígado em M3G e M6G, que têm ações analgésicas potentes, mas eventos adversos problemáticos, incluindo náuseas, vômitos, constipação, sonolência, depressão respiratória e potencial para abuso (MOORE *et al.*, 2015). Neste estudo, a codeína apresentou um perfil favorável em ratos machos, reduzindo a hiperalgesia térmica e mecânica, bem como o comportamento de *grooming* facial, sem afetar a locomoção. A codeína também foi eficaz em fêmeas, mas a menor dose mostrou maior eficácia em machos (92% de inibição em comparação com 69% de inibição em fêmeas). Esse achado corrobora estudos anteriores que mostram que a potência dos opioides é maior em machos devido a vários mecanismos (ARMENDARIZ e NAZARIAN, 2018; SHARP, PEARSON e SMITH, 2022). Essas diferenças entre os sexos parecem variar com base em sua seletividade relativa nos três principais receptores opioides (ou seja, μ , κ , δ), roedores machos apresentam maior sensibilidade aos efeitos antinociceptivos decorrentes da ativação dos receptores μ em comparação com as fêmeas (SHARP, PEARSON e SMITH, 2022). A codeína reduziu o comportamento de *grooming* em ratos machos e fêmeas, em uma dose que está dentro da faixa terapêutica humana. No entanto, essa dose pode estar relacionada a efeitos adversos, uma vez que foi observada uma tendência de aumento na locomoção em machos e um aumento significativo na locomoção em fêmeas. De fato, há evidências pré-clínicas e clínicas de que, além de exigir doses mais altas de opioides, indivíduos do sexo feminino também são mais suscetíveis aos efeitos adversos dos opioides (SHANSKY e MURPHY, 2020; SHARP, PEARSON e SMITH, 2022). O comportamento hiperativo após a administração de codeína em ratos foi relatado na literatura, sugerindo ser uma consequência da ativação dos receptores μ -opioides no sistema nervoso central (RIVERA *et al.*, 2017; DRAXLER *et al.*, 2021). A redução da eficácia analgésica e maior risco de efeitos adversos da codeína em fêmeas merecem atenção, uma vez que numerosas condições dolorosas orofaciais são mais prevalentes em mulheres (HÄGGMAN-HENRIKSON *et al.*, 2020). Ademais, existem evidências clínicas de que os três

fármacos utilizados nesse estudo ocasionam efeitos adversos, tais como náusea, fadiga, sonolência e cefaleia, com maior frequência em pacientes do sexo feminino, o que reforça a importância de estudos que incluam a variável sexo nas análises de segurança e eficácia dos analgésicos. Observando o efeito antinociceptivo da codeína em fêmeas ovariectomizadas, nossos resultados mostram que o fármaco reverteu completamente a hiperalgesia, evidenciando a influência dos hormônios sexuais femininos na eficácia analgésica de opioides. Esses achados podem estar relacionados a interferência dos hormônios no metabolismo dos opioides (SHANSKY e MURPLY, 2020) ou até mesmo na sensibilidade de receptores opioides (SHARP, PEARSON e SMITH, 2022).

De acordo com a literatura, vemos que a diferença analgésica entre sexos depende de múltiplos fatores, como por exemplo, a duração do tratamento e a idade dos animais e analisar apenas adultos tratados com apenas uma dose foram as limitações do nosso trabalho. O modelo de dor orofacial pós-operatória de incisão em roedores abrange apenas um tipo de dor aguda, sendo necessários mais estudos com outros modelos de dor bem como estudos sobre diferenças sexuais do efeito antinociceptivo de outros fármacos.

8 CONCLUSÃO

Os três analgésicos mostraram efeitos antinociceptivos na hiperalgesia térmica, mecânica e modelo de dor espontânea em ratos machos e fêmeas submetidos a incisão intraoral. O paracetamol produziu efeito sedativo na maior dose avaliada, resultado pouco investigado na literatura. O ibuprofeno revelou o perfil mais favorável por reduzir mais de 50% a hiperalgesia térmica e mecânica e diminuir significativamente a dor espontânea em ambos os sexos, sem afetar a locomoção. Em fêmeas, a codeína foi menos eficaz e, na maior dose, promoveu aumento da locomoção. Os hormônios sexuais parecem interferir no efeito antinociceptivo da codeína visto que fêmeas não ovariectomizadas apresentavam eficácia inferior se comparadas aos ratos machos e às fêmeas ovariectomizadas.

Nossos resultados contribuíram para ampliar o conhecimento sobre diferenças entre sexos nos efeitos antinociceptivos de três fármacos analgésicos, bem como forneceram evidências adicionais da eficácia em parâmetros com valor translacional. Uma investigação sobre mecanismos de ação e possíveis interferências dos hormônios sexuais na eficácia analgésica precisam ser realizadas, buscando tratamentos individualizados que levem o fator sexo em consideração.

