

Dottorato di ricerca in Oncologia e Chirurgia Sperimentali
(Curriculum: Scienze stomatologiche e Chirurgia cervico-facciale)
XXXII Ciclo - Progetto di ricerca Dr. Francesco Seidita

Titolo specifico del progetto di ricerca

Studio clinico sulle formulazioni mucoadesive a rilascio modificato per il trattamento del Lichen Planus Orale sintomatico

Background

Il Lichen Planus è un disordine ad andamento cronico immuno-mediato dell'epitelio squamoso stratificato a eziologia incerta, che colpisce le membrane mucose orali e genitali, la cute e le unghie. La localizzazione orale della patologia, denominata Lichen Planus Orale (LPO), è molto frequente rispetto alle altre sedi mucose e cutanee e, spesso (70%), rappresenta l'unica manifestazione clinica del disordine (Gorouhi et al. 2007).

Si stima che la patologia interessi tra lo 0,5% e il 4% (Shetty RR et al. 2016) della popolazione generale, con una maggiore frequenza tra i 40 e i 60 anni e nel sesso femminile (F=65%; M=35%).

La patogenesi è legata a un'alterazione degli antigeni dei cheratinociti, da cause eziologiche non ancora chiarite, cui segue la migrazione delle cellule di Langherans ai linfonodi con presentazione ai linfociti T citotossici (afferenza). I linfociti T, una volta attivati, migrano a loro volta in sede mucosale basale determinando un danno cellulare.

Clinicamente il LPO ha una presentazione eterogenea e la bilateralità e la simmetria delle lesioni sono segni patognomonici. Le principali forme cliniche sono: reticolare, erosivo e a placca. La forma reticolare è la più frequente, si presenta tipicamente nel terzo posteriore della mucosa geniena e si caratterizza per la presenza di strie bianche (Strie di Wickham) su mucosa, talvolta, iperemica. La forma erosiva è meno comune ma sintomatica: si presenta con aree atrofiche ed eritematose, con una zona erosiva o ulcerativa centrale e i contorni della lesione presentano delle strie bianche. In caso di aggravamento della componente erosivo-ulcerativa, può esserci una separazione epiteliale con la configurazione della forma di LPO bollosa. La forma a placca si può presentare in qualsiasi zona della mucosa orale ed è simile alla leucoplachia.

Il trattamento del LPO è previsto per le forme sintomatiche e si basa sulla prescrizione di cortisonici topici e, meno frequentemente, sistemici. Il clobetasolo propionato è uno dei più potenti corticosteroidi per uso topico e ha dimostrato particolare efficacia sulle lesioni attive (remissione completa nel 56-75% dei casi - Carbone et al. 2009). Ad oggi, le formulazioni proposte sono soluzioni acquose, paste, gel e unguenti adesivi; queste sono, spesso, formulazioni per uso dermatologico che vengono "adattate" all'utilizzo intraorale. La loro applicazione presenta, infatti, alcuni difetti: difficoltà nell'applicazione in ambiente orale (legata alle peculiarità di quest'ultimo), indeterminatezza del quantitativo somministrato (difficoltà nel dosaggio dei preparati da parte del paziente), dispersione del farmaco in sedi diverse (presenza della clearance salivare e scarsa adesione ai tessuti), limitato tempo di contatto con la sede interessata (clearance salivare, possibile ingestione ed effetti collaterali sistemici). La terapia corticosteroidica a lungo termine, indispensabile per il trattamento della patologia cronica, presenta, inoltre, dei noti effetti collaterali quali: riduzione delle difese immunitarie locali con possibili sovrainfezioni (e.g. candidosi), disgeusia, xerostomia e nausea.

