



MARA LUANA BATISTA SEVERO

U

**ESTUDO COMPARATIVO DO USO DO GEL DE PRÓPOLIS E DA
GELEIA REAL NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL
INDUZIDA QUIMICAMENTE– ESTUDO EXPERIMENTAL *IN VIVO***

F

R

N

NATAL/RN

2020

MARA LUANA BATISTA SEVERO

**ESTUDO COMPARATIVO DO USO DO GEL DE PRÓPOLIS E DA GELEIA
REAL NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL INDUZIDA
QUIMICAMENTE– ESTUDO EXPERIMENTAL *IN VIVO***

NATAL/RN

2020

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Alberto Moreira Campos - -Departamento de Odontologia

Severo, Mara Luana Batista.

Estudo comparativo do uso do gel de própolis e da geleia real no tratamento da mucosite oral induzida quimicamente? estudo experimental in vivo / Mara Luana Batista Severo. - Natal, 2020. 108 f.: il.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Éricka Janine Dantas da Silveira.

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Manoela Domingues Martins.

Tese (Doutorado em Ciências Odontológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Natal, 2020.

1. Mucosite oral - Tese. 2. Tratamento - Tese. 3. Medicamentos fitoterápicos - Tese. 4. Estresse oxidativo - Tese. I. Silveira, Éricka Janine Dantas da. II. Martins, Manoela Domingues. III. Título.

RN/UF/BSO

BLACK D61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE – UFRN

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA-DOD

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS-PPGCO

MARA LUANA BATISTA SEVERO

**ESTUDO COMPARATIVO DO USO DO GEL DE PRÓPOLIS E DA GELEIA
REAL NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL INDUZIDA
QUIMICAMENTE– ESTUDO EXPERIMENTAL *IN VIVO***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas – área de concentração em Patologia Oral e Estomatologia.

Orientadora: **Prof^ª. Dr^ª. Éricka Janine Dantas da
Silveira**

NATAL/RN

2020

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, bem como todas demais conquistas da minha vida, a Francisca Eliete Batista Severo, minha mãe querida. A qual me deu a vida, amor e oportunidade, sempre acreditando na minha capacidade e força de viver. Obrigada mamãe pela paciência, dedicação, cuidado, assistência, carinho, desde o primeiro momento da minha existência.

Te amo imensamente.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a ti meu Deus, pela proteção e fortaleza que me destes, para que eu pudesse enfrentar todos os desafios encontrados ao longo destes 4 anos de doutorado. Foram tantas barreiras, porém, nunca me faltaste!

Agradeço aos meus familiares, em especial ao meu pai José Severo Neto, a minha irmã Malu Severo, e ao meu tio Ermano da Costa, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em todos os momentos da minha vida.

Desejo manifestar os meus agradecimentos a todos àqueles que, de alguma forma, permitiram que esta tese se concretizasse.

Agradeço a minha orientadora Prof^a Dra Éricka Janine Dantas da Silveira, pela confiança, apoio e orientação nestes 6 anos de pós-graduação. Foram tempos de muito aprendizado sob sua orientação. Sinto-me bastante privilegiada por ter convivido com uma pessoa tão generosa e dedicada aos ofícios do magistério superior. Meus sinceros agradecimentos!

Agradeço a minha coorientadora Prof^a Dra Manoela Domingues Martins, por me receber tão bem junto a sua equipe de trabalho. Pude aprender bastante sob sua orientação. Muito obrigada pelo carinho. Espero que esse seja o primeiro trabalho de muitas outras parcerias.

Agradeço as “Manoeletes” Stefanie Thieme, Júlia Turra Ribeiro e Felipe Silveira pela ajuda durante os dias de experimento. Foram dias de muito trabalho e de muitas conversas bacanas. Agradeço também aos demais alunos do departamento de Patologia Oral da UFRGS, que me receberam tão bem durante o tempo em que convivemos.

Agradeço ao William Oliveira Carvalho, amigo querido, e a sua família que me receberam tão bem. Com certeza os meus dias em Porto Alegre foram mais felizes junto a vocês. Foi um imenso prazer conhecê-los.

As professoras, Aurigena Antunes de Araújo e Silvana Maria Zucolotto, agradeço a permissão para a realização dos ensaios de estresse oxidativo e análise fitoquímica realizados no presente trabalho, bem como o auxílio da leitura dos resultados.

Agradeço a todos os meus mestres, Prof Dr Leão Pereira Pinto, Lélia Batista de Souza, Lélia Maria Guedes Queiroz, Hébel Cavalcanti Galvão, Roseana de Almeida Freitas, Márcia Cristina da Costa Miguel e Antonio de Lisboa Lopes Costa, por proporcionar o conhecimento que foi fundamental na minha formação, bem como pelo incentivo em trilhar esse caminho repleto de novos saberes.

Aos meus colegas de turma Hugo Costa Neto, Luiz Arthur Barbosa da Silva, Amanda Katherine Gois Gonzaga, Patrícia Guerra Peixe e Rodrigo Porpino Mafra pelo companheirismo durante esse tempo em que estivemos juntos. Em especial aos meus companheiros de apartamento, Leorik Pereira da Silva e Mariana Figueiredo, obrigada pela paciência, carinho e amizade, vocês fizeram meus dias mais felizes nesse tempo em que convivemos juntos, com certeza esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

Aos demais colegas doutorandos e mestrandos que fizeram e fazem parte da grande família Patologia Oral. Tantos momentos de aprendizagem, descontrações e confraternizações, sempre tão animados.

A todos os funcionários da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em especial aos funcionários que compõem a família do programa de pós-graduação e Patologia Oral,

Graça Galvão, Maria de Lourdes Maciel, Sandovânia Oliveira, Beth Garcia, Idelzuite Souza, Ricardo Lima Silva e Hévio Lucena pela disponibilidade de sempre ajudar.

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), direção e administração que oportunizaram durante esses tempo de pós-graduação muito conhecimento e oportunidades, que contribuíram grandemente na minha formação como pesquisadora.

Agradeço a Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro que me permitiu concluir esse Doutorado. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio por meio de uma bolsa de Doutorado sanduíche no país, o qual me possibilitou realizar parte dos experimentos dessa tese.

Meus singelos e sinceros agradecimentos.

O Homem na Arena

Não é o crítico que importa; nem aquele que aponta onde foi que o homem tropeçou ou como o autor das façanhas poderia ter feito melhor.

O crédito pertence ao homem que está por inteiro na arena da vida, cujo rosto está manchado de poeira, suor e sangue; que luta bravamente, que erra, que decepciona, porque não há esforço sem erros e decepções, mas que, na verdade, se empenha em seus feitos; que conhece o entusiasmo, as grandes paixões; que se entrega a uma causa digna; que, na melhor das hipóteses, conhece no final o triunfo da grande conquista e que, na pior, se fracassar, ao menos fracassa ousando grandemente.

Theodore Roosevelt, 23 de abril de 1910.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcento
10-HDA	10-hidroxi-2-decanoico
5-FU	5-fluorouracil
AKT	Serina/treonina-quinase
ATP	Adenosina-trifosfato
BSA	Do inglês <i>Bovine Serum Albumin</i> , traduzido como Albumina sérica bovina
C	Controle
CCD	Cromatografia de camada Delgada
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm²	Centímetro quadrado
CMC	Carboximetilcelulose
COX-2	Ciclooxigenase-2
DNA	Do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i> , traduzido como Ácido desoxirribonucleico
EGF	Do inglês <i>Epidermal Growth Factor</i> , traduzido como Fator de crescimento epidérmico
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FBM	Fotobiomodulação
FDHs	Fibroblastos dérmicos humanos
FGF-1	Do inglês <i>fibroblast growth fator</i> , traduzido como Fator de crescimento de fibroblastos 1
GR	Geleia real
GSH	Glutationa
GSH-Px	Glutationa peroxidase (GSH-Px)
H	Hora
HBRJ-AIF	Do inglês <i>honeybees RJ-derived anti-inflammatory fator</i> , traduzido como Fator antiinflamatório das abelhas derivado da geleia real
HCPA	Hospital de clínicas de Porto Alegre
HFL-I	Do inglês <i>human embryonic lung fibroblast</i> , traduzido como Fibroblastos pulmonares embrionários humanos
HO	Do inglês <i>hydroxy</i> , traduzido como Radical hidroxila
HO-1	Heme oxigenase-1
HUVECs	Do inglês <i>Human umbilical vein endothelial cells</i> , traduzido como Células endoteliais da veia umbilical humana
ICT	Irradiação corporal total
IκB	I-kappa-B inibir o fator de transcrição NF-κB
IL-1β	Interleucina -1β
IL-6	Interleucina -6
INOS	Do inglês <i>Nitric Oxide Synthases</i> , traduzido como Óxido nítrico sintetase induzível

IRS	Do inglês <i>Immunoreactive Score</i> , traduzido como Escore de Imunoreatividade
J	Joules
JNK	c-Jun N-terminal quinase
Kg	Kilograma
KGF-1	Do inglês <i>Keratinocyte Growth Factor-1</i> , traduzido como Fator de crescimento recombinante dos queratinócitos humanos-1
KW	Kruskal-Wallis
LBI	Laser de baixa intensidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
MAPK	Do inglês <i>Mitogen-activated protein kinase</i> , traduzido como Proteína quinase ativada por mitogênio
MASCC	Do inglês <i>Multinational Association of Supportive Care in Cancer</i> , traduzido como Associação Multinacional de Cuidados de Suporte em Câncer
MCP-1	Do inglês <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i> , traduzido como Proteína quimiotática de monócitos 1
MDA	Malonaldeído
Mg	Miligrama
ml	Mililitro
MMPs	Do inglês <i>Matrix metalloproteinases</i> , traduzido como Metaloproteinases da matriz
MO	Mucosite Oral
MRJP-1	Do inglês <i>Major royal jelly protein 1</i> , traduzido como Proteína maior da geleia real 1
MRJP1-5	Do inglês <i>Major royal jelly protein 5</i> , traduzido como Proteína maior da geleia real 5
mTOR	Do inglês <i>Mammalian target of rapamycin</i> , traduzido como Proteína alvo da rapamicina em mamíferos
mTORC1	Do inglês <i>mammalian target of rapamycin complex 1</i> , traduzido como Proteína alvo da rapamicina em mamíferos complexo 1
mTORC2	Do inglês <i>mammalian target of rapamycin complex 2</i> , traduzido como Proteína alvo da rapamicina em mamíferos complexo 2
mW	Megawatts
NADH	Do inglês <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i> , traduzido como Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NCI	Do inglês <i>National Cancer Institute</i> , traduzido como Instituto Nacional do Câncer
NF-κB	Do inglês <i>nuclear factor-kappa B</i> , traduzido como Fator nuclear kappa B
Nm	Nanômetro
Nrf2	Do inglês <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> , traduzido como Fator nuclear eritroide relacionado ao fator 2

O₂	Oxigênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOOH	Ácido peroxinitroso
pAKT	Do inglês <i>Phosphoserina/treoninaProteinquinase</i> , traduzido como serina/treonina-quinases
PBMT	Do inglês <i>Photobiomodulation Therapy</i> , traduzido como Terapia fotomoduladora
PDK-1	Do inglês <i>Phosphoinositide-dependent protein kinase-1</i> , traduzido como Proteína dependente de fosfoinositol-1
PI3K	Do inglês <i>Phosphoinositide 3-kinases</i> , traduzido como fosfatidilinositol-3-cinase
PP	Percentual de células positivas
Pr	Proteínas
PrOO	Proteína oxidada
pS6	Do inglês <i>Phospho-S6 Ribosomal Protein</i> , traduzido como proteína ribossomal 6
RJ	Do inglês <i>Royal jelly</i> , traduzido como Geleia Real
RNA_m	Do inglês <i>Messenger ribonucleic acid</i> , traduzido como Ácido ribonucleico mensageiro
ROO	Radicais peroxila
RT	Radioterapia
S	Segundos
S6	Proteína ribossômica S6
Ser473	Serina 473
SI	Do inglês <i>stain intensity</i> , traduzido como Intensidade de marcação
SOD	Superóxido dismutase
SOD1	Superóxido dismutase-1
TCPH	Transplante de células progenitoras hematopoiéticas
TGF-β1	Do inglês <i>transforming growth factor beta</i> , traduzido como Fator de transformação do crescimento beta 1
Thr308	Treonina 308
TMO	Transplante de medula óssea
TNF-α	Do inglês <i>Tumor necrosis factor alpha</i> , traduzido como Fator de necrose tumoral alfa
TP53	Do inglês <i>tumor suppressor p53</i> , traduzido como Proteína supressora tumoral p53
VEGF	Do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i> , traduzido como Fator crescimento endotelial vascular
WinPepi	Do inglês <i>Freeware computer programs for epidemiologists</i> , traduzido como software computacional gratuito
Mg	Micrograma

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Envolvimento do NF-kB nas respostas celulares. Esquema mostra os estímulos que ativam as ações do NF-kB (flecha contínua) e fenômenos nos quais a ativação do NF-kB está envolvida (flecha pontilhada). Fonte: Glezer et al. 2000.....	26
Figura 2 -	Modelo dos múltiplos mecanismos no desenvolvimento da mucosite. Fonte: Sonis 2007.....	27
Figura 3 -	Mecanismo de atuação dos principais radicais livres gerados durante as reações do estresse oxidativo tecidual. Fonte: Gebicki, 2016.....	28
Figura 4 -	Via de sinalização mTOR. O esquema mostra as principais vias de sinalização que regulam mTORC1 e mTORC2 e a atuação de cada uma na ativação da via mTORC. Fonte: Kim et al. (2013).....	29
Quadro 1 -	Guidelines para prevenção e tratamento da Mucosite oral em pacientes submetidos a TCPH de acordo com a MASCC.....	30

SUMÁRIO

1	REFERENCIAL TEÓRICO	20
1.1	MUCOSITE ORAL (MO).....	20
1.2	BIOPATOLOGIA DA MO.....	22
1.3	PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MO.....	27
1.4	TERAPIAS ALTERNATIVAS NO MANEJO DA MO.....	33
2	OBJETIVOS	43
2.1	GERAL.....	43
2.2	ESPECÍFICOS.....	43
3	ARTIGO 1	
	Eficácia dos fitoterápicos no tratamento da mucosite oral induzida por 5-fluorouracil em modelos animais: Uma revisão sistemática.....	45
4	ARTIGO 2	
	Terapias com própolis e geleias real reduzem inflamação e estimulam a cura de mucosite oral quimioinduzida por 5-fluorouracil em ratos.....	70
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	99
	REFERÊNCIAS	101
	ANEXOS	111

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos da própolis(P) e da geleia real(GR) em comparação a terapia de fotobiomodulação (FBM) com laser de baixa intensidade em um modelo animal de mucosite oral (MO) quimioinduzida por 5-fluorouracil (5-FU). Adicionalmente, verificar por meio de uma revisão sistemática da literatura o efeito da fitoterapia no tratamento da MO quimioinduzida 5-FU em modelo animal. **Material e Métodos:** Trata-se de um estudo *in vivo*, experimental, controlado e cego. Setenta e dois ratos *Wistar* foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (n = 18): controle (C) (sem tratamento), terapia de fotobiomodulação (FBM) (laser intraoral 6 J/cm²), gel de própolis (P) e geleia real (GR). Nos dias 0 e 2, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU. Nos dias 3 e 4, a mucosa bucal foi escarificada. As terapias foram iniciadas no dia 5. Seis animais por grupo foram eutanasiados nos dias 8, 10 e 14. A análise fitoquímica da própolis e da geleia real foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). As análises clínica e histopatológica (baseada nos escores de reepitelização e inflamação) foram realizadas por fotografias e lâminas coradas em Hematoxilina e Eosina, respectivamente. Os estudos imuno-histoquímicos (pAKT, p-S6 e NFκB) e do estresse oxidativo (Superóxido Dismutase-SOD, Glutathiona reduzida-GSH e Malonaldeído-MDA) foram realizados. Em seguida, uma busca sistemática da literatura foi realizada por meio da pesquisa nas bases de dados PubMed/Medline, CENTRAL (The Cochrane Library), EMBASE e Web of Science, a partir dos registros iniciais até janeiro de 2020. **Resultados:** A análise da CCD revelou a presença de compostos como terpenos, saponinas, óleos essenciais e flavonoides no P e de alta quantidade de sacarose (*Rf*0,34) na RG. Nos dias 8 e 10, os animais dos grupos FBM, P e GR apresentaram melhora clínica da MO e cicatrização acelerada com menores escores morfológicos, aumento da imunoexpressão das proteínas pS6 (exceto no dia 10), pAKT (ANOVA e teste de Tukey; p <0,05) e fator de transcrição NF-κB (teste de Mann Whitney; p <0,05) quando comparados ao grupo controle. No dia 14, o grupo P aumentou os níveis do antioxidante GSH quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste de Tukey; p <0,05). Treze artigos foram incluídos na revisão sistemática da literatura (todos utilizando o 5-FU para indução de MO em animais), de um total de 503 artigos. A formulação dos tratamentos variou de aplicação tópica de pomada, gel e extrato, até a ingestão de fitoterápicos. Todas as pesquisas investigadas exibiram resultados promissores no uso de fitoterápicos no manejo da MO. **Conclusões:** Nossos resultados evidenciaram que a P e a GR, assim como a FBM, são terapias eficazes no tratamento da MO. A presença de açúcares na GR e de flavonoides, terpenos e óleos essenciais na P justifica a

excelente ação cicatrizante de feridas e seus efeitos antiinflamatórios. Adicionalmente, o grupo P, exibiu redução do estresse oxidativo tecidual, em comparação aos grupos FBM, GR e controle. Nas 13 pesquisas avaliadas, pôde-se observar excelentes resultados na cicatrização tecidual, ação antiinflamatória, antimicrobiana e antioxidante, com o uso de fitoterápicos no tratamento da MO. Diante disso, pode-se sugerir que o uso de fitoterápicos é uma alternativa promissora no tratamento da MO quimioinduzida.

Palavras-chave: Mucosite oral. Tratamento. Vias de sinalização. Fitoterápicos. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of propolis (P) and royal jelly (RJ) compared to photobiomodulation therapy (PBMT) with low intensity laser in an animal model of oral mucositis (OM) chemically induced by 5-fluorouracil (5-FU). Additionally, to verify by means of a systematic review of the literature the effect of phytotherapy in the treatment of chemoinduced OM 5-FU in an animal model. **Material and Methods:** This is an in vivo, experimental, controlled and blind study. Seventy-two male and female Wistar rats were randomly assigned to four groups (n = 18): control (C) (without treatment), photobiomodulation therapy (PBMT) (6 J / cm² intraoral laser), propolis gel (P) and royal jelly (RJ). On days 0 and 2, the animals received an intraperitoneal injection of 5-FU. On days 3 and 4, the oral mucosa was scarified. Therapies were started on day 5. Six animals per group were euthanized on days 8, 10 and 14. Phytochemical analysis of P and RJ were performed by Thin Layer Chromatography (TLC). The clinical analysis was performed using photographs and the histopathological evaluation (hematoxylin / eosin) was based on the reepithelization and inflammation scores. Immunohistochemical studies (pAKT, p-S6 and NFκB) and oxidative stress (Superoxide Dismutase-SOD, Glutathione reduced-GSH and Malonaldehyde-MDA) were performed. Then, a systematic search of the literature was performed, by searching the PubMed / Medline, CENTRAL (The Cochrane Library), EMBASE and Web of Science databases, from the initial records until January 2020). **Results:** The TLC analysis revealed the presence of compounds such as terpenes, saponins, essential oils and flavonoids in P and a high amount of sucrose (Rf 0.34) in RJ. On days 8 and 10, animals in the PBMT, P and RJ groups showed clinical improvement of OM and accelerated healing with lower morphological scores, increased immunoexpression of pS6 proteins (except on day 10), pAKT (p <0.05, ANOVA and Tukey test) and NF-kB transcription factor (Mann Whitney test; p <0.05) when compared to the control group. On day 14, the P group increased the levels of the antioxidant GSH when compared to the control group (p <0.05, ANOVA and Tukey's test). Thirteen articles were included in the systematic literature review (all using the 5-FU to induce OM in animals), out of a total of 503 articles. The formulation of treatments ranged from topical application of ointment, gel and extract, to the intake of herbal medicines. All investigations showed promising results in the use of herbal medicines in the management of OM. **Conclusions:** Our results showed that P and RJ, as well as PBMT, are effective therapies in the treatment of OM. The presence of sugars in RJ and flavonoids, terpenes and essential oils in P justifies the excellent wound healing action and its anti-inflammatory effects. In addition, the P group

exhibited a reduction in tissue oxidative stress compared to the PBMT, RJ and control groups. In the 13 studies evaluated, it was possible to observe excellent results in tissue healing, anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant action with the use of herbal medicines in the treatment of OM. Therefore, it can be suggested that the use of herbal medicines is a promising alternative in the treatment of chemically induced OM.

Keywords: Oral mucositis. Treatment. Signaling pathways. Phytotherapics. Oxidative stress.

REFERENCIAL TEÓRICO

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 MUCOSITE ORAL (MO)

A mucosite é uma complicação comum que acomete pacientes que estão em tratamento oncológico, como radioterapia em cabeça e pescoço e/ou quimioterapia e transplante de células tronco-hematopoiéticas (VITALE *et al.*, 2017; SONIS; VILLA, 2018). Ela pode acometer a mucosa oral, sendo denominada de mucosite oral (MO) e a mucosa gastrointestinal (SURESH *et al.*, 2010; CINAUSERO *et al.*, 2017). Esta condição pode ser um dos fatores que pode aumentar a morbidade e mortalidade em pacientes portadores de câncer. A MO induzida por radioterapia constitui uma das maiores toxicidades dose-limitantes em pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço, que pode interferir diretamente na qualidade de vida do paciente e na continuidade da terapia oncológica (MARIA; ELIOPOULOS; MUANZA, 2017; WEISSHEIMER *et al.*, 2017; KUO *et al.*, 2018; SONIS; VILLA 2018; PEREIRA *et al.*, 2019; THIEME *et al.*, 2019; VILLA; SONIS, 2020).

É referido na literatura que entre os pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados com radioterapia, a MO ocorre em 90 a 97% dos pacientes. Alguns fatores de risco parecem estar implicados na probabilidade do paciente desenvolver esta complicação, como o local do campo de radiação, preexistência de doença dentária, higiene oral precária, baixa produção de saliva, função imune comprometida e focos de infecção local (SURESH *et al.*, 2010; ATILLA; TOPRAK; DEMIRER., 2017; CINAUSERO *et al.*, 2017; WEISSHEIMER *et al.*, 2017; SCHMIDT *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2019). Adicionalmente, Maria *et al.* (2017), referiram que o tratamento oncológico concomitante da radioterapia com a quimioterapia e o hábito de fumar também são fatores de riscos importantes para o desenvolvimento da MO, além da idade e gênero, sendo os pacientes jovens e do sexo feminino mais propensos a desenvolver esta complicação.

Quando decorrente da quimioterapia, a mucosite é denominada de inflamação químio-induzida. Este tipo de mucosite é mais comum em pacientes que recebem quimioterapia mieloblástica agressiva como, por exemplo, durante o condicionamento para transplante de medula óssea (TMO) (PAVESI *et al.*, 2009).

O quadro inflamatório presente na MO acarreta em dor e desconforto, o que pode comprometer fala, deglutição e alimentação, de forma que as lesões ulceradas podem levar à desidratação e má nutrição. Além disso, as ulcerações aumentam o risco para invasão microbiana, acarretando predisposição à infecções locais e/ou sistêmicas. O aumento da

severidade da MO pode ocasionar febre, risco de infecção, necessidade de nutrição parenteral, necessidade de uso de analgésicos intravenosos, sendo referido que a intensidade e curso clínico desta condição é dependente do tipo do tratamento oncológico e do sítio do tumor (PAVESI *et al.*, 2009; CINAUSERO *et al.*, 2017; WEISSHEIMER *et al.*, 2017).

A severidade clínica da MO é comumente avaliada pela Escala de Toxicidade Oral, em uma gradação estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Nessa escala estão preconizados critérios como presença de eritema e ulceração, dor local e capacidade de deglutição. A pontuação 0 (zero) é atribuída na ausência de anormalidade. Quando há presença de eritema sem tratamento necessário, caracteriza pontuação 1; a pontuação 2 é atribuída quando há quadro doloroso sem necessidade de analgésicos, com dificuldade na alimentação; no caso de pontuação 3, há presença de ulceração dolorosa exigindo o uso analgésicos e impossibilitando a alimentação; o grau 4 evidencia a presença de necrose com necessidade de nutrição parenteral.

Os critérios de toxicidade preconizados pelo *National Cancer Institute* (NCI), é outra forma possível de avaliação da MO. Esta classificação estabelece grau 0 na ausência de MO; grau 1 quando há úlceras indolores, eritema ou dor leve na ausência de úlceras; grau 2 na presença de eritema doloroso, edema ou úlceras, mas alimentar-se ou deglutir é possível; grau 3 na presença de eritema doloroso, edema, ou úlceras com necessidade de nutrição parenteral; grau 4 quando há ulceração grave ou necessidade de nutrição parenteral ou intubação profilática; e grau 5 em caso de morte relacionada à toxicidade.

Weissheimer *et al.* (2017) ao estudar a severidade da MO em pacientes submetidos a TCPH, observou que a incidência dessa lesão varia entre 75-100% em pacientes submetidos à TCPH, sendo que de 50-75% dos casos são classificados nos graus 3 e 4. A severidade da MO nesses pacientes, conforme o grau, pode ocasionar modificações negativas da qualidade de vida do paciente durante o tratamento, visto que pode comprometer a deglutição, a ingestão de alimentos e a capacidade de comunicação do paciente (FIGUEIREDO *et al.*, 2013; ATILLA; TOPRAK; DEMIRER, 2017; CINAUSERO *et al.*, 2017; WEISSHEIMER *et al.*, 2017; SCHMIDT *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2019).

A MO é geralmente autolimitada e seu curso clínico, como mencionado depende do tipo de tratamento oncológico. Entre os pacientes que recebem quimioterapia, os primeiros sinais aparecem logo após a administração e geralmente com pico da manifestação clínica nos dias 7 a 14, com remissão na semana seguinte (VILLA; SONIS, 2015). Por outro lado, a mucosite

induzida por RT geralmente se desenvolve durante a segunda ou terceira semana de tratamento e muita vez persiste até 2-4 semanas após a última sessão (VILLA; SONIS, 2015; PEREIRA *et al.*, 2019).

Além do uso das terapias oncológicas convencionais (Radioterapia e Quimioterapia) citadas que estão envolvidas no desenvolvimento da MO, cita-se também que terapias-alvo, como as baseadas nos inibidores de mTOR também produzem efeitos tóxicos importantes sobre a mucosa, principalmente sobre a mucosa oral, denominadas estomatites profundas (grandes ulcerações). Os inibidores de mTOR, como o Everolimus, são atualmente usados no tratamento de uma série de tumores sólidos, incluindo mama, neuroendócrino do trato gastrointestinal e renal, já que segundo Sonis e Villa (2015), a via de sinalização mTOR é responsável por conferir resistência a algumas drogas utilizadas no tratamento do câncer (VILLA; SONIS, 2015; CINAUSERO *et al.*, 2017; SCHMIDT *et al.*, 2019).

1.2 BIOPATOLOGIA DA MUCOSITE ORAL

A mucosite se desenvolve em um processo de várias fases e compromete tanto o revestimento epitelial das mucosas como as células presentes na submucosa (VILLA; SONIS, 2015). Algumas etapas têm sido relacionadas ao seu desenvolvimento como: a iniciação, supra-regulação e ativação, que acarretam na geração de mediadores inflamatórios, amplificação de sinal, ulceração e cura. Os elementos que conduzem cada fase representam potenciais alvos de intervenção (SONIS, 2004; SONIS; VILLA 2018).

O início da mucosite é desencadeado pelo estresse oxidativo, que por meio da liberação das espécies reativas de oxigênio (EROS) ocorre dano direto ao ácido desoxirribonucleico (DNA) celular, dano ao sistema de endomembranas celulares, ativação da resposta imune inata por meio da ativação de macrófagos e ativação de vários fatores de transcrição, dentre eles destaca-se o fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SONIS; VILLA 2018; VILLA; SONIS, 2020).

