

UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde

JULIANA FERNANDA RODRIGUES PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO
GLICIRRIZINATO DIPOTÁSSIO E DA QUERCETINA EM
LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE CABEÇA E
PESCOÇO E MUCOSITE INDUZIDA**

Bragança Paulista
2025

JULIANA FERNANDA RODRIGUES PEREIRA – R.A. 202327405

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO
GLICIRRIZINATO DIPOTÁSSIO E DA QUERCETINA EM
LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE CABEÇA E
PESCOÇO E MUCOSITE INDUZIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Manoela Marques Ortega.

Bragança Paulista
2025

WE 707 Pereira, Juliana Fernanda Rodrigues
P492a Avaliação da atividade anti-inflamatória do glicirrizinato
dipotássio e da quercetina em linhagens celulares de câncer de
cabeça e pescoço e mucosite induzida / Juliana Fernanda
Rodrigues Pereira. -- Bragança Paulista, 2025.
80 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade São
Francisco.
Orientação de: Manoela Marques Ortega.

1. Mucosite oral. 2. Câncer de cabeça e pescoço.
3. Células. 4. Quercetina. 5. Anti-inflamatório. I. Ortega,
Manoela Marques. II. Título.



PEREIRA, Juliana Fernanda Rodrigues. "Avaliação da atividade anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio e da quercetina em linhagens celulares de câncer de cabeça e pescoço e mucosite induzida". Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em 26 de novembro de 2025 pela Banca examinadora constituída pelos(as) professores(as):

Prof(a). Dr(a). Manoela Marques Ortega - Orientador(a) e Presidente
Universidade São Francisco

Prof(a). Dr(a). Lucas Novaes Teixeira
(por videoconferência)
Faculdade São Leopoldo Mandic

Prof(a). Dr(a). Thais Parisotto Ulmer
Universidade São Francisco

Aos meus queridos pais, Maria Helena Rodrigues dos Santos e Antonio Carlos Pereira, que sempre estiveram ao meu lado, mesmo com todas as dificuldades no caminho.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha imensa gratidão a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho de mestrado. Este momento é, sem dúvida, fruto de muito esforço coletivo, dedicação e apoio incondicional.

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha família, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo amor e apoio incondicional. À minha mãe, Maria Helena Rodrigues dos Santos, e ao meu pai, Antonio Carlos Pereira, que sempre foram meu pilar de força e confiança. Vocês me deram o suporte emocional necessário para seguir em frente, mesmo nos momentos mais difíceis, e me incentivaram a não desistir jamais. Às minhas irmãs, Carolina Rodrigues, Eduarda Rodrigues e Scheila Rodrigues, que me deram o apoio constante, a motivação e o carinho, fazendo com que eu acreditasse em mim mesma a cada passo dessa jornada. À minha cunhada, Gabriela Okamura, que também foi um grande apoio e sempre esteve ao meu lado, oferecendo carinho, palavras de incentivo e confiança. Sou eternamente grata por todo amor e apoio que recebi de todos vocês.

Agradeço profundamente à minha orientadora, Profa. Dra. Manoela Marques Ortega. Não existem palavras suficientes para expressar o quanto sou grata por sua orientação, apoio constante e confiança durante toda essa caminhada. Você foi muito mais do que uma orientadora: foi uma mentora, uma fonte inesgotável de inspiração e um exemplo de dedicação. Seu comprometimento com o meu crescimento acadêmico e pessoal, sua paciência e capacidade de me guiar nos momentos de dúvida, assim como sua habilidade em me desafiar a ir além dos meus limites, foram fundamentais para a realização deste trabalho. Sou imensamente grata por tudo o que aprendi com você e por me mostrar, com tanto empenho, a importância da pesquisa e do conhecimento.

Aos membros da minha banca, sou profundamente grata pelas valiosas contribuições, pelas sugestões enriquecedoras e pelo incentivo para pensar de maneira mais crítica e profunda sobre o tema. Suas observações foram fundamentais para o aprimoramento desta pesquisa.

Agradeço ao meu colega de laboratório, Gabriel Bonafé, pela paciência em me ensinar, pela constante disponibilidade e pelo apoio que sempre ofereceu. Você foi essencial para tornar essa jornada mais leve e enriquecedora.

Aos meus amigos Bruna Rojas, Ana Carolina, Jonatan Gustavo e Lui Zara, agradeço de coração por sempre me incentivarem a dar o meu melhor. Suas palavras de incentivo, apoio incondicional e o auxílio nos momentos mais desafiadores foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e acadêmico. A amizade de vocês é uma das maiores conquistas que levei desta jornada.

Quero também agradecer às minhas colegas de mestrado, que tornaram essa jornada mais compartilhada e prazerosa. As trocas de ideias, os debates e o apoio mútuo foram essenciais para manter a motivação e o foco nos meus objetivos.

Aos funcionários dos laboratórios do Prédio 5, sou muito grata por sempre estarem à disposição para ajudar com tudo o que fosse necessário, e por manterem um ambiente de trabalho agradável, eficiente e produtivo.

Agradeço especialmente à Dona Alice, que sempre manteve o laboratório limpo e organizado, criando um espaço ideal para trabalharmos com dedicação. Suas palavras de carinho e incentivo foram de imenso valor ao longo dessa trajetória.

Gostaria também de expressar minha profunda gratidão às professoras Dra. Patrícia Carvalho, Dra. Raquel Girardello, Dra. Juliana Sciani e Dra. Giovanna Longato, grandes mestres e doutoras, que me ajudaram a esclarecer dúvidas, realizar experimentos e me proporcionaram aprendizado contínuo. A sabedoria de vocês foi fundamental para o meu aperfeiçoamento acadêmico e pessoal.

Por fim, agradeço à Universidade São Francisco pela oportunidade de realizar este trabalho, pelos recursos, infraestrutura e pelo apoio oferecido, que tornaram possível a concretização deste projeto.

Ferramentas de inteligência artificial (ChatGPT, OpenAI) foram utilizadas apenas para apoio linguístico e revisão gramatical, sob supervisão e edição integral do autor.

A todas as pessoas que, de alguma forma, fizeram parte dessa caminhada, meu mais sincero e profundo muito obrigada.

*“Como uma supernova que atravessa o ar, eu sou
a maré viva.”
Fresno*

RESUMO

A mucosite oral (MO) é uma inflamação da mucosa oral e orofaríngea frequentemente associada ao tratamento de câncer de cabeça e pescoço (CCP) com quimioterapia (QT) e/ou radioterapia (RT). A condição está relacionada à ativação da via inflamatória NF- κ B, resultando em dor intensa, ulceração e risco de infecção secundária. Este estudo investigou os efeitos anti-inflamatórios do glicirrizinato dipotássico (DPG) e da quercetina (QCT) em modelos celulares de MO, utilizando as linhagens FaDu e SCC-25 sob estímulo de cisplatina (CPT), fármaco amplamente empregado no tratamento oncológico. As análises incluíram ensaios de viabilidade celular (MTT), proliferação, citometria de fluxo para avaliação de apoptose e ciclo celular, além de qPCR para quantificação da expressão gênica de TNF- α , IL-1 β e INOS. Todos os grupos tratados com DPG ou QCT, isoladamente ou combinados à CPT, foram comparados a controles tratados exclusivamente com CPT. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de disco-difusão, e a pureza dos compostos foi confirmada por espectrometria de massa. Nas células de queratinócitos humanos HaCaT, a cisplatina apresentou efeito dependente de concentração e tempo, com IC₂₀ de 20 μ M/48h, associado à redução da viabilidade celular e a alterações morfológicas. Nas células FaDu, a CPT apresentou efeito subcitotóxico (IC₂₀ = 20 μ M/48h). O DPG mostrou atividade anti-inflamatória com IC₂₀ de 30 μ M/48h, enquanto a QCT exibiu IC₂₀ de 60 μ M/72h. A combinação DPG+CPT aumentou a proliferação celular (p=0,0200–0,0400) e modulou a via NF- κ B. Nas células SCC-25, a CPT apresentou efeito citotóxico em concentrações >50 μ M/72h. O DPG (IC₂₀ = 35 μ M) e a QCT (IC₂₀ = 80 μ M) exerceram efeitos protetores parciais quando combinados com CPT (10–20 μ M). O DPG reduziu significativamente a fase G1 do ciclo celular e aumentou a fase S (p<0,0500), tanto isolado quanto em combinação com CPT, além de diminuir a apoptose (p=0,0100 e p=0,0009, respectivamente). A CPT elevou a expressão de TNF- α e INOS, enquanto o DPG reduziu ambas (p<0,0500), e o efeito combinado DPG+CPT reforçou essa tendência. A QCT apresentou redução discreta, mas significativa, especialmente para INOS (p=0,0200). Em SCC-25, a CPT apresentou IC₂₀ de 30 μ M/24h, o DPG de 35 μ M/48h e a QCT de 80 μ M/72h. As alterações no ciclo celular foram mínimas, exceto leve redução na fase G1 em células tratadas com CPT. A combinação DPG+CPT reduziu expressivamente a apoptose (p=0,0009). A CPT aumentou TNF- α (p=0,0200) e IL-1 β (p=0,0020), enquanto o DPG reduziu ambas as expressões, sendo mais eficaz em combinação com CPT (p<0,0500). A QCT também reduziu significativamente TNF- α , IL-1 β e INOS, isoladamente e em associação com CPT. Nenhum dos compostos apresentou atividade antimicrobiana significativa, o que pode favorecer a preservação da microbiota oral durante o tratamento oncológico. A caracterização química confirmou a pureza e a identidade dos compostos, validando sua aplicabilidade experimental. Conclui-se que DPG e QCT possuem potencial anti-inflamatório promissor, com eficácia na modulação da resposta inflamatória e redução de marcadores pró-inflamatórios induzidos por CPT. Esses achados reforçam o potencial terapêutico dos compostos no manejo da mucosite oral associada à quimioterapia.

Palavras-chave: Mucosite Oral, Câncer de Cabeça e Pescoço, Quercetina, Células, anti-inflamatório.

ABSTRACT

A oral mucositis (OM) is an inflammation of the oral and oropharyngeal mucosa frequently associated with the treatment of head and neck cancer (HNC) with chemotherapy (CT) and/or radiotherapy (RT). The condition is related to the activation of the inflammatory NF- κ B pathway, resulting in severe pain, ulceration, and risk of secondary infection. This study investigated the effects of dipotassium glycyrrhizinate (DPG) and quercetin (QCT) in cellular models of OM, using the FaDu and SCC-25 cell lines under cisplatin (CPT) stimulation, a drug widely used in oncological treatment. The analyses included cell viability (MTT) and proliferation assays, flow cytometry for apoptosis and cell cycle evaluation, as well as qPCR for quantification of gene expression of TNF- α , IL-1 β , and INOS. All groups treated with DPG or QCT, alone or in combination with CPT, were compared with controls treated exclusively with CPT. Antimicrobial activity was evaluated using the disk-diffusion method, and compound purity was confirmed by mass spectrometry. In human HaCaT keratinocytes, cisplatin showed a concentration- and time-dependent effect, with an IC₂₀ of 20 μ M/48h, accompanied by reduced cell viability and morphological alterations. In FaDu cells, CPT showed a subcytotoxic effect (IC₂₀ = 20 μ M/48h). DPG showed an IC₂₀ of 30 μ M/48h, whereas QCT exhibited an IC₂₀ of 60 μ M/72h. The combination of DPG+CPT increased cell proliferation ($p = 0.0200$ – 0.0400) and modulated the NF- κ B pathway. In SCC-25 cells, CPT showed a cytotoxic effect at concentrations higher than 50 μ M/72h. DPG (IC₂₀ = 35 μ M) and QCT (IC₂₀ = 80 μ M) exerted partial protective effects when combined with CPT (10–20 μ M). DPG significantly reduced the G1 phase of the cell cycle and increased the S phase ($p < 0.0500$), both alone and in combination with CPT, in addition to reducing apoptosis ($p = 0.0100$ and $p = 0.0009$, respectively). CPT increased the expression of TNF- α and INOS, whereas DPG reduced both ($p < 0.0500$), with this effect being more evident in the DPG+CPT combination. QCT promoted a discrete but significant reduction, especially for INOS ($p = 0.0200$). In SCC-25 cells, CPT showed an IC₂₀ of 30 μ M/24h, DPG of 35 μ M/48h, and QCT of 80 μ M/72h. Changes in the cell cycle were minimal, except for a slight reduction in the G1 phase in CPT-treated cells.

Keywords: *Oral Mucositis. Head and Neck Cancer. Quercetin. Cells. Anti-inflammatory.*

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

µg - Micrograma

µM - Micromolar

5-FU - 5-fluorouracil

AG - Ácido glicirrízico

AJCC - American Joint Committee on Cancer

BRCA1 - Gene Supressor Tumoral BRCA1

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CAL-27 - Linha celular de carcinoma espinocelular oral

CCP - Câncer de Cabeça e Pescoço

CDKN2A - Gene codificador da proteína p16

cDNA - DNA complementar

CME - Quimioterapia e Radioterapia (não explicitamente sigladas, mas referidas como combinação)

COX-2 - Ciclooxygenase 2

CPT - Cisplatina

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DPG - Glicirrizinato dipotássio

EBV - Vírus de Epstein-Barr

EMT - Transição Epitelial-Mesenquimal

FaDu - Linhagem celular de carcinoma espinocelular de hipofaringe

Gy - Gray (unidade de radiação)

HaCat - Linhagem celular de células epiteliais humanas normais

HPV - Papilomavírus humano

IC - Concentração inibitória

IL-1 β - Interleucina-1 beta

IL-6 - Interleucina-6 (citocina inflamatória)

INCA - Instituto Nacional do Câncer

INOS - Sintase Induzível de Óxido Nítrico

IPA - Ingenuity Pathway Analysis

MAPK - Proteína Quinase Ativada por Mitógeno

mL - Mililitro

MMPs - Metaloproteinases de Matriz

MO - Mucosite Oral

mTOR - Alvo da Rapamicina em Mamíferos (Mammalian Target of Rapamycin)

MTT - Brometo de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

NF- κ B - Fator Nuclear Kappa B

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PI - Iodeto de propídio

PTK - Proteína Tirosina Quinase

***p*-valor** - Valor de significância estatística

QCT - Quercetina

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Quantitativo

QT – Quimioterapia

Rb - Retinoblastoma

RNA - Ácido ribonucleico

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

RT - Radioterapia

SBCCP - Sociedade Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço

SCC-25 - Linhagem celular de carcinoma de células escamosas da língua

SFB - Soro fetal bovino

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences (Pacote Estatístico para Ciências Sociais)

SYBR GREEN - Corante utilizado para detectar o DNA amplificado na qPCR

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

TNM - Tumor, Linfonodo, Metástase

TP53 - Gene P53 (supressor de tumor)

TRAF6 – Gene fator de ativação do TNF 6

TSA - Tryptic Soy Agar (Ágar de soja triptica)

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

WHO - World Health Organization

LISTA DE GRÁFICOS E FIGURAS

FIGURA 1. Análise da ação anti-inflamatória da cisplatina (CPT) nas linhagens celulares FaDu e SCC-25.....	42
FIGURA 2. Análise da ação anti-inflamatória do (DPG) na linhagem celular FaDu.....	44
FIGURA 3. Análise da ação anti-inflamatória do (DPG) na linhagem SCC-25.....	45
FIGURA 4. Análise da ação anti-inflamatória da (QCT) nas linhagens FaDu e SCC-25.....	46
FIGURA 5. Análise da ação protetora anti-inflamatória do (DPG) em células FaDu tratadas com (CPT).....	48
FIGURA 6. Análise da ação protetora anti-inflamatória da (QCT) em células FaDu tratadas com (CPT).....	49
FIGURA 7. Análise da ação anti-inflamatória da (QCT) em células SCC-25 tratadas com (CPT).....	50
FIGURA 8. Análise da ação anti-inflamatória da (DPG) em células SCC-25 tratadas com (CPT).....	52
FIGURA 9. Análise da expressão dos genes <i>TNF-α</i> , <i>IL-1β</i> e <i>INOS</i> em células FaDu tratadas com (CPT),(DPG) e (QCT) e combinações (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48h.....	55
FIGURA 10. Análise da expressão dos genes <i>TNF-α</i> , <i>IL-1β</i> e <i>INOS</i> em células SCC-25 tratadas com (CPT),(DPG),(QCT) e combinações (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48h.....	60
FIGURA 11. Avaliação da viabilidade celular da HaCat após tratamento com (DPG), (QCT) e (CPT), isolados ou em combinação, nos tempos de 24, 48 e 72h.....	62
FIGURA 12. Análise da média de expressão dos genes <i>TNF-α</i> , <i>IL1B</i> e <i>INOS</i> em células HaCaT tratadas (CPT, 30 μ M), (DPG, 35 μ M) em combinação com CPT, e (QCT, 80 μ M) associada à CPT, após 48h de incubação	64
FIGURA 13. Avaliação da atividade antimicrobiana do (DPG) e (QCT) contra isolados clínicos bacterianos.....	65
FIGURA 14. Quantificação dos compostos por (UHPLC-MS).....	66

LISTA DE TABELAS E QUADROS

QUADRO 1. Quimioterápicos mais comumente relacionados à mucosite oral no paciente oncológico e tipos de câncer.....	17
TABELA 1. Alternativas para prevenção e tratamento de suporte para mucosite oral durante terapias oncológicas.....	19
TABELA 2. Classificação da mucosite oral segundo a Organização Mundial de Saúde.....	23
TABELA 3. Sequência dos iniciadores sense e anti-sense.....	39
TABELA 4. Distribuição do ciclo celular nas linhagens FaDu e SCC-25 após tratamentos com cisplatina (CPT), glicirrizinato dipotássio (DPG) e e quercetina (QCT).....	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. A mucosite oral (MO)	17
1.2. MO e microbiota oral.....	21
1.3. A classificação da MO.....	22
1.4. Câncer de cabeça e pescoço.....	24
1.5. Estadiamento do câncer de cabeça e pescoço.....	25
1.6. Câncer de cabeça e pescoço versus MO.....	27
1.7. Principais vias de sinalização e genes envolvidos.....	29
1.8. Glicirrizinato dipotássio.....	30
1.9. Quercetina.....	31
2. OBJETIVOS	34
2.1. Objetivo Geral	34
2.2. Objetivos específicos	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1. Linhagens Celulares e compostos.....	35
3.2. Ensaio MTT.....	35
3.3. Citometria de fluxo.....	36
3.3.1. Ciclo celular.....	36
3.3.2. Apoptose.....	37
3.4. Ensaio de proliferação celular	38
3.5. Extração de RNA.....	38
3.5.1. Análise da expressão de genes que codificam proteínas inflamatórias	39
3.6. Atividade antimicrobiana.....	39
3.6.1. Disco difusão.....	39
3.7. Quantificação dos compostos por UHPLC-MS.....	40
3.8. Análise estatística	41
4. RESULTADOS	42
4.1. Análise CPT (FaDu+SCC-25) MTT e morfologia celular.....	42
4.2. Análise ação anti-inflamatória DPG (FaDu) MTT e morfologia celular.....	43
4.3. Análise ação anti-inflamatória DPG (SCC-25) MTT e morfologia celular.....	45

4.4. Análise ação anti-inflamatória QCT (FaDu+SCC-25) MTT e morfologia celular....	46
4.5. Análise ação anti-inflamatória DPG (FaDu+CPT) MTT e morfologia celular.....	47
4.6. Análise ação anti-inflamatória QCT (FaDu+CPT) MTT e morfologia celular.....	48
4.7. Análise ação anti-inflamatória QCT (SCC-25+CPT) MTT e morfologia celular.....	50
4.8. Análise ação anti-inflamatória DPG (SCC-25+CPT) MTT e morfologia celular.....	51
4.9. Análise DPG e QCT na distribuição do ciclo celular em (FaDu e SCC-25+CPT) por citometria de fluxo.....	52
4.10. Efeito DPG e QCT na inibição da apoptose em (FaDu e SCC-25+CPT) por citometria de fluxo.....	54
4.11. Efeito anti-inflamatório DPG e QCT nas expressões de genes envolvidos com processos inflamatórios (FaDu+CPT).....	55
4.12. Efeito anti-inflamatório DPG e QCT nas expressões de genes envolvidos com processos inflamatórios (SCC-25+CPT).....	58
4.13. Avaliação da citotoxicidade da CPT em HaCat.....	61
4.14. Efeito anti-inflamatório DPG e QCT nas expressões de genes envolvidos com processos inflamatórios (HaCat+CPT).....	63
4.15. Teste de atividade antimicrobiana.....	64
4.16. Quantificação dos compostos por UHPLC-MS (cromatografia líquida de pressão ultra elevada acoplada a espectrometria de massa).....	66
5. DISCUSSÃO	68
6. CONCLUSÃO	76
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	77
REFERÊNCIAS	79
ANEXOS.....	92

1. INTRODUÇÃO

1.1. A mucosite oral

A mucosite oral (MO) é uma resposta inflamatória aguda das mucosas bucal e orofaríngea frequentemente desencadeada por tratamentos oncológicos como quimioterapia (QT) e radioterapia (RT). A incidência de MO durante a QT isolada varia entre 20-40%, dependendo do tipo e dose do agente quimioterápico utilizado (Bowen et al., 2019; Pacheco et al., 2023). Em pacientes com CCP, a MO induzida pela RT afeta até 90% dos casos, com uma alta prevalência de formas graves, especialmente em tratamentos combinados com QT (Bowen et al., 2019; Sonis et al., 2004). Ainda, novas terapias-alvo, como inibidores de mTOR, têm introduzido formas adicionais de toxicidade oral, como a estomatite associada a esses agentes, que se caracteriza por lesões dolorosas menores e de resolução mais rápida do que a MO convencional (Vadhan-Raj et al., 2023).

Estudos recentes demonstraram que tanto o tipo de radiação (fótons e prótons) quanto a infecção por papilomavírus humano (HPV) com superexpressão da proteína p16 estão associados à gravidade da MO em pacientes com CCP (Elad et al., 2020; Pacheco et al., 2023). A proteína p16, codificada pelo gene *CDKN2A*, é um importante biomarcador para infecção por HPV, uma vez que, sua superexpressão em tumores HPV-positivos está relacionada à inativação da proteína do retinoblastoma (Rb) pela proteína E7 do HPV, o que desregula o ciclo celular e promove proliferação celular descontrolada (Pacheco et al., 2023; Agrawal et al., 2011). A superexpressão de p16 pode ser detectada por imunohistoquímica e usada como marcador para tumores HPV-positivos, principalmente no carcinoma orofaríngeo, que tende a ter um prognóstico mais favorável (Marur et al., 2015).

No Quadro 1 estão apresentados os quimioterápicos mais comumente relacionados a MO no paciente oncológico e situações em que são utilizados.

QUADRO 1. Quimioterápicos mais comumente relacionados à mucosite oral no paciente oncológico e tipos de câncer. *Continua*

Quimioterápicos	Uso
Fluoruracila	Câncer de mama, câncer pancreático, câncer gástrico, câncer de colo retal
Citarabina	Leucemias (mielocítica crônica, linfocítica aguda, não linfocíticas agudas)

Conclusão

Bleomicina	Linfomas: Hodgkin e não-Hodgkin, carcinoma de células escamosas de CCP, derrame pleural maligno
Doxorrubicina	Câncer de mama, leucemia e linfoma, tumores sólidos metastáticos, sarcoma de partes moles
Metotrexato	CCP , câncer de mama, osteossarcoma, profilaxia e tratamento de linfoma ou leucemia meníngea, linfomas (não-Hodgkin e de Burkitt), tumores sólidos inoperáveis, neoplasias trofoblásticas gestacionais, leucemias linfocíticas agudas, câncer de pulmão (pequenas células)
Etoposídeo	Linfoma Hodgkin e não-Hodgkin, leucemias agudas (monocítica e mielocítica), tumores de testículo e câncer de pulmão (pequenas células)
Complexos de coordenação de platina (incluindo cisplatina e carboplatina)	Câncer de ovário metastático, câncer de testículo metastático, câncer de bexiga (avançado), carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, câncer de colo uterino
Everolimo	Câncer de mama avançado, tumores neuroendócrinos avançados localizados no estômago, intestino, pulmão ou pâncreas, carcinoma avançado de células renais, angiomiolipoma renal associado ao complexo de esclerose, e astrocitoma subependimário de células gigantes, também relacionado à esclerose tuberosa
Tensirolimo	Tensirolimo, também conhecido como Torisel, é indicado para o tratamento de carcinoma de células renais avançado

Fonte: Consulta remédios, 2024; CCP: câncer de cabeça e pescoço

As abordagens para a prevenção e tratamento da MO em pacientes oncológicos continuam a evoluir, envolvendo intervenções farmacológicas e não farmacológicas. Entre as opções farmacológicas mais atualizadas, o uso de agentes como a vitamina E, enxaguantes com dicluconato de clorexidina, e anti-inflamatórios como a benzydamina permanecem comuns. Além disso, há um foco em tratamentos antifúngicos, como nistatina, cetoconazol e fluconazol, particularmente para prevenir infecções oportunistas. O manejo da dor inclui

analgésicos sistêmicos e anestésicos locais, como lidocaína viscosa, gel de tetraciclina e hidrocloreto de diclonina, que proporcionam alívio local. Recentemente, o uso de fatores de crescimento como o palifermin, um fator recombinante de crescimento de queratinócitos, tem se mostrado eficaz na redução da severidade da MO. Além disso, a terapia com laser de baixa potência tem ganhado destaque como abordagem não farmacológica e cada vez mais reconhecida como uma medida eficaz para reduzir a inflamação e acelerar a cicatrização, proporcionando benefícios em pacientes em tratamento com RT e/ou QT (Sroussi et al., 2017; Lalla et al., 2023; Migliorati et al., 2021; Lalla et al., 2023).

As abordagens não farmacológicas para o manejo da MO continuam sendo uma parte essencial do cuidado durante a terapia oncológica. Estas incluem a higiene bucal rigorosa, com escovação suave dos dentes e uso de enxaguantes bucais não irritantes. O acompanhamento regular com um dentista é fundamental para identificar e tratar problemas orais precocemente. Cuidados nutricionais, como evitar alimentos picantes, ácidos ou muito duros, e a exclusão de álcool e tabaco, também são importantes para minimizar a irritação da mucosa. A hidratação constante da boca e dos lábios ajuda a aliviar o desconforto e prevenir complicações secundárias (Lalla et al., 2023; Migliorati et al., 2021). Há medidas que devem ser continuamente reforçadas durante a terapia oncológica apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1. Alternativas para prevenção e tratamento de suporte para mucosite oral durante terapias oncológicas. *Continua*

QT	
Prevenção	Crioterapia oral por 30 minutos: aplicar gelo na cavidade bucal ou bochechos com água gelada para pacientes recebendo QT com 5-fluorouracil em bolus ou para os que receberam altas doses de melfalano (com ou sem irradiação corporal total, no regime de condicionamento de transplante de células-tronco hematopoiéticas)
RT	
Prevenção (reduz frequência e severidade)	Cloridrato de benzidamina 0,15%: bochechar 15mL da solução, de 4 a 8x/dia. Iniciar antes da RT e

<i>Conclusão</i>	
continuar por 2 a 3 semanas. Indicada para pacientes em RT com dose moderada: até 50 Gy	
QT e/ou RT	
Prevenção/Analgesia e reparo¹	-Fotobiomodulação com laser de baixa potência -PDT
Analgesia tópica	- Doxepina 0,5%: bochechar 5 mL conforme necessário, 3 a 6x/dia - Lidocaína 2% gel ou spray: aplicar 30 minutos antes das refeições, ao longo dia, conforme a duração dos sintomas - O uso de medicamentos adjuvantes, como antidepressivos tricíclicos e gabapentina, pode ser considerado para o manejo da dor associada à mucosite induzida por radiação.
Analgesia sistêmica²	- Morfina solução oral 10mg/mL ou comprimido de 10mg: dose inicial: 2,5mg (8 gotas ³) a 5mg (16 gotas ³ ou meio comprimido), de 4/4h (ou 6/6h ou 8/8h se insuficiência renal ou hepática grave) - Dose usual de manutenção: 10 a 15mg de 4/4h (ou 6/6h ou 8/8h se insuficiência renal ou hepática grave)

¹Em pacientes que poderão se beneficiar da laserterapia, deve-se avaliar diariamente a cavidade bucal do primeiro ao último dia de aplicação. ¹Para que a PDT antimicrobiana seja efetiva, é necessário padronizar parâmetros como tipo e concentração do fotossensibilizador, tempo e condições de irradiação, além de considerar fatores microbianos, celulares e do meio. ²A analgesia sistêmica é reservada para os casos em que o uso de medicamentos tópicos não for suficiente para o alívio dos sintomas. O uso anti-inflamatórios não esteroidais não é indicado, sendo opioides fortes a primeira escolha no controle da dor moderada a forte relacionada à mucosite. ³Iniciar com dose mais baixas em idosos frágeis, pacientes com caquexia, insuficiência renal ou hepática graves

Fonte: Rubenstein et al. (2004), Peterson et al. (2015), Kumar (2019), Cruz (2015), Negrin (2021), Ministério da Saúde (2022), TelessaúdeRS-UFRGS (2022) adaptado de Elad et al. (2020). QT: Quimioterapia e RT: Radioterapia. PDT: Terapia Fotodinâmica

1.2. Mucosite oral e microbiota oral

A microbiota oral desempenha funções cruciais, incluindo a síntese de compostos que auxiliam na degradação de substâncias tóxicas, modulação do sistema imunológico e formação de uma barreira protetora contra a colonização de patógenos pela produção de substâncias inibitórias antimicrobianas (Gaetti-Jardim et al., 2018). Entretanto, quando em desequilíbrio, essa mesma microbiota, devido à sua diversidade e potencial de virulência, pode se tornar patogênica. Isso se deve ao seu caráter anfibiótico, que permite que microrganismos, normalmente comensais, passem a expressar fatores de virulência, gerando inflamação e danos ao hospedeiro. Esse estado de disbiose está associado a um maior risco de diversas patologias, incluindo a MO, ao desregular as respostas imunológicas locais e sistêmicas (Hou et al., 2018; Gaetti-Jardim et al., 2018). Portanto, a desregulação da microbiota oral não apenas afeta o equilíbrio microbiano, mas também pode agravar condições inflamatórias, exacerbando a gravidade da MO.