Si registrano nel settore farmaceutico vari presidi con formulazioni specifiche per il cavo orale, in grado di veicolare il clobetasolo in quantità e velocità controllate (formulazioni a rilascio modificato), al fine di migliorare l'applicabilità del farmaco e ridurre al minimo i suoi possibili effetti collaterali. Questi sistemi consentono un controllo sul quantitativo di farmaco somministrato, eliminando così eventuali sovra o sotto dosaggi e riducendo gli eventuali effetti indesiderati. Nello specifico sembra essere particolarmente promettente la somministrazione per via transmucosa (*Oral Transmucosal Drug Delivery - OTDD*). L'utilizzo di un sistema per la OTDD, qual è un patch mucoadesivo a rilascio modificato, permetterebbe una somministrazione quantitativamente controllata del farmaco e concentrata esclusivamente sulla sede target, senza dispersioni. Il patch, resistendo alla clearance salivare, fornirebbe un maggiore tempo di contatto tra farmaco e mucosa, riducendo così la frequenza di somministrazione e potenziando l'efficacia del trattamento a parità di dosi. Questa formulazione permetterebbe inoltre una più facile auto somministrazione da parte del paziente, aumentando così la *compliance* e l'*adherence* alla terapia.

Obiettivo primario:

Determinazione dell'efficacia terapeutica del Clobetasolo Propionato in formulazione di patch mucoadesivo contenente 0.2 mg/cm² di principio attivo, in pazienti con LPO sintomatico.



Obiettivi secondari:

- Valutazione della qualità della vita (*Quality of Life* - QoL) dei pazienti prima e dopo la terapia
- Determinazione del grado di *compliance* e *adherence* alla formulazione patch
- Valutazione delle capacità mucoadesive del patch.

MATERIALI E METODI

Pazienti:

Presso l'U.O. di Medicina Orale dell'A.O.U.P. "P. Giaccone" di Palermo saranno arruolati, tra i pazienti afferenti all'ambulatorio, 60 soggetti che rispettino i seguenti criteri:

- Criteri di inclusione:
 - Età \geq 18 anni
 - Diagnosi clinica di LPO (variante clinica atrofico-erosiva)
 - Diagnosi di conferma istologica di LPO, sulla base dei criteri WHO (Eisenberg E et al. 2000)
 - Presenza di sintomatologia correlabile al LPO
 - Presenza di un massimo di 3 lesioni concomitanti
 - Assenza di terapie pregresse per LPO
 - Accettazione del consenso informato
- Criteri di esclusione:
 - Quadri clinici troppo estesi
 - Diagnosi di lesioni lichenoidi associate a materiali restaurativi e/o farmaci
 - Assunzione pregressa di cortisonici sistemici o topici
 - Assunzione di corticosteroidi sistemici o immunosoppressori sistemici per patologia concomitante
 - Stato di gravidanza e/o allattamento

Study Design:

Randomized Controlled Trial (RCT) – Studio con controlli positivi e disegno a gruppi paralleli, in singolo cieco (osservatore finale).

Dopo l'approvazione da parte del Comitato Etico locale, tutti i pazienti dovranno accettare un consenso informato specifico.

I pazienti non esclusi saranno distribuiti in maniera randomizzata in due gruppi: il gruppo Test (T) e il gruppo Controllo (C). Entrambi i gruppi riceveranno una terapia a base di Clobetasolo propionato: il gruppo T sarà trattato, previa istruzione al corretto utilizzo, con il patch mucoadesivo (0.19mg/cm²), il gruppo C sarà invece trattato con la formulazione classica di Clobetasolo propionato 0,05% in microemulsione.

Il metodo di generazione della sequenza di randomizzazione sarà la *Blocked Randomisation*, con rapporto 1:1 e blocchi da 2, 4 e 6, utilizzando una tabella di randomizzazione a numeri casuali generata al computer. L'allocazione dei pazienti prevedrà l'utilizzo di buste opache sigillate con numerazione progressiva (*SNOSE Technique*), assegnando così 30 soggetti al gruppo T e 30 al gruppo C. I pazienti così suddivisi saranno arruolati e potranno iniziare il protocollo terapeutico previsto dal trial.