REFERÊNCIAS

ARAYA, E. I.; *et al.* Acute orofacial pain leads to prolonged changes in behavioral and affective pain components. *Pain*, v. 161, n. 12, p. 2830-2840, 2020. doi:10.1097/j.pain.0000000000001970

ARAYA, E. I.; *et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling in the trigeminal ganglion mediates facial mechanical and thermal hyperalgesia in rats. *Physiol Behav*, v. 226, p. 113127, 2020. doi:10.1016/j.physbeh.2020.113127

ARMENDARIZ, A.; NAZARIAN, A. Morphine antinociception on thermal sensitivity and place conditioning in male and female rats treated with intraplantar complete Freund's adjuvant. *Behav Brain Res*, v. 343, p. 21-27, 2018. doi:10.1016/j.bbr.2018.01.031

AVERITT, D. L.; *et al.* Neuronal and glial factors contributing to sex differences in opioid modulation of pain. *Neuropsychopharmacol*, v. 44, n. 1, p. 155-165, 2019. doi:10.1038/s41386-018-0127-4

BARBAGALLO, M.; SACERDOTE, P. Ibuprofen in the treatment of children's inflammatory pain: a clinical and pharmacological overview. *Minerva Pediatr*, v. 71, n. 1, p. 82-99, 2019. doi:10.23736/S0026-4946.18.05453-1

BENINI, F.; BARBI, E. Doing without codeine: why and what are the alternatives?. *Italian journal of pediatrics*, v. 40, n. 1, p. 16. 2014. doi:10.1186/1824-7288-40-16

BERTORELLI, R.; *et al.* Nociceptin and the ORL1 ligand [Phe¹psi (CH₂-NH)Gly²]nociceptin(1-13)NH₂ exert anti-opioid effects in the Freund's adjuvant-induced arthritic rat model of chronic pain. *Br J Pharmacol*, v. 128, n. 6, p. 1252-1258, 1999. doi:10.1038/sj.bjp.0702884

BRITO, H. O.; *et al.* Female sex hormones influence the febrile response induced by lipopolysaccharide, cytokines and prostaglandins but not by interleukin-1 β in rats. *J Neuroendocrinol*, v. 28, n. 10, 2016. doi: 10.1111/jne.12414. doi:10.1111/jne.12414

CHEN, Z.; *et al.* Anxiety- and activity-related effects of paracetamol on healthy and neuropathic rats. *Pharmacol Res Perspect*, v. 6, n. 1, 2018. doi:10.1002/prp2.367

CHICHORRO, J. G.; ZAMPRONIO, A.R.; ERA, G. A. Endothelin ET(B) receptor antagonist reduces mechanical allodynia in rats with trigeminal neuropathic pain. *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 231, n. 6, p. 1136-1140, 2006.

CRAFT, R. M.; HEWITT, K. A.; BRITCH, S. C. Antinociception produced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in female vs male rats. *Behav Pharmacol*, v. 32, n. 2&3, p. 153-169, 2021. doi:10.1097/FBP.0000000000000584

CRUZ, A. J. S. D.; *et al.* Prescriptions of analgesics and anti-inflammatory drugs in municipalities from a Brazilian Southeast state. *Braz Oral Res*, v. 16, p. 35, 2020. doi:10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0011

DESEURE, K.; HANS, G. H. Differential drug effects on spontaneous and evoked pain behavior in a model of trigeminal neuropathic pain. *J Pain Res*, v. 10, p. 279-286, 2017. doi:10.2147/JPR.S124526

DRAXLER, P.; *et al.* Spontaneous, voluntary, and affective behaviours in rat models of pathological pain. *Front Pain Res (Lausanne)*, n. 2, p. 672-711, 2021. doi:10.3389/fpain.2021.672711

DRESCH, A. P.; AMADOR, T. A.; HEINECK, I. Patients knowledge regarding medication prescribed by dentists in southern Brazil. *Cien Saude Colet*, v. 21, n. 2, p. 475-483, 2016. doi:10.1590/1413-81232015212.17732014

FERREIRA, T. R.; LOPES, L. C. Analysis of analgesic, antipyretic, and nonsteroidal anti-inflammatory drug use in pediatric prescriptions. *J Pediatr (Rio J)*, v. 92, n. 1, p. 81-87, 2016. doi:10.1016/j.jped.2015.04.007

FRANCO-DE LA TORRE, L., *et al.* A meta-analysis of the analgesic efficacy of single-doses of ibuprofen compared to traditional non-opioid analgesics following third molar surgery. *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 14, n. 4, 2021. doi:10.3390/ph14040360