Em indivíduos saudáveis, a microbiota oral é composta por diferentes grupos bacterianos, dependendo da região da cavidade oral. Na mucosa os gêneros predominantes incluem *Streptococcus* e *Haemophilus*; em biofilmes supra- e subgengivais os principais microorganismos encontrados são *Actinomyces* e *Prevotella*, respectivamente (Vidal-Casariego et al., 2015; Bulacio et al., 2012). No sulco gengival, predominam anaeróbios obrigatórios, incluindo *Prevotella*, *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia* (Stringer & Logan, 2015). Nos lábios são encontrados anaeróbios facultativos como *Streptococcus* e em menor frequência *Veillonella*, *Neisseria* e *Candida* (Stringer & Logan, 2015). Nas bochechas e na língua, *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Haemophilus* (Stringer & Logan, 2015). A microbiota salivar é um reflexo de diferentes áreas da cavidade oral, não sendo considerada como tendo uma microbiota residente específica (Marsh et al., 2016). Além de bactérias, fungos como leveduras do gênero *Candida* também são frequentemente encontrados na cavidade oral (Tomkovich & Jobin, 2016).

As neoplasias juntamente com as terapias antineoplásicas citotóxicas como QT e RT, causam mielossupressão, levando a redução da atividade da medula óssea e conseqüentemente na diminuição significativa produção de células do sistema imunológico durante o tratamento (Stringer & Logan, 2015). Além disso, essas terapias afetam a diversidade do microbioma oral,

o que pode contribuir para disbiose e favorecer infecções oportunistas (Schuurhuis et al., 2016; Mok et al., 2017; Yang et al., 2018). Ainda, tratamentos antitumorais distintos resultam em diferentes alterações do microbioma oral (Xu et al., 2014; Chen et al., 2015). Por exemplo, a RT induz mudanças significativas na composição microbiana, e essas alterações variam dependendo das mutações associadas ao câncer e à progressão tumoral (Schuurhuis et al., 2016; Zhu et al., 2017; Zhao et al., 2017). A RT, com ou sem QT adjuvante, leva ao aumento de certos grupos bacterianos, incluindo *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Treponema*, *Fusobacteria*, *Actinobacteria*, e também de leveduras como *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (Vanhoecke et al., 2015; Zhu et al., 2017; Raj et al., 2017; Hou et al., 2018; Kawashita et al., 2018). Com aumento da RT observa-se a diminuição de *Fusobacteria*, *Prevotella*, *Leptotrichia* e *Campylobacter*, demonstrando uma mudança progressiva no microbioma à medida que o tratamento avança (Zhu et al., 2017; Hou et al., 2018).

Além disso, a xerostomia causada pelos danos às glândulas salivares durante a RT e QT reduz o fluxo salivar, o que compromete as funções protetoras da saliva, como a presença de enzimas e anticorpos essenciais para a manutenção de um microbioma saudável (Gaetti-Jardim et al., 2018). Na verdade, a relação entre microrganismos específicos e a gravidade da MO foi investigada (Zhu et al., 2017; Hou et al., 2018; Gaetti-Jardim et al., 2018). Durante o tratamento com RT, a colonização bacteriana da orofaringe, especialmente por bactérias gram-negativas e bacilos entéricos, está associada a graus elevados de MO (graus III e IV), enquanto o aumento de espécies de leveduras, como *Candida*, agrava ainda mais a condição, especialmente em pacientes com baixa contagem de linfócitos (Hou et al., 2018; Gaetti-Jardim et al., 2018).

1.3. A classificação da MO

A lesão causada pela MO pode causar um intenso desconforto e dor, afeta a capacidade de deglutição e fala e conseqüentemente a qualidade de vida do paciente (Hou et al., 2018). Para facilitar a avaliação da gravidade da MO, a Organização Mundial da Saúde (OMS) desenvolveu um sistema de classificação que categoriza a severidade das lesões com base em características como aparência, tamanho, presença de ulcerações, e o impacto funcional no trato gastrointestinal, incluindo a capacidade de alimentação e hidratação do paciente. Esse sistema é amplamente utilizado em ensaios clínicos e na prática clínica como uma ferramenta

para monitorar a evolução da condição e ajustar o tratamento conforme necessário. A classificação da OMS é uma das formas mais aceitas de avaliação da MO, fornecendo uma abordagem padronizada que permite comparar a gravidade dos casos e medir a resposta ao tratamento (Zhu et al., 2017; Gaetti-Jardim et al., 2018) (Tabela 2).

TABELA 2. Classificação da mucosite oral segundo a Organização Mundial de Saúde.

Classificação	Alterações
Grau 0	Não há alterações na mucosa
Grau 1	Vermelhidão e inchaço na mucosa
Grau 2	Presença de pequenas feridas e dificuldade de ingerir sólidos
Grau 3	Existem feridas e apenas ingestão de líquidos
Grau 4	Sem a possibilidade de ingestão oral, seguindo de internação

Fonte: WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva: World Health Organization; 1979.

O risco, a gravidade e a duração da MO são influenciadas por múltiplos fatores, incluindo a severidade da condição, o tipo de tratamento administrado e características individuais do paciente, como sexo, predisposição genética, idade, hábitos alimentares, estado de saúde bucal e higiene. A função salivar normal também é um fator crucial, assim como exposição ao tabaco e álcool (Albuquerque et al., 2007; Menezes et al., 2014). Além disso, comorbidades como diabetes, hipertensão e cardiopatias podem agravar o quadro de MO (Tomkovich & Jobin, 2016; Marsh et al., 2016). No contexto da RT, é fundamental considerar o local a ser irradiado, a taxa de acumulação de cada dose de radiação e o agente QT utilizado, uma vez que diferentes medicamentos e protocolos podem apresentar variações significativas nos efeitos colaterais, incluindo a incidência de MO (Menezes et al., 2014; Gao et al., 2015).

Os tratamentos para a MO variam conforme os sintomas e o grau da inflamação apresentado. Em geral, as intervenções são direcionadas ao alívio dos sintomas, permitindo que o paciente se alimente de forma mais confortável e reduzindo o desconforto ao longo do dia (Tua Saúde, 2019; Kauffmann et al., 2023). O manejo adequado da MO é essencial para melhorar a qualidade de vida dos pacientes em tratamento oncológico e pode incluir desde medidas paliativas até intervenções mais específicas, dependendo da gravidade da condição.

1.4. Câncer de cabeça e pescoço

A maioria dos subtipos de CCP se inicia nas células escamosas que revestem as superfícies úmidas como dentro da boca, nariz e garganta. Assim, o CCP engloba tumores de lábios, cavidade oral, faringe, laringe, cavidade nasal e tireoide, sendo que geralmente, não demonstram sintomas em fase inicial (Oncoguia, 2022).

Os CCP, particularmente os localizados na cavidade oral e laringe, estão entre os dez tipos de câncer mais incidentes na população global. As regiões com maior incidência incluem o sul e sudeste asiático, Índia, França e Melanésia, onde fatores como o consumo de tabaco, álcool e a infecção pelo HPV contribuem significativamente para o aumento dos casos (Bray et al., 2020; Globocan, 2023). No que diz respeito à distribuição anatômica, aproximadamente 44-45% dos casos de CCP ocorrem na cavidade oral, seguidos pelos cânceres de laringe com 30-31%, e faringe com cerca de 25% dos casos (Ferlay et al., 2021).

O câncer de cabeça e pescoço ocupa a 6ª posição entre os tipos de câncer mais comuns no Brasil (INCA, 2023). A previsão para o ano de 2022 foi que surgissem 36.620 novos casos de CCP, sendo 19.480 em homens e 17.140 em mulheres. Esse total representou a somatória dos cânceres de cavidade oral (boca) (total 15.190 casos), sendo 11.180 em homens e 4.010 em mulheres; 7.650 total de casos com câncer de laringe, sendo 6.470 em homens e 1.180 em mulheres; 13.780 total de casos com câncer na tireoide, sendo 1.830 em homens e 11.950 em mulheres (SBCCP, 2022). O INCA estimou que, no Brasil, em 2023, haveriam cerca de 39.550 novos casos de CCP, abrangendo cânceres da cavidade oral, tireoide e laringe. Considerando apenas os casos relacionados a CCP, a projeção para o triênio 2023-2025 é de um total de 118.650 novos casos, com uma previsão anual de 39.550 casos (SBCCP, 2023).

Os fatores de risco para o desenvolvimento desses tumores incluem predisposição genética, hábitos de vida como consumo de tabaco e álcool, além de influências socioeconômicas, condições laborais e a infecção por agentes virais como o HPV e o vírus de Epstein-Barr (EBV) (Sanarmed, 2017). Entretanto, o tabagismo é o principal fator de risco para a doença, sendo correlacionado com a intensidade e duração do hábito de fumar. O cigarro contém nitrosaminas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, carcinógenos responsáveis pelo maior risco para este tipo tumoral devido principalmente de alteração do perfil molecular por acúmulo de mutações em oncogenes, genes supressores tumorais e genes de reparo

(Hashibe et al., 2007).

Um dos principais desafios no tratamento do CCP, particularmente o carcinoma epidermóide, é o diagnóstico tardio. Aproximadamente 70% dos casos são detectados já em estágios avançados (III e IV), o que reduz significativamente as opções de tratamento e piora o prognóstico. Esse atraso no diagnóstico ocorre, em grande parte, devido à ausência de sintomas específicos nas fases iniciais ou a sintomas que podem ser confundidos com outras condições menos graves, dificultando a busca precoce por atendimento especializado. Esses fatores reforçam a importância de campanhas preventivas e estratégias de triagem para a detecção precoce e melhoria da qualidade de vida dos pacientes (Sanarmed, 2017).

Nos estágios iniciais, a cirurgia é a opção de tratamento mais indicada, já que, embora a radioterapia apresente eficácia semelhante, está associada a maiores sequelas a longo prazo e a um tratamento mais prolongado. Quando a cirurgia não é viável e não se pode optar por uma abordagem curativa, o manejo desses pacientes torna-se delicado, pois, independentemente da terapêutica escolhida, a integridade física será comprometida, o que pode gerar sofrimento psicológico e alterações na autoimagem devido às mutilações frequentes (Cardoso et al., 2009; Konradsen et al., 2009).

1.5. Estadiamento do câncer de cabeça e pescoço

A extensão da doença no momento do diagnóstico é um fator-chave para definir o prognóstico e determinar qual o melhor tratamento. O sistema de estadiamento comumente utilizado para os tumores de cabeça e pescoço é o sistema TNM (tumor linfonodo metástase). Esse sistema classifica os cânceres de acordo com o tamanho e a extensão do tumor primário (T), o envolvimento dos linfonodos regionais (N) e a presença ou ausência de metástases (M). Recentemente, incorporaram-se novos fatores prognósticos não anatômicos na classificação. Os tumores são classificados de acordo com os sistemas de estadiamento dos respectivos grupos: lábio e cavidade oral, faringe, laringe, cavidade nasal e seios paranasais e glândulas salivares. Em geral, os cânceres são classificados entre estádios 0 e IV, sendo os tumores iniciais classificados como estádios 0 e I. (Greene et al., 2002; Oncologia Américas, 2022).

De uma forma geral, T1 a T3 descrevem um tamanho crescente do sítio primário, enquanto T4 envolve a invasão de uma estrutura adicional, como osso, cartilagem ou base da

língua. O envolvimento dos linfonodos cervicais é classificado como N1, N2 ou N3, com base no número, localização e tamanho dos linfonodos envolvidos. O estadiamento é consistente para todos os sítios anatômicos, exceto no caso do câncer nasofaríngeo, em que a localização do linfonodo é levada em consideração (Greene et al., 2002).

Clinicamente, o CCP pode ser classificado em três grupos principais: 1) Doença inicial (estágios I e II), que se caracteriza pela presença de pequenas lesões primárias T1 e T2 sem envolvimento clinicamente detectável de linfonodo; 2) Doença locorregionalmente avançada (estágios III e IV), caracterizada pela presença de grandes tumores primários que podem ou não ser extirpáveis e, possivelmente, por um envolvimento clínico significativo do linfonodo na ausência de metástases distantes detectáveis; 3) Doença recorrente ou metastática, caracterizada pela recidiva tumoral local ou regional após a cirurgia ou RT, bem como pela identificação de metástases distantes do sítio primário (Medicina NET, 2012.).

O manual de estadiamento do câncer conhecido como *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) contém alterações importantes introduzidas nas classificações de estadiamento do CCP. Notavelmente, incluiu uma descrição dos tumores avançados (estágio IV, subdividido em IVa ou doença extirpável avançada e IVb ou doença não extirpável avançada) e doença metastática (estágio IVc) (Greene et al., 2002). As classificações mais recentes têm como objetivo identificar pacientes que sejam candidatos à terapia curativa.

Diferente de outras malignidades, o CCP continua sendo, predominantemente, uma doença que afeta principalmente as regiões locais e regionais. Mesmo em pacientes com doença em estágio avançado, metástases à distância são relativamente raras no momento do diagnóstico. No entanto, estudos indicaram que até 20-30% dos pacientes desenvolvem metástases distantes, com pulmões, ossos e fígado sendo os locais mais comumente afetados (Machiels et al., 2020).

De forma interessante, Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski, professor titular de oncologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Centro de Referência em Tumores de Cabeça e Pescoço A.C. Camargo, alertou que aproximadamente 70-80% dos casos de CCP são diagnosticados apenas em estágios avançados. O especialista atribui esse diagnóstico tardio à falta de conhecimento de médicos responsáveis pelo atendimento inicial, que não são frequentemente especializados no reconhecimento das lesões, bem como à tendência dos

pacientes de confundirem os sintomas com condições benignas, como aftas ou outras afecções menos graves (Oncoguia,2023).

O tipo histológico mais comum de CCP é o carcinoma espinocelular, também conhecido como carcinoma de células escamosas, que representa cerca de 90% dos casos. Esse tipo de tumor é mais frequente em homens, em grande parte devido a fatores de risco como tabagismo e consumo excessivo de álcool, além da infecção pelo vírus do HPV em algumas sublocalizações, como a orofaringe (Bray et al., 2020; INCA, 2023). A maioria dos diagnósticos de CCP continua a ser realizada em estágios avançados, o que impacta negativamente o prognóstico e a sobrevida dos pacientes. A detecção tardia está frequentemente associada à ausência de sintomas nos estágios iniciais e à falta de conscientização sobre os fatores de risco (SanarMed, 2023).

1.6. Câncer de cabeça e pescoço *versus* mucosite oral

A CPT é indicada no tratamento de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço, sendo utilizada em associação a outros quimioterápicos aprovados, além de atuar como terapia adjuvante a intervenções cirúrgicas e/ou radioterápicas (Consulta Remédios, 2024). Este medicamento é frequentemente administrado em combinação com outros fármacos, como o 5-fluorouracil (5-FU) e docetaxel, especialmente em esquemas de tratamento que visam melhorar a eficácia na redução dos tumores. Além disso, o carboplatina é outra opção popular, geralmente utilizada em combinação com o 5-FU para otimizar os resultados terapêuticos. A CPT pode ser administrada de forma adjuvante (após a cirurgia) ou neoadjuvante (antes da cirurgia) e também é utilizada em tratamentos de quimiorradiação, onde é administrada junto com a RT para aumentar a eficácia do tratamento (D´Souza et al., 2016; Cance et al., 2017; Guo et al., 2018; NCI, 2023).

A CPT é um agente QT da classe dos análogos de platina, amplamente utilizado por sua capacidade de inibir o crescimento e a proliferação de células cancerígenas através da formação de ligações cruzadas no DNA, resultando em apoptose celular. Sua administração é frequentemente combinada com outros medicamentos para maximizar a eficácia no tratamento de diversos tipos de câncer (*St. Jude Children's Research Hospital*, 2024).

A CPT, quando administrada em regimes de poliquimioterapia, tem demonstrado

eficácia significativa no tratamento de tumores sólidos, como CCP, próstata e bexiga. Estudos iniciais sugeriram também seu potencial terapêutico em tipos de câncer menos comuns, como sarcomas, linfomas, câncer de pulmão, esôfago, tireoide, neuroblastoma e melanoma maligno (BulasMed, 2014). Entre os fármacos citotóxicos, os compostos de platina, incluindo a CPT, são amplamente utilizados em tratamentos oncológicos ao redor do mundo. Milhões de pacientes diagnosticados com câncer recebem esses agentes como parte da terapia inicial. No entanto, a administração de altas doses de CPT em combinação com RT pode aumentar significativamente os efeitos adversos, sendo que muitos dos efeitos colaterais estão associados à dosagem cumulativa (Pereira, 2021).

A MO é uma toxicidade complexa e limitante da QT e/ou RT que leva a úlceras dolorosas na boca, dificuldade para comer ou engolir, desconforto gastrointestinal e redução da qualidade de vida para pacientes com câncer. A MO é mais comum em pacientes submetidos a altas doses de QT e transplante de células-tronco hematopoiéticas e em pacientes em tratamento para neoplasias de cabeça e pescoço (Albuquerque et al., 2007). Entre as complicações, a mucosite é uma das reações adversas mais comuns e graves da radioterapia, afetando de 40% a 100% dos pacientes (Veness et al., 2006). Embora a maioria dos pacientes com CCP desenvolva MO, há variabilidade individual na gravidade e na duração da condição, mesmo entre aqueles que recebem tratamentos semelhantes. Um estudo indicou que até 90% dos pacientes apresentam MO, mas apenas 36% desenvolvem casos graves (Reyes et al, 2020).

Os tratamentos mais utilizados para a MO no CCP são para o alívio da dor e a laserterapia, utilizados em 90 a 97% dos casos, respectivamente (Trotti et al., 2003). O laser de baixa potência é empregado na prevenção e/ou tratamento da MO pois os lasers de baixa potência têm ação direta nos processos metabólicos das células-alvo, produzindo efeitos bioestimulantes a nível celular e vascular, resultando numa ação analgésica, anti-inflamatória e cicatrizante ou reparadora (Pugliese et al., 2003). A PDT utiliza um fotossensibilizador, como o azul de metileno, ativado por laser de baixa potência para gerar radicais livres que destroem bactérias, sendo eficaz contra infecções orais, inclusive na MO. A técnica é segura, com baixa chance de resistência microbiana, apresentando atividade significativa contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, embora *Pseudomonas aeruginosa* tenha mostrado resistência (Catão & Batista, 2020). Vale comentar que o tratamento curativo atua com o

objetivo de analgesia e aceleração do processo de reparação das feridas, embora a eficácia do tratamento é individual a cada paciente e a cada quadro diagnóstico (Oncoguia, 2013).

1.7.Principais vias de sinalização e genes envolvidos com a mucosite oral em pacientes com câncer de cabeça e pescoço

Para melhor explicar o mecanismo de desenvolvimento da MO no CCP, Sonis (2004) propôs um modelo teórico que divide a evolução desta lesão em cinco estágios: iniciação, sinalização, amplificação de sinal, ulceração e cicatrização. A fase de iniciação ocorre rapidamente após administração da QT e/ou RT que induzem lesões ao DNA, levando à lesão das células do epitélio basal e do conjuntivo subjacente (lâmina própria) (Denahm & Hauer-Jensen, 2002). Simultaneamente, ROS são geradas, que são importantes mediadores de eventos biológicos (Sonis, 2004). Quebras das fitas de DNA levam à ativação de diversas vias de transdução que, por sua vez, ativam fatores de transcrição como o fator nuclear κ B (NF- κ B) (Sonis, 2002). A ativação do NF- κ B pode resultar em um aumento na expressão de aproximadamente 200 genes, dos quais muitos têm potencial efeito na toxicidade da mucosa. A superexpressão desses genes leva à produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o TNF- α , a IL-1 β e a IL-6. Os níveis elevados dessas citocinas foram observados em saliva de pacientes com CCP submetidos à quimiorradioterapia (Logan et al., 2008; Bossi et al., 2016). Essas citocinas, então, amplificam o sinal primário ou podem ativar a via NF- κ B em outras células, resultando na expressão de moléculas sinalizadoras de proteína-quinase ativada por mitógeno (MAPK), ciclooxigenase 2 (COX2) e proteína tirosina-quinase (PTK). Essas vias de sinalização levam à ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs) em células epiteliais e do conjuntivo subjacente, como fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (Sonis, 2004). As MMPs, por sua vez, causam destruição da matriz de colágeno subepitelial e rompem a interface entre o epitélio e o tecido conjuntivo, possibilitando a disseminação de outros sinais destrutivos (Sonis, 2007; Al-Dasooqi et al., 2010).

Como consequência da superexpressão gênica que ocorre devido à ativação inicial de fatores de transcrição, um grande número de proteínas se acumula e tem como alvo o tecido epitelial e o conjuntivo subjacente. Algumas delas, em especial as citocinas pró-inflamatórias, não só lesionam o tecido, como também geram um feedback positivo que amplifica a lesão inicial (Sonis, 2002; Sonis, 2007).

A fase de ulceração da MO é a mais significativa, uma vez que a perda da integridade da mucosa resulta em lesões extremamente dolorosas e propensas à colonização bacteriana superficial. Componentes da parede celular dessas bactérias podem penetrar no tecido conjuntivo, onde ativam macrófagos a produzirem e liberarem citocinas pró-inflamatórias adicionais. Isso acaba promovendo a expressão de genes pró-apoptóticos que potencializam a lesão tecidual, gerando úlceras clinicamente visíveis (Al-Ansari et al., 2015; Stringer & Logan, 2015). Na maioria dos casos, a MO é um fenômeno agudo que se resolve espontaneamente dias após o término do tratamento antineoplásico. Sinais provenientes da matriz extracelular regulam a migração e a proliferação celular e sua diferenciação em tecido de cicatrização (Sonis, 2004).

Estudos demonstraram que múltiplos genes estavam envolvidos na formação, gravidade e persistência da MO. Assim, os autores identificaram como genes significativamente associadas à MO (*ERCC1*, *XRCC1* e *MTHFR*) e envolvidos com estresse oxidativo e reparo do DNA (*BRCA1*, *RB* e *TP53*) na MO. Este estudo foi baseado em uma rede de interações intracelulares e intercelulares, ou seja as abordagens utilizadas no mesmo foi utilizar o *Ingenuity Pathway Analysis* (IPA; www.ingenuity.com), uma ferramenta de bioinformática, para explorar vias biológicas e mecanismos moleculares associados à mucosite. Entretanto, os autores não avaliaram as expressões dos genes associados à MO em pacientes (Reyes, 2017).

Embora há poucos estudos que explorem o papel dos genes na MO em pacientes com CCP, os estudos existentes estabeleceram uma base promissora para pesquisas futuras. Essas investigações iniciais podem contribuir significativamente para a melhoria do manejo e tratamento da MO em pacientes oncológicos. A compreensão dos fatores genéticos que influenciam a ocorrência e a gravidade da MO poderá resultar em abordagens terapêuticas mais eficazes, personalizadas e preventivas, aumentando assim a qualidade de vida dos pacientes durante os tratamentos (Menezes et al., 2014; Gao et al., 2015; Kauffmann et al., 2023).

1.8. Glicirrizinato dipotássio

A raiz do alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) é amplamente utilizada na medicina tradicional chinesa devido às suas diversas propriedades farmacológicas e fisiológicas, que incluem desintoxicação, redução da glicose, diminuição do colesterol, efeitos antialérgicos, antibióticos

e anti-inflamatórios (Shibata et al., 2000; Chen et al., 2021). O Ácido Glicirrízico (AG), um dos principais componentes isolados do alcaçuz, é conhecido por seus efeitos anti-inflamatórios e tem sido extensivamente estudado (Feltrin et al., 2010; Shibata et al., 2000). Pesquisas recentes indicam que a administração oral de 15mg/kg de AG em ratos Wistar inibiu processos infecciosos, reduzindo os níveis de TNF- α , aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e a liberação de citocromo C (Khan et al., 2013). Estudos adicionais demonstraram que o AG suprimiu a expressão de várias proteínas pró-inflamatórias e promoveu a expressão de proteínas relacionadas à apoptose tanto in vitro quanto in vivo (Schrofelbauer et al., 2009; Yang et al., 2009; Manns et al., 2012; Khan et al., 2013). Além disso, o AG demonstrou efeito antitumoral, induzindo apoptose em várias linhagens celulares de diferentes tumores (KATO III e HL-60, HLE) (Hibasami et al., 2005; Hibasami et al., 2006; Sivasakthivel et al., 2008).

O Glicirrinato dipotássio (DPG), um sal de dipotássio do AG, exibe propriedades semelhantes às do AG, incluindo efeitos anti-inflamatórios e antialérgicos, porém sem os efeitos colaterais observados com o AG, tornando-se uma opção de tratamento continuado (Cec Editore, 2013). Além de seu potencial terapêutico, o DPG já é usado na indústria farmacêutica e cosmética devido a essas propriedades (Cec Editore, 2013) e até o presente estudo, não existem estudos específicos que investiguem o uso do DPG na MO em pacientes com CCP.

Embora as propriedades do DPG sugiram seu potencial para ajudar a reduzir inflamações e proteger a mucosa oral danificada por esses tratamentos, até o momento não há estudos específicos documentados sobre o uso direto do DPG no manejo da MO em pacientes com CCP. Esse contexto apresenta uma oportunidade relevante para futuras pesquisas, que poderiam explorar o papel do DPG na proteção da mucosa oral e na cicatrização de lesões associadas à MO, visando melhorar o conforto e a qualidade de vida dos pacientes durante o tratamento oncológico.

1.9.Quercetina

O uso de compostos naturais tem sido explorado em processos inflamatórios, como na MO (Nagpal & Sood, 2013; Devaraj & Neelakantan, 2014; Zwicker et al., 2023). Os flavonóides são compostos naturais com estrutura fenólica variável e a QCT (3,3',4',5,7-

pentahidroxi-flavona) é o principal flavonoide presente na dieta humana, geralmente na forma glicosilada, o que facilita sua absorção (Crespy et al., 1999). A QCT tem demonstrado propriedades antioxidante e anticancerígena (Behling et al., 2004).

Extratos de *Calendula officinalis* (calêndula) demonstraram efeitos anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobianos, sendo eficazes na redução da gravidade da MO induzida por RT em pacientes com CCP, efeito atribuído à sua capacidade antioxidante (Babae et al., 2013). A calêndula contém QCT, e também flavonoides como (luteína, ácido protocatecuico, entre outros), triterpenoides (como faradiol, ácido oleanólico, beta-amirina, calenduladiol, etc.) e o alcaloide narcissina (Matysik et al., 2005).

A *Aloe vera* tem sido amplamente investigada para condições orais, como síndrome da boca ardente, xerostomia, úlceras aftosas recorrentes e MO induzida por radiação (Nair et al., 2016), além de auxiliar na prevenção de MO em pacientes em tratamento anticâncer (Varoni et al., 2012). Compostos como ácido gálico, catequina, galocatequina, ácido elágico, naringina, miricetina, QCT e kaempferol foram identificados na *Aloe vera* (Lacerda, 2021).

A cúrcuma e curcumina, aplicadas como gel ou bochecho, reduziram a intensidade da MO, dor e tamanho das úlceras em pacientes submetidos à RT (Rao et al., 2014; Patil et al., 2015). Estudos determinaram teores significativos de polifenóis e flavonoides, incluindo QCT e kaempferol, no extrato aquoso de cúrcuma e nas raízes (Kim et al., 2011; Lako et al., 2007). Assim, Kim et al. (2011) analisaram o extrato aquoso de cúrcuma, encontrando 58,28 µg de fenóis equivalentes à catequina por grama de amostra e 324,08 µg de flavonoides equivalentes à QCT por grama. Lako et al. (2007) examinaram o decocto das raízes de cúrcuma e quantificaram 320 mg de polifenóis e 0,05 mg de antocianinas por 100 g de amostra. Eles também identificaram os flavonoides miricetina (17 mg/100 g), fisetina (64 mg/100 g), morina (2 mg/100 g), QCT (41 mg/100 g) e canferol (<1 mg/100 g).

A camomila (*Chamomilla recutita*) também possui flavonoides como apigenina, crisina, QCT, luteolina e glicosídeos, com propriedades anti-inflamatórias e bacteriostáticas, sendo utilizada no tratamento da MO (Salehi et al., 2019).

Conforme exposto, a QCT é um dos compostos presentes em várias plantas tornando-a uma substância interessante para ser estudada na MO. Embora os mecanismos ainda não sejam totalmente compreendidos, estudos demonstraram que a QCT pode atenuar danos induzidos

pela radiação na bexiga, pulmões, neurônios e rins (Özyurt et al., 2014; Chatterjee et al., 2019; Wang et al., 2015), inibir a colite induzida por radiação no cólon (Güven et al., 2019) e mitigar a fibrose cutânea induzida pela radiação (Horton et al., 2013). Portanto, a hipótese é que a QCT possa exercer um papel radioprotetor na mucosa oral.

Lotfi et al. (2021) avaliaram os efeitos preventivos e terapêuticos da QCT na MO induzida por QT, utilizando camundongos albinos machos. Os resultados demonstraram que a QCT ajudou a reduzir a perda de peso nos camundongos com mucosite e melhorou a integridade da mucosa da língua, prevenindo sinais típicos de inflamação como hemorragia e infiltração celular. A análise histoquímica indicou que o pré-tratamento com QCT reduziu os níveis de malondialdeído e aumentou a atividade de antioxidantes como superóxido dismutase e catalase. Ainda, um estudo realizou um ensaio clínico randomizado com 23 pacientes adultos recebendo QT em altas doses. Os pacientes foram tratados com QCT ou placebo, administrado duas vezes ao dia durante quatro semanas. A incidência de mucosite foi menor no grupo tratado com QCT (30%) em comparação ao grupo placebo (60%) (Kooshyar et al., 2017).