Il personale che svolgerà la valutazione finale, diverso da chi fornirà le istruzioni e i protocolli di terapia, sarà all'oscuro del tipo di trattamento seguito dai soggetti, potendo quindi eseguire una valutazione in cieco. Il *Blinding* sui pazienti non è stato considerato poiché seguiranno due diverse vie di somministrazione dello stesso farmaco, rendendo impossibile mascherare le differenze tra i due gruppi.

In caso di *drop out* durante le fasi successive dello studio, sarà considerata una nuova fase di arruolamento, rispettando i criteri elencati, entro e non oltre i 6 mesi successivi dall'inizio del trial.

Protocollo di trattamento:

I pazienti del gruppo T saranno trattati con l'utilizzo di patch mucoadesivi a rilascio modificato, contenenti 0.19mg/cm², da applicare sulla sede di ogni lesione sintomatica 1/die per 15 giorni. Nel caso in cui il patch perda aderenza entro 30 minuti, il paziente sarà istruito alla sua sostituzione, così da assicurare una terapia continuativa. I pazienti del gruppo C saranno trattati con una preparazione galenica a base di Clobetasolo propionato 0,05% da applicare 2/die per 15 giorni e 1/die per 15 giorni, su mucosa asciutta



Durante la terapia, entrambi i gruppi saranno sottoposti a sciacqui per due volte al giorno, con collutorio senza alcol, a base di Clorexidina Gluconato 0,12%. Inoltre, sarà seguita dai pazienti una dieta selettiva, così da evitare cibi irritanti per le mucose.

Acquisizione dati:

Per ogni paziente saranno acquisiti i dati clinici, le immagini fotografiche della/e lesione/i con l'ausilio di un repere millimetrato a L (Tenore G et al. 2016), le scansioni OCT (se la sede della lesione permette l'accesso alla sonda), e i parametri utili per la valutazione degli obiettivi al momento dell'arruolamento (T0), dopo 30 giorni dall'inizio della terapia (T1) e dopo 30 giorni, ovvero dopo 2 mesi dal momento T0, dal completamento della terapia (T2).

Per il raggiungimento dell'obiettivo primario saranno valutati i seguenti parametri:

1. *Numeric Analogue Scale* (NAS) lineare, con range 0-10, per la valutazione del dolore. I pazienti saranno invitati a segnare, su una linea orizzontale marcata da 0 a 10 (dove 0=assenza di dolore; 10=dolore più forte mai provato), la loro percezione del dolore.
2. *Grading* clinico: 0= assenza di lesione, 1= presenza di strie bianche, 2= presenza di strie bianche ed erosione $\leq 1 \text{ cm}^2$, 3= presenza di strie bianche ed erosione $\geq 1 \text{ cm}^2$, 4= presenza di strie bianche ed ulcerazione $\leq 1 \text{ cm}^2$, 5= presenza di strie bianche ed ulcerazione $\geq 1 \text{ cm}^2$ (Kalikatsou F et al. - 2002). La misurazione verrà effettuata con l'ausilio delle rilevazioni fotografiche e del repere a L descritto da Tenore G et al. 2016.
3. Indice di risoluzione clinica modificato (Carrozzo M et al. - 1999), rilevato a T2, secondo il quale si considerano tre valori nominali: completa, parziale, assente. In questo indice al valore "Completa" corrisponde una totale remissione della sintomatologia e delle lesioni, al valore "assente" una persistenza, o un peggioramento di questi.

La completa remissione è definita sia dalla scomparsa clinica delle lesioni atrofico-erosive, senza considerare eventuale persistenza delle lesioni ipercheratosiche, che dalla completa risoluzione dei sintomi, equivalente a un valore 0 su scala NAS.