FRANCONI, F.; *et al.* Gender differences in drug responses. *Pharmacol Res*, v. 55, n. 2, p.81-95, 2007. doi:10.1016/j.phrs.2006.11.001

GARCIA, M. M.; *et al.* Comparison of the antinociceptive profiles of morphine and oxycodone in two models of inflammatory and osteoarthritic pain in rat. *Eur J Pharmacol*, v. 854, p. 109-118, 2019. doi:10.1016/j.ejphar.2019.04.011

GHANEM, C. I.; *et al.* Acetaminophen from liver to brain: New insights into drug pharmacological action and toxicity. *Pharmacol Res*, V. 109, P. 119-131, 2016. doi:10.1016/j.phrs.2016.02.020

HÄGGMAN-HENRIKSON, B.; *et al.* Increasing gender differences in the prevalence and chronification of orofacial pain in the population. *Pain*, v. 161, n. 8, p. 1768-1775, 2020. doi:10.1097/j.pain.0000000000001872

HOSHIJIMA, H.; *et al.* Systematic review of systemic and neuraxial effects of acetaminophen in preclinical models of nociceptive processing. *J Pain Res*, v. 14, p. 3521-3552, 2021. doi:10.2147/JPR.S308028

NELSON F. J.; *et al.* A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J mice: i. cycle frequency, length and vaginal cytology. *Biology of Reproduction*, v. 27, n. 2, p. 327-339, 1982. doi:10.1095/biolreprod27.2.327

JÓŹWIAK-BEBENISTA, M.; NOWAK, J. Z. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Pol Pharm*, v. 71, n. 1, p. 11-23, 2014.

KAUR, S.; BIJJEM, K. R.; SHARMA, P. L. Anti-inflammatory and antihyperalgesic effects of the combination of ibuprofen and hemin in adjuvant-induced arthritis in the

wistar rat. *Inflammopharmacology*, v. 19, n. 5, p. 265-272, 2011. doi:10.1007/s10787-011-0090-8

KEOGH, E.; ECCLESTON, C. Sex differences in adolescent chronic pain and pain-related coping. *Pain*, v. 123, n. 3, p. 275-284, 2006. doi:10.1016/j.pain.2006.03.004

KIM, S. J., SEO, J. T. Selection of analgesics for the management of acute and postoperative dental pain: a mini-review. *J Periodontal Implant Sci*, v. 50, n. 2, p. 68-73, 2020. doi:10.5051/jpis.2020.50.2.68

LEJEUNE, V. B. P.; *et al.* Antinociceptive and anxiolytic-like effects of *Lavandula angustifolia* essential oil on rat models of orofacial pain. *J Appl Oral Sci*, v. 30, 2023. doi:10.1590/1678-7757-2002-0304

LINO, P. A.; *et al.* A national study on the use of opioid analgesics in dentistry. *Brazilian Oral Research*, v. 33, 2019. doi:10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0076

LOPES, G. S.; *et al.* Sex differences in associations between CYP2D6 phenotypes and response to opioid analgesics. *Pharmgenomics Pers Med*, v. 13, p. 71-79, 2020. doi:10.2147/PGPM.S239222

MABA, I. K.; CRUZ, J. V.; ZAMPRONIO, A. R. Change in prostaglandin signaling during sickness syndrome hyperalgesia after ovariectomy in female rats. *Behav Brain Res*, v. 23, p. 410, 2021. doi:10.1016/j.bbr.2021.113368

MAIA, L. O.; DALDEGAN-BUENO, D.; FISCHER, B. Opioid use, regulation, and harms in Brazil: a comprehensive narrative overview of available data and indicators. *Subst Abuse Treat Prev Policy*, v. 16, n. 1, p. 12, 2021. doi:10.1186/s13011-021-00348-z

MALAMED, S. F. Pain management following dental trauma and surgical procedures. *Dent Traumatol*, v. 39, n. 4, p. 295-303, 2023. doi:10.1111/edt.12840

MALLET, C.; *et al.* An updated review on the metabolite (AM404)-mediated central mechanism of action of paracetamol (acetaminophen): experimental evidence and potential clinical impact. *J Pain Res*, v. 16, p. 1081-1094, 2023. doi:10.2147/JPR.S393809

MIDAVAINÉ, É.; *et al.* Glial and neuroimmune cell choreography in sexually dimorphic pain signaling. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 125, p. 168-192, 2021. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.01.023

MIRANDA, H. F.; *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs in tonic, phasic and inflammatory mouse models. *Drug Res (Stuttg)*, v. 69, n. 10, p. 572-578, 2019. doi:10.1055/a-0956-673