Outro estudo mais recente investigou os efeitos radioprotectores da QCT na MO induzida por radiação. O tratamento com QCT reduziu a produção de ROS, a ativação da via NF- κ B e a liberação de citocinas inflamatórias (Zhang et al., 2021).

Conforme exposto, a MO é uma complicação comum e debilitante em pacientes com CCP submetidos a RT e/ou QT, afetando a qualidade de vida e o tratamento. O DPG, sal do AG, apresenta efeitos anti-inflamatórios similares ao composto original, mas com menor risco de efeitos adversos, podendo proteger a mucosa oral e reduzir a inflamação. A QCT, flavonoide presente em diversas plantas medicinais, possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e radioprotetoras, comprovadas em modelos pré-clínicos e clínicos na redução da gravidade da MO. Diante disso, o presente estudo propõe avaliar, *in vitro*, o efeito do DPG e da QCT na proteção da mucosa oral utilizando CPT para mimetizar a MO em linhagens celulares de CCP.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar o potencial anti-inflamatório do DPG e da QCT em linhagens celulares de CCP induzidas à MO, utilizando a CPT como agente indutor em comparação com células não induzidas.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterização da pureza dos compostos por espectrometria de fluxo.
- Avaliar a citotoxicidade da CPT, DPG e QCT isoladamente ou na presença da CPT em linhagens celulares de câncer oral (FaDu e SCC-25), pelo ensaio MTT;
- Avaliar a citotoxicidade da CPT, DPG e QCT isoladamente ou na presença da CPT em uma linhagem de células epiteliais humanas normais (HaCat), pelo ensaio MTT;
- Avaliar o efeito anti-apoptótico do DPG e da QCT isoladamente ou na presença da CPT nas células FaDu e SCC-25, por citometria de fluxo;
- Avaliar a proliferação e modificação do ciclo celular pelo DPG e QCT isoladamente ou na presença da CPT nas células FaDu e SCC-25, por ensaio da proliferação celular e citometria de fluxo;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do DPG e QCT isoladamente ou na presença da CPT nas linhagens FaDu, SCC-25 e HaCat, pela análise por qPCR dos genes *IL-1 β* , *TNF-A* e *INOS*;
- Avaliação da atividade antimicrobiana do DPG e da QCT pelo método disco difusão;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Linhagens celulares e compostos

As linhagens celulares de CCP (FaDu e SCC-25) e as células epiteliais humanas normais (HaCat), foram gentilmente fornecidas pelo Dr. Gustavo Jacob Lourenço, do Laboratório de Genética do Câncer da UNICAMP, Campinas, SP (Certificados apresentados em Anexos II-III). As células foram descongeladas 4-7 dias antes do início dos experimentos e mantidas em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) enriquecido com glicose (Sigma, St. Louis, Missouri, Estados Unidos da América [EUA]), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Sigma) e 1% de solução de penicilina e estreptomicina (Cultilab, Campinas, São Paulo, Brasil). As culturas foram acondicionadas em frascos e mantidas em uma incubadora a 37°C com 5% de CO₂.

A CPT foi adquirida da Asta Médica Oncologia (São Paulo, São Paulo, Brasil) e o composto natural QCT da Farma Nova manipulação (Bragança Paulista, São Paulo, Brasil) respectivamente. O DPG foi gentilmente doado pela empresa Verdi Cosméticos Ltda (Joanópolis, São Paulo, Brasil). A solução estoque de CPT (peso molecular 301 g/mol) foi preparada na concentração de 100 µM. Para o DPG, com peso molecular de 898 g/mol, foi preparada uma solução estoque a 50 µM. A solução estoque de QCT, com massa molecular de 338 g/mol, foi preparada na concentração de 200 µM. Soluções estoque adicionais foram preparadas conforme necessário para cada experimento proposto, utilizando DMEM como veículo para preparo das soluções.

3.2 Ensaio MTT (brometo de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)

As concentrações e os tempos de tratamento da CPT e DPG foram estabelecidos com base em estudos prévios (Macedo et al., 2016; Bonafé et al., 2019; Bonafé et al., 2022a; Bonafé et al., 2022b). Em contrapartida, para a QCT, não foram encontrados estudos prévios que especificassem as condições experimentais, sendo, portanto, as concentrações e os tempos de tratamento definidos a partir de experimentos realizados no presente estudo. Cerca de $0,2 \times 10^6$ células de cada linhagem (FaDu e SCC-25) foram plaqueadas com meio DMEM suplementado com 10% de SFB (Sigma), em triplicata em placas de 96 poços (Kasvi, Pinhais, Paraná, Brasil) e mantidas por 24 horas a 37°C com 5% de CO₂. Após confluência celular, foi realizado

tratamentos com **CPT** (5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 50 μ M, 75 μ M e 100 μ M) e **DPG** (2 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 25 μ M, 30 μ M, 35 μ M, 40 μ M, 45 μ M e 50 μ M, 55 μ M, 60 μ M, 65 μ M, 70 μ M, 75 μ M, 80 μ M, 85 μ M, 90 μ M, 95 μ M e 100 μ M) ou **QCT** (10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 60 μ M, 80 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 200 μ M) por 24, 48 e 72 horas. A concentração inibitória de 20% (IC₂₀) da CPT foi determinada para as linhagens celulares FaDu (20 μ M) e SCC-25 (30 μ M) e foi utilizada para induzir o processo inflamatório na MO nas análises subsequentes com a QCT, mantendo-se as mesmas concentrações e tempos de tratamento mencionados anteriormente. Para a avaliação do efeito do DPG na inibição da inflamação, as concentrações adotadas foram as mais baixas (2 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 25 μ M, 30 μ M, 35 μ M, 40 μ M, 45 μ M e 50 μ M), com tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. Triplicatas contendo apenas meio de cultura DMEM suplementado com 10% de SFB (Sigma) e 1% de antibióticos (Cultilab) foram utilizadas como controles.

Após o tratamento, as células foram incubadas com 0,2 μ g/ μ L de MTT (Sigma) por 4 horas a 37°C. Os cristais de formazan foram dissolvidos em 100 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil), e a absorbância foi medida em um espectrofotômetro a 540 nm (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts, EUA). O IC₂₀, representando a mínima concentração necessária dos compostos avaliados para induzir o processo inflamatório semelhante à MO [Macedo et al. (2016)], foi aplicada em todos os ensaios subsequentes.

O cálculo utilizado para determinar o percentual de inibição dos compostos avaliados foi pela equação: $AA\% = 100 - \{[(Abs.amostra - Abs.branco) \times 100] \div Abs.controle\}$. Após a avaliação da faixa de concentração ideal, calculou-se o IC₂₀ dos compostos por análise da curva sigmoide, no ambiente do R v4.2 (dados não mostrados).

3.3. Citometria de fluxo

3.3.1. Ciclo celular

Para a análise do ciclo celular, seguiu-se o protocolo recomendado pelo fabricante do corante intercalante de DNA, iodeto de propídio (PI) *Guava Cell Cycle* (Millipore, Hayward, CA, EUA). Cerca de 1×10^5 células de cada linhagem (FaDu e SCC-25) foram plaqueadas em triplicata em placas de cultura de 6 poços (Kasvi) e mantidas por 24 horas a 37°C com 5% de

CO₂. Em seguida, as células foram expostas aos compostos DPG e QCT nas concentrações e tempos determinados pelo ensaio MTT (IC₂₀). Triplicatas contendo apenas meio de cultura foram usadas para estabelecer os parâmetros do equipamento. Células expostas a DPG e QCT, com ou sem CPT, foram avaliadas. Ao final, as células foram coletadas em tampão fosfato salina (PBS) (Vitrocell, Campinas, São Paulo, Brasil), transferidas para uma placa de 96 poços (Kasvi), fixadas com etanol 70% (Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, Brasil) a 4°C, coradas com PI por 30 minutos protegidas da luz e analisadas no citômetro de fluxo *Guava Easy Cyte 5HT Benchtop Flow Cytometer* (Millipore), a análise do ciclo celular é realizada através da quantificação do conteúdo de DNA celular, geralmente utilizando corantes fluorescentes como o Iodeto de Propídio (PI) ou DAPI, que se ligam ao DNA. A intensidade da fluorescência dos corantes permite a distinção entre as diferentes fases do ciclo celular: as células na fase G₀/G₁ apresentam 2n de cromossomos (1 cromátide por cromossomo), as células em fase S possuem conteúdo de DNA intermediário (entre 2n e 4n, devido à duplicação das cromátides), e as células em fase G₂/M têm 4n de cromátides (2 cromátides por cromossomo). O *FSC* (*Forward Scatter*) e o *SSC* (*Side Scatter*) podem ser usados para caracterizar o tamanho e a complexidade das células, mas a identificação precisa das fases do ciclo celular é baseada na fluorescência, gerando uma distribuição que pode ser analisada para avaliar a proliferação celular, bloqueios no ciclo ou outros aspectos do ciclo celular.

3.3.2. Apoptose

Para a análise da morte celular, foi utilizado o protocolo do fabricante para o corante Anexina V *Guava Nexin Reagent* (Millipore). Aproximadamente 1x10⁵ células de cada linhagem (FaDu e SCC-25) foram plaqueadas em triplicata em placas de cultura de 6 poços (Kasvi) e mantidas por 24 horas a 37°C com 5% de CO₂. Em seguida, as células foram tratadas com os compostos nas concentrações e tempos determinados anteriormente pelo MTT na ausência ou presença de CPT. Triplicatas contendo apenas meio de cultura foram usadas para estabelecer os parâmetros do equipamento. Ao final, as células foram coletadas em PBS, transferidas para uma placa de 96 poços, incubadas com 100 µL do reagente *Guava Nexin* por 20 minutos, protegidas da luz e analisadas no citômetro de fluxo *Guava Easy Cyte 5HT Benchtop Flow Cytometer* (Millipore), a análise de apoptose, é realizada através da combinação de dispersão de luz (FSC/SSC) e fluorescência, permitindo a identificação de

células em diferentes estágios do processo apoptótico. O FSC e o SSC fornecem informações sobre o tamanho celular e a complexidade interna, enquanto a fluorescência de Anexina V-FITC detecta a exposição de fosfatidilserina nas células apoptóticas precoces (positivas para Anexina V, mas negativas para PI). O Iodeto de Propídio (PI) é utilizado para marcar células com membranas danificadas, indicando células apoptóticas tardias ou necróticas (positivas para ambos, Anexina V e PI). Essa análise multiparamétrica permite a distinção precisa entre células viáveis, apoptóticas precoces e tardias/necróticas, proporcionando uma avaliação detalhada da morte celular programada.

3.4. Ensaio de proliferação celular

Aproximadamente $0,4 \times 10^6$ células/poço das linhagens FaDu e SCC-25 foram plaqueadas em triplicata em placas de 24 poços e mantidas por 24 horas a 37°C , com 5% de CO_2 . Em seguida, as células foram expostas ao DPG (IC_{20}) ou a QCT (IC_{20}) na ausência ou presença de CPT (IC_{20}). Triplicatas contendo apenas o meio de cultura foram utilizadas como controles. Durante quatro dias consecutivos, as células foram coletadas, lavadas com PBS e submetidas à contagem de células viáveis utilizando microscópio invertido (Axio Vert. A1 ZEISS, Jena, Oberkochen, Alemanha), aplicando o método de exclusão pelo corante azul de trypan (Millipore) em câmara de Neubauer.

3.5. Extração de RNA

Cerca de 1×10^6 células por poço das linhagens propostas no estudo foram plaqueadas em triplicata em placas de 6-poços e mantidas durante 24 horas a 37°C , com 5% de CO_2 . Após atingirem a confluência necessária, as células foram expostas aos compostos propostos nas concentrações e tempos observados pelo MTT (IC_{20}). Triplicatas das linhagens contendo apenas meio de cultura foram utilizadas como controles. Ao final do tratamento, as células foram coletadas, e o RNA total foi extraído utilizando o reagente Trizol® (Invitrogen, Estados Unidos), conforme as recomendações do fabricante. As concentrações dos RNAs foram determinadas utilizando o espectrofotômetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher, Estados Unidos). Os RNAs foram armazenados em um freezer a -80°C até o momento da síntese do

cDNA.

3.5.1. Análise da expressão de genes que codificam proteínas inflamatórias

As amostras de RNA foram submetidas à síntese de cDNA utilizando o *Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit* (Life Technologies, Carlsbad, Califórnia, EUA), conforme as instruções do fabricante. Para verificar a expressão de genes envolvidos com o processo inflamatório (*IL-1 β* , *TNF-A* e *INOS*), iniciadores sense e anti-sense foram desenhados e utilizados para a amplificação por meio da qPCR com o reagente *SYBR Green* (Applied Biosystems) (Tabela 3). O gene *GAPDH* foi utilizado como controle constitutivo em todas as reações de qPCR. Os ensaios de expressão dos referidos genes foram realizados com 1500 ng de cDNA de cada amostra. Todas as reações foram realizadas em triplicata, e controles negativos, utilizando água estéril em substituição ao cDNA, também foram incluídos. A expressão de cada gene foi calculada pela aplicação da fórmula aritmética $2^{-\Delta\Delta CT}$.

TABELA 3. Sequência dos iniciadores sense e anti-sense

Genes	Iniciador Sense (3'→5')	Iniciador Anti-Sense (3'→5')
<i>GAPDH</i>	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	CCACTTGATTTTGGAGGGAT
<i>IL-1β</i>	GGGCCTCAAGGAAAAGAATC	TTCTGCTTGAGAGGTGCTGA
<i>TNF-A</i>	AGCCCATGTTGTAGCAAACC	GCTGGTTATCTCTCAGCTCC
<i>INOS</i>	CCATAAGGCCAAAGGGATTT	ATCTGGAGGGGTAGGCTTGT

3.6. Atividade antimicrobiana

3.6.1. Disco Difusão

A atividade antimicrobiana do DPG e da QCT foi inicialmente testada pela técnica de disco difusão (BrCast, 2022) contra isolados clínicos bacterianos das espécies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Os isolados foram subcultivados, durante dois dias consecutivos, em ágar *Tryptic Soy Agar* (TSA) (Sigma), a partir do banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco. Os isolados foram

selecionados com base em seu perfil de sensibilidade aos antibióticos, previamente determinado pelo laboratório de rotina clínica do Hospital Universitário São Francisco na Providência de Deus (HUSF). Foram escolhidos aqueles que apresentaram resistência aos principais antibióticos de uso clínico para as respectivas espécies. O armazenamento dos isolados clínicos foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da USF (CAAE: 44416021).

Inóculos bacterianos foram preparados na escala 0,5 de *McFarland* ($1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônia [UFC]) em solução salina a 0,75%. Cada solução foi inoculada sobre uma placa de ágar *Mueller Hinton* (Sigma) com o auxílio de um *swab* estéril. Três discos estéreis foram dispensados sobre a superfície da placa, e 10 μ L de DPG e QCT foram pipetados sobre os discos.

3.7. Quantificação dos compostos por cromatografia líquida de pressão ultra elevada acoplada a espectrometria de massa (UHPLC-MS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A quantificação da pureza da CPT não foi realizada por ser mesma utilizada em pacientes oncológicos (Anexo I). A quantificação da pureza do DPG foi realizada em estudo anterior por UHPLC-MS (Bonafé et al., 2024c) e a quantificação da pureza da QCT foi realizada por HPLC, uma técnica analítica utilizada para determinar a concentração de substâncias em amostras complexas, como alimentos, produtos farmacêuticos e ambientais. Sua alta resolução e velocidade possibilitam análises eficientes, com melhor sensibilidade e economia de tempo e solventes. O principal objetivo é realizar análises quantitativas, sendo crucial em áreas como controle de qualidade, pesquisa e monitoramento ambiental. Além disso, o HPLC é amplamente utilizado na validação de métodos analíticos, na determinação de pureza de compostos e na monitorização de reações químicas em tempo real.

As análises cromatográficas foram realizadas na USF. Uma alíquota de 1 μ L de quercetina (5 mg/mL diluída em metanol) foi injetada em uma coluna C18 (Synergi 4u MAX RP, 80 A, 75 x 4,6 mm, Phenomenex) acoplada a um sistema de cromatografia líquida HPLC Agilent 1200 Infinity Series. Os solventes utilizados foram (A) água contendo 2% ácido acético e (B) 70% metanol contendo 2% ácido acético. A eluição foi feita por gradiente linear de 0 a 100% B em 15 minutos, em fluxo constante de 1 mL/min e detecção em 254 nm. O

cromatograma foi adquirido e analisado pelo software OpenLAB, para determinação da área dos picos e quantificação da quercetina.

3.8. Análise estatística

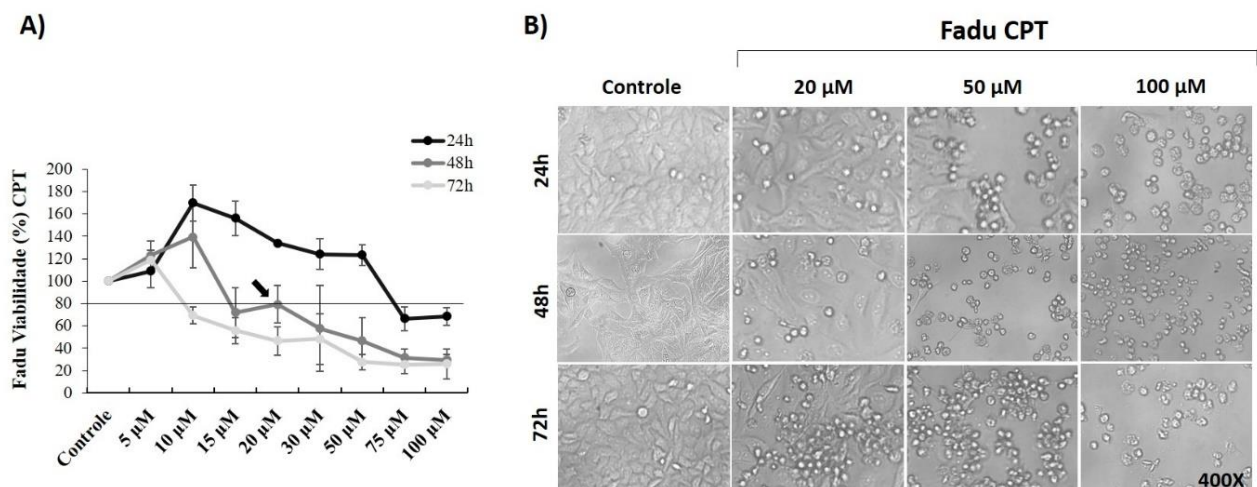
Os dados foram apresentados como a média \pm desvio padrão. A diferença entre os múltiplos grupos foi analisada pelo teste de t-Student. Todos os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o software SPSS.11 (SPSS Inc., Estados Unidos). $p < 0.05$ foi considerado para indicar uma diferença estatisticamente significativa.

4. RESULTADOS

4.1. Análise do efeito da cisplatina em células FaDu e SCC-25: avaliação por ensaios MTT e morfologia celular

A CPT foi avaliada por meio do ensaio MTT para determinar IC_{20} nas linhagens celulares FaDu e SCC-25. A IC_{20} foi selecionada para garantir uma dose subcitotóxica, visando simular as condições de QT que contribuem para o desenvolvimento da MO. A escolha da IC_{20} permite que a CPT atue como estimuladora do processo inflamatório e da mucosite nessas células, proporcionando um modelo adequado para investigar o efeito protetor do DPG e a QCT na inflamação induzida pela QT.

Para investigar a viabilidade celular da CPT nas linhagens celulares FaDu (Figura 1A) e SCC-25 (Figura 1C), foi realizado um ensaio MTT em três tempos de exposição distintos (24, 48 e 72 horas), utilizando concentrações já observadas na literatura (5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 50 μ M, 75 μ M e 100 μ M). Os resultados indicaram que a CPT apresentou uma IC_{20} de 20 μ M e 30 μ M após 48 e 24 horas de tratamento nas linhagens FaDu e SSC-25, respectivamente. Adicionalmente, a análise da morfologia celular corroborou os resultados do MTT, demonstrando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas das células após exposição a concentrações maiores que o IC_{20} (Figuras 1B e 1D). Ainda, as células SCC-25 exibiram maior resistência à CPT (Figura 1D).



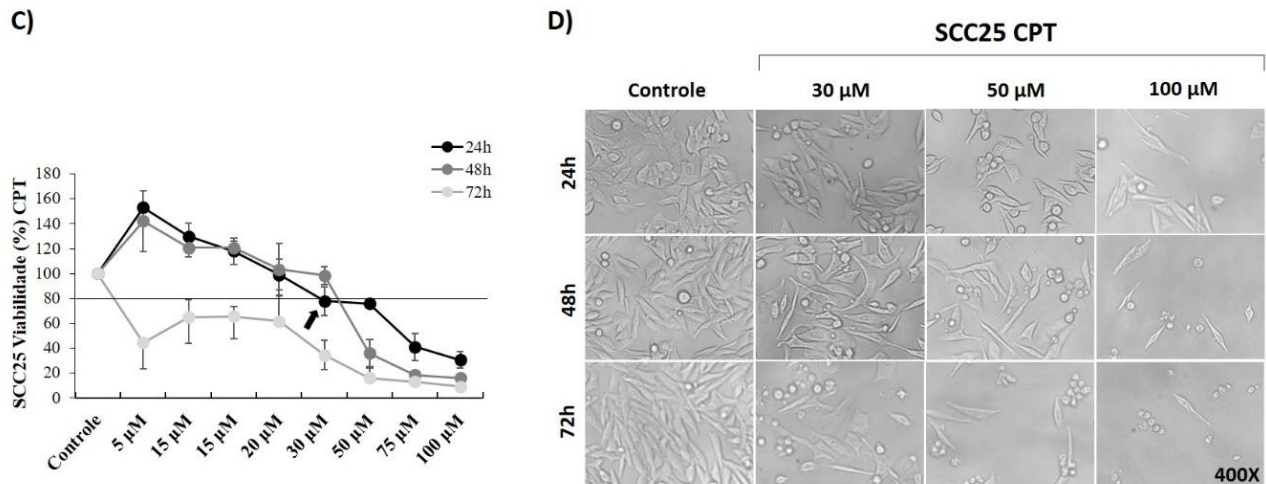


FIGURA 1. Análise da viabilidade da cisplatina (CPT) nas linhagens celulares FaDu e SCC-25. (A) Análise do efeito da CPT em células de câncer de cabeça e pescoço (FaDu) utilizando o ensaio MTT. Foram utilizadas as concentrações 5 µM, 10 µM, 15 µM, 20 µM, 30 µM, 50 µM, 75 µM e 100 µM, com tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A concentração de 20 µM foi identificada como IC₂₀ após 48 horas, sugerindo o início de uma redução da viabilidade nas células FaDu. **(B)** A análise morfológica das células FaDu, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, confirmou os resultados do MTT, evidenciando uma redução na viabilidade celular e alterações morfológicas após exposição a concentrações superiores a 20 µM de CPT por 48 horas. **(C)** Análise do efeito da CPT em células SCC-25 pelo ensaio MTT, utilizando as mesmas concentrações e tempos de exposição acima. Os resultados indicaram uma IC₂₀ de 30 µM após 24 horas. **(D)** A análise morfológica das células SCC-25 demonstrou maior viabilidade em concentrações de até 50 µM após 24 horas de exposição. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média ± desvio padrão.

4.2. Análise da viabilidade celular do glicirrinato dipotássio em células FaDu: avaliação por ensaios MTT e morfologia celular

Para investigar a ação anti-inflamatória do DPG na linhagem celular FaDu, foi realizado um ensaio MTT. O experimento foi conduzido em três tempos de exposição distintos (24, 48 e 72 horas) e diferentes concentrações do DPG divididas em concentrações baixas (2 µM, 5 µM, 10 µM, 15 µM, 20 µM, 25 µM, 30 µM, 35 µM, 40 µM, 45 µM e 50 µM) e altas (55 µM, 60 µM, 65 µM, 70 µM, 75 µM, 80 µM, 85 µM, 90 µM, 95 µM e 100 µM). Os resultados indicaram que o DPG apresentou uma concentração inibitória de 20% (IC₂₀) a 30 µM após 48 horas de tratamento (Figura 2A), sugerindo um possível efeito citotóxico. Adicionalmente, a

análise da morfologia celular corroborou os resultados do MTT, demonstrando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações na morfologia das células FaDu após exposição na concentração acima de 100 μM por 72 horas (Figura 2B). Ainda, após 72 horas de exposição, observou-se comprometimento significativo da morfologia celular já com a concentração de 20 μM . Esses achados reforçam a redução da viabilidade celular após o tratamento com DPG, evidenciando que, em exposições elevadas, o DPG apresenta efeito antitumoral. Por outro lado, em exposições menores, o DPG pode exercer ação anti-inflamatória.

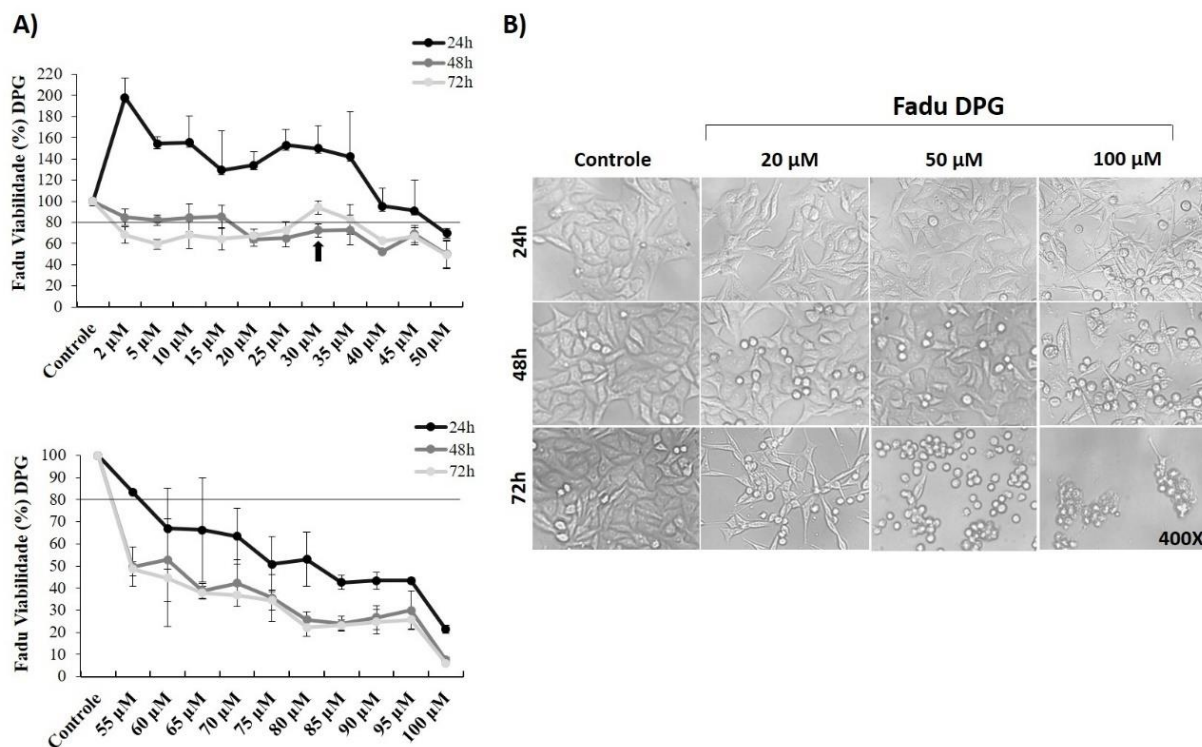


FIGURA 2. Análise da ação anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio (DPG) na linhagem celular FaDu. (A) Análise do efeito do glicirrizinato dipotássio(DPG) em células de câncer de cabeça e pescoço (FaDu) pelo ensaio de MTT, utilizando concentrações baixas (2 μM , 5 μM , 10 μM , 15 μM , 20 μM , 25 μM , 30 μM , 35 μM , 40 μM , 45 μM e 50 μM) e altas (55 μM , 60 μM , 65 μM , 70 μM , 75 μM , 80 μM , 85 μM , 90 μM , 95 μM e 100 μM), em tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A concentração de 30 μM foi identificada como IC₂₀ após 48 horas, sugerindo o início de uma possível resposta inflamatória. (B) A análise da morfologia celular, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, confirmou os resultados do MTT, evidenciando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas em células FaDu expostas a concentrações superiores a 55 μM , especialmente após 48 e 72 horas de exposição. Três

experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.3. Análise da ação anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio em células SCC-25: avaliação por ensaios MTT e morfologia celular

Para investigar a ação anti-inflamatória do DPG na linhagem celular SCC-25, foi realizado o ensaio de MTT. Devido aos efeitos citotóxicos observados em altas concentrações na linhagem FaDu, foi utilizado apenas as concentrações baixas (5 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 25 μ M, 30 μ M, 35 μ M, 40 μ M e 50 μ M) por 24, 48 e 72 horas (Figura 3A). No entanto, a análise demonstrou que a linhagem SCC-25 apresentou maior resistência em comparação à FaDu, tolerando concentrações de DPG mais elevadas sem sofrer perdas significativas de viabilidade celular. A concentração de 35 μ M foi identificada como IC₂₀ após 48 horas, sugerindo o início de uma possível resposta inflamatória. A análise morfológica corroborou os resultados do MTT, demonstrando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas nas células SCC-25 somente após a exposição a concentrações superiores a 50 μ M por 24, 48 e 72 horas (Figura 3B).