A ativação do NF- κ B é um evento extremamente importante na patogênese da mucosite tecidual (SONIS; VILLA 2018; VILLA; SONIS, 2020), pois, uma vez ativado, o NF- κ B estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL)-6 e interleucina 1 β (IL-1 β), assim como ciclooxigenase-2 (COX-2), óxido nítrico sintase indutível (iNOS), superóxido dismutase (SOD) e moléculas de adesão celular (SONIS; VILLA 2018; VILLA; SONIS, 2020).

Já foram encontrados níveis séricos aumentados do NF-κB previamente ao surgimento de lesões de MO (VILLA; SONIS, 2015). A regulação de outros genes acarreta na expressão de moléculas de adesão e angiogênese (SONIS, 2004, SONIS, 2009). A liberação de TNF-α gera um *feedback* sobre NF-κB para amplificar sua resposta e ativa a proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK), conduzindo à ativação da via de sinalização mediada por c-Jun N-terminal quinase (JNK). Adicionalmente, há também participação de vias independentes do NF-κB, como a via da ceramida, que resulta em apoptose das células epiteliais levando a ulceração mucosa (fase ulcerativa) e estímulo da angiogênese local (SONIS, 2004; SONIS 2009; SONIS; VILLA, 2018).

De forma detalhada, Maria, Eliopoulos e Muanza (2017) relataram que, o dano do DNA e os EROS atuam através de três vias principais, como na degradação da fibronectina, que estimula os macrófagos o que conduz à ativação das metaloproteinases da matriz (MMPs), ativação de NF-κB, que estimula a expressão gênica e a liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-1β e IL-6), e a via da ceramida através de esfingomielinase e ceramida sintase. O resultado final será mais lesão tecidual e aumento na apoptose, sendo a barreira protetora da membrana basal perdida durante a fase de ulceração.

O fator de transcrição NF-κB pertence a uma família de fatores de transcrições centrais que coordenam uma série de ações envolvidas na resposta inflamatória, ativação do sistema imune inato e adaptativo, diferenciação, proliferação e sobrevivência celular em quase todos os organismos multicelulares (MITCHELL; VARGAS; HOFFMANN, 2016).

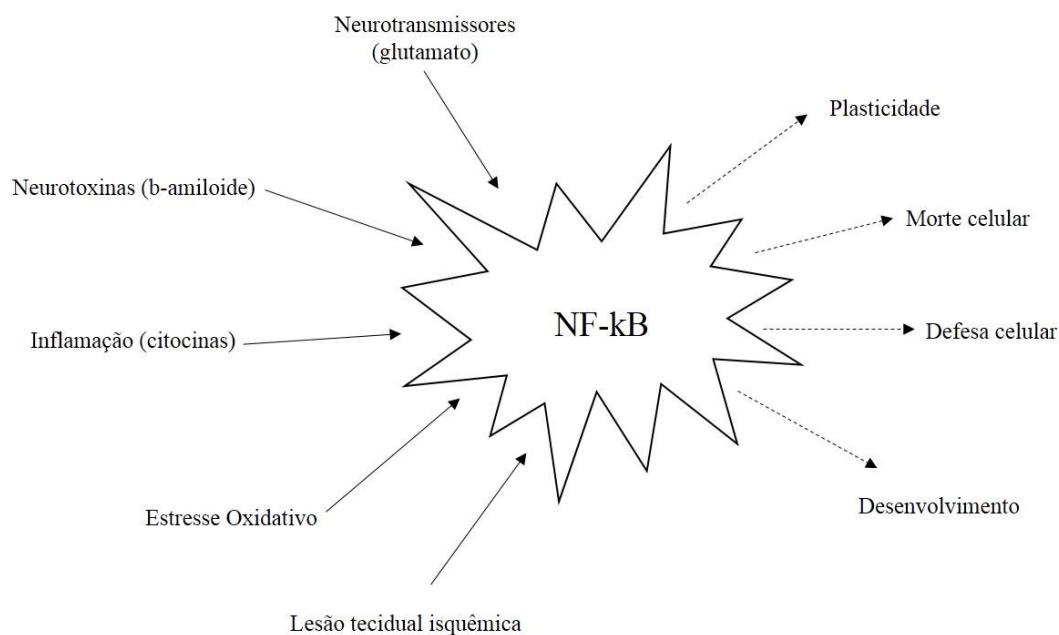
A ativação da via NFκB tem sido amplamente atribuída a uma série de doenças, que variam de neoplasias malignas à distúrbios inflamatórios e imunológicos. Como resultado, a identificação de fatores que regulam essa via e sua dinâmica, tem oferecido uma infinidade de objetivos terapêuticos que ainda precisam ser totalmente explorados e traduzidos para o uso clínico (SHIH *et al.*, 2011; MITCHELL; VARGAS; HOFFMANN, 2016).

Vários estímulos estão associados à ativação do fator de transcrição NF-κB, como neurotransmissores (glutamato), neurotrofinas, proteínas neurotóxicas (b-amiloide), citocinas (IL-1 e TNF), glicocorticoides, ésteres de forbol, peptídeo natriurético atrial, ceramidas, produtos provenientes de vírus e bactérias, irradiação ultravioleta, quimiocinas, como a proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), produtos de reações de enzimas como a óxido nítrico sintase induzível e a COX-2 (GLEZER *et al.*, 2000; SHIH *et al.*, 2011; MITCHELL; VARGAS; HOFFMANN, 2016) (Figura 1).

Independente do estímulo, parece haver participação de EROS (estresse oxidativo) e o aumento de cálcio intracelular para a ativação do NF-κB. Quando não estimulado, o NF-κB

encontra-se no citoplasma ligado a uma proteína inibitória: o I κ B. Esse complexo impede a translocação do NF- κ B para o núcleo. Assim, a fosforilação e a degradação do I κ B são necessárias para que ocorra a translocação nuclear do NF- κ B (SHIH *et al.*, 2011; MITCHELL; VARGAS; HOFFMANN, 2016).

Figura 1 - Envolvimento do NF- κ B nas respostas celulares. Esquema mostra os estímulos que ativam as ações do NF- κ B (flecha contínua) e fenômenos nos quais a ativação do NF- κ B está envolvida (flecha pontilhada).



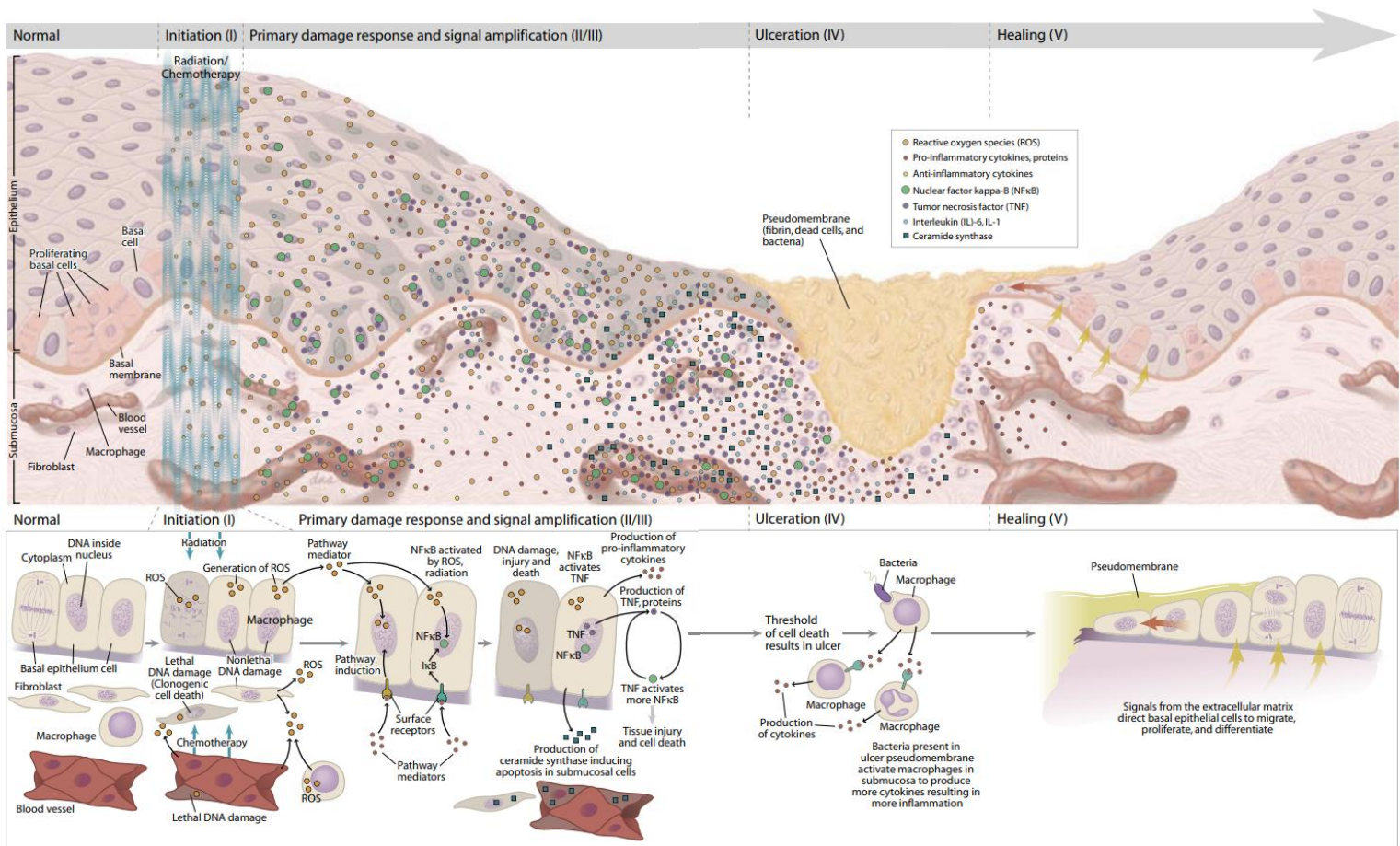
Fonte: Glezer *et al.*, 2000.

Do ponto de vista clínico, a mucosa inicialmente exhibe aspecto de normalidade apesar dos eventos biológicos desencadeados, mas o tempo entre o efeito do tratamento oncológico e o desencadeamento das cascatas de sinalização e as manifestações clínicas da MO (eritema e dor) é em torno de 4 dias, com as ulcerações ocorrendo pouco depois. Porém, consequências do dano celular nas vilosidades intestinais para desenvolvimento da mucosite gastrointestinal são quase imediatas, em 24-48h após início da quimioterapia (CINAUSERO *et al.*, 2017).

Apesar de todas estas fases terem sido descritas separadamente, todos estes estágios acontecem de forma contínua e dinâmica (Figura 2). Acredita-se que essa cascata de eventos repete-se sempre que existe o aparecimento da mucosite. Adicionalmente, alterações dos

mecanismos relacionados à imunidade, incluindo secreção de citocinas tóxicas e a neutropenia prolongada, contribuem para a intensidade do dano tecidual e duração dessas lesões nas mucosas (SONIS, 2004; SONIS, 2009; SONIS, 2011; SONIS; ANDREOTTA; LYNG, 2017).

Figura 2 - Modelo dos múltiplos mecanismos no desenvolvimento da mucosite.



O estresse oxidativo é definido como uma produção excessiva de espécies reativas oxigenadas (EROS) que não podem ser neutralizadas pela ação de antioxidantes, mas também como uma perturbação do equilíbrio redox celular. As EROS e espécies oxigenadas reativas nitrogenadas (ERNS) são representadas por radicais ânion superóxido, hidroxil, alcóxil e peróxil lipídico, óxido nítrico e peroxinitrito (PISOSCHI; POP, 2015; GEBICKI, 2016).

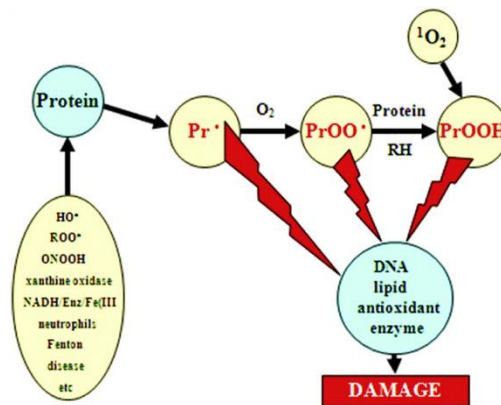
Os radicais livres primários gerados sob estresse oxidativo nas células e tecidos produzem uma cascata de radicais secundários reativos, que atacam biomoléculas com eficiência determinada pelas constantes da taxa de reação e pela concentração alvo. As proteínas são alvos proeminentes, uma vez que constituem a maior parte do conteúdo orgânico de células

e tecidos e reagem prontamente com muitos dos radicais secundários (PISOSCHI; POP, 2015; GEBICKI, 2016).

As reações comumente levam à formação de radicais centrados no carbono, que geralmente se convertem *in vivo* em radicais peroxil e, finalmente, em hidroperóxidos semi-estáveis. Todos esses intermediários podem iniciar danos biológicos (GEBICKI, 2016) (Figura 3).

O estresse oxidativo determina modificações na estrutura e na função em ácidos nucleicos, lipídios e proteínas. A degradação oxidativa dos lipídios produz malondialdeído e 4-hidroxinonena, mas também isoprostanos, a partir de ácidos graxos insaturados. Podem ocorrer danos às proteínas com oxidação do tiol, carbonilação, oxidação da cadeia lateral, fragmentação, desdobramento e desdobramento, resultando em perda de atividade. A 8-hidroxi-desoxiguanosina é um índice de dano ao DNA peroxinitrito (PISOSCHI; POP, 2015; GEBICKI, 2016).

Figura 3 - Mecanismo de atuação dos principais radicais livres gerados durante as reações do estresse oxidativo tecidual. Fonte: Gebicki, 2016

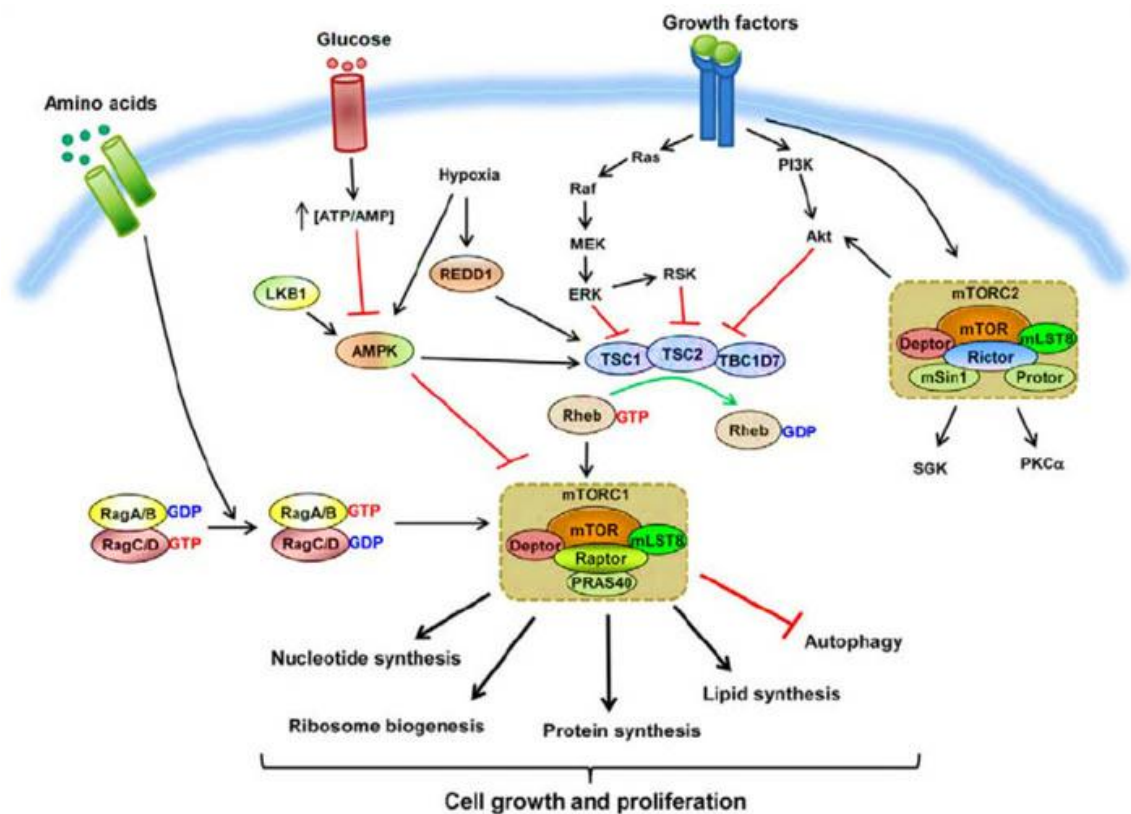


Fonte: Gebicki, 2016.

Alguns autores têm relacionado à via da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) ao desenvolvimento das lesões bucais associadas à mucosite e ulcerações aftosas (SONIS, 2009; BOERS-DOETS *et al.*, 2013; IGLESIAS-BARTOLOME *et al.*, 2012; SONIS; ANDREOTTA; LYNG, 2017). A via PI3K (fosfatidilinositol-3-cinase)-mTOR é ativada pela AKT (serina/treonina-quinase) principalmente pela sua fosforilação nos seus resíduos Thr308 e Ser473 (CASTILHO; SQUARIZE; GUTKIND, 2013; ROSSELLI-MURAI *et al.*, 2013). Tem sido relatado que a ativação de PIK3-mTOR regula a síntese de proteínas necessárias para

progressão do ciclo celular, crescimento e sobrevivência celular, uma vez que aumenta a proliferação de células epiteliais e a migração acelerando a cicatrização de feridas (SONIS, 2009; CASTILHO; SQUARIZE; GUTKIND, 2013; JIN *et al.*, 2013; SQUARIZE *et al.*, 2010; PELLICIOLI *et al.*, 2014; TOMIOKA *et al.*, 2014; SONIS; ANDREOTTA; LYNG, 2017). Esta via é parte de dois complexos: mTORC1 (leva a fosforilação de S6) e mTORC2 (leva a fosforilação de AKT) (Figura 4).

Figura 4 - Via de sinalização mTOR. O esquema mostra as principais vias de sinalização que regulam mTORC1 e mTORC2 e a atuação de cada uma na ativação da via mTORC.



Fonte: Kim, Buel e Blenis, 2013.

Já foi evidenciada presença de AKT (473) fosforilada durante o processo de cicatrização de feridas produzidas em língua de rato na camada espinhosa e basal do epitélio (SQUARIZE *et al.*, 2010). Iglesias-Bartolome *et al.* (2012) mostraram que tratamentos com rapamicina inibem mTOR, limitando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio.

1.3 PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL

Nos últimos anos, alguns estudos foram realizados com enfoque na prevenção e tratamento da MO decorrente da terapia oncológica (PAVESI *et al.*, 2009; FERNANDES *et al.*, 2010; PAVESI *et al.*, 2011; CURRA *et al.*, 2013; LOPEZ *et al.*, 2013; COELHO *et al.*, 2015; CUBA *et al.*, 2016; WAGNER *et al.*, 2017; SENER *et al.*, 2019). Há na literatura o registro do emprego de mais de 20 medidas profiláticas para a MO, podendo ser citados: laserterapia de baixa intensidade, crioterapia, gluconato de clorexedina 0,12%, higiene oral, glutamina, benzidamida, sucralfato, vitamina E, vitamina A, dentre outras (CINAUSERO *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019; SENER *et al.*, 2019). Mas, a prevenção da MO é predominantemente baseada nos cuidados paliativos (enxáguas bucais, antiinflamatórios e higiene bucal) com o objetivo de aliviar os sintomas e controlar o possível infecções secundárias e/ou hemorragias (CURRA *et al.*, 2013; FIGUEIREDO *et al.*, 2013; SENER *et al.*, 2019).

Outros trabalhos, todavia, sugerem outras medidas profiláticas compostas por mecanismos biológicos envolvidos em cada fase da mucosite, a exemplo do uso do laser de baixa intensidade (LBI), que atualmente é a terapia padrão ouro na prevenção e tratamento da MO (ANTUNES *et al.*, 2007; ANTUNES *et al.*, 2008; SCHUBERT *et al.*, 2007; LOPEZ *et al.*, 2010; FIGUEIREDO *et al.*, 2013; LOPEZ *et al.*, 2013; MIGLIORATI *et al.*, 2013; OBEROI *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2015b; CURRA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015a; BEZINELLI *et al.*, 2014; MEDEIROS-FILHO; MAIA FILHO; FERREIRA, 2017; THIEME *et al.*, 2019).

A *Multinational Association of Supportive Care in Cancer* (MASCC) desenvolveu uma série de *guidelines* nos últimos anos sobre o tratamento e prevenção da MO e gastrintestinal. O quadro 1 mostra os principais trabalhos e sua evolução até a última atualização, desenvolvida por Lalla *et al.* (2014), em relação às práticas clínicas frente à MO em pacientes submetidos ao TCPH.

Quadro 1 - Guidelines para prevenção e tratamento da Mucosite oral em pacientes submetidos a TCPH de acordo com a MASCC.

GUIDELINE/AUTOR	RECOMENDAÇÕES

<p><i>Rubenstein et al., 2004</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cuidados orais e educação do paciente, numa tentativa de reduzir a gravidade de MO associada à quimioterapia ou terapia de radiação; 2. Analgesia com morfina para a dor de MO em pacientes submetidos a Transplante de células progenitoras hematopoiéticas (TCPH); 3. Fotobiomodulação (FBM) requer equipamento caro e treinamento especializado. Devido à variabilidade interoperador, ensaios clínicos são difíceis de realizar. No entanto, é incentivada, pelas evidências acumuladas em apoio do FBM. Para os centros capazes de suportar a tecnologia e treinamento necessários, é sugerido o uso de FBM, numa tentativa de reduzir a incidência de MO e a dor associada em pacientes submetidos a quimioterapia de alta dose ou quimioradioterapia pré-TCPH.
<p><i>Keefe et al., 2007</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cuidados de higiene oral e educação do paciente e da equipe multidisciplinar no uso de tais protocolos; 2. Analgesia com morfina para a dor de MO em pacientes submetidos a TCPH; 3. Em pacientes com malignidades hematológicas que vão receber quimioterapia de altas doses e com transplante autólogo de células tronco é recomendado o uso de fator de crescimento de queratinócitos-1 (palifermina) numa dose de 60 µg / kg por 4. Durante 3 dias antes do condicionamento e durante 3 dias pós-transplante, para a prevenção de MO; 5. Uso de crioterapia para prevenir a MO em pacientes que receberam altas doses de melfalan; 6. FBM para reduzir a incidência de MO e a dor associada, em pacientes que receberam quimioterapia de dose elevada ou radioquimioterapia antes de TCPH, se o centro de tratamento for capaz de suportar a tecnologia e formação profissional necessárias, pelo fato de que a FBM requer um equipamento

	<p>dispendioso e treinamento especializado. Devido à variabilidade interoperador, os ensaios clínicos são difíceis de conduzir, e seus resultados são difíceis de comparar. No entanto, o painel é incentivado pelas evidências acumuladas em apoio a FBM.</p>
<p><i>Lalla et al., 2014</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fator de crescimento recombinante dos queratinócitos humanos-1 (KGF-1 / palifermina) deve ser usado para prevenir a MO (a uma dose de 60 µg / kg por dia durante 3 dias antes do condicionamento e durante 3 dias após o transplante) em pacientes que receberam quimioterapia de dose elevada e irradiação corporal total (ICT), seguido de transplante autólogo de células estaminais, para uma malignidade hematológica; 2. FBM (comprimento de onda de 650 nm, potência de 40 mW, e cada centímetro quadrado tratado com o tempo necessário para uma dose de energia de tecido de 2 J / cm²), deve ser usada para prevenir a MO em pacientes que recebem TCPH condicionado com quimioterapia de dose elevada, com ou sem ICT; 3. Analgesia controlada pelo paciente com morfina para tratar a dor devido à MO em pacientes submetidos ao TCPH; 4. Protocolos de cuidados orais; 5. Crioterapia oral deve ser usada para prevenir a MO em pacientes que recebem doses elevadas de melfalan, com ou sem ICT, como condicionamento para TCPH.

Fonte: Lalla *et al.* (2014)

A fotobiomodulação (FBM), também conhecida como terapia laser de baixa intensidade ou baixa potência, é utilizada em terapias, ao contrário do laser de alta intensidade, que é usado com finalidade de corte ou cirúrgica. Os lasers de baixa potência mais utilizados são os de Hélio-Neônio e o laser de Diodo, que emitem luz na faixa do visível (vermelho) e na faixa do infravermelho, respectivamente. A onda emitida na faixa do vermelho apresenta um comprimento entre 630 e 690 nanômetros (nm), e o infravermelho está situado na faixa de 760

e 850 nm, sendo o mais utilizado o de 830 nm (ANTUNES *et al.*, 2007; ANTUNES *et al.*, 2008). O laser vermelho apresenta finalidade de reparação de tecidos mais superficiais, pois seu comprimento de onda não permite uma permeabilidade da luz nos tecidos profundos. Já o laser infravermelho é utilizado quando há a necessidade de influenciar tecidos mais profundos, ou quando se espera efeito analgésico (MEDEIROS-FILHO; MAIA FILHO; FERREIRA, 2017; THIEME *et al.*, 2019).

A FBM tem sido amplamente utilizada em processos patológicos como forma de acelerar o processo de cicatrização de feridas, demonstrando ação antiinflamatória. Estes efeitos podem estar relacionados com a ação do laser aumentando o metabolismo celular, o potencial regenerativo dos tecidos, a neovascularização e a formação de tecido cicatricial (PAVESI *et al.*, 2009; USUMEZ *et al.*, 2014; CURRA *et al.*, 2015; PANDESHWAR *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015b; MEDEIROS-FILHO; MAIA FILHO; FERREIRA, 2017; WEISSHEIMER *et al.*, 2017; SCHMIDT *et al.*, 2019). O efeito produzido pela FBM se baseia na capacidade de modulação de diversos processos metabólicos, mediante a conversão da energia luminosa aportada pela FBM através de processos bioquímicos e fotofísicos, os quais transformam a luz laser em energia útil para a célula. Os efeitos biológicos do laser incluem ativação na produção de Adenosina-trifosfato (ATP), auxílio na multiplicação de fibras colágenas, formação de enzimas específicas, auxílio ao sistema linfático, benefícios no desenvolvimento de novos vasos sanguíneos (microcirculação) e aumento significativo na síntese de proteínas e de DNA (WAGNER *et al.*, 2013; WAGNER *et al.*, 2016). Além disso, os queratinócitos respondem à FBM acelerando a migração epitelial, independente dos mecanismos de proliferação celular, contribuindo para a cicatrização das lesões de MO, sem causar dano ao DNA (PELLICOLI *et al.*, 2014). O laser também tem sido associado à ativação da via NF- κ B, reduzindo a severidade da MO (CURRA *et al.*, 2015).

Investigadores têm realizado estudos para avaliar os efeitos da FBM isoladamente ou em combinação com outras terapêuticas para tratamento e prevenção da MO. Resultados apresentam não somente a diminuição da intensidade da dor, como a diminuição da severidade da MO, sem apresentar efeitos colaterais (ANTUNES *et al.*, 2007; ANTUNES *et al.*, 2008; SCHUBERT *et al.*, 2007; LOPEZ *et al.*, 2013; MIGLIORATI *et al.*, 2013; OBEROI *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2015b; SILVA *et al.*, 2015a; BEZINELLI *et al.*, 2014; MEDEIROS-FILHO; MAIA FILHO; FERREIRA, 2017; THIEME *et al.*, 2019).

Protocolos de terapia com FBM com diferentes parâmetros vêm sendo descritos na literatura e mostram-se efetivos quando comparados com o efeito placebo.

Lopez *et al.* (2013) investigaram o efeito LBI na prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por 5-FU em *hamsters*. O grupo que submetido à PBM teve escores clínicos e histológicos significativamente melhores, quando comparado com o grupo controle.