MOGIL, J. S. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. *Nat Rev Neurosci*, v. 13, n. 12, p. 859-866, 2012. doi:10.1038/nrn3360

MOGIL, J. S. Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature. *Nat Rev Neurosci*, v. 21, n. 7, p. 353-365, 2020. doi:10.1038/s41583-020-0310-6

MOORE, R. A.; *et al.* Non-prescription (OTC) oral analgesics for acute pain - an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Ver*, v. 2015, n. 11, 2015. doi:10.1002/14651858.CD010794.pub2

NASSER, S. A.; AFIFY, E. A. Sex differences in pain and opioid mediated antinociception: modulatory role of gonadal hormones. *Life Sci*, v. 237, 2019. doi:10.1016/j.lfs.2019.116926

NOGUEIRA, T. E.; *et al.* The economic burden of opioid prescription by dentists: A 12-month survey of consumer expenditure in Brazil. *J Public Health Dent*, v. 77, n. 4, p. 285-289, 2017. doi:10.1111/jphd.12231

OHASHI, N.; KOHNO, T. Analgesic effect of acetaminophen: a review of known and novel mechanisms of action. *Front Pharmacol*, v. 11, 2020. doi:10.3389/fphar.2020.580289

RIVERA, A.; *et al.* Dopamine D (4) receptor stimulation prevents nigrostriatal dopamine pathway activation by morphine: relevance for drug addiction. *Addict Biol*, v. 22, n. 5, p. 1232-1245, 2017. doi:10.1111/adb.12407

ROMERO-REYES, M.; *et al.* Spontaneous behavioral responses in the orofacial region: a model of trigeminal pain in mouse. *Headache*, v. 53, n. 1, p. 137-153, 2013. doi:10.1111/j.1526-4610.2012.02226.x

SCHÄFERS, M.; *et al.* Cyclooxygenase inhibition in nerve-injury- and TNF-induced hyperalgesia in the rat. *Exp Neurol*, v. 185, n. 1, p. 160-168, 2004. doi:10.1016/j.expneurol.2003.09.015

SHANSKY, R. M.; MURPHY, A. Z. Considering sex as a biological variable will require a global shift in science culture. *Nat Neurosci*, v. 24, n. 4, p. 457-464, 2021. doi:10.1038/s41593-021-00806-8

SHARP, J. L.; PEARSON, T.; SMITH, M. A. Sex differences in opioid receptor mediated effects: Role of androgens. *Neurosci Biobehav Ver*, v. 134, 2022. doi:10.1016/j.neubiorev.2022.104522

SORGE, R. E.; *et al.* Different immune cells mediate mechanical pain hypersensitivity in male and female mice. *Nat Neurosci*, v. 18, n. 8, p. 1081-1083, 2015. doi:10.1038/nn.4053

STEPANOVIC-PETROVIC, R. M.; *et al.* Pharmacological interaction between oxcarbazepine and two COX inhibitors in a rat model of inflammatory hyperalgesia.

Pharmacol Biochem Behav, v. 97, n. 3, p. 611-618, 2011. doi:10.1016/j.pbb.2010.11.007

PEREIRA, R. J.; MUNECHIKA, M.; SAKATA, R. K. Tratamento da dor após procedimento cirúrgico ambulatorial. Revista Dor, v. 14, n. 1, p. 61–67, 2013. doi: 10.1590/S1806-00132013000100015

PERGOLIZZI, J.; *et al.* The development of chronic pain: Physiological change necessitates a multidisciplinary approach to treatment. Current Medical Research and Opinion, v. 29, n. 9, p. 1127–1135, 2013. doi:10.1185/03007995.2013.810615

POPESCU, A.; *et al.* Gender differences in pain modulation by diffuse noxious inhibitory controls: a systematic review. Pain, v. 150, n. 2, p. 309-318, 2010. doi:10.1016/j.pain.2010.05.013

URATA, K.; *et al.* Involvement of TRPV1 and TRPA1 in incisional intraoral and extraoral pain. J Dent Res, v. 94, n. 3, p. 446-454, 2015. doi:10.1177/0022034514565645

VAN DE GLIND, E. M.; *et al.* Acetaminophen for self-reported sleep problems in an elderly population (ASLEEP): study protocol of a randomized placebo-controlled double-blind trial. Trials, v. 15, p. 10, 2014. doi:10.1186/1745-6215-15-10

VARRASSI, G.; *et al.* Ibuprofen safety at the golden anniversary: are all NSAIDs the same? A narrative review. Adv Ther, v. 37, n. 1, p. 61-82, 2020. doi:10.1007/s12325-019-01144-9