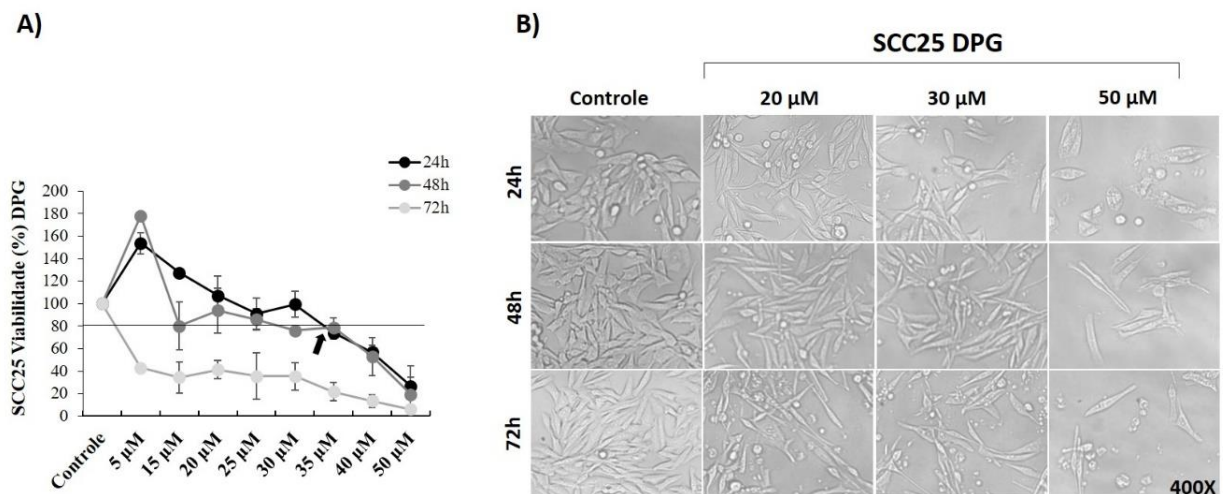


FIGURA 3. Análise da ação anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio (DPG) na linhagem SCC-15. (A) Análise do efeito do DPG em células de câncer de cabeça e pescoço (SCC-25) pelo ensaio de MTT, utilizando as concentrações de 5 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 25 μ M, 30 μ M, 35 μ M, 40 μ M e 50 μ M, em tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A concentração de 35 μ M foi identificada como IC₂₀ após 48 horas, sugerindo o início de uma possível resposta inflamatória. **(B)** A análise da morfologia celular, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, confirmou os resultados do MTT, evidenciando uma redução significativa

na viabilidade celular e alterações morfológicas em células SCC-25 expostas a concentrações superiores a 50 μM , especialmente após 24, 48 e 72 horas de tratamento. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.4. Análise da ação anti-inflamatória da quercetina em células FaDu e SCC-25: avaliação por ensaios MTT e morfologia celular

Para investigar a ação anti-inflamatória da QCT nas linhagens celulares FaDu e SCC-25, foi realizado o ensaio MTT, utilizando as concentrações de (10 μM , 20 μM , 40 μM , 60 μM , 80 μM , 100 μM , 150 μM e 200 μM), por períodos de 24, 48 e 72 horas (Figuras 4A e 4C). As análises demonstraram que as células SCC-25 apresentaram maior resistência à QCT em comparação às células FaDu, tolerando concentrações mais elevadas (80 μM a 200 μM) sem apresentar perdas significativas na viabilidade celular. As concentrações de 60 μM e 80 μM foram identificadas como IC_{20} após 72 horas, nas linhagens FaDu e SCC-25, respectivamente, sugerindo o início de uma possível resposta inflamatória. A análise morfológica corroborou os resultados do ensaio MTT, evidenciando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas nas células SCC-25 apenas após a exposição a concentrações superiores a 100 μM , em 48 e 72 horas, respectivamente (Figuras 4B e 4D).

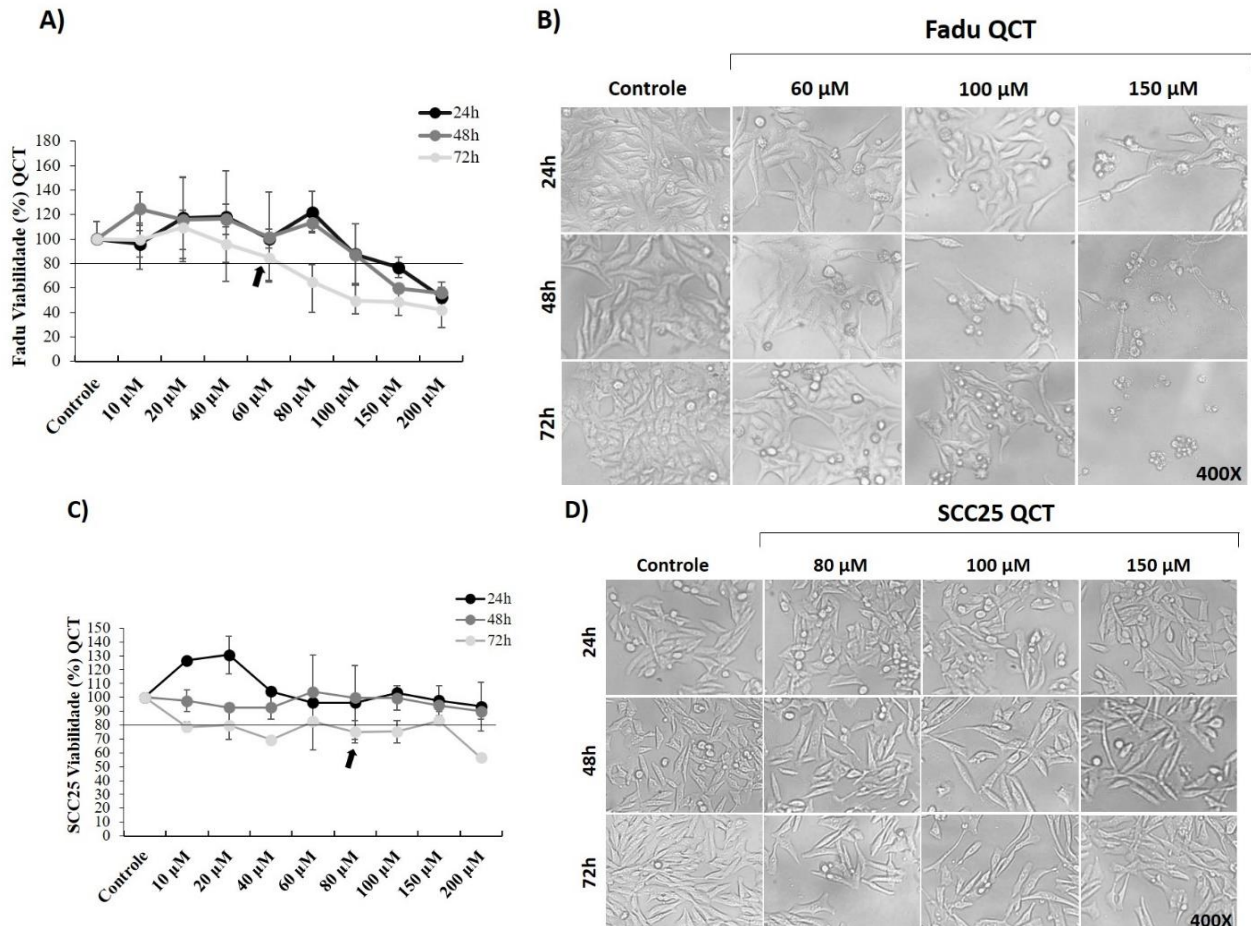


FIGURA 4. Análise da ação anti-inflamatória da quercetina (QCT) nas linhagens FaDu e SCC-25. (A) Análise do efeito da QCT em células de câncer de cabeça e pescoço (FaDu) pelo ensaio de MTT, utilizando as concentrações de 10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 60 μ M, 80 μ M, 100 μ M e 150 μ M e 200 μ M, em tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A concentração de 60 μ M foi identificada como IC₂₀ após 72 horas, sugerindo uma possível resposta inflamatória (B) A análise morfológica das células FaDu, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, confirmou os resultados do MTT, evidenciando uma redução na viabilidade celular e alterações morfológicas após exposição a concentrações superiores a 60 μ M de QCT por 72 horas. (C) Análise do efeito da QCT em células SCC-25 pelo ensaio MTT, utilizando as mesmas concentrações e tempos de exposição acima. Os resultados indicaram uma IC₂₀ de 80 μ M após 72 horas (D) A análise da morfologia celular, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, confirmou os resultados do MTT, evidenciando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas em células SCC-25 expostas a concentrações superiores a 100 μ M, especialmente após 72 horas de exposição. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.5. Análise da ação anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio em células FaDu tratadas com cisplatina: avaliação por ensaios MTT, morfologia e proliferação celular

A ação anti-inflamatória do DPG (IC₂₀: 30 μ M) foi investigada em células da linhagem FaDu tratadas com diferentes concentrações de CPT (5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M), por períodos de 24, 48 e 72 horas, utilizando o ensaio MTT (Figura 5A). A combinação de DPG com CPT demonstrou um efeito protetor nas células FaDu até concentrações de 80 μ M de CPT, com maior eficácia observada após 24 e 48 horas de exposição. No entanto, após 72 horas, o efeito protetor do DPG foi atenuado. A análise morfológica confirmou os resultados obtidos pelo ensaio MTT, evidenciando uma redução significativa na viabilidade celular e alterações morfológicas nas células FaDu após 72 horas (Figura 5B). Ainda, o ensaio de proliferação demonstrou que as células expostas a combinação de DPG+CPT apresentaram proliferação celular acentuada após 48 (p -valor= 0,02) e 72 horas (p -valor= 0,04) em comparação com células tratadas apenas com DPG (Figura 5C), sugerindo efeito protetor do DPG provavelmente pela modulação da via NF-kB e promoção de resistência celular.

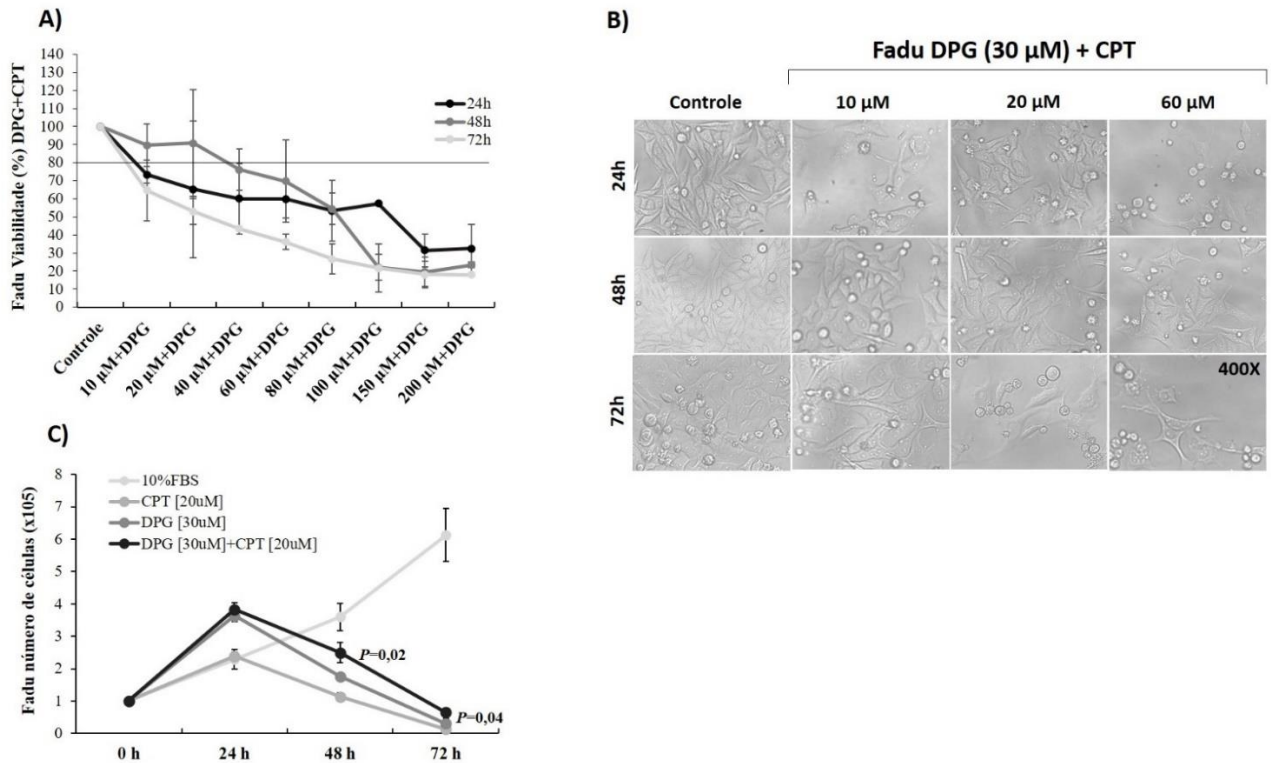


FIGURA 5. Análise da ação protetora anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio (DPG) em células FaDu tratadas com cisplatina (CPT). (A) Efeito do DPG (IC₂₀: 30 μM) nas células FaDu tratadas com diferentes concentrações de CPT (5 μM, 10 μM, 15 μM, 20 μM, 30 μM, 50 μM, 75 μM, 100 μM), por 24, 48 e 72 horas, avaliado pelo ensaio MTT. O efeito protetor do DPG foi observado até a concentração de 80 μM de CPT após 24 e 48 horas. (B) Análise morfológica das células FaDu após 24, 48 e 72 horas de tratamento, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, demonstrando alterações significativas na viabilidade celular e morfologia nas células tratadas com doses elevadas de CPT, corroborando os resultados do ensaio MTT. (C) O ensaio de proliferação celular demonstrou que as células FaDu tratadas com DPG+CPT apresentaram proliferação significativamente acentuada após 48 (p -valor= 0,02) e 72 horas (p -valor= 0,04) em comparação com células tratadas apenas com DPG, sugerindo que o DPG exerce um efeito protetor e anti-inflamatório, promovendo a sobrevivência e proliferação celular. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média ± desvio padrão.

4.6. Análise da ação anti-inflamatória da quercetina em células FaDu tratadas com cisplatina: avaliação por ensaios MTT, morfologia e proliferação celular

A ação anti-inflamatória da QCT (IC₂₀ 60 μM) foi avaliada em células da linhagem FaDu tratadas com diferentes concentrações de CPT (5 μM, 10 μM, 15 μM, 20 μM, 30 μM, 50 μM, 75

μM e $100 \mu\text{M}$), durante períodos de 24, 48 e 72 horas pelo MTT (Figura 6A). Os resultados indicaram um efeito protetor significativo da QCT nas células expostas a CPT, em todas as concentrações avaliadas, especialmente após 48 horas de tratamento, sendo que a análise de morfologia celular corroborou com os resultados observados no ensaio MTT (Figura 6B). O ensaio de proliferação demonstrou que células FaDu tratadas com QCT+CPT apresentaram proliferação celular similar as células tratadas apenas com QCT (Figura 6C), indicando efeito anti-inflamatório da QCT.

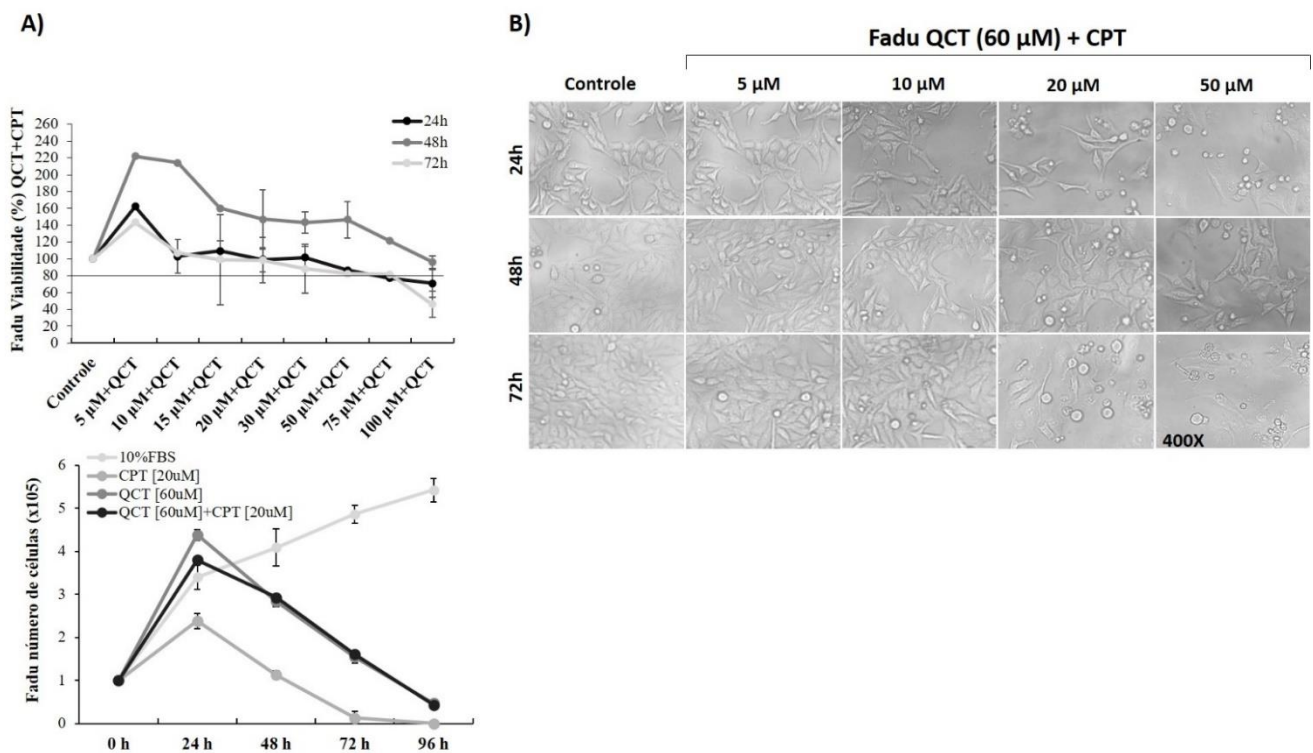


FIGURA 6. Análise da ação protetora anti-inflamatória da quercetina (QCT) em células FaDu tratadas com cisplatina (CPT). (A) Efeito da QCT (IC_{20} : $60 \mu\text{M}$) nas células FaDu tratadas com diferentes concentrações de CPT ($5 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$, $15 \mu\text{M}$, $20 \mu\text{M}$, $30 \mu\text{M}$, $50 \mu\text{M}$, $75 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$), por 24, 48 e 72 horas, avaliado pelo ensaio MTT. O efeito protetor do DPG foi observado em todas as concentrações de QCT utilizadas, especialmente após 48 horas. (B) Análise morfológica das células FaDu após 24, 48 e 72 horas de tratamento, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, demonstrando poucas alterações na viabilidade celular e morfologia, corroborando os resultados do ensaio MTT. (C) O ensaio de proliferação celular demonstrou que as células FaDu tratadas com QCT+CPT apresentaram proliferação similar as células tratadas apenas com QCT, sugerindo efeito anti-inflamatório de QCT. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.7. Análise da ação anti-inflamatória da quercetina em células SCC25 tratadas com cisplatina: avaliação por ensaios MTT, morfologia e proliferação celular

A ação anti-inflamatória da quercetina (QCT; $IC_{20} = 80 \mu M$) foi avaliada em células SCC-25 tratadas com diferentes concentrações de cisplatina (CPT; $5 \mu M$, $10 \mu M$, $15 \mu M$, $20 \mu M$, $30 \mu M$, $50 \mu M$ e $75 \mu M$), durante 24, 48 e 72 horas, pelo ensaio MTT (Figura 7A). Os resultados indicaram que a QCT exerceu efeito protetor parcial nas células SCC-25 expostas à cisplatina, especialmente nas concentrações de $10 \mu M$ e $15 \mu M$, após 48 horas de tratamento. Em 72 horas, observou-se redução significativa da viabilidade celular, possivelmente em decorrência da toxicidade cumulativa da CPT. A análise morfológica (Figura 7B) demonstrou que as células tratadas com QCT + CPT apresentaram melhor preservação da morfologia e adesão celular em comparação às células tratadas apenas com CPT. Nas maiores concentrações ($\geq 50 \mu M$), foram observadas alterações compatíveis com efeito citotóxico, incluindo retração citoplasmática, arredondamento e perda de adesão. O ensaio de proliferação celular mostrou que as células SCC-25 tratadas com QCT + CPT apresentaram número de células viáveis superior ao grupo tratado exclusivamente com CPT, sugerindo efeito anti-inflamatório e citoprotetor da QCT.

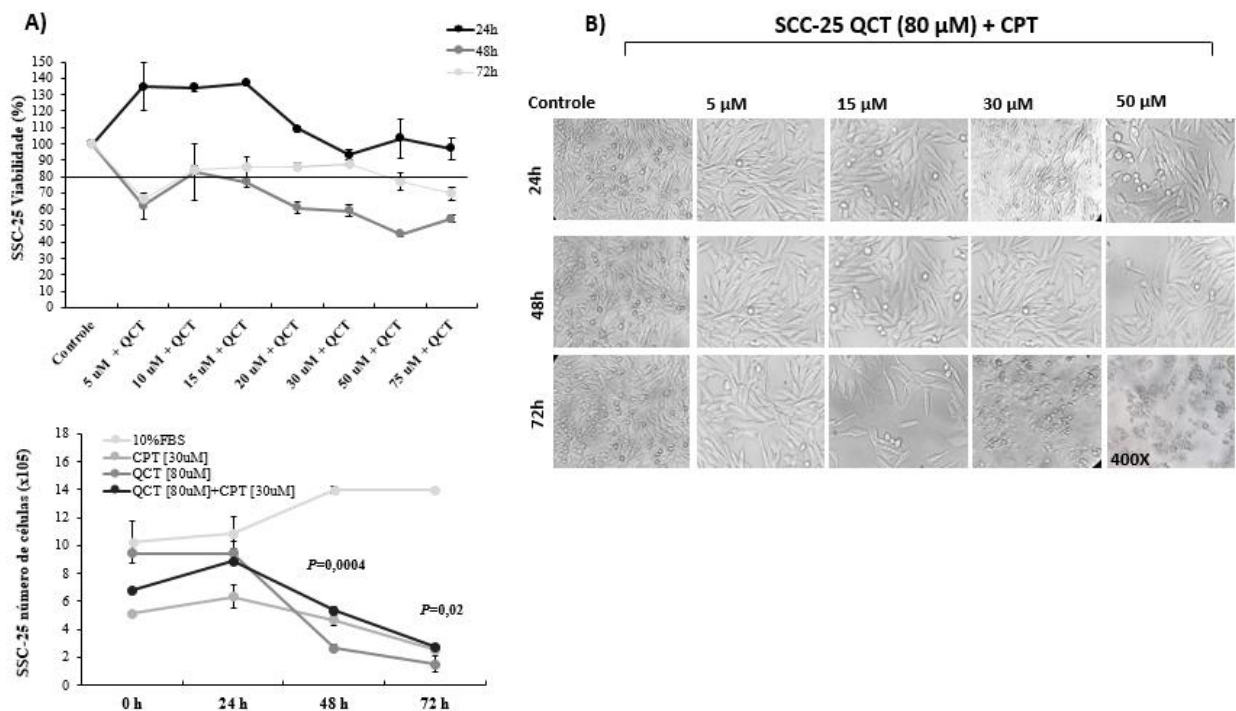


FIGURA 7. Análise da ação protetora anti-inflamatória da quercetina (QCT) em células SCC-25 tratadas com cisplatina (CPT). (A) Efeito da QCT (IC_{20} : $80 \mu M$) nas células SCC-25 tratadas com

diferentes concentrações de CPT (5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 50 μ M e 75 μ M), por 24, 48 e 72 horas, avaliado pelo ensaio MTT. O efeito protetor da QCT foi observado principalmente nas concentrações intermediárias (10 μ M e 15 μ M), com maior viabilidade após 48 horas de tratamento. **(B)** Análise morfológica das células SCC-25 tratadas com QCT + CPT após 24, 48 e 72 horas de tratamento, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, evidenciando manutenção parcial da adesão e morfologia celular, principalmente nas menores concentrações de CPT, corroborando os resultados obtidos no ensaio MTT. **(C)** O ensaio de proliferação celular demonstrou que as células SCC-25 tratadas com QCT + CPT apresentaram número de células viáveis superior ao grupo tratado apenas com CPT, indicando efeito anti-inflamatório e citoprotetor da QCT. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.8. Análise da ação anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio em células SSC25 tratadas com cisplatina: avaliação por ensaios MTT, morfologia e proliferação celular

A ação anti-inflamatória do DPG ($IC_{20} = 35 \mu$ M) foi avaliada em células SCC-25 tratadas com diferentes concentrações de cisplatina (CPT; 15 μ M, 20 μ M, 50 μ M e 75 μ M), durante 24, 48 e 72 horas, pelo ensaio MTT (Figura 8A). Os resultados mostraram que o DPG exerceu efeito protetor discreto sobre a viabilidade das células SCC-25 tratadas com CPT, com maior preservação da viabilidade observada nas concentrações mais baixas (15 e 20 μ M) após 48 horas. No entanto, em concentrações mais elevadas ($\geq 50 \mu$ M) e após 72 horas, houve redução acentuada da viabilidade celular, indicando predomínio do efeito citotóxico da cisplatina. A análise morfológica (Figura 8B) corroborou esses achados, demonstrando redução progressiva da densidade celular e alterações morfológicas como retração citoplasmática e arredondamento celular, mais evidentes nas maiores concentrações de CPT e após 72 horas. O ensaio de proliferação (Figura 8C) evidenciou que as células tratadas com DPG + CPT apresentaram proliferação celular superior às tratadas apenas com CPT, sugerindo ação anti-inflamatória e possível modulação da resposta celular ao estresse oxidativo induzido pela cisplatina.

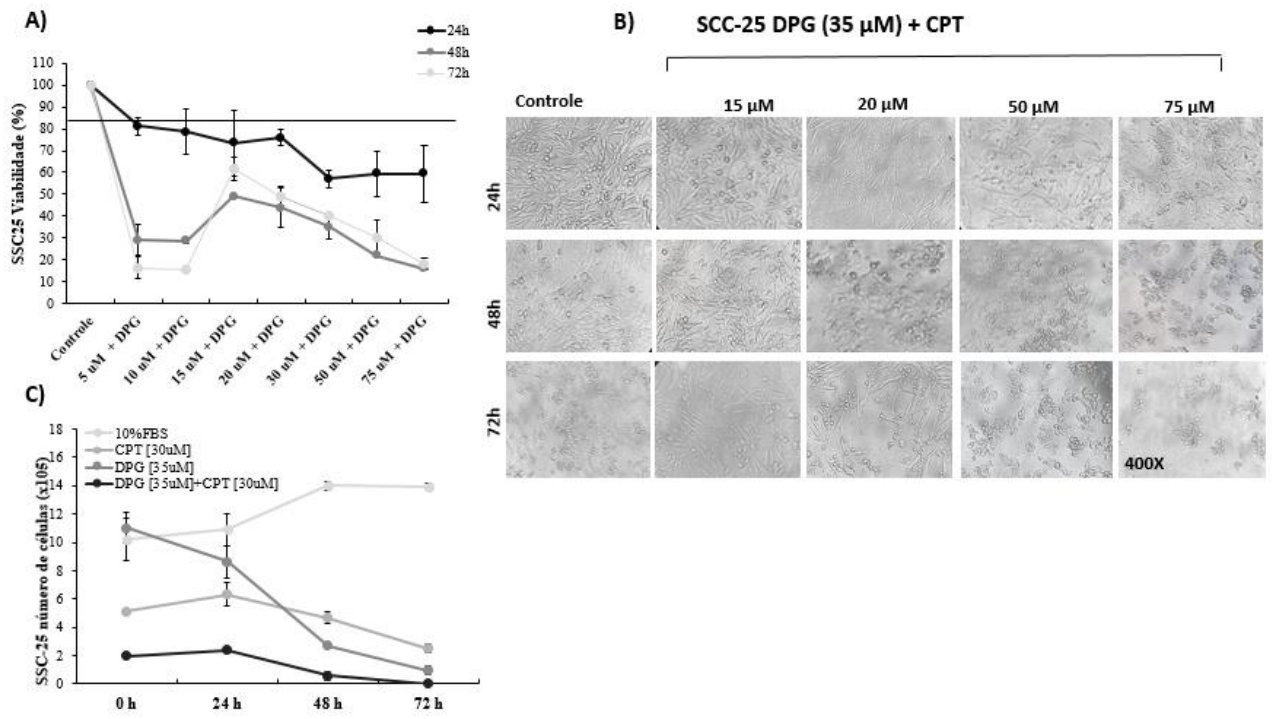


FIGURA 8. Análise da ação protetora anti-inflamatória do DPG (DPG) em células SCC-25 tratadas com cisplatina (CPT). (A) Efeito do DPG (IC₂₀: 35 μM) nas células SCC-25 tratadas com diferentes concentrações de CPT (5 μM, 10 μM, 15 μM, 20 μM, 30 μM, 50 μM e 75 μM), por 24, 48 e 72 horas, avaliado pelo ensaio MTT. O efeito protetor do DPG foi mais evidente nas menores concentrações de CPT (15 μM e 20 μM), especialmente após 48 horas de tratamento. (B) Análise morfológica das células SCC-25 tratadas com DPG + CPT após 24, 48 e 72 horas, realizada em microscópio invertido com aumento de 400X, demonstrando redução progressiva da densidade e alterações morfológicas associadas ao aumento da concentração e tempo de exposição à CPT. (C) O ensaio de proliferação celular revelou que as células SCC-25 tratadas com DPG + CPT apresentaram proliferação superior às tratadas apenas com CPT, sugerindo ação anti-inflamatória e discreto efeito citoprotetor do DPG. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média ± desvio padrão.