Curra *et al.* (2015) estudaram se a FBM com laser de baixa intensidade como modalidade preventiva e/ou terapêutica, influenciaria na transcrição do NF-κB em casos de MO induzida por 5-FU em *hamsters*. A irradiação foi realizada usando um diodo de 660 nm, 40-mW Laser a 6 J / cm² durante 6 s / ponto, 0,24 J / ponto, para uma dose total de 1,44 J / dia de aplicação. A análise clínica revelou que os grupos que receberam a irradiação com laser apresentaram menos quadros de mucosite, quando comparados com os animais do grupo controle. Os animais do controle exibiram níveis mais baixos de NF-κB durante o desenvolvimento e cura da mucosite. A LBI preventiva associada aos protocolos combinados foram associados com níveis mais elevados de NF-κB no quinto dia. No entanto, o grupo terapêutico teve níveis mais altos nos dias 10 e 15. Esses achados sugerem que os protocolos PBM preventivos e / ou terapêuticos reduziu a gravidade da MO ativando a via NF-κB.

Vitale *et al.* (2017) avaliaram a eficácia da LBI em pacientes portadores de MO induzida por quimioterapia e por TCTH em dezesseis pacientes pediátricos. Os pacientes tanto do grupo placebo, quanto do grupo tratado com a LBI foram monitorados e avaliados nos dias 3, 7 e 11 após o primeiro dia de terapia a laser. Todos os pacientes tratados com LBI demonstraram melhora na sensação de dor a partir do dia 3 de aplicação, as ulcerações reduziram suas dimensões e o eritema desapareceu. Os pacientes do grupo placebo tiveram melhora a partir do dia 7. Diante dos resultados encontrados, estes autores sugeriram que a terapia com LBI é uma abordagem segura e inovadora em no manejo da mucosite oral. Dessa forma, a terapia a laser reduz os impactos negativos da MO, principalmente na ingestão nutricional, higiene bucal e qualidade de vida.

Thieme *et al.*, (2019) investigaram o efeito da irradiação com laser de diodo intraoral (IO) (6 J/cm²) e extraoral (EO) (6 J/cm² e 12 J/cm²) em casos de MO quimioinduzida por 5-FU em ratos *Wistar*. Os tempos de avaliação foram os dias 8, 10 e 14. Foi observado que no dia 08, os animais do grupo FBM EO 6 J/cm², apresentaram menores escores clínicos quando comparado ao grupo controle. Já nos dias 10 e 14, todos os grupos FBM exibiram melhora clínica da MO em comparação ao grupo controle. Em relação as características microscópicas, foi observado que no dia 08, todos os grupos FBM exibiram um processo acelerado de cicatrização e redução de espécies reativas de oxigênio, além de níveis mais altos do antioxidante glutathiona peroxidase (GSH-Px) em comparação ao grupo controle. Os autores

sugeriram que o uso dos protocolos de laser de diodo IO a EO testados, promoveram efeitos positivos no estado clínico, histopatológico e redox da MO induzida por 5-FU.

1.4 TERAPIAS ALTERNATIVAS NO MANEJO DA MUCOSITE ORAL

Algumas pesquisas têm sido realizadas na busca contínua de novas terapias para o tratamento e prevenção da mucosite (CINAUSERO *et al.*, 2017; KUO *et al.*, 2018). O uso de medicamentos à base de plantas (fitoterapia), como goiaba (FERNANDES *et al.*, 2010), mel de abelha (SUEMARU *et al.*, 2008; SENER *et al.*, 2019), própolis (SUEMARU *et al.*, 2008; NORONHA *et al.*, 2017), geleia real (SUEMARU *et al.*, 2008) camomila (MARTINS *et al.*, 2009; PAVESI *et al.*, 2011; CURRA *et al.*, 2013; SCHMIDT *et al.*, 2019), aloe vera (CUBA *et al.*, 2016), Curcumina (LÜER *et al.*, 2014; SCHMIDT *et al.*, 2019) e óleo de copaíba (WAGNER *et al.*, 2017), vem sendo proposto para tratamento da dor e reparação de lesões teciduais provocadas nesta condição.

Dentre estes produtos naturais, destacam-se a Própolis e da Geleia real, dois importantes produtos produzidos por abelhas do gênero *Apis. sp.* que são comumente usados em todo o mundo como nutrientes tradicionais e na farmacologia desde os tempos antigos (VIUDAMARTOS *et al.*, 2008; YUKSEL; AKYOL, 2016; ISIDOROV *et al.*, 2018).

A própolis é um produto natural que tem sido bastante utilizada no tratamento de feridas pela sua facilidade de utilização, inocuidade, baixo custo e poder bactericida/bacteriostático (BARBOSA *et al.*, 2009; VALENTE, 2014). A mesma é constituída basicamente de resinas, bálsamo, cera de abelha, óleos voláteis, pólen, acrescido pela coleta de diversas espécies vegetais (casca das árvores, gemas apicais, brotos, flores, exsudatos de plantas e até mesmo das folhas), as quais sofrem adição de secreções (BARBOSA *et al.*, 2009; AKYOL *et al.*, 2015). Dessa forma, a própolis é considerada um medicamento opoterápico, ou seja, substâncias obtidas a partir de glândulas, tecidos, outros órgãos ou secreções animais (YUKSEL; AKYOL, 2016). Dependendo do material coletado, a qualidade da própolis é definida, podendo interferir na sua atividade biológica e no seu uso medicinal (JUG; KONCIC; KOSALEC, 2014; KOCOT *et al.*, 2018; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019).

A própolis apresenta na sua constituição flavonoides, ácidos fenólicos e terpenoides (KOCOT *et al.*, 2018; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019). Os flavonoides são considerados os principais compostos responsáveis pelos efeitos benéficos da própolis. São compostos fenólicos provenientes de plantas, que agem em diferentes processos fisiológicos, atuando na ação e

absorção de vitaminas, nos processos de cicatrização, como antioxidantes e exercendo função antimicrobiana e moduladora do sistema imune (BARBOSA *et al.*, 2009; JUG; KONCIC; KOSALEC, 2014; AKYOL *et al.*, 2015; KUO *et al.*, 2018; KOCOT *et al.*, 2018; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019).

Vários métodos são usados em todo o mundo para extrair os componentes da própolis, sendo o uso do etanol, como solvente principal no método de extração (JUG; KONCIC; KOSALEC, 2014; KOCOT *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2019). A própolis sob a forma de extratos etanólicos são frequentemente utilizados devido ao aumento do seu conteúdo em ácidos fenólicos e flavonoides (KOCOT *et al.*, 2018). Alguns estudos descrevem que diferentes composições químicas e atividades biológicas dos extratos da própolis exibem relação direta como o método de extração e com a origem geográfica do mesmo. Logo, o solvente empregado, influencia diretamente o rendimento e a seletividade alguns compostos liberados, como exemplo, na ação dos flavonoides (JUG; KONCIC; KOSALEC, 2014; REIS, 2019).

Akyol *et al.* (2015), Reis (2019) e Yuan *et al.* (2019) sugeriram a importância clínica do uso da própolis não apenas pela eliminação de radicais livres e atividades antioxidantes, mas também pela atuação no NF- κ B, óxido nítrico e inibição da apoptose, junto com a supressão das atividades da caspase-3 e da fosforilação do p38.

Em relação à atuação terapêutica da própolis no tratamento de feridas, esse composto atua como agente cicatrizante, antimicrobiano (Bacteriana, viral e fúngica), antiinflamatório, analgésica e de neoangiogênese (BARBOSA *et al.*, 2009; VALENTE, 2014; AKYOL *et al.*, 2015; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019). Essas propriedades dependem diretamente da forma e local de extração e concentração do produto (BARBOSA *et al.*, 2009; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019).

Damyantiev *et al.* (1982) aplicaram solução tópica de própolis 20% e 30% em pacientes com feridas infeccionadas. Foi observada que a cicatrização ocorria dentro de um período de tempo menor do que as tratadas com solução cloreto de sódio 0,9%. Essas preparações de própolis exerceram efeito antimicrobiano “*in vivo*” sobre *Bacterium coli*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. Ao comparar a cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos a partir do uso de solução alcoólica de própolis a 10% e a 30%, constatou-se que ambas estimularam a reparação tecidual, ocorrendo uma acentuada neovascularização, seguida de rápida regeneração do tecido, embora o resultado das lesões tratadas com solução a 30% fosse mais lento.

Em seu estudo, Abreu *et al.* (2012) investigaram o efeito da aplicação tópica de extratos alcoólicos de própolis a 30%, a 70% e de dexametasona creme a 0,001% em feridas cirúrgicas induzidas na pele de ratos *Wistar*. Os tempos de avaliação foram dia 03, 07, 14 e 28. Foi

verificado que os grupos própolis estimularam em menor tempo uma maior fibroplasia tecidual (dias 03 e 07) quando comparado ao grupo dexametasona. Os autores sugerem que os extratos alcoólicos de própolis a 30% e a 70% estimularam a fibroplasia tecidual e reepitelização, ajudando assim, a acelerar o processo de cicatrização das feridas.

A fibroplasia é a parte final do processo de cicatrização tecidual. O processo de cicatrização tecidual é dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e remodeladora. Por meio de estímulos de fatores quimiotáticos produzidos durante a fase inflamatória, fibroblastos e células endoteliais são ativados e induzidos a produzir fibras colágenas e vasos sanguíneos respectivamente, resultando na formação do tecido conjuntivo bastante proliferativo, rico em fibroblastos. Na fase remodeladora, ocorre redução da densidade celular e a vascularização da ferida, enquanto ocorre o aumento da quantidade das fibras colágenas. Ao final, ocorre a formação de um tecido conjuntivo cicatricial denso, sendo esse processo denominado de fibroplasia (ABREU *et al.*, 2012).

Valente (2014) induziu feridas por criocirurgia em camundongos *Wistar* e observou que os grupos tratados com própolis e calêndula apresentaram o maior número de lesões com reepitelização completa ao final do experimento. A análise macroscópica das lesões evidenciou um resultado clinicamente relevante quanto ao aparecimento da cicatriz, mais precocemente nos grupos que receberam as pomadas compostas por própolis, calêndula ou apenas vaselina sólida. O autor, concluiu que o grupo própolis expressou uma melhora estatisticamente significativa quanto ao tempo de cicatrização de feridas cutâneas provocadas por congelamento com nitrogênio líquido, comprovando a eficiência do tratamento.

Em seu estudo Noronha *et al.* (2017) investigaram a atuação do Gel de Própolis mucoadesivo *versus* solução de Cloridrato de Benzidamina na prevenção da MO em pacientes irradiados em região de cabeça e pescoço por meio de ensaio clínico, cego, randomizado de fase II. Foi observado que o gel de Própolis apresentou melhor efetividade na prevenção da mucosite a partir da 17^o sessão de radioterapia, quando comparado ao grupo cloridrato de benzidamina. Os autores sugeriram que as características farmacológicas da Própolis de atividade analgésica, antiinflamatória, antifúngica e cicatrizante, conferem a esse fitoterápico um grande potencial para prevenir as alterações na cavidade bucal dos pacientes que serão submetidos à radioterapia.

Yuan *et al.* (2019) por meio de um estudo *in vitro* por cultivo celular com células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs), investigaram os possíveis efeitos citoprotetores da própolis verde contra a ação da lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), que é considerado um potencial fator indutor de danos às células endoteliais humanas.

Os autores observaram que, o tratamento à base da própolis verde impediu perdas de viabilidade celular das HUVECs estimuladas por LDLox. Foi sugerido que, o uso da própolis esteve associado a efeitos inibitórios sobre apoptose e autofagia celular. Também observamos que a própolis reduziu os níveis de estresse oxidativo das HUVECs estimulados por LDLox, atuando como um fator protetivo. O própolis induziu a expressão de genes antioxidantes, como o Heme oxigenase-1 e seu mediador, Nrf2 (fator nuclear eritroide relacionado ao fator 2), que foram mediados pela ativação da fosforilação de PI3K / Akt / mTOR. Os autores sugerem que o uso da própolis protegeu as HUVECs contra danos oxidativos parcialmente pela Via Nrf / HO-1 mediada por PI3K / Akt / mTOR, e que tal opoterápico pode ser utilizado na prevenção de doenças cardiovasculares mediadas por LDLox.

No contexto da utilização dos fitoterápicos, cita-se também geleia real, que é uma substância produzida e secretada pelas abelhas operárias através das glândulas mandibulares hipofaríngeas. Apresenta cor branco-acinzentada, com aparência viscosa, de odor característico. É um dos produtos mais importantes da colmeia, pois serve como alimentação para a abelha rainha durante toda a sua vida (YUKSEL; AKYOL, 2016; ISIDOROV *et al.*, 2018).

Por ser um produto com muitos benefícios atribuídos e de difícil obtenção, já que é encontrado nas colmeias em pouquíssima quantidade, possui um alto valor comercial. A geleia real apresenta como propriedades funcionais atividade antibacteriana, antiinflamatória, vasodilatadores, atividades hipotensivas, ação desinfetante, atividade antioxidante, atividade anti-hipercolesterolêmica e antitumoral atividade (YUKSEL; AKYOL, 2016; ISIDOROV *et al.*, 2018).

Alguns estudos mostraram que a geleia real exibe atividades bacteriostáticas (FUJIWARA *et al.*, 1990) e antimicrobianas contra leveduras, algumas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; ISIDOROV *et al.*, 2018), bem como atua como imunomoduladora, estimulando o sistema imunológico na proliferação de células de defesa e na produção de anticorpos em camundongos (SVER *et al.*, 1996), bem como atua inibindo a síntese e secreção de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α , IL-6 e IL-1 por macrófagos ativadas (KOHNO *et al.*, 2004).

A maioria dos benefícios da geleia real está atribuída a sua complexa composição, a qual possui proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, hormônios esteroides, fenóis, minerais e açúcares, sendo um dos mais valorizados produtos apícolas (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2008; YUKSEL; AKYOL, 2016).

A geleia real é uma emulsão de proteínas, açúcares e lipídios na água (que corresponde de 57 a 70%). Além disso, contém cerca de 1,5% de sais minerais (principalmente cobre, zinco, ferro, cálcio, manganês, potássio e sódio) e pequenas quantidades de flavonoides, polifenóis e vitaminas (biotina, ácido fólico, inositol, niacina, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina e vitamina E). Os flavonoides encontrados na geleia real são: hesperetina, isosaururinaína e naringenina, as flavonas (acacetina, apigenina e seu glucosídeo, crisina e luteolina glucosídeo), os flavonóis (isorhamnetina e caempferol glicolaterais) e iso-flavonoides (coumestrol, formononetina e genisteína) (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2008; YUKSEL; AKYOL, 2016; KOCOT *et al.*, 2018; KUNUGI; ALI, 2019).

O teor total de açúcar da geleia real varia entre 7 e 21,2% e consiste principalmente de frutose e glicose. Frutose e glicose, juntos representam 90% de todos os açúcares. A sacarose está sempre presente, mas frequentemente em concentração variável (0,2% a 2,86%). Outros oligossacarídeos, como a trealose, maltose, gentiobiose, isomaltose, erlose, e melezitose, também podem ser observados (YUKSEL; AKYOL, 2016; KOCOT *et al.*, 2018; KUNUGI; ALI, 2019).

O conteúdo total de proteínas na geleia real varia entre 8 e 9%. Cerca de 90% do conteúdo proteico da geleia real é de *Major Royal Jelly Protein 1* (MRJP1), o restante apontaram que muito importante é composto por aminoácidos livres, como a lisina, prolina, cistina, ácido aspártico, valina, ácido glutâmico, serina, glicina, cisteína, treonina, alanina, tirosina, fenilalanina, hidroxiprolina, leucina, isoleucina, glutamina e ácidos graxos, como 10-hidroxi-2-decanoico(10-HDA), royalisina e apisina. Estudos mostram que a atividade antioxidante geleia real pode estar relacionada ao efeito biológico dos aminoácidos livres e ácidos graxos (YUKSEL; AKYOL, 2016; KOCOT *et al.*, 2018; KUNUGI; ALI, 2019; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019).

A proteína maior da geleia real 1(MRJP1) é a principal proteína de um complexo de 5 proteínas que formam a família das principais proteínas da GR (*Major Royal Jelly Protein-MRJP1-5*) (SCHMITZOVA *et al.*, 1998).

Estudos mostram que a MRJP 1 atua através das vias de sinalização como p70-S6 quinase (importante regulador da proliferação celular), proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK) (proliferação, diferenciação, sobrevivência e apoptose celular) e fator de crescimento epidérmico (EGF) (proliferação, adesão, migração, diferenciação e sobrevivência celular) (KOHNO *et al.* 2004; KAMAKURA, 2011). A p70-S6 é uma serina / treonina-quinase que atua a jusante da PIP3 e da proteína dependente de fosfoinositol-1 (PDK-1) na via da PI3-quinase (PIK3). Como o nome sugere, seu substrato alvo é a proteína ribossômica S6. A fosforilação

de S6 induz a síntese de proteínas no ribossomo. A fosforilação de p70S6K na treonina 389 tem sido usada como uma marca registrada da ativação pelo mTOR e correlacionada com a inibição da autofagia em vários processos patológicos e fisiológicos (KAMAKURA, 2011; KIM; BUEL; BLENIS, 2013).

Estudos mostram que o ácido graxo 10-hidroxi-2-decanoico(10-HDA) desempenha um papel importante no aumento da migração de fibroblastos *in vitro* (IZUTA *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2010). Esse ácido graxo atua induzindo a linhagem celular de fibroblastos dérmicos humanos (FDHs) a produzirem o fator de transformação do crescimento beta 1 (TGF- β 1), que é um fator importante na indução da síntese do colágeno. Dessa forma, vários mecanismos têm sido propostos para aumentar a atuação antiinflamatória e de migração celular na presença do 10-HDA. Estes incluem o aumento da expressão do fator crescimento endotelial vascular (VEGF), do TGF β -1, do fator de crescimento de fibroblastos 1 (FGF-1), bloqueio da ação do RNA mensageiro (RNAm) relacionado ao TNF- α e colagenases (principalmente a metaloproteinase-1) e inibição da biossíntese de lipoxigenase e metabólitos da ciclooxigenase (IZUTA *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2010; YUAN *et al.*, 2019).

A soma das atividades exercidas pelos grupos hidroxilas dos ácidos graxos 10-HDA, podem melhorar a produção de colágeno e promover feridas cura. Foi demonstrado que tais ácido graxo aumenta a produção de colágeno *in vivo* e *in vitro*, fornecendo uma maior proteção anti-oxidante na pele foto-danificada, por meio do aumento dos níveis de ácido hialurônico e aumento da quantidade e a qualidade da elastina produzida no tecido conjuntivo formado durante a cicatrização de feridas (IZUTA *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2010).

Atualmente, existe a crescente preocupação com substâncias naturais que sejam capazes de neutralizar os efeitos do estresse oxidativo associado a patogênese de inúmeras doenças, como distúrbios neurodegenerativos, câncer, diabetes e aterosclerose. Assim como a própolis, a geleia real tem conteúdos fenólicos e flavonoides, em partes, podem ser responsáveis pela ação antioxidantes deste composto. Dessa forma, a própolis e a geleia real estão sendo considerados importantes potenciais terapêuticos devido aos seus excelentes potenciais antioxidantes (JUG; KONCIC; KOSALEC, 2014; KOCOT *et al.*, 2018; REIS, 2019; YUAN *et al.*, 2019).

Kohno *et al.* (2004), investigaram *in vitro* por cultivo de macrófagos peritoneais de camundongos, o efeito antiinflamatório da Geleia real (GR) na inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias por ativação de macrófagos. Os autores observaram a inibição da ação macrofágica dose-dependente da GR, sem ter efeitos citotóxicos nos mesmos. Tal estudo identificou a presença de uma proteína, denominada Fator antiinflamatório das abelhas

derivado da geleia real (HBRJ-AIF), que seria parte da família das principais proteínas da GR (MRJP1-5) (SCHMITZOVA *et al.*, 1998). Atribuíram que o fator HBRJ-AIF seria o principal responsável pela supressão da secreção de citocinas pró-inflamatória, como TNF-, IL-6 e IL-1.

Suemaru *et al.* (2008) em seu estudo experimental em MO induzida por 5-fluorouracil (5-FU) em *hamsters* ao comparar a ação tópica do mel, da geleia real e da própolis observaram que o mel (1%, 10% e 100%) e as pomadas de própolis (0,3%, 1% e 3%) não reduziram o tamanho da mucosite em comparação com o grupo de controle tratado com vaselina. No entanto, a geleia real (3%, 10% e 30%) melhorou significativamente a recuperação do dano induzido por 5-FU de uma maneira dependente da dose. Os autores sugerem que a aplicação tópica de geleia real possa ter um efeito de cura na MO severa induzida por quimioterapia.

Kim *et al.* (2010) investigaram o uso da geleia real (concentrações 0,1, 1,0 ou 5 mg / ml por até 48 horas) no processo de cicatrização de feridas, por meio de um estudo *in vitro* por cultivo de FDHs. Para avaliar o fechamento das feridas, foram analisados o tempo de fechamento em horas e os níveis de lipídeos produzidos pelos FDHs. A migração dos fibroblastos atingiu o pico às 24 horas após o ferimento. Os autores constataram que a terapia com a geleia real acelerou significativamente a migração dos fibroblastos, de maneira dependente da dose, às 8 horas. Embora, também tenha acelerado a migração de fibroblastos às 20 e 24 horas após o ferimento, porém com menor eficácia do que às 8 horas. Entre várias classes lipídicas nos fibroblastos, o nível de colesterol diminuiu significativamente às 8 horas após a administração de 0,1 ug/ml e 5 mg/ml de geleia real. Apesar do aumento dose /dependente dos ácidos graxos, como as esfinginas, os níveis de esfingosinas, ceramidas e glicosilceramidas não foram alterados com nenhuma concentração de geleia real. Os autores sugeriram que o uso da geleia real aumenta a migração de fibroblastos e altera os níveis de vários lipídios envolvidos no processo de cicatrização de feridas.

Watanabe *et al.* (2013) avaliaram o efeito da geleia real envolvida por um filme a base de alginato de sódio-quitosano em um estudo experimental em MO induzida por 5-FU em *hamsters*. Foi observado reparo significativo das lesões, sendo esse fato atribuído a redução na produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β). Além disso, a geleia real mostrou atividade na eliminação de radicais livres. Os autores concluíram que os seus resultados sugerem que a aplicação tópica de filmes de alginato com geleia real tem um efeito de cura na MO severa induzida por 5-FU e que o efeito positivo foi causado pelas atividades antiinflamatórias ou anti-oxidativas da geleia real.

Erdem e Gungormus (2014), por meio de um estudo clínico em 103 pacientes submetidos à radioterapia e quimioterapia, observaram menores escores clínicos de MO (já nos

dias 04 e 05) no grupo de pacientes tratados com geleia real (*in natura*) quando comparado aos grupos tratados com cloridrato de benzidamina (bochecho de enxaguatório bucal) com e solução de nistatina (bochecho de suspensão oral; 100.000 UI/ml). Diante dos resultados, os autores consideraram a geleia real como uma excelente opção de tratamento para a MO, devido à redução dos sinais e sintomas e encurtando o tempo de cura da mesma.

Em virtude das excelentes características antioxidantes dos produtos provenientes das abelhas, Jiang *et al.* (2018) *in vitro*, investigaram o papel da proteína maior da geleia real 1 (MRJP1) na senescência celular de fibroblastos pulmonares embrionários humanos (HFL-I). Os autores observaram que a MRJP1 aumentou a proliferação celular dose/dependente, evidenciando telômeros mais longos no grupo GR, indicativo de menor senescência celular. Adicionalmente, verificaram que a MRJP1 regulou positivamente a expressão da superóxido dismutase-1 (SOD1) e diminuiu a expressão da proteína mTOR, da β -catenina e da proteína supressora tumoral p53 (TP53).

Diante da necessidade de se desenvolver terapias biologicamente mais eficazes, pesquisas recentes focaram no entendimento da fisiopatologia da MO, com o intuito de desenvolver novas intervenções terapêuticas e preventivas para esta condição (CURRA *et al.*, 2013; LOPEZ *et al.*, 2013; COELHO *et al.*, 2015; WAGNER *et al.*, 2017; CINAUSERO *et al.*, 2017; THIEME *et al.*, 2019), já que PBM não está acessível em todos os serviços oncológicos e requer a aplicação constante por um odontólogo devidamente habilitado. Mesmo diante de vários estudos realizados na tentativa de encontrar qual melhor terapia se aplica a reduzir melhor os efeitos da MO, cada vez mais se faz necessário ampliação do tratamento desta complicação em virtude de nem todas as modalidades terapêuticas existentes estarem acessíveis aos pacientes que estão sendo submetidos a terapia oncológica. Dessa forma, torna-se importante investigar se o gel da própolis e da geleia real exercem ação antiinflamatória e na cicatrização tecidual em MO quimicamente induzida em um modelo animal e adicionalmente de as mesmas atuam na via de sinalização PI3K/mTOR/AKT. A realização desta pesquisa trará contribuições importantes para o tratamento da MO, uma vez que o estudo dos benefícios dos derivados do mel, vem trazendo impactos importantes na medicina moderna na cicatrização de feridas, pois tem sido identificado que os mesmos além de terem ação antimicrobiana, através de sua viscosidade auxiliam na função de barreira, auxiliando na diminuição da taxa de infecção e dor (MEO *et al.*, 2017).

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito do gel de própolis e da geleia real em relação à fotobiomodulação (FBM) com laser de baixa intensidade no reparo tecidual de mucosite oral quimioinduzida por 5-fluorouracil (5-FU) em ratos *Wistar*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a constituição fitoquímica dos compostos gel de própolis e da geleia real utilizados no presente estudo;
- Avaliar comparativamente o efeito clínico do gel de própolis e da geleia real em relação à FBM com laser de baixa intensidade na cicatrização de MO quimioinduzida por 5-FU;
- Avaliar comparativamente os aspectos microscópicos decorrentes do uso do gel de própolis e da geleia real em relação à FBM com laser de baixa intensidade na mucosite oral quimioinduzida por 5-FU;
- Investigar se a via de sinalização PI3K/mTOR/AKT, por meio da análise imuno-histoquímica dos marcadores pS6 e pAKT, sofreu influência das terapêuticas utilizadas na mucosite oral quimioinduzida por 5-FU;
- Investigar por meio de estudo imuno-histoquímico, se a ativação do fator de transcrição NF- κ B sofreu influência das terapêuticas utilizadas na mucosite oral quimioinduzida por 5-FU;
- Investigar se o estresse oxidativo, através da verificação dos níveis das proteínas antioxidantes, glutatona (GSH) e superóxido dismutase (SOD), e da proteína de dano tecidual, malonaldeído (MDA), sofreram influência das terapêuticas utilizadas na mucosite oral quimioinduzida por 5-FU;
- Investigar por meio de uma revisão sistemática da literatura o efeito de fitoterápicos no tratamento da mucosite oral quimioinduzida por 5-FU em modelos animais.

ARTIGO 1

3 ARTIGO 1

Eficácia dos fitoterápicos no tratamento da mucosite oral induzida por 5-fluorouracil em modelos animais: Revisão sistemática

The effectiveness of phytotherapics in treatment of 5-FU-induced oral mucositis in animal models: Systematic review

Mara Luana Batista Severo ¹, Éverton Freitas ¹, Hélder Domiciano Dantas Martins ¹, Marco Antonio Trevizani Martins ², Manoela Domingues Martins ^{2,3} Éricka Janine Dantas da Silveira¹.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

² Departamento de Patologia Oral, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Departamento de Diagnóstico Oral, Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil.

Artigo será enviado para o periódico: Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and endodontics

Autor correspondente:

Éricka Janine Dantas da Silveira

Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brazil. Av. Sen Salgado Filho, 1787, Lagoa Nova – Natal/RN. Zip code: 59056-000. Phone: +55 84 32154138/ +55 84 991781601

e-mail:ericka_janine@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivo: Essa pesquisa avaliou o efeito de fitoterápicos no tratamento da mucosite oral (MO) induzida por 5-Fluorouracil (5-FU) em modelos animais, através de uma revisão sistemática da literatura. **Material e Métodos:** A busca foi realizada nas bases de dados PubMed/Medline, CENTRAL (The Cochrane Library), EMBASE e Web of Science, a partir dos registros iniciais até janeiro de 2020. Os descritores utilizados foram, natural agents OR Herbal medicine OR phytotherapy AND Oral mucositis OR Stomatitides OR Oral Mucositis OR Oral Mucositis OR Oromucositis OR Oromucositides OR Mucositis Oral AND Animal Model. Foram utilizadas diferentes combinações e empregados os operadores booleanos AND, OR, NOT. Foram incluídos apenas artigos de pesquisa com quimioindução de MO por 5-FU em modelos animais. **Resultados:** Treze artigos foram incluídos, do total de 503 artigos encontrados. O método de tratamento variou desde aplicação tópica de pomada (3), gel (5), e extrato (3), até a ingestão de fitoterápicos (3). Todos os trabalhos incluídos nesta pesquisa apresentaram resultados promissores quanto ao uso de fitoterápicos no manejo da MO, com menores escores clínicos e histopatológicos, ação cicatrizante, ação antiinflamatória, antimicrobiana e potencial antioxidante. Como efeito adverso, apenas um trabalho demonstrou que o uso do óleo de *Carapa guianensis* Aubl. a 100% com potencial genotóxico. **Conclusões:** Os fitoterápicos constituem uma alternativa promissora no tratamento da MO quimioinduzida, pois pôde-se observar excelentes resultados na cicatrização tecidual, ação antiinflamatória, antimicrobiana e antioxidante.