Per il raggiungimento degli obiettivi secondari, saranno considerati i seguenti parametri:

- *Oral Health Impact Profile* con 14 quesiti (OHIP-14 - Corridore D et al. 2013). Questo strumento misura l'impatto che ha la salute orale dei pazienti sulla loro percezione di benessere generale. Ad ognuno dei 14 quesiti il paziente potrà rispondere con un punteggio da 0 a 4, dove: 0=Mai, 1=Quasi mai, 2=Ogni tanto, 3=Quasi sempre, 4=Sempre. Il massimo punteggio di 56 evidenzierà la peggiore Qualità di Vita possibile. L'OHIP-14 sarà somministrato a T0 e T2.
- Questionario dedicato alla valutazione della *compliance* e *adherence* alla terapia sperimentale, somministrato al solo gruppo Test a fine terapia (T1), che comprenderà i seguenti quesiti:
 1. "Ha rispettato la prescrizione di applicazione del patch?" Si/No
 2. "Ha avuto difficoltà nell'applicare il patch che le abbiamo consegnato?" Sempre/Quasi sempre/Ogni tanto/Quasi mai/Mai
 3. "Ha avvertito alterazioni del gusto?" Si/No - "Se sì quali?" Dolce/Amaro/Salato
 4. "Ha avvertito disturbi orali a suo parere correlati al patch (bruciore, formicolii)?" Si/No
- Quesito integrativo al questionario *compliance/adherence*, per la valutazione dell'adesività del patch:
 1. "Dopo quanto tempo ha osservato il distacco del patch?" < 2 ore/ tra 2 e 4 ore/ > 4 ore

Analisi Statistica

Il numero del campione è stato scelto in base a pubblicazioni precedenti su RCT relativi al LPO.

I dati di tipo quantitativo-discreto (età, NAS, *grading* clinico, OHIP-14) saranno espressi in medie con relative deviazioni standard e saranno confrontati utilizzando il Test U di Mann-Whitney. Le variabili qualitative (sesso, indice di risoluzione clinica, questionario *compliance/adherence* e sua integrazione) saranno confrontate utilizzando il Test χ^2 . L'analisi statistica dei dati raccolti sarà eseguita mediante pacchetto software StataMP ver. 11.0 (StataCorp LP, College Station, TX).

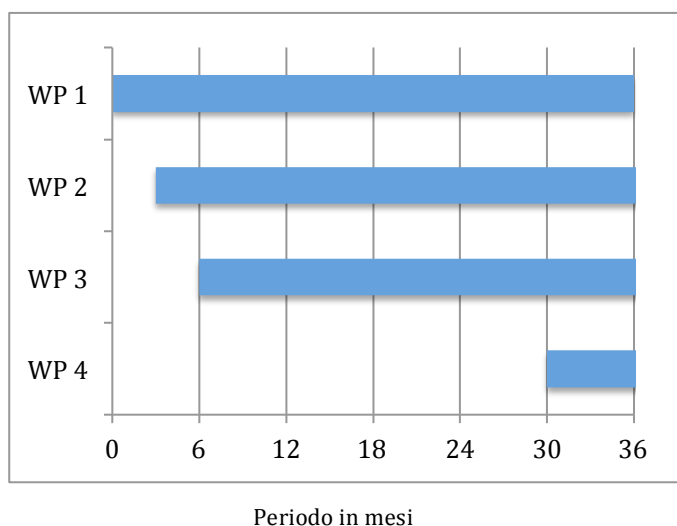


Fasi di lavoro

Le fasi di lavoro che saranno seguite durante il periodo di 36 mesi sono divise in *Work Packages* (WP), ognuno dei quali si articola in più Step:

- WP1: Fase di studio
 - Step 1: Coordinamento del progetto e redazione di un diario di ricerca
 - Step 2: Ricerca bibliografica su *PubMed*, riguardante la terapia topica del LPO e la OTDD (Parole chiave: *Oral lichen planus treatment, transmucosal drug delivery, oral transmucosal drug delivery, erosive oral lichen planus*).
- WP2: Fase di studio e clinica
 - Step 1: Aggiornamento continuo della letteratura scientifica mediante ricerca bibliografica su *PubMed*, riguardante la terapia topica del LPO e la OTDD.
 - Step 2: Esecuzione di prime visite ai pazienti afferenti all'ambulatorio, verifica dei criteri di inclusione ed esclusione ed esame bioptico ai fini di confermare la diagnosi di LPO
 - Step 3: Arruolamento dei pazienti e allocazione nei gruppi T e C
 - Step 4: Acquisizione dati clinici e strumentali iniziali a T0:
 - *Grading* clinico
 - Rilevazione di immagini fotografiche delle lesioni
 - Indagine strumentale OCT
 - Somministrazione di NAS per la valutazione della sintomatologia dolorosa
 - Somministrazione OHIP-14
 - Step 5: Prescrizione della terapia con Clobetasolo, differenziata in base al gruppo di appartenenza
- WP3: Fase clinica di follow-up
 - Step 1: Controllo a fine terapia (30 giorni) a T1: Acquisizione dati clinici e strumentali (come da WP2/T2, esclusa somministrazione di OHIP-14)
 - Step 2: Controllo a 60 giorni a T2: Acquisizione dati clinici e strumentali (come da WP2/T2) e rilevazione dell'indice di risoluzione clinica
 - Step 2: Raccolta dati
- WP4: Analisi dei dati raccolti
 - Step 1: Elaborazione statistica dei dati raccolti
 - Step 2: Confronto tra i due gruppi (Test e Controllo) di dati elaborati

Grafico delle fasi operative e tabella *milestones*



Milestones	Work Packages	Punti di Verifica
I Semestre	WP1-WP2	Aggiornamento letteratura Inizio reclutamento pz
II Semestre	WP2-WP3	Aggiornamento letteratura Reclutamento pz e raccolta dati
III Semestre	WP2-WP3	Aggiornamento letteratura Reclutamento pz e raccolta dati
IV Semestre	WP2-WP3	Aggiornamento letteratura Reclutamento pz e raccolta dati
V Semestre	WP3-WP3	Aggiornamento letteratura Raccolta dati
VI Semestre	WP4-WP5	Analisi dei dati e <i>submission</i> articoli scientifici Divulgazione in ambito nazionale e internazionale

Stefano...

Risultati attesi

WP1	<ul style="list-style-type: none">• Redazione di un diario di ricerca• Revisione della letteratura sul trattamento del LPO e sulla <i>Transmucosal Drug Delivery</i>
WP2	<ul style="list-style-type: none">• Aggiornamento continuo della letteratura• Reclutamento di 60 pazienti e loro suddivisione randomizzata in gruppi T e C• Creazione di archivio fotografico dedicato• Creazione di archivio immagini OCT dedicato• Elaborazione dei dati estrapolati
WP3	<ul style="list-style-type: none">• Completamento dei dati
WP4	<ul style="list-style-type: none">• Analisi statistica e confronto statisticamente significativo

Conclusioni

Il LPO è una patologia che colpisce tra lo 0,5% e il 4% della popolazione generale. Il dolore e il discomfort provocati da questa patologia interferiscono con le normali funzioni del cavo orale (masticazione, deglutizione, fonazione) e pertanto la patologia può essere associata a una riduzione della qualità di vita dei pazienti, soprattutto in caso di lesioni erosive e ulcerative (Shetty RR et al. 2016). La terapia *first line* è rappresentata dall'utilizzo di corticosteroidi topici, che possono presentare effetti collaterali. La somministrazione transmucosale del Clobetasolo propionato potrebbe garantire il rilascio topico del farmaco in modo controllato, focalizzato ed eventualmente personalizzabile in base alle necessità del singolo paziente e alla fase clinica della patologia. Inoltre l'utilizzo del patch mucoadesivo potrebbe aumentare i livelli di *compliance* e *adherence* alla terapia, in virtù di una facile applicabilità del dispositivo e della riduzione degli effetti indesiderati, correlabile alla minore (possibilmente assente) dispersione del farmaco in sedi diverse da quella target. Lo sviluppo di un trial clinico per valutare l'effettiva efficacia di tale formulazione permetterebbe di ampliare il ventaglio terapeutico per il LPO con una nuova modalità di somministrazione e di definirne schemi terapeutici specifici.