4.9. Análise do impacto do glicirrizinato dipotássio e quercetina na distribuição do ciclo Celular em células FaDu e SCC-25 tratadas com cisplatina por citometria de fluxo

A influência do DPG e da QCT na distribuição do ciclo celular foi avaliada por citometria de fluxo nas linhagens FaDu e SCC-25 após exposição a CPT (controle positivo 20 μM), DPG (IC₂₀ 30 μM e 35 μM, respectivamente), QCT (IC₂₀ 60 μM e 80 μM, respectivamente), DPG+CPT e QCT +CPT por 48 horas. Em comparação com controle CPT, os resultados indicaram que, nas células da

linhagem FaDu, o tratamento com DPG levou a uma redução da fase G1 (80,83% vs. 73,45%) e um aumento significativo na fase S (8,98% vs. 15,60%, $p=0,03$), enquanto a fase G2M também apresentou um leve aumento (0,83% vs. 3,35%). A combinação de DPG e CPT resultou em uma redução moderada na fase G1 (80,83% vs 77,25%) e aumento significativo na fase S (8,98% vs. 11,75%, $p=0,01$), com moderada alteração na fase G2M (0,83% vs. 2,08%) (Tabela 4). Estes resultados corroboraram com aqueles observados pelo ensaio de proliferação celular.

Para a QCT, a distribuição do ciclo celular apresentou alterações mais discretas, ou seja, a fase G1 apresentou uma redução discreta em relação ao controle (80,83% vs. 76,93%), enquanto a fase S (8,98% vs. 13,08%) e G2M (0,83% vs. 2,23%) apresentaram aumentos moderados. A combinação de QCT e CPT não causou alterações significativas na distribuição do ciclo celular em comparação ao controle, com a fase G1 apresentando uma proporção de células similar ao controle (80,83% vs. 79,15%), a fase S indicando um pequeno aumento (8,98% vs. 12,25%) e a fase G2M permanecendo praticamente inalterada (0,83% vs. 1,25%) (Tabela4).

Por outro lado, nas células SCC-25, os tratamentos com DPG e QCT também não induziram alterações significativas nas fases do ciclo celular, exceto por uma leve redução da fase G1 nos tratamentos combinados de DPG + CPT (76,65%) e QCT + CPT (78,02%), comparados ao controle (80,83%) e um pequeno aumento da fase S (20,73% e 19,68%, respectivamente), comparados ao controle (18,58%). As fases G2M permaneceram praticamente inalteradas em todos os tratamentos (Tabela 4).

Esses dados sugerem que o DPG e combinação de DPG e CPT apresentaram um efeito mais pronunciado nas células FaDu, promovendo uma transição da fase G1 para a fase S, o que pode estar relacionado ao seu efeito anti-inflamatório, enquanto a combinação de QCT e CPT não provocou alterações marcantes no ciclo celular em ambas as linhagens, embora um aumento moderado da fase G1 para a fase S foi observado.

TABELA 4. Distribuição do ciclo celular nas linhagens FaDu e SCC-25 após tratamentos com cisplatina (CPT), glicirrizinato dipotássio (DPG) e e quercetina (QCT). *Continua*

FaDu	Fase G1 (%) (médias±DP)	p-valor	Fase S (%) (médias±DP)	p-valor	Fase G2M (%) (médias±DP)	p-valor
Controle+ (CPT)	80,83±1,76		8,98±1,53		0,93±0,68	

DPG	73,45±1,02	0,09	15,60±2,43	0,03	3,35±0,35	0,08
						<i>Conclusão</i>
DPG+CPT	77,25±5,95	0,11	11,75±3,33	0,01	2,08±1,93	0,13
QCT	76,93±3,22	0,16	13,08±2,5	0,18	2,23±1,24	0,17
QCT+CPT	79,15±2,06	0,18	12,25±1,52	0,06	1,25±0,54	0,15
SSC-25	Fase G1 (%)	p-valor	Fase S (%)	p-valor	Fase G2M (%)	p-valor
	(médias+DP)		(médias+DP)		(médias+DP)	
Controle+ (CPT)	79,20±1,93		18,58±1,98		1,45±0,13	
DPG	77,83±1,64	0,32	19,83±1,4	0,33	1,625±0,35	0,38
DPG+CPT	76,65±0,98	0,15	20,73±0,88	0,18	1,85±0,21	0,09
QCT	77,40±0,93	0,07	20,35±0,95	0,09	1,65±0,13	0,09
QCT+CPT	78,025±1,64	0,24	19,675±1,41	0,30	1,6±0,29	0,18

4.10. Efeito do glicirrinato dipotássio e quercetina na inibição da apoptose em células FaDu e SCC-25 tratadas com cisplatina por citometria de fluxo

A capacidade do DPG e da QCT em modular a apoptose foi avaliada por citometria de fluxo em células das linhagens FaDu e SCC-25 após exposição a CPT (controle positivo 20 µM), DPG (IC₂₀ 30 µM e 35 µM, respectivamente), QCT (IC₂₀ 60 µM e 80 µM, respectivamente), DPG+CPT e QCT +CPT e a porcentagem de células em apoptose foi quantificada. Os corantes 7-AAD e Anexina V são utilizados para avaliar a apoptose e viabilidade celular, sendo que 7-AAD entra nas células com membranas danificadas, indicando células mortas ou necróticas e Anexina V se liga à fosfatidilserina exposta nas células apoptóticas precoces. Juntas, elas permitem distinguir células viáveis (sem sinal de 7-AAD ou Anexina V), apoptóticas (Anexina V positiva, 7-AAD negativa) e necróticas (Anexina V e 7-AAD positivas). Desta forma, foi observado apenas porcentagens de células apoptóticas pois os tratamentos não causaram necrose evidente nas células estudadas.

Os resultados demonstraram que exposição a DPG ($p=0,01$) ou a combinação de DPG e CPT

($p=0,0009$) induziram aumento significativo na apoptose nas células FaDu (Figura 7), embora, um efeito menos pronunciado foi observado também nas células SSC-25. Na verdade, todos os tratamentos demonstraram efeito apoptótico moderado nas células estudadas, principalmente quando tratadas apenas com CPT (Figura 7).

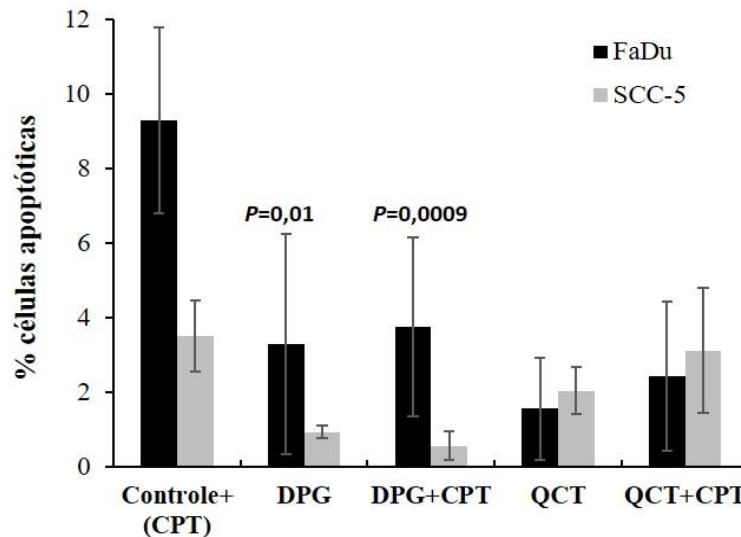


FIGURA 9. Análise dos efeitos da quercetina (QCT) e cisplatina (CPT) na inibição da apoptose em células FaDu e SCC-25 expostas à cisplatina (CPT). As células FaDu e SCC-25 foram tratadas com CPT (20 μ M), DPG (30 μ M e 35 μ M, respectivamente), QCT (60 μ M e 80 μ M, respectivamente), DPG+CPT e QCT +CPT por 48 horas e a porcentagem de células apoptóticas foi quantificada por citometria de fluxo. A exposição ao DPG ($p=0,01$) e à combinação de DPG e CPT ($p=0,0009$) induziu aumento significativo na apoptose das células FaDu, com um efeito menos pronunciado nas células SCC-25. Todos os tratamentos apresentaram efeito apoptótico moderado, especialmente com CPT isolado. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.11. Efeito anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio e quercetina na expressão de genes envolvidos com processos inflamatórios em células FaDu tratadas com cisplatina

A análise da de expressão dos genes *TNF- α* , *IL1 β* e *INOS* em células FaDu tratadas com CPT, DPG, QCT e combinações (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48 horas revelou diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento com CPT aumentou significativamente a média de expressão de *TNF- α* (8,95 vs. 1,14; p -valor = 0,0009) em comparação com controle, sugerindo a

indução de uma resposta inflamatória. Em contraste, a média de expressão de *TNF- α* foi reduzida significativamente em células tratadas com DPG (0,21 vs. 8,95; p -valor = 0,015) em comparação com células expostas a CPT isolado. Células tratadas com DPG+CPT (1,85 vs. 8,95; p -valor = 0,08) também apresentou média de expressão *TNF- α* diminuído, sugerindo que DPG atenua a resposta inflamatória. O tratamento com QCT isolado reduziu a média de expressão de *TNF- α* (1,23 vs. 8,95; p -valor = 0,06) e em células tratadas em combinação QCT+CPT (7,23 vs. 8,95; p -valor = 0,60) em comparação com células tratadas com CPT isolado (Figura 8).

Para o gene *INOS*, o tratamento com CPT gerou alterações significativas na média de expressão em relação ao controle (14,27 vs. 1,05; p -valor = 0,008), enquanto o tratamento com DPG isolado apresentou uma modulação acentuada (0,21 vs. 14,27; p -valor = 0,03) e em células em combinação DPG+CPT (4,21 vs. 14,27; p -valor = 0,07) em comparação com células tratadas com CPT isolado. Da mesma maneira, o QCT, tanto isolado (3,78 vs. 14,27; p -valor = 0,02) quanto combinado com CPT (3,44 vs. 14,27; p -valor = 0,06), induziu uma redução na média de expressão de *INOS*, sugerindo um efeito anti-inflamatório (Figura 8).

Para o gene *IL1B*, observou-se que o tratamento com CPT (20 μ M) promoveu um aumento expressivo, mas não significativo, na média de expressão em relação ao controle (2,65 vs. 1,30; p -valor = 0,21), indicando ativação da via inflamatória. O tratamento com DPG (30 μ M), por sua vez, resultou em discreta inibição da expressão de *IL1B* (1,88 vs. 2,65; p -valor = 0,28). Já na combinação DPG+CPT, verificou-se uma redução significativa da expressão (0,55 vs. 2,65; p -valor = 0,03) quando comparada ao CPT isolado, indicando possível capacidade do DPG em atenuar a resposta inflamatória desencadeada pelo fármaco. De modo semelhante, o tratamento com QCT (60 μ M) também inibiu discretamente os níveis de *IL1B* (2,57 vs. 2,65; p -valor = 0,93), enquanto a combinação QCT+CPT promoveu uma diminuição significativa da expressão (0,71 vs. 2,65; p -valor = 0,10), reforçando o potencial do QCT em suprimir mediadores inflamatórios em células FaDu (Figura 8).

Em resumo, a análise da expressão dos genes *TNF- α* , *IL1 β* e *INOS* em células FaDu após 48 horas de tratamento com CPT, DPG, QCT e suas combinações evidenciou que os compostos modulam de forma distinta a resposta inflamatória. O CPT, administrado isoladamente, promoveu um aumento expressivo na expressão de *TNF- α* e *INOS*, acompanhado também de uma elevação nos níveis de *IL1 β* , sugerindo ativação de vias pró-inflamatórias. Em contrapartida, o DPG reduziu

significativamente a expressão de *TNF- α* e *INOS*, além de atenuar a expressão de *IL1 β* quando combinado ao CPT, indicando um possível efeito modulador sobre a inflamação induzida pelo fármaco.

De modo semelhante, a QCT demonstrou tendência anti-inflamatória, reduzindo a expressão de *INOS* e *TNF- α* de forma mais acentuada quando administrado isoladamente. Embora a redução de *IL1 β* pelo QCT tenha sido discreta, a combinação QCT+CPT também resultou em menor expressão dos três genes avaliados, sugerindo uma ação sinérgica moderada na supressão de mediadores inflamatórios.

Em conjunto, esses achados indicam que tanto DPG quanto QCT apresentam potencial para mitigar os efeitos pró-inflamatórios induzidos pelo CPT em células FaDu, com destaque para o DPG, que evidenciou efeito mais pronunciado na redução de *IL1 β* e *TNF- α* , e para o QCT, que apresentou ação consistente sobre *INOS*.

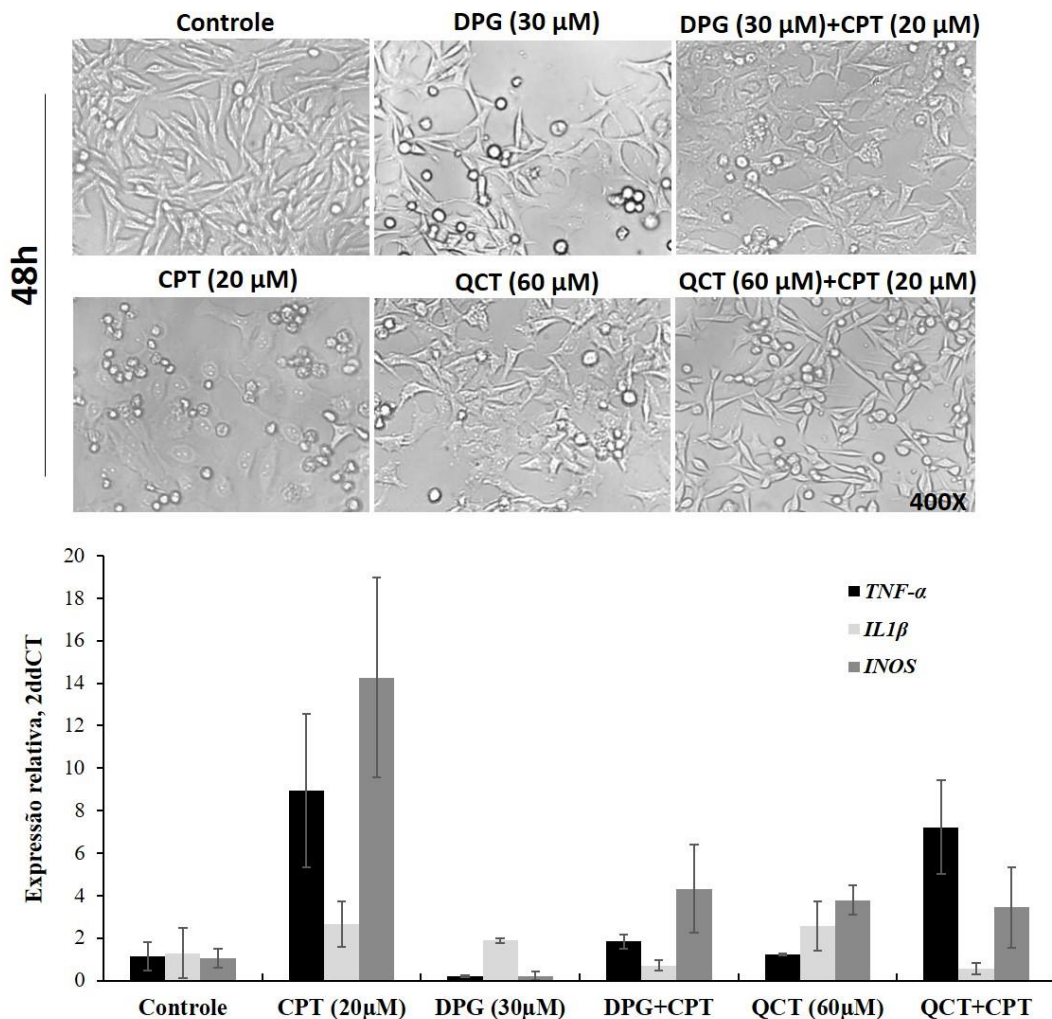


FIGURA 9. Análise da média de expressão dos genes *TNF- α* , *IL1B* e *INOS* em células FaDu tratadas com cisplatina (CPT), glicirrizinato dipotássico (DPG), quercetina (QCT) e suas combinações (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48 horas. A média de expressão de *TNF- α* foi significativamente aumentada em células tratadas apenas com CPT em comparação ao controle (8,95 vs. 1,14; $p=0,0009$). Os tratamentos com DPG (0,21 vs. 8,95; $p=0,015$) e DPG+CPT (1,85 vs. 8,95; $p=0,08$) resultaram em redução expressiva da expressão de *TNF- α* em relação ao CPT isolado. O QCT, tanto isoladamente (1,23 vs. 8,95; $p=0,06$) quanto em combinação com CPT (7,23 vs. 8,95; $p=0,60$), também promoveu redução, embora menos acentuada, sugerindo um efeito anti-inflamatório moderado. Para o gene *IL1B*, o tratamento com CPT elevou a média de expressão em relação ao controle (2,65 vs. 1,30; $p=0,21$), indicando ativação inflamatória. O DPG isolado apresentou leve redução (1,88 vs. 2,65; $p=0,28$), enquanto a combinação DPG+CPT promoveu uma diminuição significativa da expressão (0,55 vs. 2,65; $p=0,03$). De forma semelhante, o QCT isolado reduziu discretamente a expressão de *IL1B* (2,57 vs. 2,65; $p=0,93$), e o tratamento combinado QCT+CPT também levou à redução da expressão (0,71 vs. 2,65; $p=0,10$), reforçando o potencial do composto em suprimir mediadores inflamatórios. O gene *INOS* apresentou aumento significativo em células tratadas com CPT (14,27 vs. 1,05; $p=0,008$) em comparação ao controle. Os tratamentos com DPG isolado (0,21 vs. 14,27; $p=0,03$) e DPG+CPT (4,21 vs. 14,27; $p=0,07$) reduziram a expressão de *INOS*, assim como o QCT isolado (3,78 vs. 14,27; $p=0,02$) e QCT+CPT (3,44 vs. 14,27; $p=0,06$), evidenciando um perfil anti-inflamatório desses compostos. Esses resultados indicam que DPG e QCT possuem potencial para atenuar a resposta inflamatória induzida por CPT em células FaDu. A análise morfológica das células após os tratamentos corroborou os achados obtidos por PCR em tempo real. Foram realizados três experimentos independentes, cada um em triplicata, e os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão.

4.12. Efeito anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio e quercetina na expressão de genes envolvidos com processos inflamatórios em células SCC-25 tratadas com cisplatina

A análise da expressão dos genes *TNF- α* , *IL-1 β* e *INOS* em células SCC-25 tratadas com CPT, DPG e QCT isolados ou em combinação (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48 horas revelou variações significativas entre os tratamentos.

A média da expressão relativa de *TNF- α* nas células tratadas com CPT foi significativamente mais alta quando comparada ao controle (12,78 vs. 1,38; p -valor =0,02). Esse aumento na expressão sugere uma resposta inflamatória induzida pelo CPT nas células SCC-25. O valor da média de expressão relativa de *TNF- α* foi mais baixo em células tratadas com DPG (7,32 vs. 12,78; p -valor=0,06); entretanto, significativamente mais baixo nas células tratadas com ambos DPG+CPT

(1,68 vs. 12,78; p -valor=0,0001) quando comparado ao tratamento com CPT isolado, sugerindo uma diminuição da resposta inflamatória. No caso de QCT, a média da expressão relativa foi significativamente reduzida (1,41 vs. 12,78; p -valor=0,0009) e QCT+CPT (2,32 vs. 12,78 p -valor=0,0001), de forma mais pronunciada do que no DPG isolado (Figura 9).

A média da expressão relativa de *IL-1 β* nas células tratadas com CPT foi significativamente maior em comparação ao controle (4,47 vs. 1,11; p -valor = 0,002), indicando uma indução inflamatória provocada pelo CPT nas células SCC-25. O tratamento com DPG resultou em uma redução na média de expressão de *IL-1 β* (2,93 vs. 4,47; p -valor = 0,15), sugerindo um efeito atenuador da resposta inflamatória. A combinação de DPG+CPT apresentou uma redução mais pronunciada (1,66 vs. 4,47; p -valor = 0,04) na média da expressão de *IL-1 β* , indicando uma diminuição da resposta inflamatória de forma significativa. Da mesma forma, o tratamento com QCT reduziu significativamente a expressão de *IL-1 β* (0,91 vs. 4,47; p -valor = 0,02), evidenciando um forte efeito anti-inflamatório. A combinação QCT+CPT também reduziu a expressão de *IL-1 β* (1,28 vs. 4,47; p -valor = 0,006) de maneira mais acentuada do que o tratamento com QCT isolado (Figura 9).

A média da expressão relativa de *INOS* nas células tratadas com CPT foi similar em comparação ao controle (1,60 vs. 1,75; p -valor = 0,92), indicando que não houve uma indução inflamatória pela presença de CPT nas células SCC-25. O tratamento com DPG resultou em uma modulação leve da expressão de *INOS* (2,05 vs. 1,75; p -valor = 0,22), sugerindo que o DPG tem uma capacidade limitada de reduzir essa resposta inflamatória. Em contrapartida, o tratamento com QCT isolado causou uma redução na expressão de *INOS* (0,32 vs. 1,75; p -valor = 0,06), indicando um efeito anti-inflamatório moderado. No entanto, a combinação de QCT+CPT promoveu uma redução pronunciada na expressão de *iNOS* (0,05 vs. 1,75; p -valor = 0,03), demonstrando um efeito anti-inflamatório mais robusto do que o tratamento isolado com CPT (Figura 9).

Os resultados da análise da média de expressão dos genes *TNF- α* , *IL-1 β* e *INOS* em células SCC-25 tratadas com CPT, DPG, QCT e suas combinações indicam que o CPT induz uma resposta inflamatória, evidenciada pelo aumento significativo da expressão de *TNF- α* e *IL-1 β* . Os tratamentos com DPG e QCT, tanto isolados quanto em combinação com CPT, reduziram significativamente a expressão desses genes, demonstrando um efeito anti-inflamatório. O DPG apresentou redução da expressão de *TNF- α* , enquanto o QCT teve um efeito mais pronunciado, especialmente em

combinação com CPT. Embora o CPT não tenha induzido uma resposta inflamatória clara em relação ao gene iNOS, o QCT, isolado e combinado com CPT, reduziu substancialmente sua expressão, evidenciando um efeito anti-inflamatório mais robusto. Em resumo, tanto o DPG quanto o QCT possuem potencial anti-inflamatório nas células SCC-25, indicando que esses compostos podem ser explorados como potenciais moduladores da resposta inflamatória em contextos terapêuticos da MO.

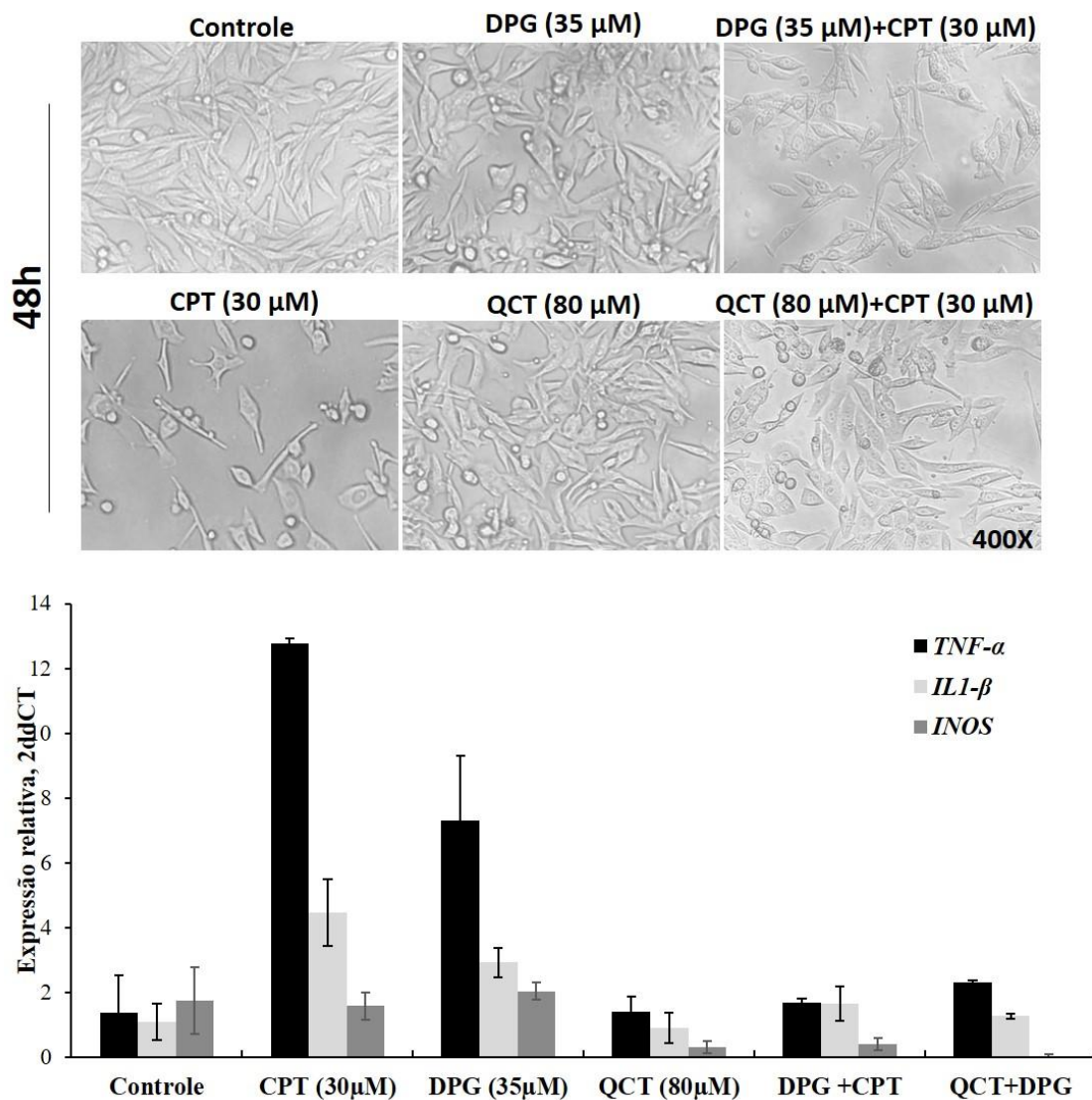


FIGURA 10. Análise da expressão dos genes *TNF-α*, *IL-1β* e *INOS* em células SCC-25 tratadas com cisplatina (CPT), glicirrizinato dipotássio (DPG), quercetina (QCT) e combinações (DPG+CPT ou QCT+CPT) por 48 horas. A média de expressão de *TNF-α* foi significativamente aumentada nas células tratadas com CPT, em comparação ao controle (12,78 vs. 1,38; $p = 0,02$). Os tratamentos com DPG (7,32 vs.

12,78; $p= 0,06$) e DPG+CPT (1,68 vs. 12,78; $p= 0,0001$) resultaram em uma redução na expressão de *TNF- α* em comparação com células tratadas com CPT isolado, indicando um efeito atenuador da resposta inflamatória. O QCT também reduziu a média de expressão de *TNF- α* , tanto isoladamente (1,41 vs. 12,78; $p= 0,0009$), quanto em combinação com CPT (2,32 vs. 12,78; $p= 0,0001$) em comparação com células tratadas com CPT. (B) Para o gene *IL-1 β* , o tratamento com CPT aumentou significativamente sua média de expressão (4,47 vs. 1,11; $p= 0,002$) em comparação ao controle. O DPG isolado reduziu a expressão de *IL-1 β* (2,93 vs. 4,47; $p= 0,15$), sendo que a combinação DPG+CPT demonstrou uma redução mais pronunciada (1,66 vs. 4,47; $p= 0,04$) em comparação com células expostas à CPT. O QCT, isolado (0,91 vs. 4,47; $p= 0,02$) e combinado com CPT (1,28 vs. 4,47; $p= 0,006$), demonstrou um forte efeito anti-inflamatório em comparação com células CPT. A média de expressão de *INOS* foi similar no controle e no tratamento com CPT (1,60 vs. 1,75; $p= 0,92$), mas foi reduzida com os tratamentos com DPG (2,05 vs. 1,75; $p= 0,22$), QCT (0,32 vs. 1,75; $p= 0,06$) e especialmente com QCT+CPT (0,05 vs. 1,75; $p= 0,03$) em comparação com células tratadas somente com CPT. Esses resultados indicam que DPG e QCT possuem efeito anti-inflamatório nas células SCC-25. Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.13. Avaliação da citotoxicidade da cisplatina em células epiteliais humanas normais HaCat: ensaio MTT

O ensaio MTT foi realizado nas células epiteliais humanas normais HaCat para avaliar a resposta de células normais aos compostos testados, isolados e em combinação com a CPT, utilizando as mesmas concentrações aplicadas às linhagens tumorais FaDu e SCC-25 (10–200 μ M) e tempos de exposição de 24, 48 e 72 h. Utilizando o DPG isolado, observou-se redução acentuada da viabilidade celular de forma dependente da dose e do tempo, com valores inferiores a 50% já em 10–20 μ M (Figura 10A). Esses achados indicaram que a DPG apresentou maior citotoxicidade em células HaCaT do que nas linhagens tumorais FaDu e SCC-25, nas quais a IC_{20} foi determinada em 35 μ M. A QCT, por sua vez, demonstrou baixa citotoxicidade em HaCat, mantendo a viabilidade celular superior a 60% nas concentrações de 20 a 100 μ M após 24 horas e 20 a 80 μ M após 48 horas (Figura 2B). Ainda, a QCT se mostrou resistente à CPT entre as concentrações 60 a 150 μ M após 72 horas. Somente nas maiores concentrações e tempos prolongados (≥ 150 μ M e 72 h) observou-se redução da viabilidade, sugerindo boa tolerância da linhagem normal à QCT (Figura 10B).