Palavras-chaves: Mucosite Oral, Fitoterapia, Tratamento, Modelo animal, 5-Fluorouracil.

INTRODUÇÃO

A mucosite é uma complicação comum que acomete pacientes que estão em tratamento oncológico, como radioterapia em cabeça e pescoço e/ou quimioterapia e transplante de células tronco-hematopoiéticas (Vitale et al., 2017; Sonis; Villa 2018). Ela pode acometer a mucosa oral, sendo denominada de mucosite oral (MO) e a mucosa gastrointestinal (Suresh et al., 2010; Cinausero et al., 2017). Esta condição pode ser um dos fatores que pode aumentar a morbidade e mortalidade em pacientes portadores de câncer (Atilla et al., 2017). A incidência da MO é elevada em pacientes que recebem quimioterapia, combinada ao transplante de células tronco hematopoiéticas e em pacientes que recebem radioterapia em cabeça e pescoço, com incidência relatada de 100 e 80%, respectivamente (Migliorati et al., 2013). Mesmo diante da elevada frequência, as opções para seu tratamento e prevenção ainda são limitadas e a maioria dos pacientes não tem acesso a terapia fotobiomoduladora, considerada padrão ouro na prevenção de tratamento da mucosite oral (Villa, Sonis, 2020).

Algumas pesquisas têm sido realizadas na busca contínua de novas terapias para o tratamento e prevenção da mucosite oral, já que seu manejo ainda constituiu um desafio (Cinausero et al., 2017; Kuo et al., 2018). Alguns estudos experimentais foram propostos para testar a eficácia de agentes terapêuticos naturais no manejo da MO, como a *Chamomillarecutita L.* (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013; Schmidt et al., 2019), *Vaccinium myrtillus L.* (Davarmanesh et al., 2013), *Calendulaofficinalis* (Tanideh et al., 2013), *Carum carvi L* (Mardani et al., 2016), *Olea europaea* (Showraki et al., 2016), *Hypericum perforatum* (Farrokhi et al., 2017), *Elaeagnus angustifolia* (Koochi-Hosseinabadi et al., 2017), *Pistacia atlântica* (Tanideh et al., 2017; Farrokhi et al., 2017; Tanideh et al., 2019), *Carapa guianensis Aubl.* (Wanzeler et al., 2018), *Curcuma longa L.* (Schmidt et al., 2019), *Trachyspermum Ammi* (Tanideh et al., 2019) e a *Spondias Mombin* (Gomes et al., 2020), dentre outros.

Diante destes fatos, essa revisão sistemática objetivou verificar a eficácia de fitoterápicos no tratamento da MO quimioinduzida por 5-Fluorouracil (5-FU) em modelos de animais. Nossos resultados indicaram que os mesmos constituem uma alternativa promissora no manejo da MO e dessa forma podem suscitar o desenvolvimento de pesquisas clínicas utilizando este tipo de terapia.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão sistemática foi elaborada de acordo com os itens de relatório preferencial para análises sistemáticas e metanálises (PRISMA) (Moher et al., 2009).

Crêterios de Inclusão e Exclusão

O modelo PICO (popula o, interven o, compara o, resultados) foi utilizado para desenvolver critérios de inclusão e termos de busca da presente pesquisa. Os estudos foram elegíveis independentes da linguagem ou ano de publica o dos artigos. Foram selecionados estudos que avaliaram a eficácia de agentes fitoterápicos no manejo da mucosite oral induzida através de 5-fluorouracil em modelos animais. Os critérios de exclusão foram: (I) estudos em humanos; (II) estudos *in vitro*, (III) artigos de revisão e/ou relatos de casos; (IV) uso de drogas sint ticas para o manejo das lesões de mucosite oral; (V) uso de outros métodos para a indu o da mucosite oral. Os artigos que não correspondiam aos critérios de elegibilidade e artigos duplicados foram removidos do estudo.

Utilizamos um *software* de gerenciamento de referências objetivando o controle dos artigos analisados e remo o das duplicadas (EndNote; Thomson Reuters, Philadelphia, PA, USA).

Estratégia de Busca

Uma revisão sistemática de literatura foi realizada utilizando as bases de dados PubMed/Medline, CENTRAL (The Cochrane Library), EMBASE e Web of Science, a partir dos registros iniciais até janeiro de 2020. Uma busca manual de artigos também foi realizada utilizando-se as referências dos estudos com potencial de inclusão na presente revisão sistemática.

Os descritores utilizados na busca sistemática foram: (natural agents[mesh] OR Herbal medicine[tw] OR phytotherapy[tw]) AND (Oral mucositis[mesh] OR Stomatitides[tw] OR Oral Mucositis[tw] OR Oral Mucositis[tw] OR Oromucositis[tw] OR Oromucositides[tw] OR Mucositis, Oral[tw]) AND (Animal Model[mesh]). Foram utilizadas diferentes combina es e empregado os operadores booleanos AND, OR, NOT.

Uma triagem inicial foi realizada a partir da análise dos títulos e resumos localizados na busca. Todos os estudos considerados relevantes foram obtidos na íntegra e analisados separadamente por dois avaliadores de forma independente.

Extra o dos dados

As publica es que atenderam aos critérios de inclusão tiveram seus dados extraídos por meio de formulários padronizados de avalia o. Uma meta-análise não pôde ser realizada

devido a variabilidade relacionada aos grupos de estudos avaliados nos artigos incluídos, portanto, uma descrição narrativa foi adotada na presente revisão sistemática.

RESULTADOS

A Figura 1 evidencia a estratégia inicial de busca computadorizada e manual associada que geraram 503 artigos. Após remoção de artigos duplicados restaram 435. A partir daí os autores examinaram os artigos através da leitura de títulos e resumos das publicações e 381 foram descartados porque não atendiam aos critérios de inclusão, restando 54 elegíveis. Dentre os 54 artigos analisados integralmente, 41 foram excluídos de acordo com os critérios de seleção pré-estabelecidos e 13 artigos foram incluídos na presente revisão sistemática.

A tabela 01 demonstra os trabalhos incluídos e as características metodológicas de cada um. Entre os estudos avaliados, o fitoterápico mais utilizado foi a *Chamomilla recutita* L (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013; Schmidt et al., 2019) e a *Pistacia atlântica* (Tanideh et al., 2017; Farrokhi et al., 2017; Tanideh et al., 2019). Como método de indução de mucosite, todos utilizaram o quimioterápico 5-Fluorouracil (5-FU) através de injeções intraperitoneais com a concentração de 60 mg/kg, com exceção de Tanideh et al. (2019) que aplicaram 65 mg/kg. Entretanto, apesar de boa parte dos artigos terem definido os dias 0, 5 e 10 para indução, alguns trabalhos utilizaram os dias 0 e 2 (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013), enquanto outros não descreveram o período (Davermanesh et al., 2013; Farrokhi et al., 2017). O método de tratamento variou desde a aplicação tópica de pomada (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013; Showraki et al., 2016), aplicação tópica de gel (Tanideh et al., 2013; Farrokhi et al., 2017; Tanideh et al., 2019) e aplicação tópica de extrato (Wanzeler et al., 2018), até a ingestão de fitoterápicos (Mardani et al., 2016; Gomes et al., 2020). O tempo de acompanhamento variou de 0 (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013) até 18 dias (Farrokhi et al., 2017).

Todos os trabalhos incluídos na pesquisa apresentaram resultados promissores quanto ao uso de fitoterápicos no manejo da mucosite oral como disposto na tabela 02. Os trabalhos que avaliaram o efeito da *Chamomilla recutita* L. encontraram menor probabilidade de desenvolvimento da lesão, menor grau de MO (Pavesi et al., 2011), redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (Curra et al., 2013) e melhor taxa de cicatrização (Schmidt et al., 2019) comparado a grupos controle e que utilizaram corticosteroides (Curra et al., 2013). Menor escore de mucosite oral ao exame histopatológico, ao utilizar estes fitoterápicos, foi evidenciado em 07 trabalhos (Pavesi et al., 2011; Curra et al., 2013; Davermanesh et al., 2013; Tanideh et al., 2013; Mardani et al., 2016; Showraki et al., 2016; Farrokhi et al., 2017).

Além disso, melhor ação anti-inflamatória (Curra et al., 2013; Sousa Gomes et al., 2020), menor probabilidade de redução média diária de peso (Davarmanesh et al., 2013), melhora na cicatrização (Tanideh et al., 2013; Farrokhi et al., 2017), menores níveis de malondialdeído (Showraki et al., 2016; Tanideh et al., 2019), além de graus maiores de reepitelização (Koochi-Hosseinabadi et al., 2017; Tanideh et al., 2019), níveis menores de angiogênese, TGF- β (Schmidt et al., 2019) e mieloperoxidase (Tanideh et al., 2019) e redução do estresse oxidativo (Gomes et al., 2020). Como efeito adverso, apenas um trabalho demonstrou que o uso de óleo de *Carapa guianensis* Aubl. a 100% mostrou potencial genotóxico (Wanzeler et al., 2018).

DISCUSSÃO

O manejo da MO vem sendo bastante estudado atualmente, principalmente com foco na sua prevenção e tratamento, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos pacientes oncológicos acometidos por essa condição, pois a mesma constitui uma condição debilitante que pode comprometer o tratamento oncológico e aumentar a morbidade do paciente (Weissheimer et al., 2017; Noronha et al., 2017; Kuo et al., 2018; Thieme et al., 2019; Villa; Sonis, 2020). Neste contexto, essa revisão sistemática aborda importantes alternativas para o tratamento da MO, com base na análise de pesquisas realizadas com a utilização de fitoterápicos em MO quimioinduzidas em modelos animais que podem servir como base para realização de ensaios clínicos.

Dentre essas, cita-se a camomila (*Chamomilla recutita* L.) que é uma dessas alternativas testadas. Trata-se de planta medicinal com excelentes propriedades antiinflamatórias e antimicrobianas, bem como propriedades curativas no tratamento de lesões ulceradas (Avallone et al., 2000; Kyokong et al., 2002). Os principais componentes das flores de camomila são compostos fenólicos diversos, principalmente flavonoides, como a quercetina, patuletina, terpenos, assim como óleos essenciais, saponinas e taninos (Avallone et al., 2000).

Os flavonoides atuam como excelentes agentes antioxidantes, no aumento da cicatrização e redução da inflamação tecidual. Estudos mostram que os flavonoides atuam na ativação da via do fator de transcrição nuclear kappa-B (NF-kB), que está ativada após o dano inicial durante o desenvolvimento da MO, por meio da regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1b (IL-1b) e IL-6 (Curra et al., 2013; Villa; Sonis, 2015; Villa; Sonis, 2020). Na fase de cura da MO, a ativação de NF-kB, atua na regulação e estímulo na proliferação, apoptose, morfogênese e diferenciação celular. (Villa; Sonis, 2015; Villa; Sonis, 2020). Com isso, a presença dos flavonoides, justifica os

excelentes resultados na cicatrização tecidual (Pavesi et al., 2011; Schmidt et al., 2019) e ação antiinflamatória (Curra et al., 2013) evidenciados na litetarura por meio do uso do extrato da camomila no tratamento da MO.

O açafão-da-terra ou cúrcuma (*Curcuma longa L.*) é uma erva amplamente utilizada mundialmente em alimentos e bebidas, na forma de tempero e corante. A cúrcuma é um composto fenólico, que foi estudado como agente fitoterapêutico, devido as suas diversas propriedades farmacológicas como, estímulo de reepitelização durante a cicatrização de feridas e ação antiinflamatória (Lüer et al., 2011; Mantzorou et al., 2018; Schmidt et al., 2019). Adicionalmente, a cúrcuma atua na redução da angiogênese (Schmidt et al., 2019), neutralização do estresse oxidativo, além de exercer ação antimicrobiana e antitumoral (Lüer et al., 2011; Mantzorou et al., 2018).

Outros estudos com o óleo essencial extraído da casca da pistache selvagem (*Pistacia atlântica*), observaram excelentes atividades antibacterianas (Ghalem et al., 2009), antifúngicas, antivirais, antitumoral, hipoglicemiante e de cicatrização, estimulando de forma precoce a reepitelização tecidual, evidenciado por meio de menores escores clínicos e microscópicos (Tanideh et al., 2017; Farrokhi et al., 2017; Tanideh et al., 2019).

Tanto as folhas, quanto os frutos da pistache selvagem, apresentam compostos fenólicos na sua constituição, como o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) (Benhassaini et al., 2007), os quais exibem propriedades antioxidantes importantes, por meio da produção de níveis mais baixos de mieloperoxidase (MPO) e malondialdeído (MDA), indicando redução do dano tecidual, e aumento dos níveis da superóxido dismutase (SOD), sugerindo ação protetora contra radicais livres (Tanideh et al., 2017; Farrokhi et al., 2017; Tanideh et al., 2019). Resultados interessantes, uma vez que as enzimas MPO, MDA e SOD, estão envolvidas na patogênese da MO.

A erva-de-São João (*Hypericum perforatum*) é um fitoterápico usado há séculos na Europa, oeste da Ásia e norte da África, pois suas flores contêm um líquido avermelhado composto por diversos compostos biologicamente ativos, como os flavonoides tipo, hipericina, quercetina, hiperforina, e derivados de xantonas (Tanideh et al., 2014; Farrokhi et al., 2017). A atuação antioxidante do extrato da erva-de-São João deve-se a atuação dos flavonoides que reduzem o dano tecidual, por redução da peroxidação lipídica, expresso por baixos níveis de MDA (Couladis et al., 2002; Božin et al., 2013). Dessa forma, a constituição fitoquímica da erva-de-São João, rica em flavonoides, pode justificar os excelentes resultados obtidos na

cicatrização de feridas, ação antiinflamatória e antioxidante encontrados em alguns estudos de (Couladis et al., 2002; Božin et al., 2013; Farrokhi et al., 2017).

Ajwain, é o nome popular de *Trachyspermum Ammi*, que é uma erva da família das Apiaceae que tem sua origem no mediterrâneo oriental. Alguns estudos mostraram que o extrato das sementes do ajwain exibe ação antiinflamatória (Thangam e Dhananjayan, 2003; Tanideh et al., 2019), antiviral (Hussein et al., 2000), antifúngica (Rasooli et al., 2008) e antioxidante (Bera et al., 2004; Tanideh et al., 2019). Tais efeitos biológicos, estão relacionados com sua constituição fitoquímica, em especial, pela presença dos flavonoides, que exercem potente ação antiinflamatória e antioxidante (Aftab et al., 1995; Tanideh et al., 2019).

Em 2019, Tanideh e colaboradores investigaram a ação conjunta dos extratos hidroalcoólicos das sementes de Ajwain (*Trachyspermum Ammi*) e do óleo essencial extraído da casca da pistache selvagem (*Pistacia Atlantica*) sob a formulação de gel. Os autores observaram que a utilização conjunta dos dois extratos, acelera a reepitelização, eleva a síntese da SOD e reduz os níveis de IL-1B, MPO e MDA, quando comparados aos grupos tratados com extratos isolados e controle. Os autores sugerem que a ação conjunta de tais extratos potencializaram a ação cicatrizante, antiinflamatória e antioxidante durante o desenvolvimento da MO, e que tais compostos podem ser utilizados em conjunto no tratamento da mesma.

A fruta do mirtilo (*Vaccinium myrtillus L.*) é uma fonte extremamente rica em antocianinas (Zafta-Stone et al., 2007), pigmentos pertencentes à família dos flavonoides. Alguns estudos mostram que os excelentes efeitos cicatriciais, antiinflamatórios, antioxidantes do mirtilo, são mediados pelas antocianinas. Tais flavonoides atuam na supressão da ativação do fator NF-kB (Karlsen et al., 2007; Davarmanesh et al., 2013), inibição da expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2) (Hou et al., 2005), redução dos efeitos deletérios da peroxidação lipídica por inativação de espécies reativas de oxigênio (ROSs), todos, eventos responsáveis pelo dano tecidual e ativação de uma série de fatores transcrição cruciais no desenvolvimento da MO (Zafta-Stone et al., 2007; Villa; Sonis, 2020).

Calendula officinalis é o nome científico da planta conhecida como calêndula ou margarida. As ações farmacológicas do extrato da *Calendula officinalis* são decorrentes da presença de compostos bioativos, como o rotenoide (ação cicatrizante, estimulando a reepitelização, efeito fotoprotetor), triterpinoide (antiinflamatório), estearinadiol (antiedematoso), flavonoide (ação antioxidante), cumarina, quininas, aminoácidos (acelera a cicatrização), óleos essenciais (ação antifúngica e antibacteriana), saponina (ação antitumoral),

calendina e calendulina (antitumoral e moduladora do sistema imune por estímulo de linfócitos) e polissacarídeo (estimuladora do sistema imuno) (Bashir et al., 2006; Preethi et al., 2009).

Tanideh et al. (2013) observaram menores escores clínicos e histopatológicos da MO nos grupos tratados com geis a base do extrato das pétalas da *Calendula officinalis* a 5% e 10% do que nos grupos placebo e controle. Por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* foi observado que o extrato da *Calendula officinalis* atua acelerando a cicatrização de feridas em casos de MO quimioinduzidas por 5-FU em hamsters (Mehrabani et al., 2011), por meio da supressão da ativação do NF-kB e os produtos gênicos derivados dessa ativação (Preethi et al., 2008; Preethi et al., 2009; Mehrabani et al., 2011).

A *Carum carvi L.* é uma planta da família Apiaceae, popularmente conhecida como cominho. Estudos com extratos dessa planta ou das suas sementes mostram importantes atividades bioativas, como ação hipoglicemiante (Erjaee et al., 2015), antioxidante, com maiores níveis de glutathiona (GSH) e menores de MPO e MDA (Darougheh et al., 2014; Erjaee et al., 2015; Mardani et al., 2016), antifúngica (Darougheh et al., 2014) e antibacteriana, com redução dos níveis de *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus intermedius* (Mardani et al., 2016).

O óleo essencial da *Carum carvi L.* apresenta constituintes, como terpinenos (c-terpineno ou carvona), aldeídos, cuminaldeídos, e para-cimeno (Darougheh et al., 2014; Erjaee et al., 2015; Mardani et al., 2016). Estudos mostram que a carvona inibe a atividade da 5-lipoxigenase e de ciclooxigenases, e como consequência diminui a biossíntese de leucotrienos e prostaglandinas, produtos da cascata do ácido araquidônico, envolvidos nas reações inflamatórias teciduais (Keshavarz et al., 2013; Mardani et al., 2016).

A oliveira (*Olea europaea*) é uma planta na qual os seus extratos das frutas, folhas e sementes são bastante consumidos na forma de azeite, ervas para chá, ou fitoterápicos devido a seus muitos compostos bioativos (Ahmed et al., 2013; Showraki et al., 2016). O extrato das folhas e dos frutos são abundantes em polifenóis, principalmente a oleuropeína e o hidroxitirosol. Tais polifenóis, exibem propriedades farmacológicas importantes, como ação cardioprotetora, hipotensora, hipoglicemiante e antioxidante (reduz os níveis de MDA teciduais) (Fares et al., 2011; Sabry, 2014; Showraki et al., 2016).

A *Elaeagnus angustifolia*, também conhecida como oliveira-do-paráíso é uma planta da família Elaeagnaceae, nativa do Irã e tradicionalmente utilizada por suas já conhecidas propriedades analgésicas (Koohi-Hosseiniabadi et al., 2017). Alguns estudos verificaram que o

extrato aquoso a base de *Elaeagnus angustifolia* foi eficiente na redução dos sintomas do líquen plano oral e MO quimioinduzida por 5-FU, exercendo ação antiinflamatória, analgésica, cicatrizante e antioxidante (aumento dos níveis da SOD e redução de MPO) (TaHERI et al. 2010; KOOHI-HOSSEINABADI et al., 2017).

A capacidade cicatrizante, antiinflamatória, analgésica e antioxidante da *Elaeagnus angustifolia*, está relacionada diretamente com a presença de flavonoides e terpenoides na sua constituição, que atuam na redução de citocinas pró-inflamatórias envolvidas no desenvolvimento da MO (TaHERI et al. 2010; KOOHI-HOSSEINABADI et al., 2017).

A *Carapa guianensis* Aubl. popularmente conhecida como andiroba, é uma árvore da família Meliaceae, encontrada na região amazônica (PENIDO et al., 2005; HENRIQUES; PENIDO, 2014). O óleo de andiroba que é extraído das suas sementes tem sido utilizado na medicina tradicional por suas atividades antiinflamatórias, analgésicas, antimicrobiana, vermífida, antialérgicos e inseticidas naturais (PENIDO et al., 2005; HENRIQUES; PENIDO, 2014; NAYAK et al., 2011; WANZELER et al., 2018).

Por meio de análise fitoquímica do óleo da andiroba, estudos identificaram as principais substâncias bioativas nesse composto, como saponinas (ácidos graxos palmítico, oleico, esteárico e linoleico), limonoides, flavonoides, flavanas, cumarinas, triterpenoides, triacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, metilbenzoatos e ácidos graxos saturados. Destacando-se a ação dos flavonoides e triterpenoides, que são importantes agentes, responsáveis pela ação antisséptica, antiinflamatória e cicatrizante da andiroba (HENRIQUES; PENIDO, 2014; NAYAK et al., 2011; WANZELER et al., 2018).

A cajazeira (*Spondias Mombin*) é uma planta da família Anacardiceae, nativa do Brasil, onde seus frutos são conhecidos como "cajá". Estudos fitoquímicos com a folha da cajazeira demonstraram a presença várias substâncias bioativas, como taninos, saponinas, resinas, esteróis, triterpenos, flavonoides e alcalóides, que são responsáveis por sua ação cicatrizante, antiinflamatória (GOMES et al., 2020), antioxidante, por aumento nos níveis de SOD e GSH e redução dos níveis de MDA (GOMES et al., 2020), antimicrobiana, antiedematogênica e hipoglicemiante (ABO et al., 1999; DE ALBUQUERQUE et al., 2007). Acredita-se que os extratos da *Spondias Mombin* atuem reduzindo a ativação transcricional do NFκB, que como consequência reduz a síntese de várias proteínas pró-inflamatórias como redução de Cox-2, metaloproteinase-2 (MMP-2), IL-1β e TNF-α, citocinas envolvidas na resposta inflamatória da MO.

CONCLUSÃO

Todos os estudos incluídos na presente revisão da literatura utilizaram como protocolo de indução de MO o modelo de quimioindução por 5-FU em hamsters, proposto por Sonis et al. (1990). Trata-se de um modelo extremamente reprodutível e bastante útil em ensaios pré-clínicos e base para estudos clínicos sobre novas opções de tratamento para da MO (Davarmanesh et al., 2013; Villa; Sonis, 2018; Schmidt et al., 2019; Tanideh et al., 2019; Thieme et al., 2019; Gomes et al., 2020).

Por meio do protocolo de indução de MO proposto por Sonis et al. (1990), associado aos estudos de produtos naturais, tem se observado excelentes resultados experimentais no tratamento da MO, com efeitos promissores na cicatrização tecidual, ação antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante e mediadores do sistema imune.

Diante de tantas evidências, faz-se necessário o encorajamento da comunidade científica para a realização de estudos clínicos que possam explorar o uso de produtos naturais, uma vez que, a flora brasileira é considerada a mais rica em biodiversidade em todo o mundo e seu valor científico é inquestionável.

REFERÊNCIAS

- Vitale MC, Modaffari C, Decembrino N, et al. Preliminary study in a new protocol for the treatment of oral mucositis in pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and chemotherapy (CT). *Lasers Med Sci.* 2017; 32:1423-1428.
- Sonis ST, Villa A. Phase II investigational oral drugs for the treatment of radio/chemotherapy induced oral mucositis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018; 27: 147-154.
- Suresh AV, Varma PP, Sinha S, et al. Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemoradio-therapy. *J Cancer Res Ther.* 2010; 6:448-451.
- Cinausero M, Aprile G, Ermacora P, et al. New frontiers in the pathobiology and treatment of cancer regimen - related mucosal injury. *Front Pharmacol.* 2017; 8:354-370.
- Atilla E, Toprak SK, Demirer T. Current Review of Iron Overload and Related Complications in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Turk J Haematol.* 2017; 34:1-9.

- Migliorati C, Hewson I, Lalla RV, et al. Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2013; 21:333-341.
- Villa A, Sonis ST. An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. *Expert Opin Pharmacother*. 2020; 28:1-8.
- Kuo CC, Wang RH, Wang HH, Li CH, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of propolis mouthwash in cancer therapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer*. 2018; 26:4001-4009.
- Pavesi VCS, Lopez TCC, Martins MAT, et al. Healing action of topical chamomile on 5-fluorouracil induced oral mucositis in hamster. *Support Care Cancer*. 2011; 19:639-646.
- Curra M, Martins MAT, Lauxen IS, et al. Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1 β and TNF- α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013; 71:293-299.
- Schmidt TR, Curra M, Wagner VP, et al. Mucoadhesive formulation containing Curcuma longa L. reduces oral mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. *Phytother Res*. 2019; 33:881-890.
- Davarmanesh M, Miri R, Haghnegahdar S, et al. Protective effect of bilberry extract as a pretreatment on induced oral mucositis in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013; 116:702-708.
- Tanideh, N., Tavakoli, P., Saghiri, M. A, et al. Healing acceleration in hamsters of oral mucositis induced by 5-fluorouracil with topical Calendula officinalis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013; 115:332-338.
- Mardani M, Afra SM, Tanideh N, et al. Hydroalcoholic extract of Carum carvi L. in oral mucositis: A clinical trial in male golden hamsters. *Oral Dis*. 2016; 22:39-45.
- Showraki N, Mardani M, Emamghoreishi M, et al. Topical Olive Leaf Extract Improves Healing of Oral Mucositis in Golden Hamsters. *J Dent (Shiraz)*. 2016; 17:334-342.
- Farrokhi F, Tanideh N, Fekri S, et al. The Effect of Pistacia Atlantica and Hypericum Perforatum as a Healing Accelerator Remedy on Induced Oral Mucositis in Male Golden Hamster. *Adv Dent & Oral Health*. 2017; 4:827-834.

Koohi-Hosseiniabadi O, Ranjbar Z, Sepehrimanesh M, et al. Biochemical, hematological, and pathological related healing effects of *Elaeagnus angustifolia* hydroalcoholic extract in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in male golden hamster. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017; 24: 24447-24453.

Tanideh N, Davarmanesh M, Andisheh TA, et al. Healing Acceleration of Oral Mucositis Induced by 5-Fluorouracil with *Pistacia atlantica* (Bene) Essential Oil in Hamsters. *J Oral Pathol Med*. 2017; 46:725-730.

Tanideh N, Zareh AA, Fani MM, et al. Evaluation of the Effect of a Topical Gel Form of *Pistacia Atlantica* and *Trachyspermum Ammi* on Induced Oral Mucositis in Male Golden Hamsters by Bio-Marker Indices and Stereological Assessment. *J Dent (Shiraz)*. 2019; 20:240-248.

Wanzeler AMV, Júnior SMA, Gomes JT, et al. Therapeutic effect of andiroba oil (*Carapa guianensis* Aubl.) against oral mucositis: an experimental study in golden Syrian hamsters. *Clin Oral Investig*. 2018; 22:2069-2079.

Gomes MS, Diógenes AULR, Zucolotto LSM, et al. Antiinflammatory and antioxidant activity of hydroethanolic extract of *Spondias mombin* leaf in an oral mucositis experimental model. *Arch Oral Biol*. 2020; 111:104664.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009; 21:1006-1012.