Bibliografia:

- Bagan, J., et al., Topical therapies for oral lichen planus management and their efficacy: a narrative review. *Curr Pharm Des*, 2012. 18(34): p. 5470-80.
- Campisi G. et al., A new delivery system of clobetasol-17-propionate (lipid-loaded microspheres 0.025%) compared with a conventional formulation (lipophilic ointment in a hydrophilic phase 0.025%) in topical treatment of atrophic /erosive oral lichen planus. A Phase IV, randomized, observer-blinded, parallel group clinical trial, *Br. J. Dermatol.*, 150:984-990, (2004)
- Carrozzo M, Gandolfo S. The management of oral lichen planus. *Oral Dis* 1999
- Cilurzo F. et al. A new mucoadhesive dosage form for the management of oral lichen planus: Formulation study and clinical study *Eur.J. Pharm.Biopharm.* 76:437-442, (2010).
- Farhi, D. and N. Dupin, Pathophysiology, etiologic factors, and clinical management of oral lichen planus, part I: facts and controversies. *Clin Dermatol*, 2010. 28(1): p. 100-8.
- Kaliakatsou F, Hodgson TA, Lewsey JD, Hegarty AM, Murphy AG, Porter SR. Management of recalcitrant ulcerative oral lichen planus with topical tacrolimus. *J Am Acad Dermatol.* 2002;46:35-41.
- R. Jayasri Krupaa et al. - Oral lichen planus: An overview - *J Pharm Bioallied Sci.* 2015 Apr; 7(Suppl 1): S158-S161.
- Sonia Gupta et al. - Oral Lichen Planus: An Update on Etiology, Pathogenesis, Clinical Presentation, Diagnosis and Management - *Indian J Dermatol.* 2015 May-Jun; 60(3): 222-229.
- Suresh SS, Chokshi K, Desai S, Malu R, Chokshi A. Medical Management of Oral Lichen Planus: A Systematic Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR.* 2016;10(2):ZE10-ZE15.
- Kramer IR, Lucas RB, Pindborg JJ, Sobin LH. WHO collaborating centre for oral precancerous lesions. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978
- Tenore G, Buschini M, Lerario F, Palaia G, Romeo U - Valutazione della guarigione dei siti postestrattivi mediante l'utilizzo di un gel a base di aminoacidi e sodio ialuronato - *Dental Cadmos Vol. 84-4 Aprile 2016*
- Corridore D, Campus G, Guerra F, Ripari F, Sale S, Ottolenghi L - Validation of the Italian version of the Oral Health Impact Profile-14 (IOHIP-14) - *Annali di Stomatologia* 2013; IV (3-4)
- Shetty RR, Burde KN, Guttal KS - The Efficacy of Topical Hyaluronic Acid 0.2% in the Management of Symptomatic Oral Lichen Planus - *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2016 Jan, Vol-10(1)
- Gorouhi F, Solhpour A, Beitollahi JM, Afshar S, Davari P, Hashemi P, Nassiri Kashani M, Firooz A - Randomized trial of pimecrolimus cream versus triamcinolone acetone paste in the treatment of oral lichen planus - *J Am Acad Dermatol.* 2007 Nov;57(5):806-13
- Carbone M, Arduino PG, Carrozzo M, Caiazzo G, Broccoletti R, Conrotto D, Bezzo C, Gandolfo S. - Topical clobetasol in the treatment of atrophic-erosive oral lichen planus: a randomized controlled trial to compare two preparations with different concentrations - *J Oral Pathol Med.* 2009 Feb;38(2):227-33
- Eisenberg E. Oral lichen planus: a benign lesion. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58: 1278-1285.