O tratamento com CPT em combinação com DPG [IC₂₀] reduziu a viabilidade celular de forma dose-dependente, com queda acentuada a partir de 30 μ M após 24 horas. Desta forma o co-tratamento com DPG não apresentou efeito protetor significativo em comparação a CPT isolada (Figura 10C). Quando combinada à CPT, a QCT [IC₂₀] apresentou discreto efeito citoprotetor após 24 horas, evidenciado por valores de viabilidade superiores aos observados com CPT isolada (Figura 10C). Em contrapartida, após 48 horas, tanto QCT quanto DPG, em associação à CPT, mantiveram comportamento semelhante à CPT isolada, sem alterações expressivas na viabilidade (Figura 10D); mas sendo possível observar efeito protetivo, especialmente a QCT, em comparação a CPT isolada.

Esses resultados demonstram que a QCT possui melhor perfil de biocompatibilidade em células normais, enquanto o DPG apresenta maior citotoxicidade em HaCat, reforçando a necessidade de ajuste de dose para uso seguro em aplicações terapêuticas.

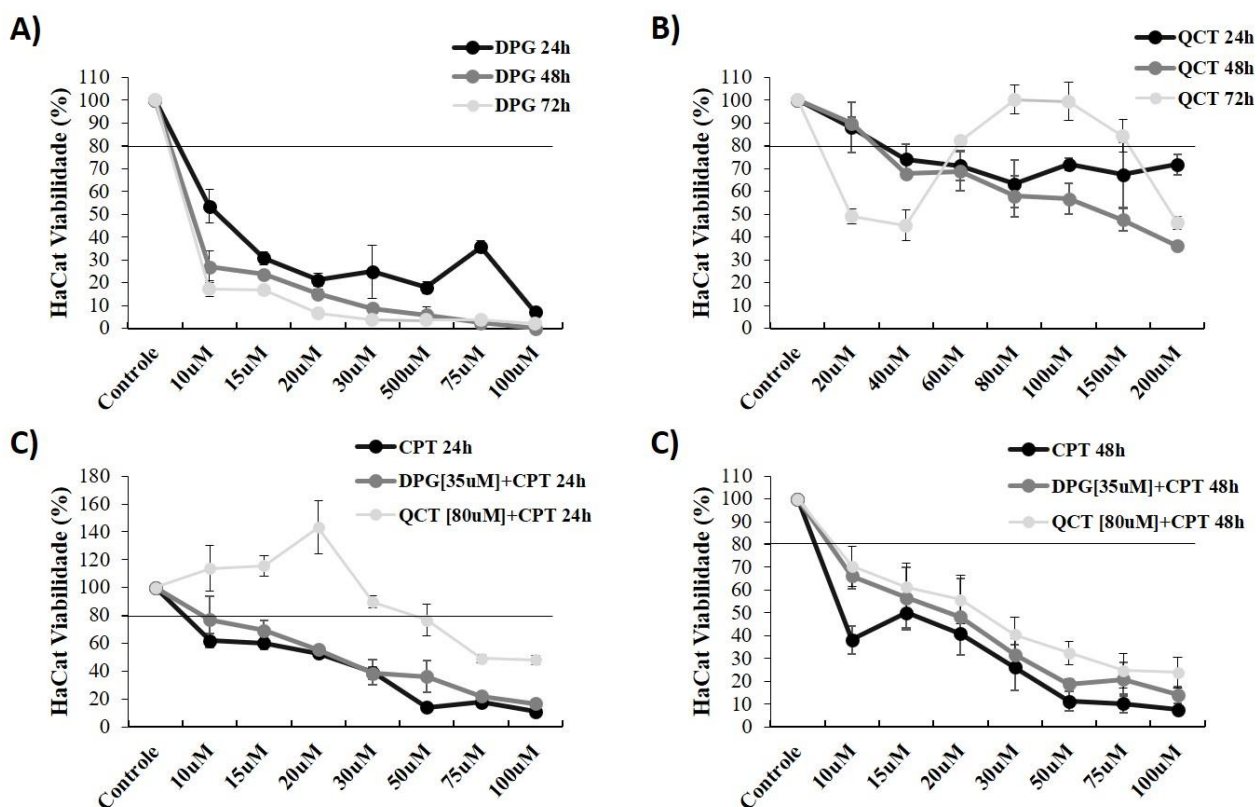


FIGURA 11. Avaliação da viabilidade celular da linhagem epitelial humana não tumoral HaCat após tratamento com dipotássio glicirrizato (DPG), quercetina (QCT) e cisplatina (CPT), isolados ou em

combinação, nos tempos de 24, 48 e 72 horas. (A) Viabilidade celular após tratamento com DPG (10–100 μM); (B) Viabilidade celular após tratamento com QCT (20–200 μM); (C) Efeito da coadministração de DPG (35 μM) ou QCT (80 μM) com CPT (10–100 μM) por 24 horas; (D) Efeito dos mesmos co-tratamentos após 48 horas. A viabilidade foi determinada pelo ensaio MTT e expressa em porcentagem em relação ao controle não tratado (100%). Três experimentos independentes foram realizados, cada um em triplicata, com os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

4.14. Efeito anti-inflamatória do glicirrizinato dipotássio e quercetina na expressão de genes envolvidos com processos inflamatórios em células HaCat tratadas com cisplatina

A análise da expressão dos genes *TNF- α* , *IL1B* e *INOS* em células HaCaT tratadas com DPG (35 μM) ou QCT (80 μM) em combinação com CPT (30 μM) revelou alterações distintas na resposta inflamatória após 48 horas de incubação (Figura 11).

O tratamento com CPT promoveu um aumento expressivo na média de expressão dos genes *TNF- α* (3,97 vs. 1,06; $p = 0,14$) e *INOS* (3,30 vs. 1,02; $p = 0,32$) em comparação ao controle, sugerindo ativação de vias pró-inflamatórias. A expressão de *IL1B* também apresentou elevação moderada (1,57 vs. 1,09; $p = 0,51$), indicando uma resposta inflamatória leve.

A combinação DPG+CPT resultou em uma redução acentuada na expressão dos três genes analisados em comparação ao tratamento com CPT isolado, com destaque para *IL1B* (0,39 vs. 1,57; $p = 0,05$) e *INOS* (0,17 vs. 3,30; $p = 0,21$), demonstrando um efeito inibitório significativo do DPG sobre a inflamação induzida pela CPT. O gene *TNF- α* também apresentou discreta diminuição em relação ao tratamento com CPT (2,54 vs. 3,97; $p = 0,39$), reforçando o potencial modulador do DPG.

O tratamento com QCT+CPT apresentou um perfil distinto: *TNF- α* (1,39 vs. 3,97; $p = 0,17$) mostrou discreta inibição em relação ao CPT, enquanto *IL1B* exibiu aumento considerável na expressão (3,01 vs. 1,57; $p = 0,30$), sugerindo possível ativação seletiva de mediadores inflamatórios. Por outro lado, *INOS* permaneceu reduzido (0,36 vs. 3,30; $p = 0,23$), indicando que a QCT associada à CPT pode exercer efeito antioxidante e anti-inflamatório sobre a via dependente de óxido nítrico.

Em conjunto, esses resultados indicam que o tratamento com CPT isolado ativa genes pró-inflamatórios em células HaCaT, enquanto a presença de DPG atenua de forma expressiva essa resposta. A associação QCT+CPT modulou de maneira diferenciada os marcadores inflamatórios,

reduzindo *INOS* mas aumentando *IL1B*, o que sugere uma regulação complexa entre as vias inflamatórias e antioxidantes nesses queratinócitos.

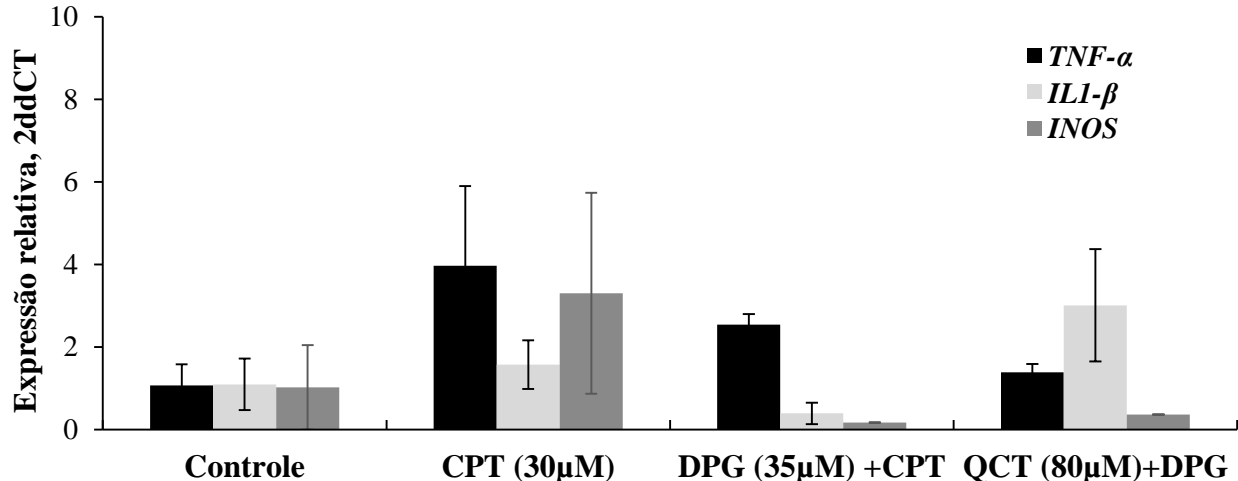


FIGURA 12. Análise da média de expressão dos genes *TNF-α*, *IL1B* e *INOS* em células HaCaT tratadas com cisplatina (CPT, 30 μM), glicirrizinato dipotássico (DPG, 35 μM) em combinação com CPT, e quercetina (QCT, 80 μM) associada à CPT, após 48 horas de incubação. O tratamento com CPT elevou a expressão dos genes *TNF-α*, *IL1B* e *INOS* em comparação ao controle, indicando ativação inflamatória. A combinação DPG+CPT promoveu redução significativa na expressão desses marcadores, principalmente *IL1B* e *INOS*, demonstrando efeito anti-inflamatório do DPG. O tratamento QCT+CPT reduziu a expressão de *INOS*, mas aumentou *IL1B*, sugerindo modulação seletiva da resposta inflamatória. Os dados representam a média ± desvio padrão de três experimentos independentes, realizados em triplicata.

4.15. Teste de atividade antimicrobiana do glicirrizinato dipotássico e quercetina contra isolados clínicos bacterianos por método de disco-difusão

O método de disco-difusão é amplamente utilizado em laboratórios de microbiologia para avaliar a atividade antimicrobiana de substâncias. Este método envolve a difusão de antimicrobianos impregnados em discos de papel sobre placas de ágar inoculadas com o microrganismo alvo. A formação de zonas de inibição ao redor dos discos indica a sensibilidade dos microrganismos aos agentes testados. A atividade antimicrobiana dos compostos (Figura 11) 1) DPG e 2) QCT foi avaliada contra isolados clínicos das seguintes espécies bacterianas: *Staphylococcus aureus* (1),

Staphylococcus coagulase negativa (2), *Enterococcus sp.* (3), *Pseudomonas aeruginosa* (4), *Acinetobacter baumannii* (5), *Escherichia coli* (6), *Klebsiella pneumoniae* (7), *Streptococcus mutans* (8), *Lactobacillus spp.* (9) e bactérias totais da boca (10). Os isolados bacterianos foram subcultivados em ágar TSA a partir do banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco. Os resultados experimentais não demonstraram atividade antimicrobiana de DPG ou QCT contra as espécies testadas, pois não foram observadas zonas de inibição ao redor dos discos, indicando a ausência de sensibilidade dos microrganismos a esses compostos, indicando que esses compostos não possuem efeito bactericida (matar bactérias) ou bacteriostático (inibir o crescimento bacteriano) contra as espécies avaliadas (Figura 13).

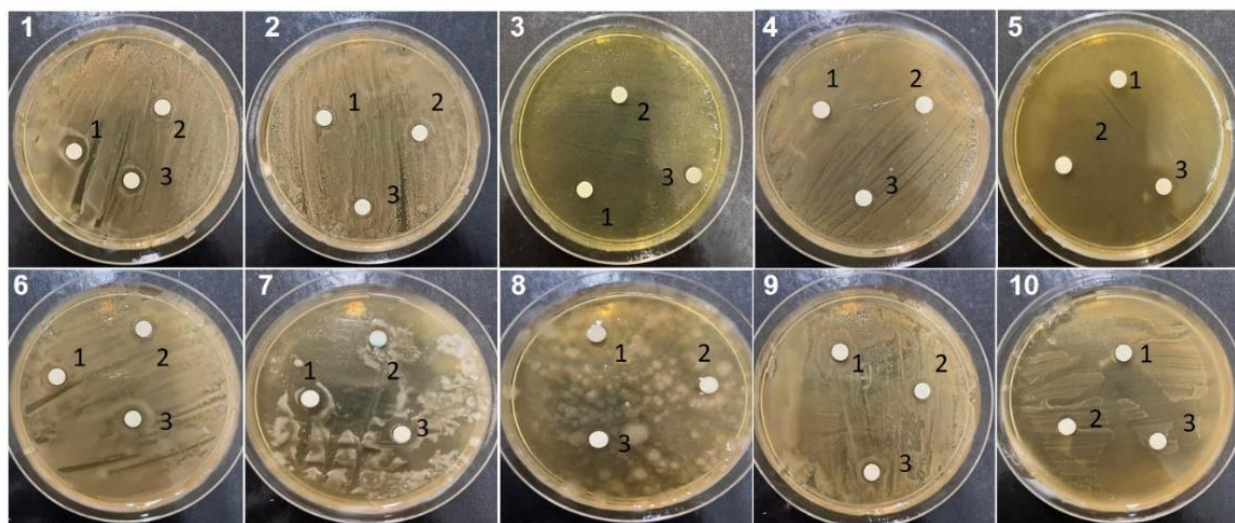


FIGURA 13. Avaliação da atividade antimicrobiana do Glicirrinato Dipotássio (DPG) e da Quercetina (QCT) contra isolados clínicos bacterianos. O método de disco-difusão utilizado para testar a atividade antimicrobiana dos compostos 1) DPG, 2) QCT e 3) DMSO (controle) em discos de papel impregnados com concentrações conhecidas dos agentes, sobre uma placa de ágar inoculada com microrganismos alvo. Dentre as espécies bacterianas testadas *Staphylococcus aureus* (1), *Staphylococcus coagulase negativa* (2), *Enterococcus sp.* (3), *Pseudomonas aeruginosa* (4), *Acinetobacter baumannii* (5), *Escherichia coli* (6), *Klebsiella pneumoniae* (7), *Streptococcus mutans* (8), *Lactobacillus spp.* (9) e bactérias totais da boca (10), após dois dias consecutivos de subcultivo, não foi observada atividade antimicrobiana significativa dos compostos DPG e QCT, pela ausência de zonas de inibição ao redor dos discos.

4.16. Quantificação dos compostos por cromatografia líquida de pressão ultra elevada acoplada a espectrometria de massa (UHPLC-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A caracterização do DPG por UHPLC-MS identificou os principais íons correspondentes à forma desprotonada da molécula ($[M-H]^-$) e à forma duplamente desprotonada ($[M-2H]^{2-}$), com razões massa/carga de 410 e 821, respectivamente. O erro de medição para o íon $[M-H]^-$ foi de -1,83 ppm, abaixo do limite de 3 ppm, assegurando a precisão dos resultados. A comparação dos sinais experimentais com padrões isotópicos simulados e reais demonstrou valores de massa compatíveis, com erro inferior a 2 ppm, validando a identificação molecular do DPG (Bonafé, 2024c).

A análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) revelou um perfil cromatográfico com um pico principal, correspondente à QCT, com pureza de 94,25%, indicando alta qualidade do composto. Além do pico principal, foram observados dois picos secundários, identificados como pico X (4,4%) e pico Y (1,35%), sugerindo a presença de impurezas ou subprodutos. Embora esses picos representem concentrações menores, sua natureza e impacto devem ser investigados conforme a aplicação do material. O cromatograma, apresentado na Figura 14, demonstra uma separação eficiente, com intensidade e formato dos picos indicando a precisão e confiabilidade do método analítico utilizado.

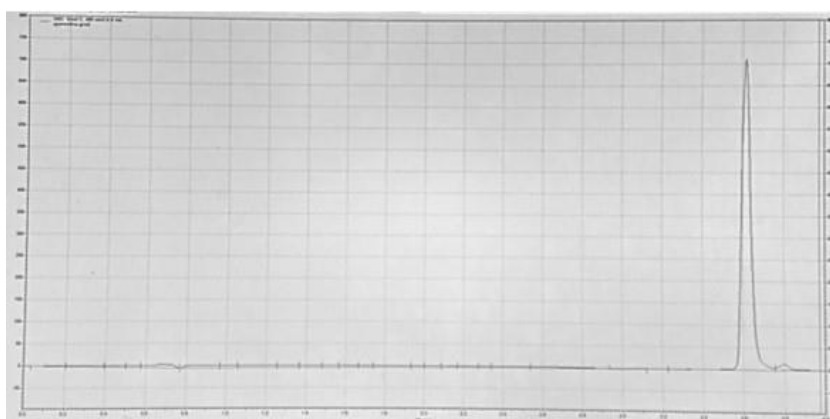


FIGURA 14. Quantificação do composto quercetina (QCT) por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A análise realizada por HPLC demonstrou um perfil cromatográfico dominado por um pico principal, correspondente à QCT, com uma pureza de 94,25%. Esse resultado indica que a amostra apresenta um alto grau de pureza, sendo o composto majoritário identificado com clareza. Além do pico principal, foram

detectados dois picos secundários, denominados pico X (4,4%) e pico Y (1,35%), sugerindo a presença de impurezas ou subprodutos oriundos do processo de síntese ou extração. Embora esses componentes estejam em concentrações relativamente baixas, sua natureza e impacto devem ser avaliados conforme a aplicação do material. O cromatograma obtido evidencia uma separação eficiente, permitindo a quantificação precisa dos componentes presentes. O formato e a intensidade dos picos indicam a adequação do método analítico empregado, garantindo confiabilidade na identificação da QCT.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial anti-inflamatório do DPG e QCT em linhagens celulares de CCP, utilizando a CPT como agente indutor de MO. A mucosite é uma das complicações mais debilitantes associadas à quimioterapia e à radioterapia, caracterizada por inflamação intensa, morte celular e ulceração da mucosa bucal, que comprometem a alimentação, a fala e a qualidade de vida dos pacientes (Sonis, 2004; Lalla et al., 2008). A patogênese da MO envolve cinco fases principais: iniciação, geração de mensagens, amplificação, ulceração e cicatrização. Na segunda fase, a via NF- κ B é uma das primeiras a ser ativada, promovendo a expressão de citocinas pró-inflamatórias, especialmente TNF- α , IL-1 β e IL-6, além de enzimas como iNOS, que amplificam a resposta inflamatória e o estresse oxidativo (Volpato et al., 2007; Escames et al., 2011). Essa cascata molecular leva à disfunção epitelial e ao dano tecidual característico da MO.

Nos ensaios de viabilidade celular, as concentrações e os tempos de exposição ideais foram determinados para simular o processo inflamatório observado nas fases intermediárias da mucosite. As análises por qPCR confirmaram o aumento da expressão de genes inflamatórios, como TNF- α , IL-1 β e iNOS, validando o modelo de inflamação celular induzido pela CPT. A ativação da via NF- κ B foi evidenciada por alterações morfológicas compatíveis com dano epitelial, reforçando o caráter inflamatório do modelo experimental.

O DPG apresentou um efeito anti-inflamatório expressivo, reduzindo a citotoxicidade induzida pela CPT nas células FaDu. Esse efeito protetor foi evidenciado pela menor perda de viabilidade celular em comparação com o tratamento isolado com CPT. Em concentrações mais elevadas, entretanto, o DPG demonstrou uma ação citotóxica mais acentuada, sugerindo potencial atividade antitumoral. As células SCC-25, por sua vez, demonstraram maior resistência ao DPG, mantendo a viabilidade celular por períodos mais prolongados, o que sugere diferenças intrínsecas entre as linhagens quanto à sensibilidade ao composto.

De forma semelhante, a QCT também apresentou potencial anti-inflamatório, sendo mais eficaz nas células FaDu, que demonstraram redução significativa na viabilidade celular em concentrações menores. As células SCC-25 foram mais resistentes, requerendo concentrações mais altas para que se observasse um efeito comparável. Esses achados

reforçam a ação dupla desses compostos, ou seja, em doses baixas, exercem efeitos anti-inflamatórios, enquanto em doses mais altas podem assumir perfil antitumoral (Bonafé et al., 2019; Bonafé et al., 2022a; Bonafé et al., 2022b; Bonafé, 2024).

A combinação de DPG ou QCT com CPT demonstrou efeito protetor nas células FaDu, principalmente nas primeiras 24 a 48 horas de exposição, o que sugere ação moduladora inicial sobre a inflamação e o estresse oxidativo. No entanto, após 72 horas, o efeito anti-inflamatório foi atenuado, possivelmente devido à ativação contínua de vias inflamatórias e à exaustão da capacidade antioxidante e regulatória desses compostos. A exposição prolongada à CPT pode também ativar outras cascatas, como a via MAPK, intensificando a resposta inflamatória e superando a ação protetora inicial de DPG e QCT.

A análise morfológica das células expostas à CPT revelou alterações compatíveis com os estágios iniciais da mucosite, incluindo desorganização do epitélio, perda de integridade da membrana celular e danos ao citoesqueleto. Esses achados corroboram a literatura, que descreve a mucosite como resultado da interação entre apoptose e necrose epitelial induzida por citocinas e radicais livres (Sonis, 2004; Lalla et al., 2008).

O DPG, isolado ou combinado à CPT, modulou o ciclo celular nas células FaDu, promovendo discreta transição da fase G1 para a fase S, o que sugere um papel na manutenção da atividade proliferativa e na regeneração epitelial durante a inflamação. A QCT, por outro lado, não provocou alterações significativas no ciclo celular, mas contribuiu para a redução moderada da morte celular, indicando uma ação protetora complementar. Esses efeitos sugerem que ambos os compostos podem atenuar o estresse inflamatório e promover um ambiente celular favorável à recuperação tecidual.

A análise de expressão gênica confirmou o perfil anti-inflamatório dos compostos. A CPT isoladamente induziu forte aumento na expressão de TNF- α e iNOS, o que reflete a resposta inflamatória exacerbada e o estresse celular. O tratamento combinado com DPG resultou em redução significativa desses marcadores, indicando que o composto atua na modulação da inflamação e na proteção celular frente ao dano quimioterápico. A QCT apresentou efeito semelhante, embora de menor intensidade, sugerindo uma ação moduladora mais suave sobre as vias inflamatórias.

O presente estudo sugere que o DPG atenua a resposta inflamatória em estágios iniciais da MO — especialmente nas primeiras 24–48 h — o que está de acordo com o modelo proposto por Sonis (2004), no qual a modulação da fase de amplificação da inflamação é crítica para reduzir a severidade da mucosite. O DPG, um derivado da glicirrizina do extrato de *Glycyrrhiza glabra*, apresenta atividade anti-inflamatória documentada. Vitali et al. (2013) observaram que o DPG inibe a liberação de HMGB1 e reduz a expressão de TNF- α e IL-1 β em modelos animais de colite. De forma consistente, Shim et al. (2013) e Lee et al. (2019) demonstraram que o DPG exerce efeito anti-inflamatório significativo em queratinócitos humanos, atenuando a expressão de COX-2, IL-8 e iNOS por meio da inibição da ativação da NF- κ B. Em modelos in vivo, o DPG também apresentou efeitos regenerativos, promovendo reepitelização acelerada e modulação de colágeno (Leite et al., 2023), reforçando seu papel reparador e anti-inflamatório.

Os achados do presente estudo também evidenciaram que o DPG, em combinação com CPT, reduziu de forma significativa os níveis de TNF- α e iNOS nas linhagens FaDu e SCC-25, corroborando o potencial do composto em modular a inflamação sem comprometer a viabilidade celular. Esses efeitos coincidem com os de Zhong et al. (2019), que relataram a capacidade da glicirrizina em reduzir mediadores inflamatórios (CXCL1, CXCL3, PTGS2, IL-6) e favorecer a restauração da barreira epitelial em modelos de colite. Ensaios clínicos recentes também sustentam o potencial terapêutico da *Glycyrrhiza glabra*, indicando que o uso tópico do extrato reduziu a incidência e a severidade da MO em pacientes submetidos à quimioterapia (Sattari et al., 2019).

De modo semelhante, a QCT exibiu efeitos anti-inflamatórios consistentes, com redução significativa na expressão de TNF- α e iNOS, principalmente nas células FaDu. A QCT é amplamente reconhecida como moduladora da via NF- κ B e de citocinas pró-inflamatórias (Halder et al., 2016; Rehman et al., 2020). Em modelos de mucosite induzida por 5-fluorouracil, Lotfi et al. (2021) demonstraram que a nanoemulsão de QCT reduziu lesões orais, aumentou a atividade antioxidante (SOD e CAT) e diminuiu a expressão de NF- κ B. Dados semelhantes foram observados por Kooshyar et al. (2017) em ensaio clínico duplo-cego, no qual a QCT reduziu significativamente a severidade da MO em pacientes oncológicos.

Em modelos experimentais mais recentes, a administração tópica ou oral de QCT também atenuou o dano oxidativo e a apoptose epitelial induzidos pela radiação (Yamamoto et al., 2022; Zhang et al., 2021). Esses resultados reforçam o papel da QCT na supressão de vias inflamatórias e na proteção da mucosa oral. No presente estudo, a QCT mostrou efeito mais pronunciado nas fases iniciais da exposição à CPT (24–48 h), o que é coerente com o perfil antioxidante e modulador observado em modelos *in vivo*. A redução do efeito após 72 h pode refletir o esgotamento do potencial antioxidante ou a ativação de vias secundárias, como MAPK, que perpetuam a inflamação (Pulito et al., 2020; Huang et al., 2022).

A análise morfológica confirmou alterações compatíveis com os estágios iniciais da MO, incluindo desorganização epitelial e perda de integridade da membrana, efeitos semelhantes aos descritos em modelos de mucosite induzida por agentes alquilantes (Volpato et al., 2007). Em ambas as linhagens, observou-se que concentrações mais elevadas de DPG e QCT exerceram efeitos citotóxicos, indicando possível ação antitumoral dose-dependente — um fenômeno também relatado por Halder et al. (2024), que evidenciaram propriedades anticancerígenas do glicirrizinato em combinação com metotrexato em carcinoma epidermóide oral.

O DPG, isolado ou combinado à CPT, modulou o ciclo celular nas células FaDu, promovendo discreta transição da fase G1 para a fase S, o que sugere um papel na manutenção da atividade proliferativa e na regeneração epitelial durante a inflamação. Esse efeito é compatível com a hipótese de que o DPG contribui para a progressão celular em ambientes de estresse inflamatório, promovendo equilíbrio entre proliferação e reparo. Em contraste, a combinação de QCT e CPT não resultou em alterações substanciais no ciclo celular em ambas as linhagens, embora tenha sido observado um leve aumento na transição da fase G1 para S, indicando um efeito modulador mais discreto.

A análise de apoptose revelou que o tratamento com CPT isoladamente induziu morte celular acentuada nas células FaDu, compatível com o dano epitelial característico da mucosite. No entanto, o tratamento com DPG, tanto isoladamente quanto em combinação com CPT, reduziu significativamente a apoptose, sugerindo que o composto exerce efeito protetor por meio da modulação de vias inflamatórias. A QCT, por sua vez, apresentou efeito mais

leve, com redução moderada da apoptose, reforçando sua ação complementar e menos intensa na regulação da resposta celular.

Esses resultados indicam que o DPG tem papel mais expressivo na inibição da morte celular programada e na atenuação da inflamação induzida pela CPT, o que corrobora os achados de Vitali et al. (2013) e Shim et al. (2013), que observaram inibição da liberação de *HMGB1* e redução de TNF- α e IL-1 β .

A ausência de alterações drásticas nos dados de citometria de fluxo, contudo, não deve ser interpretada como ausência de resposta biológica. De acordo com Sonis (2004), a mucosite é caracterizada por um processo inflamatório persistente e multifásico, no qual o estresse celular nem sempre resulta em apoptose maciça, mas em desequilíbrio celular e ativação de vias pró-inflamatórias subletais. Assim, a resposta observada pode refletir um estresse inflamatório crônico, difícil de ser captado por análises de apoptose convencionais.

Essas observações também estão de acordo com a hipótese de que o DPG e a QCT promovem um estado de adaptação celular frente ao estresse inflamatório, preservando a viabilidade e reduzindo a resposta apoptótica. Esse fenômeno é relevante para o contexto da mucosite, em que a inflamação crônica compromete o epitélio oral sem necessariamente levar à morte celular imediata.

Além disso, estudos prévios demonstraram que a QCT exerce efeito radioprotetor e antiapoptótico em modelos de mucosite induzida por radiação ionizante (Zhang et al., 2021), mantendo a proliferação das células basais e reduzindo o estresse oxidativo e a ativação de NF- κ B. Esses dados reforçam o papel da QCT como moduladora de ROS e protetora da integridade epitelial.