Weissheimer C, Curra M, Gregianin LJ, et al. New photobiomodulation protocol prevents oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation recipients-a retrospective study. *Lasers Med Sci*. 2017; 32:2013-2021.

Noronha VRAS, Abdo EN, Persio FPCL, Santos VR. Propolis gel versus benzydamine in preventing oral mucositis for patients irradiated in head and neck: a preliminary study. *Cancer Rep Rev*. 2017; 1:1-4.

Thieme S, Ribeiro JT, Santos BG, et al. Comparison of photobiomodulation using either an intraoral or an extraoral laser on oral mucositis induced by chemotherapy in rats. *Support Care Cancer*. 2019; 28:867-876.

Avallone R, Zanolini P, Puia G, et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochem. Pharm.* 2000; 59:1387-1394.

Kyokong O, Charuluxananan S, Muangmingsuk V, et al. Efficacy of chamomile-extract spray for prevention of post-operative sore throat. *J Med Assoc Thai.* 2002; 85:180-185.

Villa A, Sonis ST. Mucositis: pathobiology and management. *Curr Opin Oncol.* 2015; 27: 159-164.

Lüer S, Troller R, Jetter M, et al. Topical curcumin can inhibit deleterious effects of upper respiratory tract bacteria on human oropharyngeal cells in vitro: Potential role for patients with cancer therapy induced mucositis? *Support Care Cancer.* 2011; 19: 799-806.

Mantzorou M, Pavlidou E, Vasios G, et al. Effects of curcumin consumption on human chronic diseases: A narrative review of the most recent clinical data. *Phytother Res.* 2018; 32:957-975.

Dos Santos Filho EX, Arantes DAC, Oton Leite AF, et al. Randomized clinical trial of a mucoadhesive formulation containing curcuminoids (*Zingiberaceae*) and *Bidens pilosa* Linn (*Asteraceae*) extract (FITOPROT) for prevention and treatment of oral mucositis -phase I study. *Chem Biol Interact.* 2018; 291:228-236.

He Y, Yue Y, Zheng X, et al. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: How are they linked? *Molecules.* 2015; 20: 9183-9213.

Pagano E, Romano B, Izzo AA, Borrelli F. The clinical efficacy of curcumin - containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews. *Pharmacol Res.* 2018; 134:79-91.

Ghalem BR. Bactericidal activity of *Pistacia atlantica*. Desf mastic gum against certain pathogens. *Afr J Plant Sci.* 2009; 3:13-15.

Benhassaini H, Bendahmane M, Benchalga N. The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *Atlantica* from Algeria. *Chem Nat Compd.* 2007; 43: 121-124.

Tanideh N, Namazi F, Tadbir AA, et al. Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of *Hypericum perforatum* extract on induced oral mucositis in golden hamsters. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014; 43:1286-1292.

- Božin B, Kladar N, Grujić N, et al. Impact of origin and biological source on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant properties of some St. John's Wort species (*Hypericum* spp., Hypericaceae) from the central Balkans. *Molecules*. 2013; 18:11733-11750.
- Paterniti I, Briguglio E, Mazzon E, et al. Effects of *Hypericum Perforatum*, in a rodent model of periodontitis. *BMC Complement Altern Med*. 2010; 10:1-10.
- Couladis M, Baziou P, Verykokidou E, Loukis A. Antioxidant activity of polyphenols from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Phytother Res*. 2002; 16: 769-770.
- Aftab K, Atta UR, Usmanghani K. Blood pressure lowering action of active principle from *Trachyspermum ammi* (L.) sprague. *Phytomedicine*. 1995; 2: 35-40.
- Thangam C, Dhananjayan R. Antiinflammatory potential of the seeds of *Carum copticum* Linn. *Indian J Pharmacol*. 2003; 35: 388-391.
- Hussein G, Miyashiro H, Nakamura N, et al. Inhibitory effects of sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. *Phytother Res*. 2000; 14: 510-516.
- Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, et al. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int J Food Microbiol*. 2008; 122: 135-139.
- Bera D, Lahiri D, Nag A. Novel natural antioxidant for stabilization of edible oil: the ajowan (*Carum copticum*) extract case. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2004; 81: 169-172.
- Zafta-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, et al. anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res*. 2007; 51:675-683.
- Karlsen A, Retterstøl L, Laake P, et al. Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *J Nutr*. 2007; 137:1951-1954.
- Bashir S, Janbaz KH, Jabeen Q, Gilani AH. Studies on spasmogenic and spasmolytic activities of *Calendula officinalis* flowers. *Phytother Res*. 2006; 20:906-910.

Preethi KC, Kuttan R. Wound healing activity of flower extract of *Calendula officinalis*. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2009; 20:73-79.

Mehrabani D, Ziaei M, Hosseini SV, et al. The effect of *Calendula officinalis* in therapy of acetic acid induced ulcerative colitis in dog as na animal model. *Iran Red Crescent Med J*. 2011; 13:884-890.

Preethi KC, Kuttan R. Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. *J Clin Biochem Nutr*. 2008; 43:58-64.

Erjaee H, Rajaian H, Nazi fi S, Chahardahcherik M. The effect of caraway (*Carum carvi* L.) on the blood antioxidant enzymes and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp Clin Pathol*. 2015; 24:1197-1203.

Darougheh F, Barzegar M, Ali Sahari M. Antioxidant and anti-fungal effect of Caraway (*Carum Carvi* L.) essential oil in real food system. *Curr Nutr Food Sci*. 2014; 10:70-76.

Keshavarz A, Minaiyan M, Ghannadi A, Mahzouni P. Effects of *Carum carvi* L. (Caraway) extract and essential oil on TNBS-induced colitis in rats. *Res Pharm Sci*. 2013; 8: 1-8.

Ahmed KM, Talabani N, Altaei T. Olive Leaf Extract as a New Topical Management for Oral Mucositis Following Chemotherapy: A Microbiological Examination, Experimental Animal Study and Clinical Trial. *Pharm Anal Acta*. 2013, 4:1-18.

Fares R, Bazzi S, Baydoun SE, Abdel-Massih RM. The antioxidant and anti-proliferative activity of the Lebanese *Olea europaea* extract. *Plant Foods Hum Nutr*. 2011; 66: 58-63.

Sabry OMM. Beneficial Health Effects of Olive Leaves Extracts. *J Natural Scien Res*. 2014; 4: 1-9.

Penido C, Costa KA, Pennaforte RJ, et al. Anti-allergiceffects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergeninduced vascular permeability and hyperalgesia. *Inflamm Res*. 2005; 54:295-303.

Henriques MG, Penido C. The therapeutic properties of *Carapa guianensi*. *Curr Pharm Des*. 2014; 20:850-856.

Nayak BS, Kanhai J, Milne DM, et al. Experimental evaluation of ethanolic extract of *Carapa guianensis* L. leaf for its wound healing activity using three wound models. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 1:1-6.

Abo K, Ogunleye V, Ashidi J. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytother Res.* 1999; 13:494-497.

De Albuquerque UP, De Medeiros, PM, De Almeida ALS, et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *J Ethnopharmacol.* 2007; 114: 325-354.

Sonis ST, Tracey C, Shklar G, et al. Na animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1990; 69:437-443.

Tabelas

Tabela 1.Características metodológicas dos estudos incluídos (n = 13).

Estudo (Ano)	Modelo Animal	Fitoterápico utilizado	Método de Indução da Mucosite	Amostra	Método de Tratamento	Acompanhamento (dias)
Pavesi et al. (2010)	Hamsters	<i>Chamomillarecutita L.</i>	Todos os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU (60 mg/kg) no dia 0, seguida de uma segunda injeção (40 mg/kg) no dia 2. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 105 animais subdivididos igualmente em 3 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Tratamento com <i>Chamomillarecutita L.</i> Grupo III. Tratamento com corticosteroide (betametasona).	Aplicação tópica de pomada de <i>Chamomillarecutita L.</i>	0 / 2 / 5 / 8 / 10 / 12 / 14 / 16
Curra et al. (2013)	Hamsters	<i>Chamomillarecutita L.</i>	Todos os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU (60 mg/kg) no dia 0, seguida de uma segunda injeção (40 mg/kg) no dia 2. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 36 animais subdivididos igualmente em 3 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Tratamento com <i>Chamomillarecutita L.</i> Grupo III. Tratamento com corticosteroide (betametasona).	Aplicação tópica de pomada de <i>Chamomillarecutita L.</i>	0 / 5 / 10 / 14
Davarmanesh et al. (2013)	Hamsters	<i>Vacciniummyrtillus L.</i>	Injeções intraperitoneais de 60 mg/kg de 5-FU	Grupo I. Controle negativo (n= 8). Grupo II. Controle Positivo (n= 8). Grupo III. Teste (n= 8).	Extrato de <i>Vacciniummyrtillus L.</i> (dosagem de 300 mg/kg e concentração final 45 mg/mL) uma vez ao dia durante 7 dias.	13 / 15 / 17
Tanideh et al. (2013)	Hamster	<i>Calendulaofficinalis</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 42 animais subdivididos igualmente em 3 grupos: Grupo I. Controle (n= 12). Grupo II. Tratado com gel de <i>Calendulaofficinalis</i> (n= 15). Grupo III. Placebo (n= 15).	O tratamento da mucosite oral foi iniciado nos dias 12 a 17 por aplicação tópica de <i>C. officinalis</i> gel uma vez ao dia (manhã) com o uso de cotonetes flexíveis para cobrir completamente a área de interesse com as preparações tópicas designadas.	13 / 15 / 17
Mardani et al. (2016)	Hamster	<i>Carumcarvi L.</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente	O estudo consistiu em uma amostra total de 54 animais subdivididos igualmente em 3 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Tratamento dietético com CHE em	Os grupos foram tratados através de dieta com <i>Carumcarvi L.</i> em uma dose de 500 ou 1000 mg/kg uma vez ao dia.	13 / 15 / 17

			arranhadasob anestesia local.	uma dose de 500 mg/kg uma vez ao dia. Grupo III. Tratamento dietético com CHE em uma dose de 1000 mg/kg uma vez ao dia.		
Showraki et al. (2016)	Hamster	<i>Oleaeuropaea</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhadasob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 63 animais subdivididos igualmente em 3 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Placebo. Grupo III. Tratados com aplicação tópica de pomada de <i>Oleaeuropaea</i> .	No 12º dia os hamsters receberam aplicação tópica diária de pomada de <i>Oleaeuropaea</i> por 5 dias.	13 / 15 / 17
Farrokhi et al. (2017)	Hamsters	<i>Pistacia atlântica / Hypericumperforatum</i>	Injeções intraperitoneais de 60 mg/kg de 5-FU	Os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (n = 12). Todos os animais receberam injeções intraperitoneais de 5-fluorouracil (5-FU / 60mg / kg) durante os dias 0, 5 e 10. A gravidade da mucosite oral foi observada no 12º dia. Grupo I. Tratados com gel tópico de extrato hidroalcoólico de <i>H. perforatum</i> à 10%. Grupo II. Tratados com gel tópico de extrato de óleo de frutas <i>P. atlântica</i> à 10%. Grupo III. Tratados com Gel tópico de extrato de óleo de frutas <i>P. atlântica</i> em combinação com 10% de extrato hidroalcoólico de <i>H. perforatum</i> . Grupo IV. Placebo. Grupo V. Controle.	Gel tópico de extrato de óleo de frutas <i>P. atlântica</i> em a 10% e/ou extrato hidroalcoólico de <i>H. perforatum</i> à 10%.	18
Koohi-Hosseinabadi (2017)	Hamsters	<i>Elaeagnusangustifolia</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhadasob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 56 animais subdivididos igualmente em 4 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Placebo. Grupo III. Tratados com HEEA. Grupo IV. Grupo dietético tratado com 300 mg / kg de HEEA.	Gel tópico contendo 10% de HEEA ou dieta com 300 mg/kg de HEEA.	2 / 5

Tanideh et al. (2017)	Hamsters	<i>Pistaciaatlantica</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 40 animais subdivididos igualmente em 4 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Placebo. Grupo III. Tratados através do uso de géis tópicos de 5% de <i>Pistaciaatlantica</i> . Grupo III. Tratados através do uso de géis tópicos de 10% de <i>Pistaciaatlantica</i> .	O gel de <i>Pistaciaatlantica</i> foi aplicado em toda a área de mucosa jugal por um movimento de esfregão através do uso de um cotonete impregnado.	15 / 18
Wanzeler et al. (2018)	Hamsters	<i>CarapaguianensisAubl.</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 60 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 122 animais subdivididos em 6 grupos: Grupo I. Controle negativo. Grupo II. Controle positivo. Grupo III. Tratados com ciclofosfamida. Grupo IV. Tratados com óleo da <i>CarapaguianensisAubl.</i> a 10%. Grupo V. Tratados com óleo da <i>CarapaguianensisAubl.</i> a 10% refinado. Grupo VI. Tratados com óleo da <i>CarapaguianensisAubl.</i> a 100%.	Do primeiro dia ao 15º dia, o óleo da <i>CarapaguianensisAubl.</i> foi administrada três vezes ao dia com a ajuda de um cotonete. Após a aplicação, o acesso dos animais a comida e água foi restringido por 1 h.	4 / 8 / 12 / 15
Schmidt et al. (2019)	Hamsters	<i>Curcuma longa L. / Chamomillarecutita L.</i>	Todos os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU (60 mg/kg) no dia 0, seguida de uma segunda injeção (40 mg/kg) no dia 2. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 72 animais subdivididos igualmente em 4 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Placebo. Grupo III. Tratamento tópico com extrato fluido de <i>Chamomillarecutita L.</i> Grupo IV. Tratamento tópico com extrato de <i>Curcuma longa L.</i>	Tratamento tópico com extrato fluido de <i>Chamomillarecutita L.</i> Ou <i>Curcuma longa L.</i> Cada animal recebeu duas aplicações das substâncias por dia (manhã e noite) usando uma colher medidora de 0,5 g.	8 / 10
Tanideh et al. (2019)	Hamsters	<i>TrachyspermumAmmi / PistaciaAtlantica</i>	Todos os animais receberam três injeções intraperitoneais de 5-FU na dose de 65 mg/kg nos dias 0, 5 e 10. Além disso, a mucosa jugal foi superficialmente arranhada sob anestesia local.	O estudo consistiu em uma amostra total de 90 animais subdivididos igualmente em 5 grupos: Grupo I. Controle. Grupo II. Placebo. Grupo III. Tratado com aplicação tópica do gel do extrato hidroalcoólico de <i>P. atlantica</i> de 3%. Grupo IV. Tratado com aplicação tópica de <i>T.</i>	Os animais foram tratados através da aplicação tópica do gel do extrato hidroalcoólico de <i>P. atlantica</i> e/ou com aplicação tópica de <i>T. ammi</i> em	13 / 15 / 17

				<i>ammi</i> em concentração de 1%. Grupo V. Tratado com os dois extratos analisados no estudo.	concentração de 1%.	
Gomes et al. (2020)	Hamsters	<i>SpondiasMombin</i>	Injeções intraperitoneais de 60 mg/kg de 5-FU (1º dia) e 60 mg/kg de 5-FU (2º dia), 30 minutos após a administração oral do extrato de <i>SpondiasMombin</i> .	Os animais foram divididos em seis grupos, com cinco animais cada (n = 5 / grupo): Grupo I–Controle. Grupo II - Animais submetidos a trauma mecânico e tratados com solução salina. Grupo III - Animais submetidos a trauma mecânico / tratados com soro fisiológico submetidos a injeções intraperitoneais de 5-FU. Grupo IV/V/VI - Três grupos de animais submetidos a trauma, receberam injeções de 5-FU e foram tratados oralmente com extrato de <i>SpondiasMombin</i> .	Os animais dos grupos testes foram tratados oralmente com extrato de <i>SpondiasMombin</i> em diferentes doses cada: 50 mg/kg, 100 mg/kg ou 200 mg/kg.	11

* Plantas medicinais constituintes do Bu-Zhong-Yi-Qi: *Astragalusmembranaceus*; *Glycyrrhizauralensis*; *Codonopsis pilosula*; *Angelicasinensis*; *Citrusreticulate*; *Cimicifugaheracleifolia*; *Bupleurumchinense*; *Atractylodesmacrocephala*; HEEA, Extrato hidroalcoólico de *E. angustifolia*; CHE, Extrato hidroalcoólico de *Carumcarvi* L.

Tabela 2. Resumo dos principais resultados dos estudos incluídos (n = 13).

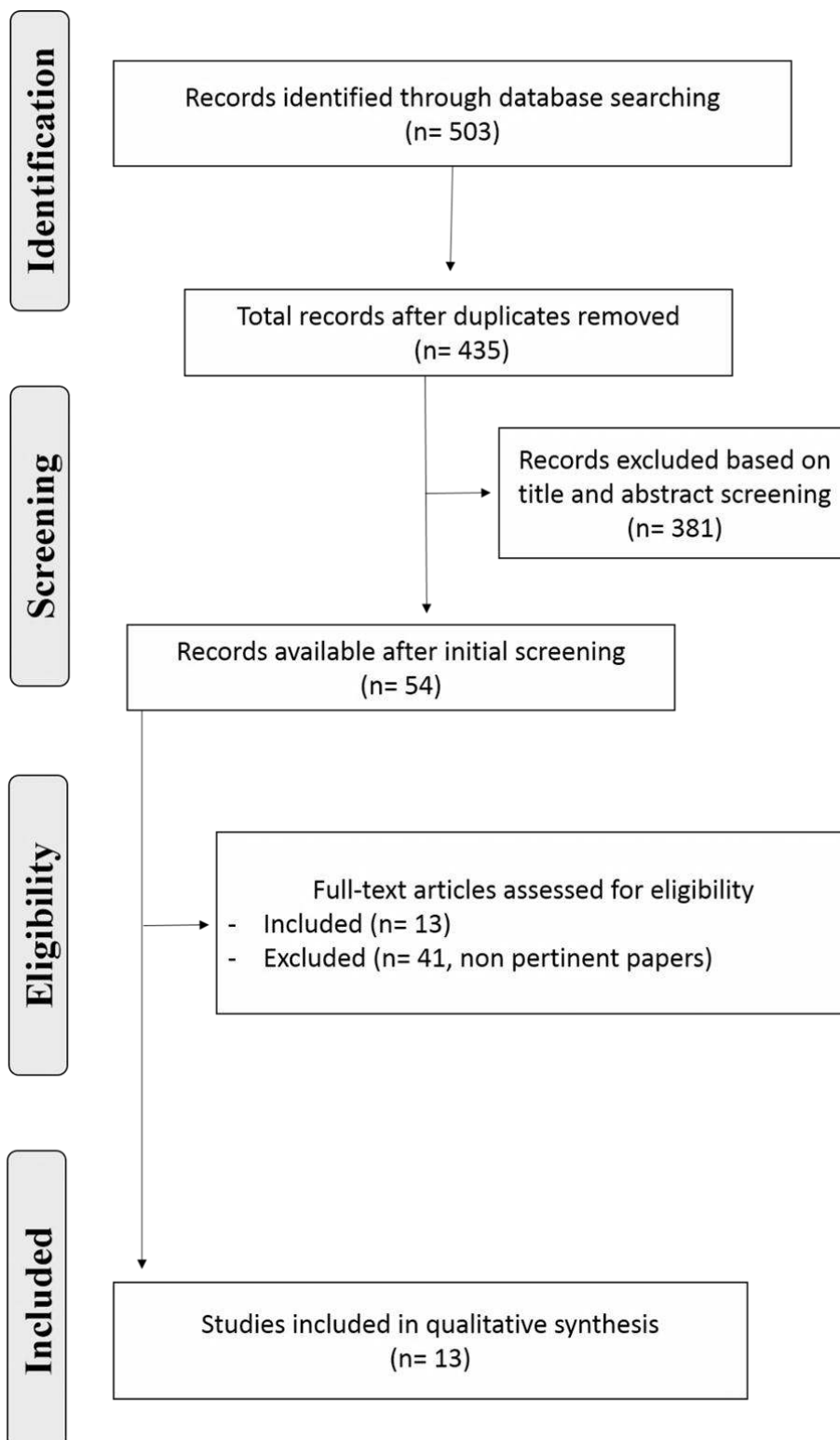
Estudo (Ano)	Principais Resultados
Pavesi et al. (2010)	O grupo tratado com <i>Chamomilla recutita L.</i> exibiu estatisticamente uma menor probabilidade de desenvolver MO. A análise dos resultados histopatológicos demonstrou que o grupo tratado com camomila exibiu um menor grau de MO durante todo o período de avaliação em comparação aos grupos controle e corticoide.
Curra et al. (2013)	No 10º dia, o grupo tratado com <i>Chamomilla recutita L.</i> apresentou escores mais baixos para as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α . O tratamento tópico com <i>Chamomilla recutita L.</i> demonstrou ação anti-inflamatória na MO em <i>hamsters</i> .
Davarmanesh et al. (2013)	O grupo extrato de <i>Vaccinium myrtillus L.</i> demonstrou escores clínicos e histopatológicos de mucosite oral significativamente mais baixos e menor probabilidade de redução média diária de peso em comparação com os animais dos grupos controle.
Tanideh et al. (2013)	Os escores microscópicos e macroscópicos de mucosite foram significativamente menores nos grupos de gel de <i>C. officinalis</i> a 5% e 10% do que nos grupos placebo e controle. O extrato de <i>C. officinalis</i> acelerou a cicatrização da mucosite oral.
Mardani et al. (2016)	Menor escore histopatológico foi observado nos grupos de 1000 e 500 mg/kg de CHE tópico. O uso de CHE na forma tópica pode estar associado à redução da intensidade da mucosite oral.
Showraki et al. (2016)	O escore histopatológico e o nível de malondialdeído foram significativamente menores no grupo tratado com extrato de <i>olea europaea</i> em comparação com os grupos controle e placebo. A aplicação diária de pomada de extrato de <i>olea europaea</i> teve efeito curativo sobre a MO induzida por 5-fluorouracil em hamsters. Além disso, o efeito benéfico na MO pode ser devido as suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.
Farrokhi et al. (2017)	O processo de cicatrização da mucosite oral foi significativamente superior tanto clínica quanto histopatologicamente (valor de P <0,05) no grupo tratado com <i>P. atlantica</i> em comparação com demais grupos.
Koohi-Hosseiniabadi (2017)	Os grupos tratados com HEEA, tanto topicamente como o dietético, mostraram um processo de reepitelização mais avançado em comparação com os grupos controle e placebo.
Tanideh et al. (2017)	O óleo de <i>Pistacia atlântica</i> acelera o processo de cicatrização da MO.
Wanzeler et al. (2018)	O tratamento com óleo de <i>Carapa guianensis Aubl.</i> a 100% foi associado a graus significativamente menores de MO em comparação ao relatado nos outros grupos. O óleo de <i>Carapa guianensis Aubl.</i> em ambas as concentrações não foi citotóxico, mas o tratamento com óleo de <i>Carapa guianensis Aubl.</i> a 100% mostrou potencial genotóxico.
Schmidt et al. (2019)	Os achados clínicos e histopatológicos revelaram que, no dia 8, os grupos que utilizaram <i>Curcuma longa L.</i> e <i>Chamomilla recutita L.</i> exibiram melhor taxa de cicatrização da MO. Além disso, o grupo que fez uso do extrato de <i>Curcuma longa L.</i> demonstrou níveis mais baixos de angiogênese e TGF- β 1 no 8º dia em comparação com os grupos placebo e controle.

- Tanideh et al. (2019) Níveis mais baixos de mieloperoxidase, malondialdeído e IL-1B e um aumento do nível de superóxido dismutase foram evidenciados no grupo tratado com *Trachyspermum Ammi e Pistacia Atlantica* em conjunto. A taxa de reepitelização também foi superior no grupo que utilizou ambos os fitoterápicos.
- Gomes et al. (2020) O extrato de *Spondias Mombin* (200 mg/kg) reduziu o estresse oxidativo e a inflamação na mucosite oral induzida por 5-fluorouracil em hamsters.

* HEEA, Extrato hidroalcoólico de *E. angustifolia*; CHE, Extrato hidroalcoólico de *Carum carvi* L; MO, Mucosite Oral.

Figuras

Figuras 1. Fluxograma evidenciando a estratégia inicial de busca computadorizada e manual aplicadas aos artigos pesquisados.



ARTIGO 2

4 ARTIGO 2

Terapias com própolis e geleias real reduzem inflamação e estimulam a cura de mucosite oral quimioinduzida por 5-fluorouracil em ratos

Propolis and royal jellies therapies reduce inflammation and stimulate healing in oral mucositis induced by 5-fluorouracil in rats

Mara Luana Batista Severo ¹, Stéfanie Thieme ², Felipe Martins Silveira ³, Raquel Padilha Martins Tavares ⁴, Amanda Katarinny Goes Gonzaga ¹, Silvana Maria Zucolotto ⁴, Aurigena Antunes de Araújo ^{1,4}, Marco Antonio Trevizani Martins ², Manoela Domingues Martins ^{2,3} Éricka Janine Dantas da Silveira ¹.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

² Departamento de Patologia Oral, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Departamento de Diagnóstico Oral, Faculdade de Odontologia Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

Será enviado para o periódico: Phytomedicine

Autor Correspondente:

Éricka Janine Dantas da Silveira

Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil. Av. Senador Salgado Filho, 1787, Lagoa Nova – Natal/RN. Fax: 59056-000. Fone: +55 84 32154138/ +55 84 991781601

e-mail:ericka_janine@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos da própolis e da geleia real em comparação a terapia de fotobiomodulação (FBM) com laser de baixa intensidade (LBI) em um modelo animal de mucosite oral (MO) induzida por 5-fluorouracil (5-FU). **Material e Métodos:** Trata-se de um estudo *in vivo*, experimental, controlado e cego. Setenta e dois ratos *Wistar* e machos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (n = 18): controle (C) (sem tratamento), terapia de fotobiomodulação (FBM) (laser intraoral 6 J/cm²), gel de própolis (P) e geleia real (GR). Nos dias 0 e 2, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU. Nos dias 3 e 4, a mucosa bucal foi escarificada. As terapias foram iniciadas no dia 5. Seis animais por grupo foram eutanasiados nos dias 8, 10 e 14. A análise fitoquímica da própolis e da geleia real foram realizados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). A análise clínica foi realizada usando fotografias e a avaliação histopatológica (Hematoxilina/Eosina) foi baseada nos escores de reepitelização e inflamação. Os estudos imuno-histoquímicos (pAKT, p-S6 e NFκB) e do estresse oxidativo (Superóxido Dismutase-SOD, Glutathiona reduzida-GSH e Malonaldeído-MDA) foram realizados. **Resultados:** A análise da CCD revelou a presença de compostos como terpenos, saponinas, óleos essenciais e flavonoides na P e de alta quantidade de sacarose (*R_f* 0,34) na RG. Nos dias 8 e 10, os animais dos grupos FBM, P e GR apresentaram melhora clínica e cicatrização acelerada da MO com menores scores morfológicos, aumento da imunexpressão das proteínas pS6 (exceto no dia 10), pAKT (ANOVA e teste de Tukey; p <0,05) e do fator de transcrição NF-kB (teste de Mann Whitney; p <0,05), quando comparados ao grupo controle. No dia 14, o grupo P aumentou os níveis do antioxidante GSH quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste de Tukey; p <0,05). **Conclusões:** Nossos resultados evidenciaram que a P e a GR, assim como a FBM com LBI, são terapias eficazes no tratamento da MO. A presença de açúcares na GR e de flavonoides, terpenos e óleos essenciais na P justificam suas excelentes ações na cicatrização de feridas e efeitos antiinflamatórios. Adicionalmente, o grupo tratado com P exibiu melhores características de redução do estresse oxidativo na MO induzida por 5-FU em ratos, quando comparados aos outros grupos tratamentos.

Palavras-chave: Mucosite oral; Tratamento; Vias de sinalização; Fitoterápicos; Estresse oxidativo.

INTRODUÇÃO

A mucosite oral (MO) é uma complicação comum e grave do tratamento oncológico. Estima-se que mais de 90% dos pacientes tratados com radioterapia em cabeça e pescoço apresentam algum grau de MO, por isso é considerada um dos mais importantes efeitos colaterais agudos observados nos pacientes submetidos à radioterapia em cabeça e pescoço e/ou quimioterapia (SURESH et al., 2010; ATILLA et al., 2017; VITALE et al., 2017; CINAUSERO et al., 2017; KUO et al., 2018; PEREIRA et al., 2019; VILLA; SONIS, 2020).

De forma geral, a MO caracteriza-se por exibir clinicamente lesões eritematosas, erosivas e/ou ulcerativas, mas o grau de severidade da manifestação clínica desta condição é variável. As úlceras tendem a ser extremamente dolorosas e por isso interferem diretamente na qualidade de vida do paciente, uma vez que dificultam a execução das funções orais no ato da alimentação (mastigar e deglutir) e na fala. Adicionalmente, a MO aumenta os riscos de infecções secundárias, o que pode gerar atrasos, interrupções ou descontinuidade do tratamento oncológico, fato que pode aumentar a morbidade e mortalidade em pacientes com câncer (MARIA et al., 2017; WEISSHEIMER et al., 2017; SCHMIDT et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; THIEME et al., 2019).

O desenvolvimento da MO envolve várias etapas, como: a iniciação, regulação positiva e ativação, que acarretam na geração de mediadores inflamatórios, amplificação de sinal, ulceração e cura. Durante a fase de iniciação da MO, ocorre dano tecidual por estresse oxidativo, devido a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), dano direto ao DNA e ativação da resposta imune inata, que acarreta em danos às membranas celulares, que estimulam macrófagos e induz a ativação fator nuclear kappa B (NF- κ B). O NF- κ B ativado estimula a expressão gênica e a liberação de citocinas pró- inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-6, interleucina (IL)-1 β e ciclooxigenase-2 (COX-2). Após a eliminação dos estímulos prejudiciais, ocorre a fase de cura, com o aumento da proliferação e diferenciação epitelial associada a reorganização do maquinário extracelular (SONIS, 2007; SONIS, 2009; SONIS, 2013; VILLA; SONIS, 2015; SONIS; VILLA, 2018; VILLA; SONIS, 2020).

Alguns autores têm relacionado a via da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) ao desenvolvimento de MO e ulcerações aftosas (SONIS, 2009; IGLESIAS-BARTOLOME et al., 2012; BOERS-DOETS et al., 2013; SONIS et al., 2017; VILLA; SONIS, 2020). A via PI3K (fosfoinosidite 3-quinase)-mTOR é ativada pela proteína AKT (serina/treonina-quinase). Esta via é parte de dois complexos: mTORC1 (leva a fosforilação de

S6) e mTORC2 (leva a fosforilação de AKT) (CASTILHO et al., 2013; SONIS et al., 2017; VILLA; SONIS, 2020).

A ativação de PIK3-mTOR regula a síntese de proteínas necessárias a progressão do ciclo celular, crescimento e sobrevivência celular, uma vez que aumenta a proliferação de células epiteliais e a migração, acelerando assim a cicatrização de feridas (SONIS, 2009; SQUARIZE et al., 2010; CASTILHO et al., 2013; PELLICOLI et al., 2014; TOMIOKA et al., 2014).

Pesquisas em relação à utilização de fitoterápicos vêm sendo realizadas na tentativa de buscar alternativas para prevenir e tratar a MO, já que nem sempre a terapia fotobiomoduladora (FBM) está disponível nos centros de tratamento oncológico (PEREIRA et al., 2019). Adicionalmente, algumas pesquisas têm buscado o entendimento da fisiopatologia desta condição e os efeitos do tratamento à base de fitoterápicos nas vias de sinalização envolvidas com o desenvolvimento da mesma. (CURRA et al., 2013; LOPEZ et al., 2013; LÜER et al., 2014; CUBA et al., 2016; CINAUSERO et al., 2017; WAGNER et al., 2017; KUO et al., 2018; SCHMIDT et al., 2019).

Dentre os fitoterápicos disponíveis e utilizados para tratamento de várias condições, destaca-se a própolis (P) e a geleia real (GR) (SUEMARU et al 2008; BARBOSA et al., 2009; WATANABE et al., 2013; NORONHA et al., 2017; ISIDOROV et al., 2018), dois importantes produtos produzidos por abelhas do gênero *Apis. sp.* que são comumente usados em todo o mundo como nutrientes tradicionais e na farmacologia desde os tempos antigos (YUKSEL; AKYOL, 2016).

Dessa forma, torna-se importante investigar se o gel da própolis e a geleia real exercem ação antiinflamatória e na cicatrização tecidual, por meio de estudos do estresse oxidativo, da imunexpressão fator de transcrição nuclear NF- κ B e adicionalmente verificar se esses fitoterápicos atuam estimulando a proliferação epitelial, por meio do estudo da via de sinalização PI3K/mTOR/AKT. Esta pesquisa fornece alternativas importantes para o tratamento da mucosite oral.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimento experimental

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA, nº 2018-0298) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram utilizados 72 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Rodentia Mammalia Wistar*), entre 8 e 12 semanas de

idade e peso de 275 ± 25 g. Após a obtenção dos animais, os mesmos foram acondicionados segundo Curra et al. (2015). Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos:

- Grupo controle (C) (n = 18): Indução da MO, não tratado, apenas manuseio diário
- Fotobiomodulação (FBM) (n = 18): Indução da MO e aplicação de laser intraoral
- Gel de Propolis (P) (n = 18): Indução da MO e aplicação tópica do gel de própolis
- Geleia real (GR) (n = 18): Indução da MO e aplicação tópica da geleia real

Todos os animais foram submetidos a um protocolo de indução de MO proposto por Sonis et al. (1990), modificado por Leitão et al. (2007) (grau de severidade moderado). Foi realizada a aplicação intraperitoneal do quimioterápico 5-FU nos dias 0 (60mg/Kg) e 2 (40mg/Kg), sendo o volume de diluição de até 5 mL/Kg. Nos dias 3 e 4, as mucosas jugais direita e esquerda foram escarificadas. No dia 5, os tratamentos foram iniciados.

Parâmetros da Fotobiomodulação

Os animais do grupo FBM receberam uma aplicação diária do laser intraoral de Diodo de Alumínio Gálio Índio Fósforo (InGaAlP) (MM Optics, São Carlos, SP, Brasil). A irradiação das mucosas jugais dos animais foi realizada de forma pontual no local da lesão e perpendicular. A aplicação do laser seguiu o protocolo de Thieme et al. (2019). O laser aplicado possui os seguintes parâmetros de irradiação: comprimento de onda de 660nm, spot size de $0,04\text{cm}^2$, irradiância de $1\text{W}/\text{cm}^2$, potência de 100mW e densidade de energia de $6\text{J}/\text{cm}^2$. O protocolo de irradiação das feridas foi realizado com um tempo de irradiação de 14.4 segundos, a uma distância de cerca de 3mm da mucosa, resultando em uma energia total de 1,44J por ponto.

Obtenção da medicação tópica

O gel da própolis utilizado na presente pesquisa teve como base tintura da própolis (Florien Fitoativos[®]; Piracicaba-SP, Brasil), na concentração a 10% e adicionado a 100g do agente mucoadesivo carboximetilcelulose (CMC). Tal formulação mucoadesiva da própolis foi elaborada na farmácia de manipulação Fitonfarma[®] (Porto Alegre-RS, Brasil). A geleia real foi utilizada na sua forma *in natura* (concentração a 100%, 18 g).

Análise Fitoquímica do gel de Própolis e da Geleia real por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Foi realizada a análise por CCD usando como adsorvente cromatoplasmas de vidro com gel de sílica 60 Fuv₂₅₄ (0,25 mm, Macherey-Nagel®). Os solventes utilizados como fase móvel foram escolhidos de acordo com os metabólitos secundários de interesse. Diversos testes foram feitos com composições e proporções diferentes de solventes, e ao final, foi selecionado o sistema solvente constituído de tolueno: acetato de etila (CDD) e ácido fórmico (5:5:0,5, v/v/v) (co-CDD) para analisar o gel de tintura de própolis a 10% e o sistema solvente 1-isopropanol: acetato de etila: água destilada: ácido fórmico (4:0,5:0,5:0,5, v/v/v/v), para a análise da geleia real *in natura*. Os padrões para análise comparativa foram escolhidos por meio da observação da coloração da banda cromatográfica e do fator de retenção (*R_f*).

Após a eluição da fase móvel, as placas foram reveladas utilizando dois tipos de reveladores: vanilina sulfúrica, como revelador universal e Reagente Natural A 0,5 % (difetilboriloxietilamina), específico para flavonoides, e observação sob luz ultravioleta a 365 nm.

De acordo com os resultados obtidos, o gel de carboximetilcelulose foi comparado com os padrões flavonoides de luteolina, quercetina e canferol (Sigma-Aldrich®). Para a geleia real *in natura*, devido à presença de açúcares, foi utilizado como padrão a sacarose.

Eutanásia

Nos dias 8, 10 e 14, 6 animais de cada grupo foram eutanasiados por sobre dose anestésica (Grau de severidade: sem recuperação). Isoflurano foi vaporizado em oxigênio a 100% (fluxo de O₂ de 0,5L/min) em concentração igual ou superior a 5%, fornecido por via inalatória (câmara, cone nasal ou máscara facial). Em seguida, antes de serem biopsiadas, a mucosa jugal direita foi fotografada para análise clínica. A mucosa direita foi fixada em solução de formalina tamponada a 10% para estudo histopatológico e imuno-histoquímico. A mucosa jugal esquerda foi condicionada em nitrogênio líquido e posteriormente no freezer – 80°C.

Avaliação clínica e histopatológica

As análises clínico-histopatológicas foram realizadas seguindo os parâmetros propostos por Lima et al. (2005) (Tabela 1).

Método e Análise Imuno-histoquímica

As reações imuno-histoquímicas foram realizadas em cortes histológicos de 3µm, em lâminas silanizadas e desparafinizados em xilol, reidratados em álcool e imersos em solução de

peróxido de hidrogênio a 0,3% em metanol para bloqueio da peroxidase endógena. Em seguida, os cortes foram submetidos à recuperação antigênica e posterior incubação dos anticorpos primários anti-*Phospho-Akt* (Ser473) (1:200, por 1 hora), anti-*Phospho-S6 Ribosomal Protein* (Ser240/244) (1:800, por 1 hora) e anti-NF-kB (p65/sc-109) (1:400, overnight). Posteriormente, a reação de amplificação foi realizada utilizando HiDef detection™ – HRP Polymer System (Cell Marque; Rocklin CA, USA). As revelações das reações foram realizadas através de solução cromógena, contendo 0,03% de 3-3'-diaminobenzidina (DAB, *DakoCytomation*, USA) e posteriormente contra-coradas com solução de hematoxilina de Mayer. Todas as reações foram acompanhadas de controles positivos de acordo com as instruções do fabricante. Para o controle negativo, os anticorpos primários foram substituídos por albumina sérica bovina (BSA) a 1% diluída em tampão TRIS-HCL, pH 7,4.

Para a análise da imunomarcagem, as lâminas foram fotografadas (Pannoramic MIDI, 1.15 SPI, 3D HISTECH®, Budapest, Hungary) em 3 diferentes campos no epitélio da mucosa oral, tendo como referência as bordas da ferida ou a região onde existiu indício de dano tecidual prévio. E com o auxílio do programa de visualização Image J (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA), foi realizada análise semiquantitativa por um único examinador em estudo cego meio do Score de Imunoreatividade (IRS) modificada (REMMELE; STEGNER 1987) (Tabela 2) para o p-Akt⁴⁷³ e o pS6 (marcação citoplasmática positiva) e quantitativa, pelo cálculo do índice de marcação LI (de labelling index) para o NF-kB (marcação nuclear positiva) (SEVERO et al., 2018), sendo expresso segundo a fórmula: LI (%) = (número de cél. Imunopositivas)/(número total de cél. contadas) x 100.

Ensaio para Análise do Estresse Oxidativo

Níveis de Malonaldeído (MDA)

O MDA é um produto final da peroxidação lipídica das membranas. Nesta pesquisa, os níveis de MDA das amostras analisadas foram quantificados por meio do ensaio descrito anteriormente por Siddique et al. (2012) e Bradley et al. (1982). As amostras de mucosa jugal foram suspensas em tampão Tris HCl 1: 5 (p / v) e cortadas em pequenos pedaços com tesoura por 15 segundos em uma placa gelada. A suspensão resultante foi homogeneizada por 2 minutos com um homogeneizador automático de Potter e centrifugada a 2500 × g a 4 ° C por 10 minutos. Os sobrenadantes foram testados para determinar o conteúdo de MDA. A absorvância de cada amostra foi medida em 586 nm. Os resultados foram expressos em nanomoles de MDA por grama de tecido.

Ensaio da Glutathiona Reduzida (GSH)

O GSH possui ação antioxidante, por agir na desativação de radicais livres. Para mensurar os níveis de GSH na MO, utilizou-se como base a metodologia descrita por Costa et al. (2006). Resumidamente, as amostras de mucosa jugal (n = 18 / grupo) foram homogeneizadas em 0,25 mL de solução de EDTA a 5%, depois foram adicionados a 320 µL de água destilada e 80 µL de ácido tricloroacético a 50% (TCA). As amostras foram centrifugadas a 3000 x g por 15 min a 4 ° C. O sobrenadante (400 uL) foi combinado com 800 ul de Tris 0,4 M de tampão (pH 8,9) e 20 uL de 0,01 M ditiobis-2-nitrobenzoico. A absorvância foi medida a 420 nm e os resultados foram relatados como unidade GSH / mg de tecido.

Concentração da Superóxido Dismutase (SOD)

Enzima superóxido dismutase (SOD) atua catalisando a dismutação do superóxido em oxigênio e em peróxido de hidrogênio. A SOD exerce uma importante ação antioxidante nas células expostas ao oxigênio. A estimativa da SOD foi realizada pelo método de Beauchamp e Fridovich (1971). Foi preparado o homogenato da amostra (100mg de tecido da mucosa jugal em 1mL de tampão fosfato 0,4M, pH 7,0). Posteriormente, o preparado foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos, a 4°C, sendo o sobrenadante utilizado o ensaio (30 ul). O homogenato foi dividido nos 4 grupos de análise, o Teste (T): adição de 0,25 mL de metionina, 0,03 mL de riboflavina, 0,01 mL de NBT, 0,01 mL. O Controle (C): adição de 0,25 mL de metionina, 0,03 mL de riboflavina, 0,01 mL de tampão fosfato (pH 7,8), 0,01 mL. Padrão (S): adição de 0,25 mL de metionina, 0,03 mL de riboflavina, 0,01 mL de NBT, 0,01 mL de tampão fosfato. Em Branco (B): adição de 0,25 mL de metionina, 0,03 mL de riboflavina, 0,02 mL de tampão fosfato (pH 7,8). O local rotulado como Teste, Padrão e Controle foi exposto a iluminação por 10 minutos em uma câmara de iluminação forrada com papel alumínio e equipada com uma lâmpada fluorescente de 15W. Imediatamente após a iluminação, a densidade óptica de todas as reações foi lida a 560 nm. As unidades de enzima presentes nas amostras foram calculadas utilizando a fórmula: Atividade da SODx100/Total de proteínas (ml/100µL).

Análise Estatística

Os dados clínicos, histopatológicos, imuno-histoquímicos do p-Akt⁴⁷³ e o pS6 e do estresse oxidativo foram avaliados usando a análise de variância unidirecional (ANOVA) seguido pelo teste de múltiplas comparações de Tukey. Para a análise do fator de transcrição

NF-kB, o teste de Mann-Whitney foi realizado. O software utilizado foi o GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, Califórnia) e o nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Análise Fitoquímica do gel de Própolis e Geleia Real

A CCD do P, após a revelação com vanilina sulfúrica detectou, principalmente, a presença de compostos com a estrutura de terpenos (bandas cromatográficas de cor vermelho-marrom, amarelo-marrom ou verde escura, azul, azul-violeta e amarelada), saponinas (bandas cromatográficas de cor azul, azul-violeta e, algumas vezes, vermelho ou amarelo-marrom) e óleos essenciais (bandas cromatográficas de cor azul, marrom ou vermelha. (Figura 1A).

Nas co-CCDs do P após eluição e revelação com o Reagente Natural A 0,2% (revelador específico para detecção de flavonoides) seguido da observação sob luz UV 365 nm, verificou-se a presença de zonas fluorescentes de intensidade amarela e verde indicativo da presença de flavonoides do tipo agliconas, como a quercetina (coloração amarelo-alaranjado fluorescente e R_f 0,41), luteolina (coloração amarelo fluorescente e R_f 0,40) e canferol (coloração verde fluorescente e R_f 0,58), tendo como referência as características de coloração e o R_f apresentados (Figuras 1B e 1C).

A CDD da GR evidenciou uma alta quantidade de sacarose (R_f 0,34). A banda cromatográfica possível de ser visualizada pela fase móvel utilizada apresentou-se de coloração marrom-escura (R_f 0,42), sugerindo a presença de açúcares, o que impediu de visualizar outras bandas (Figura 1D).

Própolis e geleia real promoveram melhora clínica, aumento da reepitelização e redução da inflamação da MO

No dia 5 todos os animais desenvolveram MO. A Figura 2A mostra os aspectos clínicos da MO em todos os grupos durante o período experimental (8, 10 e 14 dias). De forma geral, no dia 8, três dias após o início do tratamento, os animais dos grupos tratados exibiram escores clínicos menores, quando comparado com o grupo controle ($p < 0,05$) (Figura 2A).

Com relação aos aspectos histopatológicos, pôde-se observar que nos dias 8 e 10 os grupos FBM, P e GR revelaram cicatrização acelerada da MO, quando comparados ao grupo controle, sendo a diferença entre os escores estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 2B). Tais grupos apresentaram predomínio de reepitelização, hiperemia leve ou ausente, infiltrado inflamatório crônico leve ou ausente, ausência de ulceração e abscessos (escores 0 ou 1), nos referidos dias, com destaque para a quantidade aumentada de novos fibroblastos em meio a matriz extracelular em formação e o aparecimento de células musculares esqueléticas imaturas (Figura 2B).

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas no dia 14 entre os grupos estudados ($p > 0,05$).

Própolis e geleia real estimularam uma maior ativação da Via de sinalização PI3K/mTOR/AKT e do Fator de Transcrição nuclear NF- κ B na MO

Nos dias 8 e 10, os grupos FBM, P e GR exibiram aumento na imunexpressão das proteínas pS6 (excetuando-se no dia 10) e pAKT (Teste de Tukey; $p < 0,05$) e do fator de transcrição NF- κ B (Mann Whitney test; $p < 0,05$), quando comparados ao grupo controle. No entanto, no dia 14, não foi observada diferença estatística significativa entre as proteínas analisadas, quando comparados os grupos estudados (Teste de Tukey; $p > 0,05$) (Figura 3).

Já quando comparados os grupos tratamentos entre si, observou-se que para estas proteínas, independente do tempo analisado, não foi observada diferença estatística significativa (Teste de Tukey; $p > 0,05$) (Figura 3).

O tratamento a base de própolis atuou reduzindo o dano tecidual na MO devido ao aumento dos níveis de antioxidante tecidual

Foi verificado que apenas no dia 14, o grupo P produziu maiores níveis de GSH quando comparado ao grupo controle (Tukey test; $p < 0,05$).

Em relação aos níveis de SOD e MDA produzidos, não foi verificado diferença estatística quando comparado o grupo controle aos grupos FBM, P e GR nos tempos analisados (Tukey test; $p > 0,05$).

DISCUSSÃO

A MO é um efeito colateral comum e clinicamente significativo que afeta pacientes submetidos a tratamentos antineoplásicos (KUO et al., 2018; PEREIRA et al., 2019). Com frequência, tais tratamentos causam danos severos à mucosa oral, desenvolvendo lesões ulcerativas de grande desconforto e dor intensa aos pacientes. Caso a MO não seja prevenida e tratada adequadamente, os desconfortos gerados podem limitar a capacidade dos pacientes em tolerar o tratamento (MARIA et al., 2017; SCHMIDT et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; THIEME et al., 2019; VILLA; SONIS, 2020).

Neste contexto, a presente pesquisa demonstrou uma importante contribuição para o tratamento da MO por meio do uso de compostos naturais provenientes da abelha, uma vez que, nem sempre os pacientes portadores desta lesão tem acesso à terapia fotomoduladora (FBM).

A P é composta principalmente por compostos fenólicos (flavonoides, ácidos aromáticos, benzopiranos), diterpenos, triterpenos e óleos essenciais (espatulenol, farnesol, benzoato de benzila e acetofenonas preniladas) (WAGNER et al., 1984; SILVA et al., 2016). Destacando-se a atuação dos flavonoides, que apresentam na sua constituição importantes princípios bioativos direcionados ao própolis (SILVA et al., 2016).

Em seu estudo, Wagner et al. (1984) observaram por cromatografia em camada delgada (CCD), que o uso do revelador Reagente Natural A 0,2%, seguido da observação sob luz UV 365 nm, revela zonas fluorescentes de intensidade amarela, laranja e verde indicativas da presença dos flavonoides. Resultado esse, semelhante aos encontrados na P utilizada na presente pesquisa, na qual observamos a presença de agliconas, que são flavonoides não ligados a moléculas de açúcar, como a quercetina (banda amarelo-alaranjado fluorescente), a luteolina (coloração amarelo fluorescente) e o camferol (coloração verde fluorescente) (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; KUO et al., 2018).

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura. Essa técnica se destaca devido à sua facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas (WAGNER et al., 1984; KUO et al., 2018). Portanto, na presente pesquisa, a identificação dos constituintes da P, nos possibilitou o melhor entendimento das suas propriedades biológicas.

Assim como a P, a GR apresenta extraordinária propriedade biológica, como alta atividade cicatrizante, atividade antibacteriana, antiinflamatória, vasodilatadora, ação desinfetante, atividade antioxidante, dentre outras (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; YUKSEL; AKYOL, 2016; ISIDOROV et al., 2018).

A GR *in natura* é composta quimicamente por proteínas, açúcares, lipídeos, vitaminas e aminoácidos livres (ABDELNUR et al., 2011). Além disso, GR é composta por um número significativo de compostos bioativos, incluindo o ácido 10-hidroxi-2-decenóico (HAD) (propriedades imunomoduladoras), ácidos graxos, óxido N1 de adenosina monofosfato (AMP), adenosina, acetilcolina, polifenóis e flavonoides, que são compostos responsáveis por suas atividades bioativas (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; CHEN et al., 2017; PASUPULETI et al., 2017).

Segundo Brudzynski e Sjaarda. (2015), Chen et al. (2017), Pasupuleti et al. (2017) e Kunugi e Ali. (2019), a GR apresenta alta quantidade de açúcares, principalmente, glicose, sacarose e frutose. Os açúcares conferem a geleia real uma importante fonte nutricional, enquanto os outros constituintes conferem-lhe funções farmacológicas, como a ação cicatrizante, antiinflamatória, atividade microbiana, atividade antioxidante, dentre outras (Brudzynski; Sjaarda, 2015; Chen et al., 2017; Pasupuleti et al., 2017; Kunugi, Ali, 2019). Semelhante ao resultado encontrado na presente pesquisa, a qual se evidenciou que a banda cromatográfica possível de ser visualizada pela fase móvel utilizada apresentou-se de coloração escura, sugerindo a presença de açúcares, o que impediu de visualizar outras bandas que poderia sugerir mais compostos.

Diante do resultado da CCD da GR, sugerimos que as ações cicatrizantes, anti-inflamatórias e de redução do estresse oxidativo presentes nessa pesquisa, advém destes outros compostos, como por proteínas, lipídeos, vitaminas e aminoácidos livres (ABDELNUR et al., 2011; CHEN et al., 2017; KUNUGI; ALI, 2019), além de metabolitos como ácido benzoico, ácido 4-sulfobenzóico, se-óxido de selenometionina e se-óxido de Se-(propil)-selenocisteína, que não conseguimos detectar pela técnica CCD utilizada (CHEN et al., 2017; KUNUGI; ALI, 2019).

A P é bastante utilizada no tratamento de feridas devido à sua facilidade de utilização, baixo custo e por suas excelentes propriedades biológicas, como a sua elevada atividade cicatrizante, antiinflamatória, antioxidante, imunomodulatória e antimicrobiana (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; NORONHA et al., 2017; KUO et al., 2018; PRZYBYLEK; KARPIŃSKI, 2019).

A quercetina, a luteolina, e o camferol são flavonoides encontrados na constituição do própolis utilizado de forma terapêutica na presente pesquisa. Estes flavonoides, em sua maioria, estão relacionados as excelentes propriedades biológicas do própolis (BRUDZYNSKI;

SJAARDA, 2015; KUO et al. 2018). Borreli et al. (2002) observaram que os flavonoides apresentam atividades inibitórias sobre as cicloxigenases (COXs), em especial a COX-1 e COX-2, lipoxigenases, da produção do ácido aracdônico das membranas celulares e atua de inibindo a síntese das prostaglandinas. Adicionalmente, os mesmos atuam estimulando o sistema imunológico por meio do aumento da atividade fagocitária, estimulando a imunidade celular (BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; NORONHA et al. 2017; KUO et al. 2018; PRZYBYLEK; KARPIŃSKI, 2019).

As propriedades fitoquímicas detectadas na presente pesquisa constaram nos ensaios histoquímicos e imuno-histoquímicos que a P e GR exibem ação antiinflamatória e cicatrizante na MO, visto que, no dia 8, três dias após o início do tratamento, os animais dos grupos FBM, P e GR exibiram escores clínicos e histopatológicos menores, quando comparado com o grupo controle. De forma semelhante aos nossos resultados, Curra et al. (2015), Vitale et al. (2017), Thieme et al. (2019) (FBM), Damyanliev et al. (1982) (própolis a 10%), Noronha et al. (2017) (Gel de própolis mucoadesivo a 10%), Suemaru et al. (2008) (geleia real) e Watanabe et al. (2013) (geleia real), também obtiveram redução significativa do tamanho das lesões, ausência ou redução de úlceras e inflamação local após o uso dessas terapias. Logo, consideramos que a utilização do própolis à 10% e o uso da geleia real *in natura*, foram tão eficientes quando comparados ao tratamento com FBM, acelerando a cicatrização e reduzindo a inflamação em casos de MO quimioinduzida.

A via PIK3-mTOR é uma das vias de sinalização intracelular frequentemente ativada de forma aberrante no câncer (LIA et al., 2020; CAI et al., 2020) e em vários processos fisiológicos, como na cicatrização de feridas (CASTILHO et al., 2013; JYN et al., 2013; TOMIOKA et al., 2014; PELLICIOLI et al., 2014). A ativação de PIK3-mTOR regula a síntese de várias proteínas necessárias a progressão do ciclo celular, crescimento e sobrevivência celular, uma vez que aumenta a proliferação de células epiteliais e a migração, acelerando assim a cicatrização de feridas (SQUARIZE et al., 2010; CASTILHO et al., 2013; JYN et al., 2013; PELLICIOLI et al., 2014; TOMIOKA et al., 2014).

Em nosso estudo, verificamos por meio de estudo imuno-histoquímico, que os animais tratados com FBM, P e GR exibiram aumento na imunoexpressão das proteínas pS6 (dias 8) e pAKT (dias 8 e 10), no período crítico do reparo tecidual e fechamento da ferida, quando comparados ao grupo controle. Squarize et al. (2010), Castilho et al. (2013) e Pellicoli et al. (2014), por meio de estudos experimental em ratos, verificaram que a ativação da proteína mTOR, aumenta drasticamente a proliferação de células epiteliais, a migração e a cicatrização

de feridas cutânea. Diante dos nossos achados, sugerimos que a melhora clínica e microscópica acelerada nos casos de MO nos grupos FBM, P e GR aconteceu mediante ativação da via PIK3-mTOR nos dias iniciais da cicatrização tecidual.

Durante o desenvolvimento da MO o dano tecidual acontece mediado pelo aumento do estresse oxidativo tecidual, por meio da produção de EROS e ativação da resposta imune inata, que leva a danos na membranas celulares, estímulo de macrófagos e ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SONIS, 2009; SONIS, 2013; VILLA; SONIS, 2015; SONIS et al., 2017; VILLA; SONIS, 2020).

O NF- κ B é um fator de transcrição envolvido no controle da expressão de diversos genes associados à resposta inflamatória que participam na ativação células do sistema imune inato e adaptativo por meio da ativação de macrófagos e células T auxiliares e citotóxicas. Mediante ativação, o NF- κ B, estimula a liberação de citocinas pró- inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-6, Interleucina (IL)-1 β e ciclooxygenase-2 (COX-2) são mediadas pela ativação do NF- κ B (VILLA; SONIS, 2015; SONIS et al., 2017; VILLA; SONIS, 2020). O NF- κ B atua também na regulação e estímulo na proliferação, apoptose, morfogênese e diferenciação celular (SONIS et al., 2017).