A maior sensibilidade das células epiteliais HaCaT à CPT observada neste estudo está em concordância com o perfil de citotoxicidade descrito na literatura (Cheng et al., 2020; Ribeiro et al., 2019), reforçando o papel deste modelo na simulação dos eventos iniciais da MO induzida por quimioterapia. A perda de viabilidade celular em HaCaT reflete o dano direto sofrido pelo epitélio oral durante o tratamento com CPT, o qual leva à liberação de ROS, ativação da via NF- κ B (aumento de *IL-6*) e aumento da expressão de citocinas pró-

inflamatórias (*TNF- α* , *IL-1 β* e *INOS*) caracterizando as fases de iniciação e sinalização da mucosite. Esse processo foi também descrito em pacientes oncológicos, nos quais a destruição do epitélio oral constitui a principal toxicidade dose-limitante durante a quimioterapia (Silva et al., 2018). Em contrapartida, as linhagens tumorais FaDu e SCC-25 apresentaram menor sensibilidade à CPT, o que está de acordo com os achados de Wang e Lippard (2005), que relataram maior resistência tumoral associada à ativação de mecanismos de reparo de DNA e transporte de fármacos.

A QCT demonstrou perfil de biocompatibilidade favorável nas células HaCaT, com efeito citoprotetor frente à CPT. Esse efeito é coerente com achados de Rauf et al. (2018), que relataram propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes da quercetina por meio da inibição das vias NF- κ B e MAPK.

Já o DPG apresentou citotoxicidade acentuada em HaCaT, sugerindo que, embora possua reconhecidas propriedades anti-inflamatórias e capacidade de modular a via HMGB1/NF- κ B (Kao et al., 2010; Vitali et al., 2013), seu uso requer cautela em células normais. Vitali et al. (2013) relataram que o DPG, em concentrações elevadas apresentadas, pode induzir alterações metabólicas e morte celular, enquanto em doses moderadas (como 8 mg/kg em modelos in vivo) apresenta perfil seguro e efeito anti-inflamatório significativo. Esses achados reforçam a necessidade de ajuste de dose para o uso terapêutico do DPG e sustentam o potencial protetor da quercetina frente à toxicidade epitelial associada à quimioterapia.

Nas células tumorais FaDu e SCC-25, o tratamento com CPT promoveu uma clara indução da expressão dos genes pró-inflamatórios *TNF- α* e *IL-1 β* , refletindo a ativação de vias inflamatórias associadas à resposta ao agente quimioterápico. Em FaDu, observou-se elevação significativa desses marcadores, especialmente *TNF- α* e *INOS*, enquanto em SCC-25, além do aumento expressivo de *TNF- α* e *IL-1 β* , não houve alteração significativa na expressão de *INOS* com CPT isolado, sugerindo diferenças específicas na regulação inflamatória entre essas duas linhagens tumorais.

A atuação dos compostos naturais DPG e QCT apresentou efeito anti-inflamatório consistente em ambas as células tumorais. Em SCC-25, DPG e QCT, isolados ou combinados

com CPT, reduziram significativamente a expressão de *TNF- α* e *IL-1 β* , com QCT mostrando maior eficácia, inclusive na redução expressiva de *INOS* quando combinado com CPT. Em FaDu, DPG e QCT também atenuaram a indução inflamatória promovida por CPT, embora com variações na intensidade e no perfil de modulação. Estes resultados reforçam o potencial desses compostos como moduladores da resposta inflamatória em contextos tumorais, com possíveis implicações terapêuticas para minimizar os efeitos adversos da quimioterapia.

Em contraste, nas células normais HaCaT, a indução inflamatória pelo CPT foi mais moderada, com aumentos discretos na expressão de *TNF- α* , *IL-1 β* e *INOS*. O DPG demonstrou um efeito inibitório mais robusto sobre esses genes, especialmente reduzindo significativamente *IL-1 β* e *INOS*, indicando capacidade de proteger as células queratinócitas contra a ativação inflamatória induzida pela cisplatina. Já a combinação QCT+CPT resultou em um padrão mais complexo, com redução na expressão de *TNF- α* e *INOS*, porém aumento na expressão de *IL-1 β* , sugerindo uma regulação seletiva e multifacetada das vias inflamatórias e antioxidantes em células não tumorais.

Assim, ao comparar linhagens tumorais e células normais, observa-se que CPT ativa mecanismos pró-inflamatórios em ambas, porém com maior intensidade nas células cancerígenas. A coadministração de DPG e QCT é capaz de modular essa resposta inflamatória, reduzindo marcadores-chave como *TNF- α* e *IL-1 β* , com QCT exercendo efeito mais pronunciado sobre *INOS*, especialmente nas células tumorais. Esses achados indicam que DPG e QCT podem representar adjuvantes promissores para a mitigação da inflamação induzida pela cisplatina, com potencial para proteger tecidos normais e modular o microambiente tumoral, abrindo caminho para estratégias terapêuticas mais eficazes e menos tóxicas.

A ausência de efeito antimicrobiano significativo nos testes de disco-difusão indica que os efeitos observados de DPG e QCT são predominantemente anti-inflamatórios e não derivados de ação antibacteriana. Tal característica é vantajosa no contexto da MO, pois contribui para a preservação da microbiota oral, fundamental para o equilíbrio da mucosa e para a recuperação do epitélio após o tratamento quimioterápico. A ausência de efeito antimicrobiano significativo nos ensaios de disco-difusão sugere que os efeitos benéficos

observados de DPG e QCT derivam de suas ações imunomoduladoras e não bactericidas, fato desejável no contexto da MO. Essa seletividade é importante, pois preserva a microbiota oral e favorece a cicatrização (Vitali et al., 2013; Ferreira et al., 2022).

A caracterização dos compostos por espectrometria de massas confirmou sua identidade e pureza, assegurando a confiabilidade dos ensaios. A pureza elevada da QCT (94,25%) e a confirmação da estrutura do DPG reforçam a qualidade dos agentes utilizados e a validade dos resultados obtidos.

No contexto fisiopatológico da MO, a capacidade do DPG e da QCT de modular a via NF- κ B e reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias sugere que esses compostos atuam diretamente na fase de amplificação da inflamação, podendo prevenir a progressão para os estágios de ulceração e necrose tecidual. O uso desses agentes naturais, portanto, representa uma estratégia promissora para atenuar os efeitos adversos da quimioterapia, promover a reparação tecidual e melhorar a qualidade de vida dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço. Em síntese, o presente estudo demonstra que tanto o DPG quanto a QCT exercem efeitos anti-inflamatórios significativos em modelos celulares de mucosite induzida por CPT. O DPG apresentou ação mais robusta, reduzindo a expressão de genes inflamatórios e a apoptose, enquanto a QCT exibiu efeito moderado, mas consistente, na atenuação da resposta inflamatória. Esses resultados sustentam o potencial desses compostos como adjuvantes terapêuticos no manejo da MO, especialmente em pacientes submetidos à quimioterapia. Futuras investigações in vivo são essenciais para validar esses achados e avaliar a segurança, biodisponibilidade e eficácia clínica desses agentes naturais no contexto da inflamação oral induzida por tratamento oncológico.

6. CONCLUSÃO

Efeito anti-inflamatório de DPG e QCT:

- ✓ Ambos os compostos reduziram significativamente a expressão de marcadores inflamatórios induzidos pela CPT. O DPG apresentou ação mais robusta, enquanto a QCT exibiu modulação mais suave, porém consistente.

Efeito protetor nas células epiteliais (FaDu):

- ✓ O DPG, isoladamente ou em combinação com CPT, reduziu a apoptose e preservou a viabilidade celular, sugerindo ação protetora em estágios iniciais da inflamação. A QCT também reduziu a apoptose, ainda que de forma menos pronunciada, atuando como modulador complementar da resposta inflamatória.

Modulação do ciclo celular:

- ✓ O DPG promoveu discreta transição da fase G1 para a fase S em células FaDu, sugerindo estímulo à regeneração epitelial sob estresse inflamatório. A QCT não alterou significativamente o ciclo celular, mas contribuiu para a manutenção da viabilidade e integridade celular.

Respostas diferenciais entre linhagens celulares:

- ✓ As células FaDu demonstraram maior sensibilidade aos compostos, enquanto as SCC25 foram mais resistentes, exigindo concentrações mais elevadas para efeitos comparáveis. Essas diferenças refletem variabilidade intrínseca das linhagens quanto à susceptibilidade inflamatória e à resposta a agentes bioativos.

Atividade antimicrobiana limitada:

- ✓ Os ensaios de disco-difusão não demonstraram atividade antimicrobiana significativa, indicando que os efeitos benéficos observados são decorrentes de ações anti-inflamatórias e antioxidantes, e não de ação bactericida, característica desejável para preservação da microbiota oral durante o tratamento da MO.

Potencial terapêutico:

- ✓ A combinação de DPG ou QCT com CPT exerceu efeito protetor em fases iniciais (24–48 h) da exposição, sugerindo utilidade clínica potencial na prevenção e redução da severidade da MO. Esses achados apontam para o desenvolvimento futuro de formulações tópicas ou sistêmicas à base desses compostos como adjuvantes à quimioterapia.

Qualidade e caracterização dos compostos:

- ✓ A confirmação estrutural e a pureza dos compostos por espectrometria de massas garantiram a validade experimental e sustentam a reprodutibilidade dos resultados.

Em síntese, o DPG apresentou ação anti-inflamatória mais pronunciada e protetora, enquanto a QCT demonstrou efeito complementar e antioxidante, ambos contribuindo para a atenuação da inflamação e proteção epitelial. Esses achados fornecem base científica sólida para futuras investigações in vivo e ensaios clínicos, visando validar a eficácia, segurança e aplicabilidade terapêutica desses compostos no manejo da mucosite oral.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Apesar dos resultados promissores, este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas:

Modelo exclusivamente in vitro:

As análises foram realizadas em linhagens celulares, que não reproduzem completamente a complexidade da mucosa oral in vivo, especialmente quanto à interação entre células epiteliais, sistema imunológico e microbiota.

Ausência de análise proteica e funcional aprofundada:

Embora a expressão gênica tenha indicado modulação inflamatória, não foram realizadas quantificações de proteínas (por exemplo, por Western blot ou ELISA) nem estudos de translocação nuclear de NF- κ B.

Foco temporal restrito:

As observações concentraram-se em intervalos de até 72 horas. Estudos com tempos mais prolongados poderiam elucidar os efeitos regenerativos e o comportamento crônico da inflamação.

Avaliação limitada de vias de sinalização:

O estudo priorizou parcialmente a via NF- κ B, sem investigar detalhadamente outras rotas envolvidas na mucosite, como MAPK, Nrf2 e TLR4, que poderiam contribuir para o entendimento integral dos efeitos dos compostos.

Ausência de dados farmacocinéticos e de biodisponibilidade:

A extrapolação dos resultados para o contexto clínico é limitada pela falta de informações sobre absorção, metabolismo, distribuição e excreção dos compostos, especialmente no microambiente oral.

Potencial citotoxicidade do DPG em células normais:

Apesar do efeito anti-inflamatório, o DPG apresentou toxicidade em células epiteliais não tumorais (HaCaT) em concentrações mais elevadas, o que reforça a necessidade de ajuste de dose e de estudos adicionais de segurança.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). *Bulário eletrônico*. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 04 out. 2022.

AGRAWAL, N.; et al. The survival benefit of chemoradiation in patients with advanced head and neck cancer. *The New England Journal of Medicine*, 2011, v. 363, n. 1, p. 42-52. DOI: 10.1056/NEJMoa1005946.

AGRAWAL, N.; GURUDATH, S.; KUMAR, P.; MISHRA, R.; SINGH, A.; KUMAR, A.; AGARWAL, R. *The survival benefit of chemoradiation in patients with advanced head and neck cancer*. *New England Journal of Medicine*, 1 jul. 2011, v. 363, n. 1, p. 42–52. DOI: 10.1056/NEJMoa1005946. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1005946>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

AL-ANSARI, S.; ZECHA, J. A. E. M.; BARASCH, A.; LANGE, de J.; ROZEMA, F. R.; RABER-DURLACHER, J. E. Oral mucositis induced by anticancer therapies. *Current Oral Health Reports*, v. 2, p. 202–211, 2015.

ALBUQUERQUE, R.; SILVA, R. M.; SATO, Y. et al. Mucosite oral em pacientes oncológicos: fatores de risco e prevenção. *Revista Brasileira de Oncologia*, 2007, v. 53, n. 2, p. 145-150. DOI: 10.5935/0104-8598.20070030.

AL-DASOOQI, N.; GIBSON, R. J.; BOWEN, J. M.; LOGAN, R. M.; STRINGER, A. M.; KEEFE, D. M. Matrix metalloproteinases are possible mediators for the development of alimentary tract mucositis in the dark agouti rat. *Experimental Biology and Medicine*, v. 235, n. 10, p. 1244–1256, 2010.

BABAE, N.; MOSLEMI, D.; KHALILPOUR, M.; VEJDANI, F.; MOGHADAMNIAN, Y.; BIJANI, A.; BARADARAN, M.; KAZEMI, M. T.; KHALILPOUR, A.; POURAMIR, M.; MOGHADAMNIAN, A. A. Antioxidant capacity of *Calendula officinalis* flowers extract and prevention of radiation induced oropharyngeal mucositis in patients with head and neck cancers: a randomized controlled clinical study. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, p. 21-18, 2013.

BEHLING, B. E.; SENDÃO, C. M.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G. Flavonóide Quercetina: Aspectos Gerais e ações biológicas. *Alim. Nutr., Araraquara*, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BONAFÉ, G. A. Avaliação da atividade antitumoral e citotóxica do glicirrizinado dipotássio em linhagens celulares de astrocitomas de alto grau e efeito hepatotóxico em modelo in vivo. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2024.

BONAFÉ, G. A.; DOS SANTOS, J. S.; FERNANDES, A. M. A. P.; ZIEGLER, J. V.; MARSON, F. A. L.; ROCHA, T.; CARVALHO, P. O.; ORTEGA, M. M. *Anti-migratory effect of dipotassium glycyrrhizinate on glioblastoma cell lines: microarray data for the identification of key microRNA*

signatures. *Frontiers in Oncology*, 3 ago. 2022, v. 12, p. 1–10. DOI: 10.3389/fonc.2022.959944. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.959944>>. Acesso em: 10 out. 2024.

BONAFÉ, G. A.; DOS SANTOS, J. S.; ZIEGLER, J. V.; MARSON, F. A. L.; ROCHA, T.; ORTEGA, M. M. *Dipotassium glycyrrhizinate on melanoma cell line: inhibition of cerebral metastases formation by targeting NF-kB genes-mediating microRNA-4443 and microRNA-3620-dipotassium glycyrrhizinate effect on melanoma*. *International Journal of Molecular Sciences*, 29 jun. 2022, v. 23, n. 13, p. 7251. DOI: 10.3390/ijms23137251. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms23137251>>. Acesso em: 26 jun. 2024.

BONAFÉ, G. A.; SANTOS, J. S.; ZIEGLER, J. V.; UMEZAWA, K.; RIBEIRO, M. L.; ROCHA, T.; ORTEGA, M. M. *Growth inhibitory effects of dipotassium glycyrrhizinate in glioblastoma cell lines by target microRNAs through the NF-kB signaling pathway*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019, v. 13, p. 1–14. DOI: 10.3389/fncel.2019.00216. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00216>>. Acesso em: 30 out. 2025.

BOSSI, P.; BERGAMINI, C.; MICELI, R.; COVA, A.; ORLANDI, E.; RESTEGHINI, C.; LOCATI, L.; ALFIERI, S.; IMBIMBO, M.; GRANATA, R.; MARIANI, L.; IACOVELLI, N. A.; HUBER, V.; CAVALLO, A.; LICITRA, L.; RIVOLTINI, L. *Salivary cytokine levels and oral mucositis in head and neck cancer patients treated with chemotherapy and radiation therapy*. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, v. 96, n. 5, p. 959-966, 2016.

BOWEN, J.; AL-DASOOQI, N.; BOSSI, P.; WARDILL, H.; VAN SEBILLE, Y.; AL-AZRI, A.; BATERMAN, E.; CORREA, M. E.; RABER-DURLACHER, J.; KANDWAL, A.; MAYO, B.; NAIR, R. G.; STRINGER, A.; TEN BOHMER, K.; THORPE, D.; LALLA, R. V.; SONIS, S.; CHENG, K.; ELAD, S. *The pathogenesis of mucositis: updated perspectives and emerging targets*. *Support Care Cancer*, v. 27, n. 10, p. 4023-4033, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Aprova as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Câncer de Cabeça e Pescoço*. Disponível em: <<http://conitec.gov.br/>>. Acesso em: 2 nov. 2022.

BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I. et al. *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2020, v. 70, n. 4, p. 313-327. DOI: 10.3322/caac.21492.

BRCAST - EUCAST. *Guia de leitura - Método de disco-difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos do BrCAST-EUCAS*, 2021. Disponível em: <<https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Metodo-disco-difusao-BrCAST-15-04-2024.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2022.

BULACIO, L.; PAZ, M.; RAMADÁN, S.; RAMOS, L.; PAIROBA, C.; SORTINO, M.; et al. *Oral infections caused by yeasts in patients with head and neck cancer undergoing radiotherapy: identification of the yeasts and evaluation of their antifungal susceptibility*. *J Mycol Med*, v. 22, n. 4, p. 348-353, 2012.

BULASMED. *Cisplatina - Bula do profissional de saúde*. *BulasMed*, 2014. Disponível em: <<https://www.bulasmed.com>>. Acesso em: 15 ago. 2024.

CANCE, H.; MAGHNIE, M.; AGOSTINELLI, L. et al. Chemotherapy and radiotherapy in head and neck cancer: a review. *Anticancer Research*, 2017, v. 37, n. 3, p. 1221-1230. DOI: 10.21873/anticancer.11359.

CARDOSO, G.; et al. *Aspectos psicológicos do doente oncológico*. Revista do Serviço de Psiquiatria do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca, Epe, Amadora, Portugal, 2009, v. 6, n. 1, p. 8–19. Disponível em: <<https://www.example.com>>. Acesso em: 20 mar. 2025.

CATÃO, M. H.; BATISTA, A. L. *In vitro evaluation of the antibacterial effect of photodynamic therapy with methylene blue*. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, 2020, v. 20, p. e4980. DOI: 10.1590/pboci.2020.e4980. Disponível em:<<https://doi.org/10.1590/pboci.2020.e4980>>. Acesso em: 20 mar. 2025.

CEC EDITORE. *Dipotássio glicirrizinato: antinflamatório per pelle sensibili da Maruzen Pharmaceuticals-Prodotti Gianni, 2013*. Disponível em: <<http://ceceditore.com/component/k2/25-dipotassio-glicirrizinato/25-dipotassio-glicirrizinato>> . Acesso em: 16 jun. 2023.

CHATTERJEE, J.; LANGHNOJA, J.; PILLAI, P. P.; MUSTAK, M. S. Neuroprotective effect of quercetin against radiation-induced endoplasmic reticulum stress in neurons. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, v. 33, n. 2, e22242, 2019. DOI: 10.1002/jbt.22242. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jbt.22242>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

CHEN, M. et al. Tumor microenvironment and the therapeutic landscape of head and neck cancers. *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 656499, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.656499>.

CHEN, X.; WINCKLER, B.; LU, M.; ZHANG, Y.; JIN, L.; YE, W. Poor oral health is associated with an increased risk of esophageal squamous cell carcinoma: a population-based case-control study in China. *Int J Cancer*, v. 140, n. 3, p. 626-635, 2015.

CONSULTAREMEDIOS. Cisplatina - Informações e usos. *Consultaremedios*, 2024. Disponível em:< <https://www.consultaremedios.com.br>>. Acesso em : 30 out. 2024.

CONSULTAREMEDIOS. Everolimo - *Bula*. Disponível em: <<https://consultaremedios.com.br/everolimo-furp/bula>>. Acesso em : 23 set. 2024.

CONSULTAREMEDIOS. Torisel - *Bula*. Disponível em: <<https://consultaremedios.com.br/torisel/bula>>. Acesso em: 23 set. 2024.

CRESPY, V.; MORAND, C.; MANACH, C.; BESSON, C.; DEMIGNE, C.; REMESY, C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *Am. J. Physiol., Bethesda*, v. 277, p. 120-126, 1999.

CRUZ, É. P. da; CAMPOS, L.; PEREIRA, F. da S.; MAGLIANO, G. C.; BENITES, B. M.; ARANA-CHAVEZ, V. E.; BALLESTER, R. Y.; SIMÕES, A. *Clinical, biochemical and histological study of the effect of antimicrobial photodynamic therapy on oral mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters*. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2015, v. 12, n. 2, p. 298–

309.DOI:10.1016/j.pdpdt.2014.12.007.Disponível

em:<<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2014.12.007>>. Acesso em: 20 mar. 2025.

DEVARAJ, S. D.; NEELAKANTAN, P. Curcumin-Pharmacological actions and its role in dentistry. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*, v. 6, p. 19-22, 2014.

D'SOUZA, G.; AGRAWAL, S. et al. Head and neck cancer: an overview. *Oncology Reviews*, 2016, v. 10, n. 2, p. 285. DOI: 10.1186/s40071-016-0169-1.

EBAHIMZADEH, K., SHOOREI, H., MOUSAVINEJAD, S.A., ANAMAG, F.T., DINGER, M.E., TAHERI, M., GHAFOURI-FARD, S. Emerging role of non-coding RNAs in response of cancer cells to radiotherapy. *Pathol Res Pract.*, v. 218, 2021.

ELAD, Shimon; CHENG, Kin-Kin; LALLA, Richard V. et al. Oral mucositis. *Oral Oncology*, 2020, v. 102, p. 104560. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2020.104560.

ESCAMES, G.; et al. The inflammasome pathway in the pathogenesis of mucositis. *Hum Genet*, July 2011, DOI: 10.1007/s00439-011-1057.

FERLAY, J.; ERVIK, M.; LAM, F. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. *International Agency for Research on Cancer*, 2021. Disponível em:< <https://gco.iarc.fr/today>>. Acesso em: 30 out. 2024.

FERREIRA, A. S.; MACEDO, C.; SILVA, A. M.; DELERUE-MATOS, C.; COSTA, P.; RODRIGUES, F. *Natural products for the prevention and treatment of oral mucositis — a review*. *International Journal of Molecular Sciences*, 15 abr. 2022, v. 23, n. 8, p. 4385. DOI: 10.3390/ijms23084385. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/ijms23084385>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

GAETTI-JARDIM, E.; GAETTI-JARDIM, E. C.; NAKANO, V. et al. Subgingival microbiota in patients with oral squamous cell carcinoma. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2018, v. 23, n. 3. DOI: 10.4317/medoral.22332.

GAETTI-JARDIM, E.; MARQUETI, A.; FARIA, M. R.; GAETTI-JARDIM, E. C. Microbiota oral e sua influência no câncer: uma revisão crítica. *Journal of Oral Microbiology*, 2018, v. 10, n. 1, p. 1487747. DOI: 10.1080/20002297.2018.1487747.

GAO, Y.; ZHANG, L.; QIAN, X. et al. Relationship between oral mucositis and the microbiome in cancer patients undergoing radiotherapy: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*, 2015, v. 6, p. 918. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00918.

GLOBOCAN. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020. *International Agency for Research on Cancer*, 2023. Disponível em:< <https://gco.iarc.fr>>. Acesso em: 30 out. 2024.

GREENE, F. L.; PAGE, P. D.; FLEMING, I. D.; FRITZ, A. G.; BALCH, C. M.; HALLER, D. G.; MORROW, M. *AJCC Cancer staging manual*. 6. ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

GUO, Q.; HUANG, C.; CHEN, J. et al. Efficacy of chemotherapy combined with radiotherapy in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2018, v. 82, n. 2, p. 253-261. DOI: 10.1007/s00280-018-3582-3.

GUVEN, B.; CAN, M.; PISKIN, O.; et al. Flavonoids protect colon against radiation induced colitis. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 104, p. 128–132, 2019. DOI: 10.1016/j.yrtph.2019.03.006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.03.006>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

HALDER, J., et al. Local delivery of methotrexate/glycyrrhizin-loaded hyaluronic acid nanofiber for the management of oral cancer. *Int J Pharm.* 2024 Jul 20;660:124311. doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124311.

HASHIBE, M. et al. Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 99, n. 10, p. 777-789, 2007.

HIBASAMI, H. et al. Glycyrrhetic acid (a metabolic substance and aglycon of glycyrrhizin) induces apoptosis in human hepatoma, promyelotic leukemia and stomach cancer cells. *International Journal of Molecular Medicine*, v. 17, p. 215–219, 2006.

HIBASAMI, H. et al. Glycyrrhizin induces apoptosis in human stomach cancer Kato III and human promyelotic leukemia HL-60 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, v. 16, p. 233–236, 2005.

HORTON, J. A.; LI, F.; CHUNG, E. J.; et al. Quercetin inhibits radiation-induced skin fibrosis. *Radiation Research*, v. 180, n. 2, p. 205–215, 2013. DOI: 10.1667/RR3237.1. Disponível em: <<https://doi.org/10.1667/RR3237.1>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

HOU, Y.; WANG, T.; DAN, X. et al. The role of microbiota in oral cancer prevention and treatment. *Microorganisms*, 2018, v. 6, n. 3. DOI: 10.3390/microorganisms6030073.

HOU, Y.; WANG, X.; ZHANG, Y.; CHENG, J. Oral microbiota in inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*, 2018, v. 9, p. 2372. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02372.

HUANG, J.; LI, X.; LIN, J.; et al. *Experimental chemotherapy-induced mucositis: a scoping review*. *International Journal of Molecular Sciences*, 7 dez. 2022, v. 23, n. 23, p. 15434. DOI: 10.3390/ijms232315434. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms232315434>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). *Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA).. Câncer de Cabeça e Pescoço: Dados e Estatísticas. *Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva*, 2023. Consultado em: 30 out. 2024. Disponível em:<<https://www.inca.gov.br>>. Acesso em: 15 ago. 2024.

KAO, T. C.; SHYU, M. H.; YEN, G. C. *Glycyrrhizic acid and 18 β -glycyrrhetic acid inhibit inflammation via PI3K/Akt/GSK3 β signaling and glucocorticoid receptor activation*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, v. 58, n. 15, p. 8623–8629. DOI: 10.1021/jf101977x. Disponível em:<<https://doi.org/10.1021/jf101977x>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

KAUFFMANN, P.; RIBEIRO, J.; LIMA, M. et al. Management of oral mucositis in patients undergoing cancer treatment. *Supportive Care in Cancer*, 2023, v. 31, n. 7, p. 35-42. DOI: 10.1007/s00520-023-07376-1.

KAWASHITA, Y.; FUNAHARA, M.; YOSHIMATSU, M.; NAKAO, N.; SOUTOME, S.; SAITO, T. et al. A retrospective study of factors associated with the development of oral candidiasis in patients receiving radiotherapy for head and neck cancer: is topical steroid therapy a risk factor for oral candidiasis? *Medicine (Baltimore)*, v. 97, n. 44, p. 13073, 2018.

KHAN, R. et al. Glycyrrhizic Acid suppresses the development of precancerous lesions via regulating the hyperproliferation, inflammation, angiogenesis and apoptosis in the colon of wistar rats. *Plos One*, v. 8, n. 2, p. e56020-e56041, 2013.

KIM, I. S.; YANG, M. R.; LEE, O. H.; KANG, S. N. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 12, n. 6, p. 4120-4131, 2011.

KONRADSEN, H.; KIRKEVOLD, M.; ZOFFMANN, V. *Surgical facial cancer treatment: the silencing of disfigurement in nurse-patient interactions*. *Journal of Advanced Nursing*, nov. 2009, v. 65, n. 11, p. 2409–2418. DOI: 10.1111/j.1365-2648.2009.05106.x. Disponível em:<<https://doi.org/10.1111/j.1365-2648.2009.05106.x>>. Acesso em: 20 mar. 2025.

KOOSHYAR, M. M.; MOSANNEN MOZAFARI, P.; AMIRCHAGHMAGHI, M.; PAKFETRAT, A.; KAROOS, P.; RASHED MOHASEL, M.; et al. *A randomized placebo-controlled double-blind clinical trial of quercetin in the prevention and treatment of chemotherapy-induced oral mucositis*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, fev. 2017, v. 11, n. 2, p. ZC01–ZC05. DOI: 10.7860/JCDR/2017/23975.9571. Disponível em:<<https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23975.9571>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

KOOSHYAR, M. M.; MOZAFARI, P. M.; AMIRCHAGHMAGHI, M.; PAKFETRAT, A.; KAROOS, P.; MOHASEL, M. R.; ORAFAI, H.; AZARIAN, A. A. A randomized placebo-controlled double blind clinical trial of quercetin in the prevention and treatment of chemotherapy-induced oral mucositis. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, v. 11, p. ZC46–ZC50, 2017.

KUMAR, N. Updated clinical guidelines on the oral management of oncology patients. *Faculty Dental Journal*, v. 2, p. 62-65, 2019.

LACERDA, G. E. Composição química, fitoquímica e dosagem de metais pesados das cascas das folhas secas e do gel liofilizado de *Aloe vera* cultivadas em hortas comunitárias da cidade de Palmas, Tocantins. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 23, p. 38-46, 2021.

LAKO, J.; TRENERRY, V. C.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, v. 101, n. 4, p. 1727-1741, 2007.

LALLA, R. V.; SAUNDERS, D. P.; PETERSON, D. E. Cancer treatment-induced oral mucositis: a comprehensive review of its pathophysiology, management, and prevention. *Nature Reviews Disease Primers*, 2023, v. 9, n. 1, p. 12. DOI: 10.1038/s41572-023-00715-4.

LALLA, R. V.; SONIS, P. T.; PETERSON, D. E. Management of oral mucositis in patients who have cancer. *Dent Clin North Am*, v. 52, n. 1, p. 61-77, 2008.