O uso terapêutico da FBM (CURRA et al. 2015; SCHMIDT et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; THIEME et al., 2019), P (NORONHA et al. 2017; BRUDZYNSKI; SJAARDA, 2015; KUO et al. 2018; PRZYBYLEK; KARPÍŃSKI, 2019) e GR (SEUMARU et al., 2008; BRUDZYNSKI et al., 2015; PASUPULETI et al., 2017) tem sido amplamente utilizado para reduzir condições inflamatórias. Tendo como principais efeitos, acelerar a cicatrização de feridas através da redução precoce do processo inflamatório instalado, além de exercer efeitos biomodulatórios (CURRA et al., 2015; PASUPULETI et al., 2017; THIEME et al., 2019; SEUMARU et al., 2008; PRZYBYLEK; KARPÍŃSKI, 2019). Tais efeitos biomodulatórios estão relacionados com a prevenção da morte e restauração do metabolismo celular (SEUMARU et al. 2008; PASUPULETI et al. 2017; PEREIRA et al., 2019; PRZYBYLEK; KARPÍŃSKI, 2019).

Curra et al. (2015) observaram em seu estudo que os animais tratados com FBM apresentam melhores características clínica da MO (dia 10) e com maiores níveis de ativação do NF- κ B (dias 10 e 15) durante o desenvolvimento e a cura da MO, quando comparado aos animais do grupo controle. Os autores sugerem que o uso preventivo e / ou terapêutico FBM reduzem a gravidade da MO por meio da ativação da via NF- κ B. No presente estudo foi observado uma ativação precoce do NF- κ B (dia 08), nos grupos FBM, P e GR quando

comparados ao do grupo controle. Nesse contexto, assim como Curra et al. (2015), sugerimos que tamanhos benéficos clínicos e biomodulatórios dos agentes terapêuticos aqui testados provavelmente estão associados a modulação positiva do NF- κ B.

Adicionalmente é bastante relatado na literatura a capacidade que a P possui de reduzir o potencial redox nos tecidos. Esta ação antioxidante, está relacionada com a atuação dos flavonoides. Os flavonoides atuam como sequestradores de radicais livres, que são produzidos nos tecidos e podem causar danos extensos à macromolécula, inclusive ao DNA, sendo também capazes de catalisar os produtos finais da peroxidação lipídica provenientes do dano à membrana plasmática celular (RIGHI et al., 2011; SILVA et al., 2016; KUO et al., 2018).

Em seu estudo, Thieme et al. (2019) observaram que no dia 8, o grupo tratado com FBM estimulou a produção de maiores níveis de GSH, quando comparado ao grupo controle. Diferente dos resultados da presente pesquisa, pois apenas os animais do grupo própolis exibiram aumento do GSH tardiamente, apenas observada diferença no dia 14. Porém, tal constatação não influenciou negativamente no reparo tecidual, porque mesmo tardiamente, o GSH atuou desativando as espécies reativas de oxigênio da ferida, favorecendo o processo de reparo (PASUPULETI et al., 2017). A presença dos flavonoides justifica a redução do estresse oxidativo tecidual no grupo própolis (PASUPULETI et al., 2017).

A presente pesquisa é pioneira no estudo da via PI3K-Akt-mTOR no processo de cicatrização de MO quimioinduzidas e tratadas com P e GR. Em conclusão, consideramos o tratamento à base da P e GR propostas terapêuticas promissoras no tratamento da MO. Pois, foi observado que tais produtos exibiram excelentes propriedades biológicas, com elevada atividade cicatrizante e antiinflamatória, por meio da ativação precoce do fator de transcrição NF- κ B e da via de proliferação celular que via PIK3-mTOR. Mesmo de forma tardia, a P atuou reduzindo o estresse oxidativo, porém sem perdas no reparo tecidual.

CONFLITO DE INTERESSE: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS: Programa de Pós-Graduação em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Porto Alegre (GPPG / FIPE: 2018/0298). Agradecemos também ao Conselho Nacional Brasileiro de Ciência e Desenvolvimento Tecnológico- CNPq (Bolsa de Doutorado Sanduíche modalidade no País-Cronograma 3, processo:311280/2017-0), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - código 001.

REFERÊNCIAS

- Abdelnur, P.V., Abe, S., Cunha, I.B.S., Lima-Pallone, J.A., Godoy, H.T., Eberlin, M.N., Catharino, R.R. (2011). Metabolic fingerprinting of royal jelly: characterization and proof of authenticity. *Quality Assurance and Safety of Crops & Food* 3, 185-190. doi:10.1111/j.1757-837x.2011.00112.x.
- Atilla, E., Toprak, S.K., Demirer, T. (2017). Current Review of Iron Overload and Related Complications in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Journal of Turkish Society of Haematology* 34, 1-9. doi: 10.4274/tjh.2016.0450.
- Barbosa, M.H., Zuffi, F.B., Maruxo, H.B., Jorge L.L.R. (2009). Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. *Acta Paulista de Enfermagem* 22, 318-322. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-21002009000300013>.
- Boers-Doets, C.B., Raber-Durlacher, J.E., Treister, N.S., Epstein, J.B., Arends, A.B., Wiersma, D.R., Lalla, R.V., Logan, R.M., Van Erp, N.P., Gelderblom, H. (2013). Mammalian target of rapamycin inhibitor-associated stomatitis. *Future oncology* 9, 1883-1892. doi: 10.2217/fon.13.141.
- Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A., Capasso, F., Ialenti, A. (2002). Phytochemical compounds involved in the anflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 73, 53-63. doi: 10.1016/s0367-326x(02)00191-0.
- Brudzynski, K., Sjaarda, C. (2015). Honey glycoproteins containing antimicrobial peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, are responsible for the cell wall lytic and bactericidal activities of honey. *PLoSOne* 10, 1-21. doi: 10.1371/journal.pone.0120238.
- Cai, C., Dang, W., Shilei, L., Huang, L., Li, Y., Li, G., Yan, S., Jiang, C., Song, X., Hu, Y., Gu, J. (2020). ANTXR1/TEM8 promotes gastric cancer progression through activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Cancer Sci* doi: 10.1111/cas.14326. [Epub ahead of print].
- Castilho, R.M., Squarize, C.H., Gutkind, J.S. (2013). Exploiting PI3K/mTOR signaling to accelerate epithelial wound healing. *Oral Diseases* 19, 551–558. doi: 10.1111/odi.12070.

- Chen, D., Liu, F., Wan, J.B., Lai, C.Q., Shen, L. (2017). Effect of Major Royal Jelly Proteins on Spatial Memory in Aged Rats: Metabolomics Analysis in Urine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65, 3151-3159. doi:10.1021/acs.jafc.7b00202.
- Cinausero, M., Aprile, G., Ermacora, P., Basile, D., Vitale, M. G., Fanotto, V., Sonis, S. T. (2017). New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. *Frontiers in pharmacology* 8, 1-16. doi: 10.3389/fphar.2017.00354.
- Cuba, L.F., Braga, F.A., Cherubini, K., Salum, F.G., Figueiredo, M.A.Z. (2016). Topical application of Aloe vera and vitamin E on induced ulcers on the tongue of rats subjected to radiation: clinical and histological evaluation. *Support Care Cancer* 24, 2557-2564. Doi: 10.1007/s00520-015-3048-3.
- Curra, M., Martins, M.A., Lauxen, S., Pelliccioli, A.C., Sant'Ana, F.M, Pavesi, V.C., Carrard, V.C., Martins, M.D. (2013). Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1b and TNF-a in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 71, 293-299. doi: 10.1007/s00280-012-2013-9.
- Curra, M., Pelliccioli, A.C., Filho, N.A., Ochs, G., Matte, Ú, Filho, M.S., Martins, M.A., Martins, M.D. (2015). Photobiomodulation reduces oral mucositis by modulating NF-kB. *Journal of biomedical optics* 20, 1-8. doi: 10.1117/1.JBO.20.12.125008.
- Damyantiev, R., Hekimov, K., Savova, E., Agopian, R. (1982). The treatment of suppurative surgical wounds with propolis. *Folia Medica* 24, 24-27.
- Isidorov, W., Witkowski, S., Iwaniuk, P., Zambrzycka, M., Swiecicka, I. (2018). Royal jelly aliphatic acids contribute to antimicrobial activity of honey. *Journal of Apicultural Science* 62, 1-13. doi: <https://doi.org/10.2478/jas-2018-0012>.
- Jin, Y., Tymen, S.D., Chen, D., Fang, Z.J. (2013). MicroRNA-99 Family Targets AKT/mTOR Signaling Pathway in Dermal Wound Healing. *PlosOne* 8, pp.64434, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0064434.
- Kunugi, H., Ali, M. (2019). Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. *Int. J. Mol. Sci* 20, pp.4662. doi:10.3390/ijms20194662.

Kuo, CC., Wang, R.H., Wang, H.H., Li, C.H. (2018). Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of propolis mouthwash in cancer therapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer* 26, 4001-4009. doi: 10.1007/s00520-018-4344-5.

Li A., Li, X., Chen, X., Zeng, C., Wang, Z., Li, Z., Chen, J. (2020). NUPR1 Silencing Induces Autophagy-Mediated Apoptosis in Multiple Myeloma Cells Through the PI3K/AKT/mTOR Pathway. *DNA Cell Biol.* doi: 10.1089/dna.2019.5196. [Epub ahead of print]

Lopez, T.C., Martins, M.D., Pavesi, V.C., Ferreira, L.S., Bussadori, S.K., Moreira, M.S., Marques, M.M. (2013) Effect of laser phototherapy in the prevention and treatment of chemoinduced mucositis in hamsters. *Brazilian oral research* 27, 342-348. doi: 10.1590/S1806-83242013005000019.

Lüer, S.C., Goette, J., Troller, R., Aebi, C. (2014). Synthetic versus natural curcumin: bioequivalence in an in vitro oral mucositis model. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14, pp.53. doi: 10.1186/1472-6882-14-53.

Maria, O.M., Eliopoulos, N., Muanza, T. (2017). Radiation-induced Oral Mucositis. *Frontiers in Oncology* 7, 1-23. doi: 10.3389/fonc.2017.00089.

Noronha, V.R.A.S., Abdo, E.N., Persio, F.P.C.L., Santos, VR. (2017). Propolis gel versus benzydamine in preventing oral mucositis for patients irradiated in head and neck: a preliminary study. *Cancer Reports and Reviews* 1, 1-4. doi: 10.15761/CRR.1000112.

Pasupuleti, V.R., Sammugam, L., Ramesh, N., Gan, S.H.(2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017, pp.1259510. doi: 10.1155/2017/1259510.

Pelliccioli, AC., Martins, M.D., Dillenburg, C.S., Marques, M.M., Squarize, C.H., Castilho, R.M. (2014). Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Journal of biomedical optics* 19, 1-7. doi: 10.1117/1.JBO.19.2.028002.

Pereira, I.F., Firmino, R.T., Meira, H.C., DO Egito Vasconcelos, B.C., DE Souza Noronha, V.R.A., Santos, V.R. (2019). Radiation-induced Oral Mucositis in Brazilian Patients: Prevalence and Associated Factors. *In Vivo* 33, 605-609. doi: 10.21873/invivo.11517.

- Przybyłek, I., Karpinski, T.M. (2019). Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules* 24, pp.2047. doi:10.3390/molecules24112047
- Righi, A.A., Alves, T.R., Negri, G., Marques, L.M., Breyer, H., Salatino, A. (2011). Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *J. Sci. Food. Agric.* 91, 2363-2370. doi: 10.1002/jsfa.4468
- Schmidt, T.R., Curra, M., Wagner, V.P., Martins, M.A.T., de Oliveira, A.C., Batista, A.C., Valadares, M.C., Marreto, R.N., Martins, M.D. (2019). Mucoadhesive formulation containing *Curcuma longa* L. reduces oral mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. *Phytotherapy Research*, 1-10. doi: 10.1002/ptr.6279.
- Silva, J.B., Costa, K.M.F.M., Coelho, W.A.C., Paiva, K.A.R., Costa, G.A.V., Salatino, A., Freitas, C.I.A., Batista, J.S. (2016). Quantification of phenols, total flavonoids and pharmacological activities of geopropolis *Plebeia aff. flavocincta* of Rio Grande do Norte, Brazil. *Pesq. Vet. Bras* 36, 874-880. doi:10.1590/S0100-736X2016000900014.
- Sonis, S.T., Villa, A. (2018). Phase II investigational oral drugs for the treatment of radio/chemotherapy induced oral mucositis. *Expert Opin Investig Drugs* 27, 147-154. <https://doi.org/10.1080/13543784.2018.1427732>.
- Sonis, S.T. (2007). Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. *J Support Oncol* 5, 3-11.
- Sonis, S., Andreotta, P.W., Lyng, G. (2017). On the pathogenesis of mTOR inhibitor-associated stomatitis (mIAS)-studies using an organotypic model of the oral mucosa. *Oral Diseases* 23, 347-352. doi:10.1111/odi.12616.
- Sonis, S.T. (2009). Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncology* 45, 1015-1020. doi: 10.1016/j.oraloncology.2009.08.006.
- Sonis, S.T. (2013). Oral Mucositis in Head and Neck Cancer: Risk, Biology, and Management. *American Society of Clinical Oncology Annual Meeting*, 236-2340. doi: 10.1200/EdBook_AM.2013.33.e236.

- Squarize, C.H., Castilho, R.M., Bugge, T.H., Gutkind, J.S. (2010). Accelerated Wound Healing by mTOR Activation in Genetically Defined Mouse Models. *PlosOne* 5, 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0010643.
- Suemaru, K., Cui, R., Li, B., Watanabe, S., Okihara, K., Hashimoto, K., Yamada, H., Araki, H. (2008). Topical application of royal jelly has a healing effect for 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamsters. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology* 30, 103-106. doi: 10.1358/mf.2008.30.2.1159655.
- Suresh, A.V., Varma, P.P., Sinha, S., Deepika, S., Raman, R., Srinivasan, M., Mandapal, T., Reddy, C.O., Anand, B.B. (2010). Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemoradio-therapy. *Journal of cancer research and therapeutics* 6, 448-451. doi: 10.4103/0973-1482.77100.
- Thieme, S., Ribeiro, J.T., Santos, B.G., Zieger, R.A., Severo, M.L.B., Martins, M.A.T., Matté, C., Martins, M.D. (2019). Comparison of photobiomodulation using either an intraoral or an extraoral laser on oral mucositis induced by chemotherapy in rats. *Supportive Care in Cancer* 28, 867-876. doi: 10.1007/s00520-019-04889-9.
- Tomioka, H., Nakagami, H., Tenma, A., Saito, Y. (2014). Novel Anti-Microbial Peptide SR-0379 Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway. *PlosOne* 9, 1-11. doi: 10.1371/journal.pone.0092597.
- Villa, A., Sonis, S.T. (2020). An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. *Expert Opin Pharmacother*. 1-8. doi: 10.1080/14656566.2020.1718652.
- Villa, A., Sonis, S.T. (2015). Mucositis : pathobiology and management. *Current opinion in oncology* 27, 159-164. doi: 10.1097/CCO.0000000000000180.
- Vitale, M.C., Modaffari, C., Decembrino, N., Zhou, F.X., Zecca, M., Defabianis, P. (2017). Preliminary study in a new protocol for the treatment of oral mucositis in pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and chemotherapy (CT). *Lasers in medical science* 32, 1423-1428. doi: 10.1007/s10103-017-2266-y.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainsky, E.M. (1984). *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer, Berlin.

Wagner, V.P., Webber, L.P., Ortiz, L., Rados, P.V., Meurer, L., Lameira, O.A., Lima, R.R., Martins, M.D. (2017). Effects of Copaiba Oil Topical Administration on Oral Wound Healing. *Phytotherapy research* 31, 1283-1288. doi: 10.1002/ptr.5845.

Watanabe, S., Suemaru, K., Takechi, K., Kaji, H., Imai, K., Araki, H. (2013). Oral Mucosal Adhesive Films Containing Royal Jelly Accelerate Recovery From 5-Fluorouracil-Induced Oral Mucositis. *Journal of pharmacological sciences* 121, 110-118. doi: 10.1254/jphs.12181fp.

Weissheimer, C., Curra, M., Gregianin, L.J., Daudt, L.E., Wagner, V.P., Martins, M.A.T., Martins, M. D. (2017). New photobiomodulation protocol prevents oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation recipients-a retrospective study. *Lasers in Medical Science* 32, 2013-2021. doi: 10.1007/s10103-017-2314-7

Yuksel, S., Akyol, S. (2016). The consumption of propolis and royal jelly in preventing upper respiratory tract infections and as dietary supplementation in children. *Journal of intercultural ethnopharmacology* 5, 308-311. doi: 10.5455/jice.20160331064836.

Tabelas

Tabela 1. Métodos de avaliação clínica e histopatológica

Escores	Avaliação Clínica	Avaliação Histopatológica
0	<ul style="list-style-type: none"> • Mucosa oral normal • Hiperemia e eritema ausentes ou discretos • Hemorragia, úlceras e abscessos ausentes 	<ul style="list-style-type: none"> • Tecido epitelial e conjuntivo normais • Ausência de vasodilatação • Ausência ou discreto infiltrado inflamatório, • Ausência ou discreto abscesso (presença de neutrófilos) • Ausência de sangramento e de ulceração
1	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperemia e eritema moderados • Hemorragia, úlceras e abscessos ausentes • Presença de tecido cicatricial 	<ul style="list-style-type: none"> • Áreas de reepitelização • Discreta vascularização • Discreto infiltrado inflamatório (com predomínio de células mononuclear) • Ausência de sangramento, de abscesso e ulceração
2	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperemia e eritema acentuados • Presença de hemorragia e úlceras pequenas • Presença de tecido cicatricial • Ausência de abscessos 	<ul style="list-style-type: none"> • Moderada vascularização, • Áreas epiteliais com degeneração hidrópica • Infiltrado inflamatório (com predomínio de neutrófilos) • Áreas de extravasamento hemorrágico e edema • Ocasional ulceração e ausência de abscesso
3	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperemia e eritema acentuados • Presença de hemorragia, de úlceras extensas e abscessos 	<ul style="list-style-type: none"> • Severa vascularização com vasodilatação • Infiltrado inflamatório (com predominância de neutrófilos) • Áreas de extravasamento hemorrágico e edema • Presença de extensas úlceras e abscessos

Tabela 2. Classificação imuno-histoquímica pelo escore de imunoreatividade (IRS)

Percentual de células positivas (PP)	Intensidade de marcação (SI)	IRS=PPxSI
0= ausência de células positivas	0= ausência de marcação	0-1= negativo
1= menos que 20% de células positivas	1=fraca marcação	2-3= baixa positividade
2= de 21 a 50% de células positivas	2=moderada marcação	4-8= moderada positividade
3=51 a 80% de células positivas	3=intensa marcação	9-12=forte positividade
4=maior que 80% de células positivas		

Legendas das figuras

Figura 1. Análise fitoquímica da Própolis (P) e da Geleia Real (GR). **(A)** CCD do P após revelação com vanilina sulfúrica, evidenciando bandas de colorações variadas indicativas da presença de terpenos, saponinas e óleos essenciais. **(B) e (C)** Co-CCDs da tintura do P após eluição e revelação com o Reagente Natural A 0,2% e visualização visível e por UV 365 nm, respectivamente. A coloração amarela das bandas indica a presença de flavonoides nos padrões de Quercetina, Luteolina e Canferol. **(D)** CCD da geleia real *in natura* e da Sacarose. Bandas de coloração marrom-escuro (Rf 0,42) sugere a presença de açúcares.

Figura 2. Análise clínica e histopatológica da Mucosite oral quimioinduzida em ratos *Wistar*. **(A)** Progressão clínica da mucosite oral evidenciando melhora na resposta clínica nos dias 8 e 10, nos grupos FBM, Geleia real e própolis. No gráfico em barras observa-se que, nos dias de avaliação D8, D10 e D14, os demais grupos obtiveram melhores respostas clínicas quando comparado ao grupo controle (Teste de Tukey; $p < 0,05$) **(B)** Fotomicrografias de grupos experimentais no dia 8. O grupo controle exibiu ulceração e infiltrado inflamatório neutrofílico. Nos grupos FBM, Geleia real e própolis as lesões apresentaram melhor cicatrização tecidual, com reepitelização total e infiltrado inflamatório crônico leve/moderado (H/E, ampliação original, x100 e x400). No gráfico de barras observou-se que no dia 8, os grupos FBM, geleia real e própolis mostraram melhores resultados de aceleração na cicatrização da MO quando comparado ao grupo controle (Teste de Tukey; $p < 0,05$).

Figura 3. Análise da imunexpressão das proteínas pS6 e pAKT e do fator de transcrição nuclear NF-kB. **(A)** Observou-se que no dia 08 a imunomarcagem das proteínas pS6, pAKT e que a expressão do NF-kB estiveram mais elevados nos grupos fotobiomodulação, geleia real e própolis quando comparados ao grupo controle (Teste de Tukey; $p < 0,05$) (Scale bar de 300 μ m e 100 μ m, respectivamente). **(B)** Gráfico de barras evidenciando aumento da imunexpressão das proteínas pS6 e pAKT no dia 8 e do NF-kB nos dias 8 e 10, nos grupos fotobiomodulação, geleia real e própolis quando comparados ao o grupo controle (Teste de Tukey; $p < 0,05$).

Figura 4. Análise do estresse oxidativo em casos de Mucosite oral quimioinduzida em ratos *Wistar*. **(A)** No dia 14, o grupo própolis produziu maiores níveis de GSH quando comparado ao grupo controle (Teste de Tukey; $p < 0,05$). **(B)** e **(C)** Não foi observada diferença estatística significativa entre os níveis de SOD e MDA produzidos quando comparado o grupo controle aos grupos grupos fotobiomodulação, geleia real e própolis nos tempos analisados (Teste de Tukey; $p > 0,05$).