LEE, S. H. et al. Ameliorating effect of dipotassium glycyrrhizinate on an IL-4- and IL-13-induced atopic dermatitis-like skin-equivalent model. *Archives of Dermatological Research*, v. 311, p. 131-140, 2019. DOI: 10.1007/s00403-018-1883-z. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00403-018-1883-z>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

LEITE, C. D. S.; BONAFÉ, G. A.; PIRES, O. C.; WOOD DOS SANTOS, T.; PACCIULLI, G. P.; PEREIRA, J. A.; et al. *Dipotassium glycyrrhizinate improves skin wound healing by modulating inflammatory process*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 fev. 2023, v. 24, n. 4, p. 3839. DOI: 10.3390/ijms24043839. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms24043839>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

LOGAN, R. M.; STRINGER, A. M.; BOWEN, J. M.; GIBSON, R. J.; SONIS, S. T.; KEEFE, D. M. Serum levels of NF-kappaB and pro-inflammatory cytokines following administration of mucotoxic drugs. *Cancer Biology & Therapy*, v. 7, p. 1139-1145, 2008.

LOTFI, M.; HOSSEINI, M.; BAZYAR, R.; KHOSROSHAHI, M.; MIRAJ, S.; FAGHIH, S. *Protective effect of quercetin nanoemulsion on 5-fluorouracil-induced oral mucositis in mice*. *Journal of Oncology*, 27 jun. 2021, p. 5598230. DOI: 10.1155/2021/5598230. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2021/5598230>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

MACHIELS, J. P.; LEEMANS, C. R.; GOLUSINSKI, W. et al. Metastatic head and neck cancer: Status and future directions. *Annals of Oncology*, 2020, v. 31, n. 7, p. 1033-1045. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.04.022.

MANNS, M. P. et al. Glycyrrhizin in patients who failed previous interferon alpha-based therapies: biochemical and histological effects after 52 weeks. *Journal of Viral Hepatitis*, v. 19, n. 8, p. 537-546, 2012.

MARSH, P.; MARTIN, M. V.; LEWIS, M. A. O. *Oral microbiology*. London: Elsevier, 2016.

MARUR, S.; et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, 2015, v. 372, n. 15, p. 1478-1488. DOI: 10.1056/NEJMoa1506820.

MATYSIK, G.; WOJCIAK-KOSIOR, M.; PADUCH, R. The influence of *Calendula officinalis* extract on cell cultures and the chromatographic analysis of extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 38, n. 2, p. 285–292, 2005.

MEDICINA NET. *Câncer de Cabeça e Pescoço*, 2012. Disponível em:<<https://www.medicinanet.com.br/>>. Acesso em: 30 nov. 2022.

MENEZES, M.; COSTA, L.; PEREIRA, M. et al. Mucosite oral: prevenção e manejo. *Journal of Brazilian Oncology*, 2014, v. 10, n. 1, p. 14-23. DOI: 10.5935/1678-3912.20140007.

MIGLIORATI, C. A.; EPSTEIN, J. B.; ABT, E.; BERARDO, N. Oral mucositis in cancer therapy: effects, prevention, and management. *Supportive Care in Cancer*, 2021, v. 29, n. 9, p. 4751-4760. DOI: 10.1007/s00520-021-06161-4.

MOK, S. F.; KARUTHAN, C.; CHIANG, A. K. et al. The oral microbiome community variations associated with normal, potentially malignant disorders, and malignant lesions of the oral cavity. *Cancer Biomarkers*, 2017, v. 21, n. 2, p. 1-9. DOI: 10.3233/CBM-160561.

NAGPAL, M.; SOOD, S. Role of curcumin in systemic and oral health: An overview. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, v. 4, n. 1, p. 3, 2013.

NAIR, G. R.; NAIDU, G. S.; JAIN, S.; NAGI, R.; MAKKAD, R. S.; JHA, A. Clinical effectiveness of aloe vera in the management of oral mucosal diseases—A systematic review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 10, p. ZE01–ZE07, 2016.

NEGRIN, R. S. *Oral toxicity associated with chemotherapy*, 2021. Disponível em:<<https://www.uptodate.com/>>. Acesso em: 2 nov. 2022.

ONCOGUIA. *Brasil pode ter quase 120 mil novos casos de câncer de cabeça e pescoço até 2025*, 2023. Disponível em:<<https://www.oncoguia.org.br/conteudo/brasil-pode-ter-quase-120-mil-novos-casos-de-cancer-de-cabeca-e-pescoco-ate-2025/16477/7/>>. Acesso em: 23 set. 2024.

ONCOGUIA. *Mucosite*, 2023. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/>>. Acesso em: 9 nov. 2023.

ONCOGUIA. *Tipos de Câncer de Cabeça e Pescoço*, 2022. Disponível em:<<https://www.oncoguia.org.br/multimedia/quais-os-tipos-mais-incidentes-no-brasil/384/>>. Acesso em: 1 nov. 2023.

ONCOLOGIA AMÉRICAS. *Tipos de Câncer: Câncer de Cabeça e Pescoço*, 2022. Disponível em:<<https://www.americasoncologia.com.br/>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

ÖZYURT, H.; ÇEVİK, Ö.; ÖZGEN, Z.; et al. Quercetin protects radiation-induced DNA damage and apoptosis in kidney and bladder tissues of rats. *Free Radical Research*, v. 48, n. 10, p. 1247–

1255, 2014. DOI: 10.3109/10715762.2014.945925. Disponível em: <<https://doi.org/10.3109/10715762.2014.945925>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

PACHECO, Ingrid; LIMA, Verônica; SILVA, Mariana et al. Oral mucositis and cancer treatment: management and prevention. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 2023, v. 42, n. 1, p. 55. DOI: 10.1186/s13046-023-02425-6.

PATIL, K.; GULEDGUD, M. V.; KULKARNI, P. K.; KESHARI, D.; TAYAL, S. Use of curcumin mouthrinse in radio-chemotherapy induced oral mucositis patients: a pilot study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, v. 9, n. 8, p. ZC59, 2015.

PEREIRA, J. Toxicidade e efeitos adversos da cisplatina em terapias combinadas. *Journal of Oncology*, 2021, v. 45, n. 3, p. 210-219. DOI: 10.1016/j.jonc.2021.03.001.

PETERSON, D. E.; BOERS-DOETS, C. B.; BENSADOUN, R. J.; HERRSTEDT, J.; ESMO GUIDELINES COMMITTEE. Management of oral and gastrointestinal mucosal injury: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment, and follow-up. *Annals of Oncology*, Suppl. v. 5, p. 139-151, 2015.

PUGLIESE, L. S.; MEDRADO, A. P.; REIS, S. R.; ANDRADE, Z. A. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, v. 17, p. 307-313, 2003.

PULITO, C.; D'ANNEO, A.; PANZA, E.; CARUSO, M.; CATALANO, M.; et al. *Oral mucositis: the hidden side of cancer therapy — mechanisms and perspectives*. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2020, v. 39, p. 204. DOI: 10.1186/s13046-020-01715-7. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13046-020-01715-7>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

RAO, S.; DINKAR, C.; VAISHNAV, L. K.; RAO, P.; RAI, M. P.; FAYAD, R.; BALIGA, M. S. The Indian spice turmeric delays and mitigates radiation-induced oral mucositis in patients undergoing treatment for head and neck cancer: an investigational study. *Integrative Cancer Therapies*, v. 13, n. 3, p. 201-210, 2014.

RAUF, A.; IMRAN, M.; KHAN, I. A.; UR-REHMAN, M.; GILANI, S. A.; MEHMOOD, Z.; MUBARAK, M. S. *Anticancer potential of quercetin: a comprehensive review*. *Phytotherapy Research*, 2018, v. 32, n. 11, p. 2109–2130. DOI: 10.1002/ptr.6155. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ptr.6155>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

REHMAN, M. U. et al. Preclinical Evidence for the Pharmacological Actions of Glycyrrhizic Acid: A Comprehensive Review. *Current Drug Metabolism*, v. 21, p. 436–465, 2020. DOI: 10.2174/1389200221666200517142447.

REHMAN, M. U.; TAHIR, M.; KHAN, A. Q.; KHAN, R.; LATEEF, A.; ODAY, O. H.; et al. *Glycyrrhizic acid: a potent modulator of oxidative stress, inflammation and apoptosis in cancer therapy*. *Life Sciences*, 15 ago. 2020, v. 260, p. 118403. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118403. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118403>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

REYES-GIBBY, C. C.; WANG, J.; ZHANG, L.; PETERSON, C. B.; DO, K. A.; JENQ, R. R.; SHELBURNE, S.; SHAH, D. P.; CHAMBERS, M. S.; HANNA, E. Y.; et al. Microbioma oral e início da mucosite oral em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. *Cancer*, 2020, v. 126, p. 5124-5136. DOI: 10.1002/cncr.32852.

RIBEIRO, R. A.; COSTA, D. V.; LIMA-JÚNIOR, R. C.; NEVES, J. C.; MAGALHÃES, K. G.; BARBOSA, M. C.; et al. *Role of oxidative stress and apoptosis in chemotherapy-induced oral mucositis: pathogenesis and therapeutic opportunities*. *Oral Oncology*, 2019, v. 93, p. 76–82. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.04.004>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

RUBENSTEIN, E. B.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M.; KEEFE, D.; MCGUIRE, D.; EPSTEIN, J.; ELTING, L. S.; FOX, P. C.; COOKSLEY, C.; SONIS, S. T. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer*, v. 100, n. 9, Suppl., p. 2026-2046, 2004.

SALEHI, B. et al. Bioativos derivados de plantas em lesões orais da mucosa: uma ênfase fundamental na curcumina, licopeno, camomila, *Aloe vera*, chá verde e propriedades do café. *Biomolecules*, v. 9, n. 3, p. 106, 2019.

SANARMED. Câncer de Cabeça e Pescoço - Diagnóstico e Tratamento. *SanarMed*, 2023. Disponível em: <<https://www.sanarmed.com>>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SATTARI, M.; HASHEMI, M.; NAJARZADEH, A.; SHAHANI, S.; BARAZESH, M.; GHAFOORI, H. *Glycyrrhiza glabra extract for the prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in colorectal cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. *Clinical Nutrition*, 2019, v. 38, n. 5, p. 2340–2345. DOI: 10.1016/j.clnu.2018.11.034. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.11.034>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

SCHUURHUIS, J. M.; STOKMAN, M. A.; WITJES, M. J. H. et al. Head and neck cancer patients treated with radiotherapy: analysis of the oral microbiome and salivary proteins. *International Journal of Dentistry*, 2016, v. 2016, p. 1-10. DOI: 10.1155/2016/7314907.

SHIBATA, N.; SHIMOKAWA, T.; JIANG, Z.; JEONG, Y.; OHNO, T.; KIMURA, G.; YOSHIKAWA, Y.; KOGA, K.; MURAKAMI, M.; TAKADA, K. Characteristics of intestinal absorption and disposition of glycyrrhizin in mice. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, v. 21, p. 95–101, 2000. DOI: 10.1002/1099-081X(200004)21:3<95::AID-BDD221>3.0.CO;2-9.

SHIM, J. H.; KIM, J. H.; JEON, J. H.; JUNG, H. J.; PARK, H. J.; KIM, Y. H.; et al. *Anti-inflammatory properties of dipotassium glycyrrhizate in skin inflammation models*. *International Immunopharmacology*, 2013, v. 17, n. 3, p. 617–624. DOI: 10.1016/j.intimp.2013.05.002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.05.002>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

SIVASAKTHIVEL, T. et al. Glycyrrhizin induces apoptosis in prostate cancer cell lines DU-145 and 1NCAP. *Oncology Reports*, v. 20, n. 6, p. 1387-1392, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA DE CABEÇA E PESCOÇO. *Julho Verde*. Disponível em: <<https://sbccp.org.br/julho Verde/estimativa-de-cancer-de-cabeca-e-pescoco-para-2023/>>.

Acesso em: 18 jan. 2024.

SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer*, v. 4, n. 4, p. 277-285, 2004.

SONIS, S. T.; ELTING, L. S.; KEEFE, D.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M.; HAUER-JENSEN, M.; BEKELE, B. N.; RABER-DURLACHER, J.; DONNELLY, J. P.; RUBENSTEIN, E. B. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*, v. 100, n. 9 Suppl, p. 1995–2025, 2004.

SONIS, S. T.; ELTING, L. S.; KEEFE, D.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M.; HAUER-JENSEN, M.; BEKELE, B. N.; RABER-DURLACHER, J.; DONNELLY, J. P.; RUBENSTEIN, E. B. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*, v. 100, n. 9 Suppl, p. 1995-2025, 2004.

SROUSSI, H. Y.; EPSTEIN, J. B.; BENSADOUN, R. J. et al. The role of microbiota in the development of chemotherapy-induced oral mucositis. *Oral Oncology*, 2017, v. 71, p. 145-152. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2017.07.002.

ST. JUDE CHILDREN'S RESEARCH HOSPITAL. Cisplatin. *St. Jude Children's Research Hospital*, 2024. Disponível em: <<https://www.stjude.org>>. Acesso em: 30 out. 2024

STRINGER, A. M.; LOGAN, R. M. The role of oral flora in the development of chemotherapy-induced oral mucositis. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 2015, v. 44, n. 2, p. 81-87. DOI: 10.1111/jop.12200.

TOMKOVICH, S.; JOBIN, C. Microbiota and host immune responses: a love-hate relationship. *Immunology*, v. 147, n. 1, p. 1-10, 2016.

TROTTI, A. et al. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. *Radiotherapy and Oncology*, v. 66, p. 253-262, 2003.

TUA SAÚDE. Mucosite oral: o que é e como tratar. *Tua Saúde*, 2019. Disponível em: <<https://www.tuasaude.com/mucosite-oral/>>. Acesso em: 12 ago. 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. *Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. TelessaúdeRS (TelessaúdeRS-UFRGS) - O que é a mucosite bucal, quais são as principais causas em pacientes com câncer e como tratá-la?*. Disponível em <<https://www.ufrgs.br/>>. Acesso em: 4 out. 2022.

VADHAN-RAJ, S.; TRENT, J.; PATEL, S. Management of mTOR inhibitor-associated stomatitis. *Journal of Clinical Oncology*, 2023, v. 41, n. 2, p. 123-31. DOI: 10.1200/JCO.22.00459.

VANHOECKE, B.; RYCK, T.; STRINGER, A.; VAN DE WIELE, T.; KEEFE, D. Microbiota and their role in the pathogenesis of oral mucositis. *Oral Diseases*, v. 21, n. 1, p. 17-30, 2015.

VARONI, E. M.; LODI, G.; SARDELLA, A.; CARRASSI, A.; IRITI, M. Plant polyphenols and oral health: Old phytochemicals for new fields. *Current Medicinal Chemistry*, v. 19, p. 1706–1720, 2012.

VENESS, M. J. et al. Use of topical misoprostol to reduce radiation-induced mucositis: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Australasian Radiology*, v. 50, p. 468-474, 2006.

VIDAL-CASARIEGO, A.; FERNÁNDEZ-NATAL, I.; CALLEJA-FERNÁNDEZ, A.; PARRAS-PADILLA, T.; CANO-RODRÍGUEZ, I.; PRIETO-ALONSO, B. et al. Nutritional, microbiological, and therapeutic factors related to mucositis in head and neck cancer patients: a cohort study. *Nutrición Hospitalaria*, v. 32, p. 1208-1213, 2015.

VITALI, R. et al. Dipotassium glycyrrhizate inhibits hmgb1-dependent inflammation and ameliorates colitis in mice. *Plos One*, v. 8, p. e66527, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066527. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066527>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

VITALI, R.; PALONE, F.; CUCCHIARA, S.; NEGRONI, A.; CAVONE, L.; et al. Dipotassium glycyrrhizate inhibits HMGB1-dependent inflammation and ameliorates colitis in mice. *PLoS One*, 2013, v. 8, n. 6, e66527. DOI: 10.1371/journal.pone.0066527. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066527>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

VOLPATO, L. E.; et al. Mucositis: molecular mechanisms and management. *Mol Cancer Ther*, v. 6, p. 3122-3130, 2007.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. *Cellular processing of platinum anticancer drugs*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, v. 4, n. 4, p. 307–320. DOI: 10.1038/nrd1691. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrd1691>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

WANG, J.; ZHANG, Y. Y.; CHENG, J.; ZHANG, J. L.; LI, B. S. Preventive and therapeutic effects of quercetin on experimental radiation induced lung injury in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 16, n. 7, p. 2909–2914, 2015. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.7.2909. Disponível em: <<https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.7.2909>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *WHO handbook for reporting results of cancer treatment*. Geneva: World Health Organization, 1979.

XU, Y.; TENG, F.; HUANG, S.; LIN, Z.; YUAN, X.; ZENG, X. et al. Changes of saliva microbiota in nasopharyngeal carcinoma patients under chemoradiation therapy. *Archives of Oral Biology*, v. 59, n. 2, p. 176-186, 2014.

YANG, C. Y.; YEH, Y. M.; YU, H. Y. et al. Oral microbiota community dynamics associated with oral squamous cell carcinoma staging. *Frontiers in Microbiology*, 2018, v. 9, p. 862. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00862.

YANG, K. W.; LI, R. X.; YANG, Z. L.; LI, P. Z.; WANG, F.; LIU, Y. Novel polyion complex micelles for liver-targeted delivery of diammonium glycyrrhizinate: in vitro and in vivo

characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 88, n. 1, p. 140-148, 2009.

YANG, Y.; WANG, J.; LI, Y.; et al. MicroRNA-155 regulates the inflammatory response in oral mucositis. *J Dent Res.*, 2018, v. 97, n. 11, p. 1233-1240. DOI: 10.1177/0022034518770340.

ZHANG, J.; HONG, Y.; LIUYANG, Z.; LI, H.; JIANG, Z.; TAO, J.; LIU, H.; XIE, A.; FENG, Y.; DONG, X.; WANG, Y.; DONG, Q.; WANG, G. Quercetin prevents radiation-induced oral mucositis by upregulating BMI-1. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 27 nov. 2021, p. 2231680. DOI: 10.1155/2021/2231680. Disponível em: < <https://doi.org/10.1155/2021/2231680> >. Acesso em: 03 fev. 2025.

ZHAO, L.; HU, Y.; LIANG, X.; et al. MicroRNA-146a modulates the inflammatory response in a mouse model of oral mucositis. *Cancer Letters*, 2017, v. 400, p. 169-176. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.04.018.

ZHU, X.; WANG, Y.; SUN, J. et al. Oral microbiota: a new view on the development and progression of oral cancer. *Journal of Oral Microbiology*, 2017, v. 9, n. 1, p. 1279339. DOI: 10.1080/20002297.2017.1279339.

ZWICKER, P. et al. Eficácia antisséptica de dois enxaguantes bucais na cavidade oral para identificar uma solução de enxágue adequada na mucosite induzida por radiação ou quimioterapia. *BMC Oral Health*, v. 23, n. 1, p. 176, 2023. DOI: 10.1186/s12903-023-02884-5.

ANEXO I: Bula do composto Cisplatina.**C-Platin[®]**

Blau Farmacêutica S.A.
Solução injetável
1 mg/mL e 0,5 mg/mL



MODELO DE BULA PROFISSIONAL DE SAÚDE RDC 47/09

C-PLATIN®
cisplatina

APRESENTAÇÕES

Embalagem contendo frasco-ampola com 10 mg de cisplatina em 20 mL de solução injetável (0,5 mg/mL).
Embalagem contendo frasco-ampola com 50 mg de cisplatina em 100 mL de solução injetável (0,5 mg/mL).
Embalagem contendo frasco-ampola com 50 mg de cisplatina em 50 mL de solução injetável (1 mg/mL).
Embalagem contendo frasco-ampola com 100 mg de cisplatina em 100 mL de solução injetável (1 mg/mL).

VIA DE ADMINISTRAÇÃO: INTRAVENOSA

USO ADULTO E PEDIÁTRICO

COMPOSIÇÃO

Cada frasco-ampola de 10 mg contém:

cisplatina.....10 mg
veículo (cloreto de sódio, ácido clorídrico, hidróxido de sódio e água para injetáveis) q.s.p.....20 mL

Cada frasco-ampola de 50 mg contém:

cisplatina.....50 mg
veículo (cloreto de sódio, ácido clorídrico, hidróxido de sódio e água para injetáveis) q.s.p.....100 mL

Cada frasco-ampola de 50 mg contém:

cisplatina.....50 mg
veículo (cloreto de sódio, ácido clorídrico, hidróxido de sódio e água para injetáveis) q.s.p.....50 mL

Cada frasco-ampola de 100 mg contém:

cisplatina.....100 mg
veículo (cloreto de sódio, ácido clorídrico, hidróxido de sódio e água para injetáveis) q.s.p.....100 mL

D) INFORMAÇÕES TÉCNICAS AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE

1. INDICAÇÕES

Tumores Metastáticos de Testículo

A cisplatina está indicada na poliquimioterapia estabelecida com outros agentes aprovados, em pacientes portadores de tumores metastáticos de testículo que já se submeteram ao tratamento cirúrgico e/ou radioterápico apropriados.

Tumores Metastáticos de Ovário

A cisplatina está indicada em combinações terapêuticas estabelecidas com outros agentes quimioterapêuticos aprovados, em pacientes portadoras de tumores metastáticos de ovário, já submetidas a procedimentos cirúrgicos e/ou radioterapêutico apropriados. A cisplatina como agente isolado é indicada como terapia secundária em pacientes portadores de tumores ovarianos metastáticos refratários à quimioterapia padrão, que não tenham sido previamente tratados com cisplatina.

Câncer Avançado de Bexiga

A cisplatina está indicada como agente único em pacientes portadores de câncer de células de transição da bexiga não mais sensível a tratamentos locais, tais como cirurgia e/ou radioterapia.

Carcinomas Espino-celulares de Cabeça e Pescoço



A cisplatina está indicada em combinação quimioterapêutica com outros agentes aprovados, em pacientes portadores de carcinomas espino-celulares de cabeça e pescoço, como um adjunto aos procedimentos cirúrgico e/ou radioterapêutico apropriados.

2. RESULTADOS DE EFICÁCIA

Tumores metastáticos do testículo: Popadiuk et al. (2006) analisaram um estudo multicêntrico realizado desde 1998 envolvendo 31 meninos de um mês a 18 anos de idade (média de 14 anos) com tumores testiculares malignos. Quatro desses pacientes foram excluídos da análise, uma vez que três já haviam sido tratados e um morreu no segundo dia de hospitalização. Vinte e sete meninos foram submetidos à cirurgia (orquiectomia), nas quais 26 foram primárias (81% completas) e três secundárias (100% completas). Do total dos pacientes 33% não receberam quimioterapia após a cirurgia, em 41% foi administrado o protocolo de tratamento vimblastina, bleomicina e cisplatina e em 26% o protocolo de tratamento etoposídeo, ifosfamida e cisplatina. Dois pacientes também receberam o protocolo adriamicina, bleomicina e carboplatina. Dentre as 26 crianças com tumores de células germinativas, 25 (96%) permaneceram vivas e 23 (88%) apresentaram primeira remissão após o término do tratamento. Uma criança faleceu devido à metástase do sistema nervoso central. Duas crianças tiveram recorrência local tratadas com quimioterapia ou cirurgia com bons resultados. A média de acompanhamento foi de 45 meses. A eficácia e toxicidade de terapia utilizando etoposídeo e cisplatina em pacientes com tumores metastáticos de células germinativas foram investigadas por Shintaku et al. (2002). O estudo envolveu 18 pacientes com tumores metastáticos de células germinativas (seis seminomas e 12 não seminomas, estágio II 8, estágio IIIA 2, estágio IIIB 6, estágio IIIC 2) tratados com três a cinco ciclos de indução com regime etoposídeo e cisplatina. Foram administrados 100 mg/m² de etoposídeo e 20 mg/m² de cisplatina nos dias 1 a 5 e repetido a partir do dia 21. Depois da obtenção de níveis normais dos marcadores tumorais, foram realizados um ou dois ciclos adicionais de etoposídeo e cisplatina. Ao final do tratamento, quatro dos 18 pacientes (22%) alcançaram remissão completa e 14 pacientes (78%), remissão parcial. Destes últimos, sete foram tratados com excisão dos tumores residuais e alcançaram remissão

Blau Farmacêutica S/A.

ANEXO II: Certificado de análise da linhagem Fadu.

	AUTHENTICITY TEST REPORT N° STR/007.18 - Release 00
CLIENT'S DATA	
Institution: Faculdade de Ciências Médicas Address: Rua Vital Brasil, n° 50 – Zip code: 13083-888 City: São Paulo - SP Name / E-mail: Ericka Costa/erickadiascosta@yahoo.com.br	
SAMPLE	
FaDu - Lote: 000790 Código BCRJ: 0301	
TEST METHODOLOGY	
STR (Short Tandem Repeats)	
FINAL RESULT FOR SAMPLE	
Amelogenin: None detected D2S1338: 19 D19S433: 14,16 CSF1PO: 12 TPOX: 11 TH01: 8 vWA: 15, 17 D16S539: 11 D7S820: 11, 12 D13S317: 8, 9 D5S818: 12 FGA: 25 D18S51: 16,21 D21S11: 31,2	
COMMENTS	
The test result refers only to the sample analyzed in this report. This report can only be reproduced in full. The partial reproduction requires authorization from BCRJ.	
	
Antonio Martins Monteiro Curator of Banco de Células do Rio de Janeiro Authorized signatory Duque de Caxias, June 12, 2018.	
Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) - Associação Técnico-Científica Paul Ehrlich (APABCAM) - CNPJ 03.053.589/0001-84 Avenida Nossa Senhora das Graças nº50 - Parque Tecnológico de Xerém - Prédio 32 - Xerém - Duque de Caxias - RJ - CEP 25.250-020 Tel. / Fax. Administração 55 21 2145.3338 - Laboratório 2145.3337 - E-mail: bcrj@bcrj.org.br - HP: http://www.bcrj.org.br FOR.PR.065.3 - Revisão 00 - Página 1/1	

ANEXO III: Certificado de análise da linhagem SSC25.

	CERTIFICADO DE ANÁLISE DE CÉLULAS EM CULTURA
---	---

Dados da célula

Código BCRJ	BCRJ 0194
Nome da célula	SCC-25
Nível de biossegurança	1
Número do lote	001337
Passagem	75
Apresentação	Garrafa de 25 cm ²
Data sheet	https://bcry.org.br/celula/scc-25/

Testes realizados

Testes	Resultados
Propriedade de crescimento	Aderente
Morfologia	Epitelial
Avaliação da presença de Micoplasma (Método bioluminescência – Kit Myco Alert Plus - Lanza)	Negativo
Teste esterilidade (TSB E Tioglicolato)	Negativo
Autenticidade (Método STR (Short Tandem Repeats))	Amelogenin: X CSF1PO: 10 D13S317: 13 D16S539: 11,12 D5S818: 12 D7S820: 12 TH01: 8 TPOX: 8,12 vWA: 17,19

Observações:

Esses resultados se referem apenas a célula e lote especificado.

O BCRJ declara e garante que o material fornecido neste certificado foi submetido aos testes e procedimentos especificados e que os resultados descritos, juntamente com quaisquer outros dados fornecidos neste certificado, são verdadeiros e corretos de acordo com os testes realizados.

Para mais informações, entre em contato com bcr@bcry.org.br


Duque de Caxias, 27 de novembro de 2023.



Antonio Martins Monteiro
Curador do BCRJ

Associação Técnico-Científica Paul Ehrlich (APABCAM) - CNPJ 03.053.589/0001-84
Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ)
Avenida Nossa Senhora das Graças nº 50 - Prédio 32 - PTX - Vila Nossa Senhora das Graças - Duque de Caxias - RJ - CEP 25.250-020
Tel./Fax. 55 21 2145.3337 - E-mail: bcrj@bcry.org.br - HP: <http://www.bcry.org.br>

ANEXO IV: Certificado de análise da linhagem HaCat.

	CERTIFICADO DE ANÁLISE DE CÉLULAS EM CULTURA
---	---

Dados da célula

Código BCRJ	BCRJ 0341
Nome da célula	HaCaT
Nível de biossegurança	1
Número do lote	001463
Passagem	47
Apresentação	Garrafa de 25 cm ²
Data sheet	https://bcry.org.br/celula/hacat/

Testes realizados

Testes	Resultados
Propriedade de crescimento	Aderente
Morfologia	Queratinócito
Avaliação da presença de Micoplasma (<i>Método bioluminescência – Kit Myco Alert Plus - Lanza</i>)	Negativo
Teste esterilidade (<i>TSB E Tioglicolato</i>)	Negativo
Autenticidade (Método STR (Short Tandem Repeats))	Amelogenin: X CSF1PO: 9,11 D13S317:10,12 D16S539:9,12 D21S11: 28, 30.2 D5S818:12 D7S820:9,11 TH01:9.3 TPOX:11,12 vWA: 16,17

Observações:

Esses resultados se referem apenas a célula e lote especificado.

O BCRJ declara e garante que o material fornecido neste certificado foi submetido aos testes e procedimentos especificados e que os resultados descritos, juntamente com quaisquer outros dados fornecidos neste certificado, são verdadeiros e corretos de acordo com os testes realizados.

Para mais informações, entre em contato com bcr@bcry.org.br

Duque de Caxias, 27 de setembro de 2023.



Antonio Martins Monteiro

Associação Técnico-Científica Paul Ehrlich (APABCAM) - CNPJ 03.053.589/0001-84
 Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ)
 Avenida Nossa Senhora das Graças nº 50 - Prédio 32 - PTX - Vila Nossa Senhora das Graças - Duque de Caxias - RJ - CEP 25.250-020
 Tel./Fax. 55 21 2145.3337 - E-mail: bcrj@bcry.org.br - HP: <http://www.bcry.org.br>