Figura 1

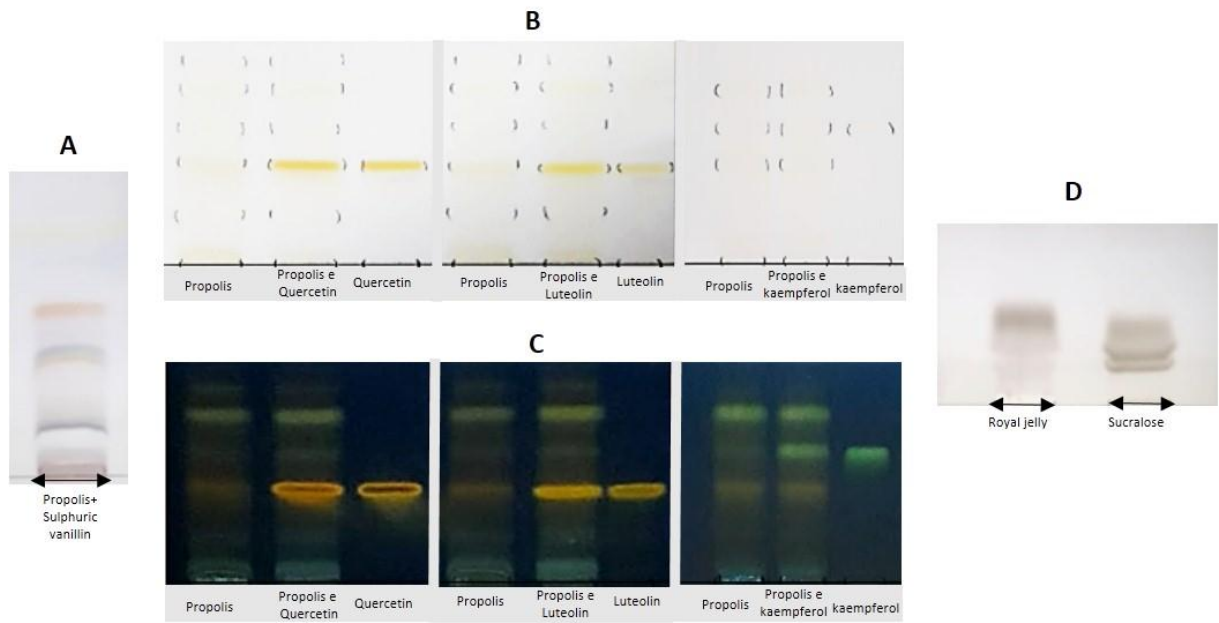


Figure 2

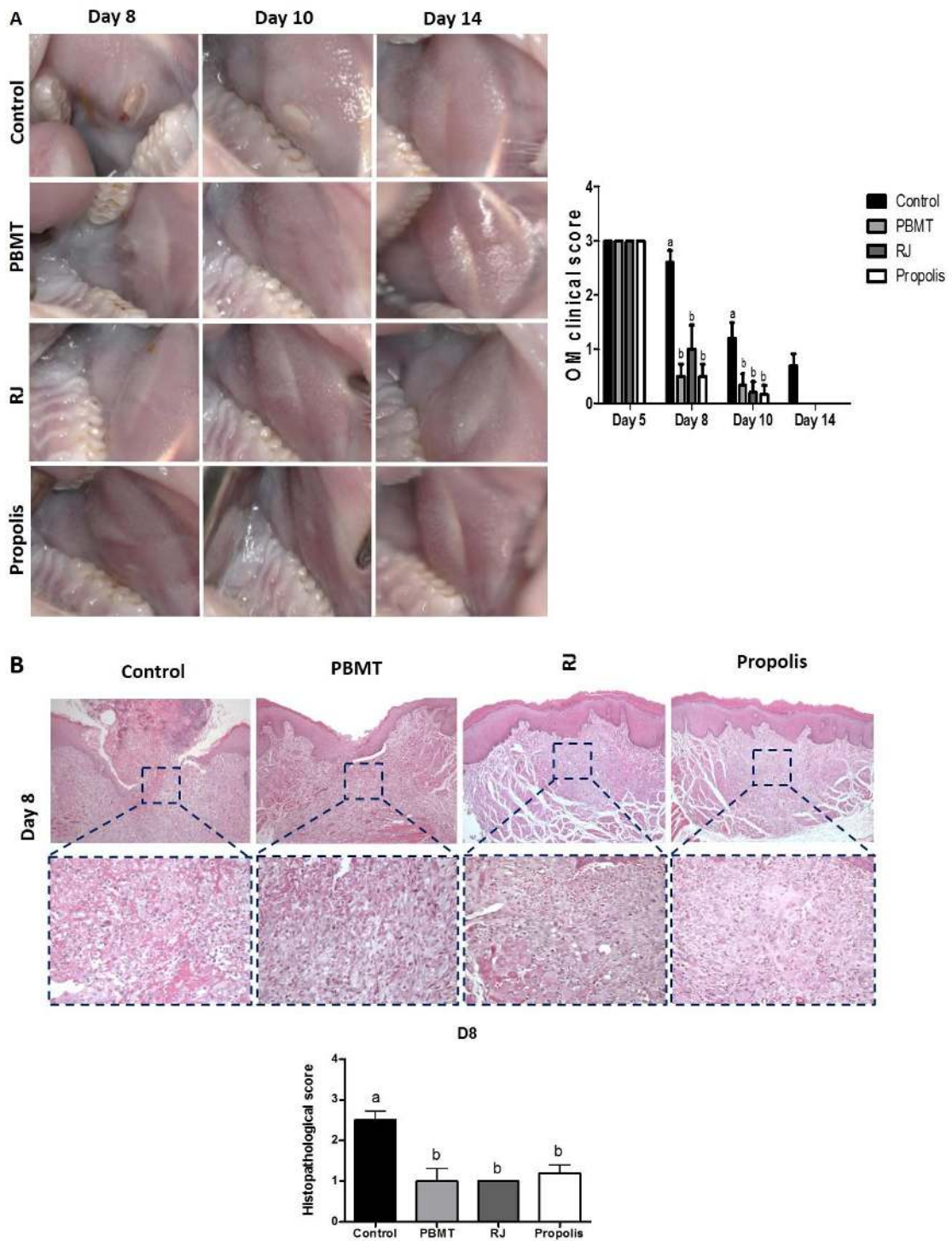


Figura 3A

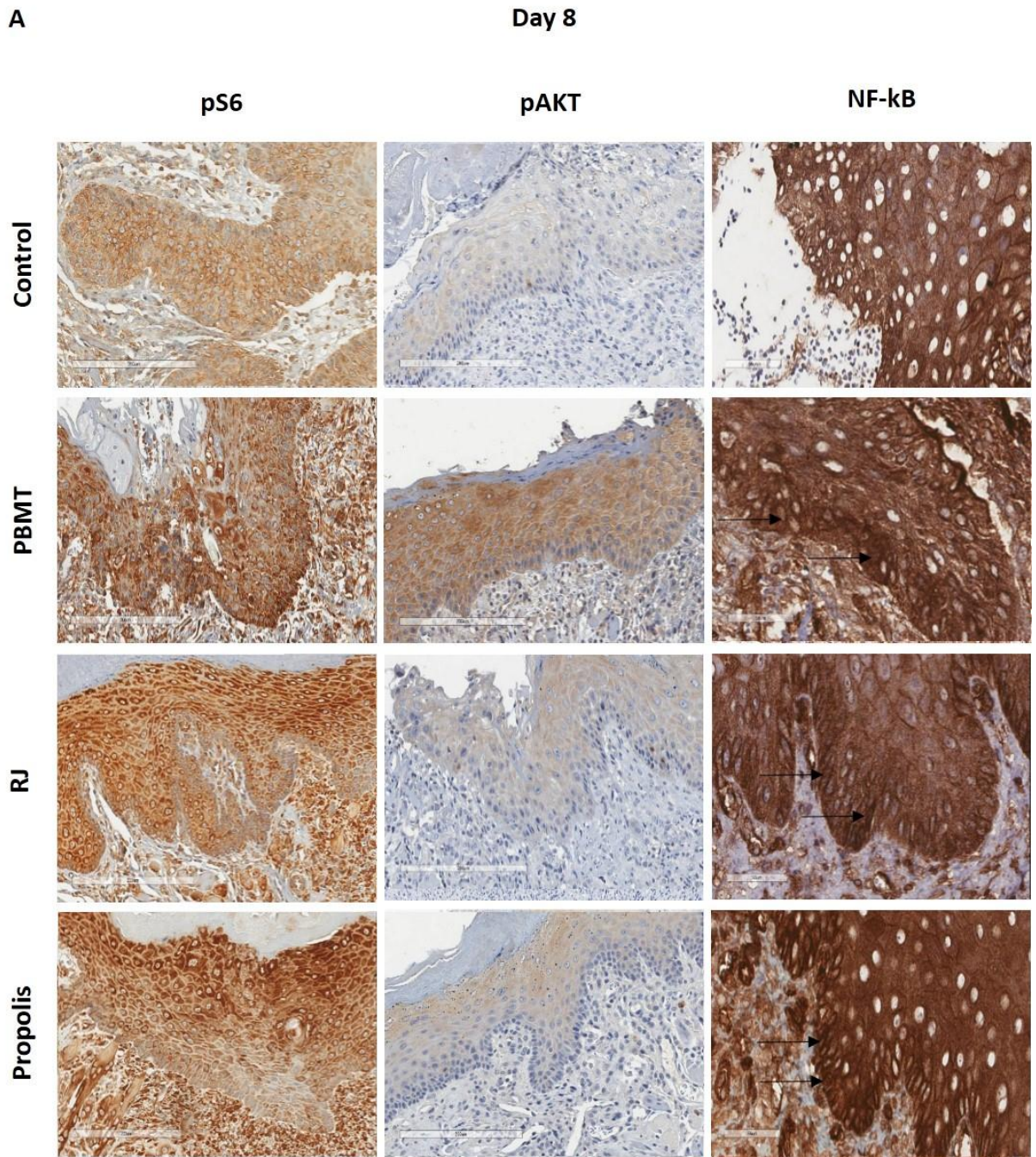


Figura 3B

B

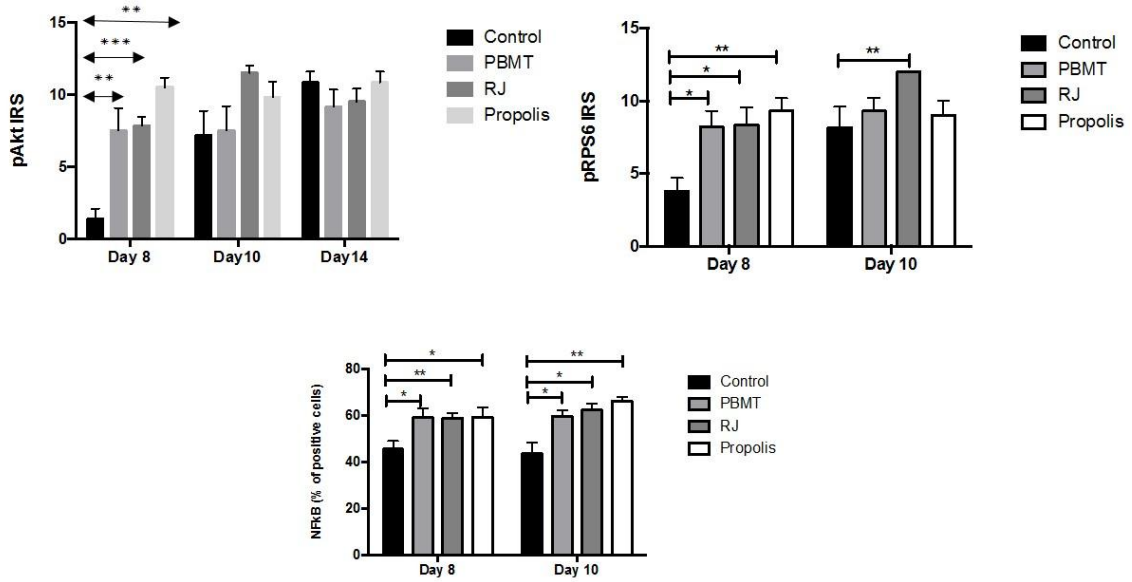
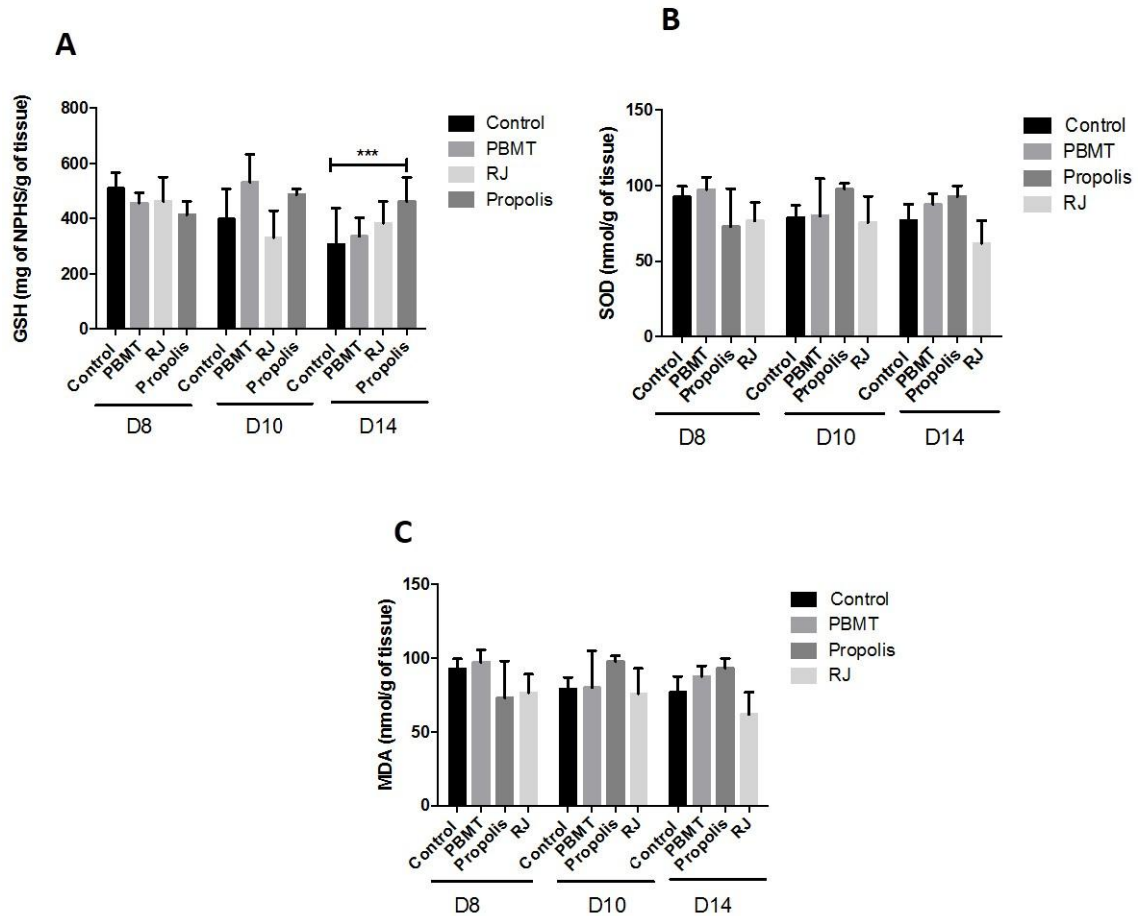


Figura 4



CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A análise fitoquímica da própolis (P) e da geleia real (GR) realizada no presente estudo, nos possibilitou elucidar alguns constituintes moleculares presentes nestes compostos, fato esse, importante para entender melhor o mecanismos de ação desses fitofármacos;
- A P e a GR foram tão eficientes quanto à terapia fotobiomoduladora (FBM) com laser de baixa intensidade (LBI) na cura da Mucosite Oral (MO) quimioinduzida por 5-fluorouracil (5-FU), verificados por meio da ação cicatrizante (menores escores clínicos) e antiinflamatória (menores escores histopatológicos);
- Identificamos que a via de sinalização PI3K/mTOR/AKT sofreu influência das terapias utilizadas no presente estudo, evidenciado por meio da imunexpressão aumentada das proteínas pS6 e pAKT, em casos de MO quimioinduzida por 5-FU;
- O aumento na expressão do fator de transcrição nuclear NF- κ B nos grupos de tratamento utilizados no presente estudo evidencia que essa é uma das vias que pode estar envolvida na aceleração do reparo da MO quimioinduzida por 5-FU;
- Foi observado que, mesmo de forma tardia, a P atuou reduzindo o estresse oxidativo em MO quimioinduzida por 5-FU, por meio do aumento dos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH) tecidual;
- Após uma revisão sistemática da literatura, pôde-se observar excelentes resultados no uso de fitoterápicos em estudos experimentais *in vivo* no tratamento da MO quimioinduzida por 5-FU, com efeitos promissores na cicatrização tecidual, ação antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante e na mediação do sistema imune.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. M. *et al.* Effect of Topical Application of Different Substances on Fibroplasia in Cutaneous Surgical Wound. **International Scholarly Research Network**, Egito, v. 2012, ID 282973, p-1-5, 2012.
- AKYOL, S. *et al.* In vitro and in vivo neuroprotective effect of caffeic acid phenethyl ester. **Journal of intercultural ethnopharmacology**, Estados Unidos, v. 4, n. 3, p. 192-193, 2015.
- ANTUNES, H. S. *et al.* Low-power laser in the prevention of induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients: a randomized trial. **Blood**, New York, v. 109, n. 5, p. 2250-5, 2007.
- ANTUNES, H. S. *et al.* The Impact of low power laser in the treatment of conditioning-induced oral mucositis: a report of 11 clinical cases and their review. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**, Espanha, v. 13, n. 3, p. 189-192, 2008.
- ATILLA, E.; TOPRAK, S. K.; DEMIRER, T. Current Review of Iron Overload and Related Complications in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Journal of Turkish Society of Haematology**, Turquia, v. 34, n.1, p. 1-9, 2017.
- BARBOSA, M. H. *et al.* Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 318-322, 2009.
- BEZINELLI, L. M. *et al.* Cost-effectiveness of the introduction of specialized oral care with laser therapy in hematopoietic stem cell transplantation. **Hematological Oncology**, Inglaterra, v. 32, n. 1, p. 31-39, 2014.
- BOERS-DOETS, C. B. *et al.* Mammalian target of rapamycin inhibitor-associated stomatitis. **Future oncology**, Illinois, v. 9, n.12, p.1883-1892, 2013.
- BRUDZYNSKI, K.; SJAARDA, C. Honey glycoproteins containing antimicrobial peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, are responsible for the cell wall lytic and bactericidal activities of honey. **PLoSOne**, v. 10, n.4, e0120238, 2015.
- CASTILHO, R. M.; SQUARIZE, C. H.; GUTKIND, J. S. Exploiting PI3K/mTOR signaling to accelerate epithelial wound healing. **Oral Diseases**, Dinamarca, v.19, n.6, p. 551–558, 2013.
- CINAUSERO, M. *et al.* New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. **Frontiers in pharmacology**, Suíça, v. 8, n. 354, p. 1-16, 2017.
- COELHO, F. H. *et al.* Topical Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) Extract Does Not Accelerate the Oral Wound Healing in Rats. **Phytotherapy research**, Inglaterra, v. 29, n. 7, p. 1102-1105, 2015.
- CUBA, L. F. *et al.* Topical application of Aloe vera and vitamin E on induced ulcers on the tongue of rats subjected to radiation: clinical and histological evaluation. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 24, n. 6, p. 2557-2564, 2016.
- CURRA, M. *et al.* Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1b and

TNF- α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, Alemanha, v. 71, n.2, p.293-299, 2013.

CURRA, M. *et al.* Photobiomodulation reduces oral mucositis by modulating NF- κ B. **Journal of biomedical optics**, v. 20, n. 12, p. 1-8, 2015.

DAMYANLIEV, R. *et al.* The treatment of suppurative surgical wounds with propolis. **Folia Medica**, Bulgaria, v. 24, n. 2, p. 24-27, 1982.

ERDEM, O.; GUNGORMUS, Z. The Effect of Royal Jelly on Oral Mucositis in Patients Undergoing Radiotherapy and Chemotherapy. **Holistic nursing practice**, Washington, v. 28, n. 4, p. 242-246, 2014.

FERNANDES, K. P. S. *et al.* Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (*Myrtaceae*) leaf extracts. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, Piracicaba, v. 9, n. 4, p. 449-454, 2010.

FIGUEIREDO, A. L. P. *et al.* Laser terapia no controle da mucosite oral: um estudo de metanálise. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 59, n. 5, p. 467-474, 2013.

FUJIWARA, S. *et al.* A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. **The Journal of biological chemistry**, v. 265, n. 19, p. 11333-11337, 1990.

GEBICKI, J. M. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Estados Unidos, v. 595, p. 33-39, 2016.

GLEZER, I. *et al.* The role of the transcription factor NF- κ B in the molecular mechanisms of action of psychoactive drugs. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 26-30, 2000.

IGLESIAS-BARTOLOME, R. *et al.* mTOR inhibition prevents epithelial stem cell senescence and protects from radiation-induced mucositis. **Cell Stem Cell**, Estados Unidos, v. 11, n.3, p. 401-14, 2012.

ISIDOROV, W. *et al.* Royal jelly aliphatic acids contribute to antimicrobial activity of honey. **Journal of Apicultural Science**, v. 62, n.1. p. 111-120, 2018.

IZUTA, H. *et al.* 10-hydroxy-2-decenoic acid, a major fatty acid from royal jelly, inhibits VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, Estados Unidos, v.6, n. 4, p. 489-494, 2009.

JIANG, C. M. *et al.* Anti-senescence effect and molecular mechanism of the major royal jelly proteins on human embryonic lung fibroblast (HFL-I) cell line. **Journal of Zhejiang University. Science. B.**, China, v. 19, n. 12, p. 960-972, 2018.

JIN, Y. *et al.* MicroRNA-99 Family Targets AKT/mTOR Signaling Pathway in Dermal Wound Healing. **PlosOne**, v.8, n.5, p. e64434, 2013.

JUG, M.; KONČIĆ, M. Z.; KOSALEC, I. Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procures. **LWT - Food Science and Technology**, Londres, v. 57, n. 2, p. 530-537, 2014.

KAMAKURA, M. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. **Nature**, England, v. 84, n. 12, p. 994-1003, 2011.

KEEFE, D. M. *et al.* Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer**, Estados Unidos, v. 109, n. 5, p.820-831, 2007.

KIM, J. *et al.* Royal jelly enhances migration of human dermal fibroblasts and alters the levels of cholesterol and sphinganine in an in vitro wound healing model. **Nutrition Research and Practice**, Korea, v. 4, n. 5, p. 362-368, 2010.

KIM, S. G.; BUEL, G. R.; BLENIS, J. Nutrient Regulation of the mTOR Complex 1 Signaling Pathway. **Molecules and cells**, Corea, v. 35, n. 6, p. 463-473, 2013.

KOCOT, J. *et al.* Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly: Possible Medical Application. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Estados Unidos, v. 2018, 7074209, p. 1-29, 2018.

KOHNO, K. *et al.* Royal Jelly Inhibits the Production of Proinflammatory Cytokines by Activated Macrophages. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, Inglaterra, v. 68, n. 1, p. 138-145, 2004.

KUNUGI, H.; ALI, M. Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 1-26, 2019.

KUO, C. C. *et al.* Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of propolis mouthwash in cancer therapy-induced oral mucositis. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 26, n.12, p.4001-4009, 2018.

LALLA, R. V. *et al.* MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, Estados Unidos, v. 120, n. 10, p.1453-1461, 2014.

LOPEZ, N. N. *et al.* Effects of low-level laser therapy on collagen expression and neutrophil infiltrate in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. **Lasers in surgery and medicine**, Estados Unidos, v. 42, n. 6, p. 546-552, 2010.

LOPEZ, T. C. C. *et al.* Effect of laser phototherapy in the prevention and treatment of chemoinduced mucositis in hamsters. **Brazilian oral research**, São Paulo, v.27, n. 4, p. 342-348, 2013.

LÜER, S. C. *et al.* Synthetic versus natural curcumin: bioequivalence in an in vitro oral mucositis model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, Inglaterra, v. 14, p. 53, 2014.

MARIA, O. M.; ELIOPOULOS, N.; MUANZA, T. Radiation-induced Oral Mucositis.

Frontiers in Oncology, Suíça, v. 7, p. 89, p.1-23, 2017.

MARTINS, M. D. *et al.* Comparative Analysis between Chamomillarecutita and Corticosteroids on Wound Healing. An In Vitro and In Vivo Study. **Phytotherapy research**, Inglaterra, v. 23, n. 2, p. 274-278, 2009.

MEDEIROS-FILHO, J. B.; MAIA FILHO, E. M.; FERREIRA, M. C. Laser and photochemotherapy for the treatment of oral mucositis in young patients: Randomized clinical trial. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, Holanda, v. 18, n.9, p. 39-45, 2017.

MEO, S, A. *et al.* Role of Honey in Modern Medicine. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Arabia Saudita, v. 24, n. 5, p. 975-978, 2017.

MIGLIORATI, C. *et al.* Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 21, n. 1, p.333-341, 2013.

MITCHELL, S.; VARGAS, J.; HOFFMANN, A. Signaling via the NFκB system. **Wiley interdisciplinary reviews: Systems biology and medicine**, Estados Unidos, v. 8, n. 3, p. 227-241, 2016.

NORONHA, V. R. A. S. *et al.* Propolis gel versus benzydamine in preventing oral mucositis for patients irradiated in head and neck: a preliminary study. **Cancer Reports and Reviews**, v. 1, n. 2, p. 1-4, 2017.

OBEROI, S. *et al.* Effect of prophylactic low level laser therapy on oral mucositis: a systematic review and meta-analysis. **PLoSOne**, v. 9, n. 9, e107418, 2014.

PANDESHWAR, P. *et al.* Photobiomodulation in oral medicine: a review. **Journal of investigative and clinical dentistry**, Australia, v. 7, n. 2, p.114-126, 2016.

PAVESI, V. C. *et al.* Rehabilitation of exacerbated case of oral mucositis associated with renal failure following bone marrow transplantation. **Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research**. v. 20, n. 3, p.365-369, 2009.

PAVESI, V. C. S. *et al.* Healing action of topical chamomile on 5-fluouracil induced oral mucositis in hamster. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 19, n. 5, p. 639-646, 2011.

PELLICIOLI, A. C. *et al.* Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. **Journal of biomedical optics**, v. 19, n. 2, p. 1-7, 2014.

PEREIRA, I. F. *et al.* Radiation-induced Oral Mucositis in Brazilian Patients: Prevalence and Associated Factors. **In Vivo**, Grécia, v.33, n.2, p.605-609, 2019.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, França, v. 97, p. 55-74, 2015.

REIS, J. H. O. Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. **PLoS One**, v. 14, n. 7, p. 1-7, 2019.

ROSSELLI-MURAI, L. K. *et al.* Periostin Responds to Mechanical Stress and Tension by Activating the MTOR Signaling Pathway. **Plos One**, v. 8, n.7, p. 12, 2013.

RUBENSTEIN, E. B. *et al.* Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. **Cancer**, Estados Unidos, v. 100, p.2026-2046, 2004. Suplemento 9.

SCHMIDT, T. R. *et al.* Mucoadhesive formulation containing Curcuma longa L. reduces oral mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 4, p. 881-890, 2019.

SCHMITZOVA, J. *et al.* A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, Suíça, v. 54, n. 9, p. 1020-1030, 1998.

SCHUBERT, M. M. *et al.* A phase III randomized double-blind placebo-controlled clinical trial to determine the efficacy of low level laser therapy for the prevention of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 15, n. 10, p.1145-1154, 2007.

SENER, D. K. *et al.* The Effect of Oral Care with Chlorhexidine, Vitamin E and Honey on Mucositis in Pediatric Intensive Care Patients: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Pediatric Nursing**, Estados Unidos, v. 45, p. 95-101, 2019.

SHIH, V. F. *et al.* A single NF κ B system for both canonical and non-canonical signaling. **Cell research**, Inglaterra, v. 21, n. 1, 86-102, 2011.

SILVA, L. C. *et al.* The Impact of Low-Level Laser Therapy on Oral Mucositis and Quality of Life in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using the Oral Health Impact Profile and the Functional Assessment of Cancer Therapy-Bone Marrow Transplantation Questionnaires. **Photomedicine and laser surgery**, Estados Unidos, v. 33, n. 7, p. 357-363, 2015a.

SILVA, G. B. *et al.* Effect of low-level laser therapy on inflammatory mediator release during chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized preliminary study. **Lasers in medical science**, Inglaterra, v. 30, n. 1, p. 117-126, 2015b.

SONIS, S. T. A biological approach to mucositis. **The journal of supportive oncology**, Estados Unidos, v. 2, n. 1, p. 21-32, 2004.

SONIS, S. T. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. **The Journal of Supportive Oncology**, v. 5, n. 9, p. 3-11, 2007. Suplemento 4.

SONIS, S. T. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral Oncology**, Londres, v.45, n.12, p.1015-1020, 2009.

SONIS, S. T. Oral Mucositis. **Anti-Cancer Drugs**, Londres, v.22, n.7, p.607-612, 2011.

SONIS, S. T.; VILLA, A. Phase II investigational oral drugs for the treatment of radio/chemotherapy induced oral mucositis. **Expert opinion on investigational drugs**,Inglaterra, v. 27, n. 2, p. 147-154, 2018.

SONIS, S.; ANDREOTTA, P. W.; LYNG, G. On the pathogenesis of mTOR inhibitor-associated stomatitis (mIAS)-studies using an organotypic model of the oral mucosa. **Oral Diseases**,Dinamarca, v. 23, n. 3, p. 347-352, 2017.

SQUARIZE, C. H. *et al.* Accelerated Wound Healing by mTOR Activation in Genetically Defined Mouse Models. **PlosOne**, v. 5, n. 5, p.1-10, 2010.

SUEMARU, K. *et al.* Topical application of royal jelly has a healing effect for 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamsters. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**,Barcelona, v. 30, n. 2, p.103-106, 2008.

SURESH, A. V. *et al.* Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemoradio- therapy. **Journal of cancer research and therapeutics**,India, v. 6, n. 4, p.448-451, 2010.

SVER, L. *et al.* A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**,Inglaterra, v. 19, n. 1, p. 31-38, 1996.

THIEME, S. *et al.* Comparison of photobiomodulation using either an intraoral or an extraoral laser on oral mucositis induced by chemotherapy in rats. **Supportive care in cancer**, Alemanha, v. 28, n. 2, p. 867-876, 2019.

TOMIOKA, H. *et al.* Novel Anti-Microbial Peptide SR-0379 Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway. **PlosOne**, v. 9, n. 3, p.1-11, 2014.

USUMEZ, A. *et al.* Effects of laser irradiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing.**Lasers in medical science**,Inglaterra, v. 29, n. 6, p.1807-1813, 2014.

VALENTE, F. S. **Terapia t3pica na cicatriza33o de les33es cut4neas provocadas por congelamento com nitrog4nio l3quido em ratos Wistar**.2014. Disserta33o (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

VILLA, A.; SONIS, S. T. Mucositis : pathobiology and management. **Current opinion in oncology**, Estados Unidos,v. 27, n.3, p.159-164, 2015.

VILLA, A.; SONIS, S. T. An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. **Expert opinion on pharmacotherapy**, Inglaterra, p. 1-8, 2020. No prelo.

VITALE, M. C. *et al.* Preliminary study in a new protocol for the treatment of oral mucositis in pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and chemotherapy (CT). **Lasers in medical science**,Inglaterra, v. 32, n. 6, p. 1423-1428, 2017.

VIUDA-MARTOS, M. *et al.* A. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of food science**, Estados Unidos, v. 73, n. 9, p. 117-24, 2008.

WAGNER, V. P. *et al.* Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. **Journal of biomedical optics**, Estados Unidos, v. 18, n. 12, p. 1-8, 2013.

WAGNER, V. P. *et al.* Photobiomodulation regulates cytokine release and new blood vessel formation during oral wound healing in rats. **Lasers in medical science**, Inglaterra, v. 31, n. 4, p. 665-671, 2016.

WAGNER, V. P. *et al.* Effects of Copaiba Oil Topical Administration on Oral Wound Healing. **Phytotherapy research**, Inglaterra, v. 31, n. 8, p. 1283-1288, 2017.

WATANABE, S. *et al.* Oral Mucosal Adhesive Films Containing Royal Jelly Accelerate Recovery From 5-Fluorouracil-Induced Oral Mucositis. **Journal of pharmacological sciences**, Japão, v. 121, n. 2, p.110-118, 2013.

WEISSHEIMER, C. *et al.* New photobiomodulation protocol prevents oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation recipients-a retrospective study. **Lasers in Medical Science**, Inglaterra, v.32, n.9, p.2013-2021, 2017.

YANG, X. Y. *et al.* 10-hydroxy-2- decenoic acid from royal jelly: A potential medicine for RA. **Journal of ethnopharmacology**, Irlanda, v. 128, n. 2, p. 314-321, 2010.

YUAN, W. *et al.* Brazilian Green Propolis Inhibits Ox-LDL-Stimulated Oxidative Stress in Human Umbilical Vein Endothelial Cells Partly through PI3K/Akt/mTOR-Mediated Nrf2/HO-1 Pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Estados Unidos, v.2019, ID5789574, p. 1-13, 2019.

YUKSEL, S.; AKYOL, S. The consumption of propolis and royal jelly in preventing upper respiratory tract infections and as dietary supplementation in children. **Journal of intercultural ethnopharmacology**, Estados Unidos, v. 5, n. 3, p.308-311, 2016.

ANEXO

ANEXO - Certificado de Aprovação no Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA)





HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

Projeto: 2018/0298

Título: ESTUDO COMPARATIVO DO USO DO GEL DE PRÓPOLIS E DA GELEIA REAL NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL INDUZIDA QUIMICAMENTE, ESTUDO EXPERIMENTAL IN VIVO

Pesquisador Responsável: **MARCO ANTONIO TREVIZANI MARTINS**

Equipe de Pesquisa:

STEFANIE THIEME PEROTTO ERICKA JANINE DANTAS DA SIL... MANOELA DOMINGUES MARTINS

MARA LUANA BATISTA SEVERO

Data de Aprovação:

Data de Término: 31/12/2018

Espécie/Linhagem	Sexo/Idade	Quantidade
RATO HETEROGÊNICO	M/12 Semana(s)	72

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.