

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS
CIÊNCIAS DA SAÚDE.**

**AVALIAÇÃO DA DOR, ASPECTO CLÍNICO E CITOCINAS SALIVARES EM
PACIENTES COM LÍQUEN PLANO ORAL SUBMETIDOS À
FOTOBIMODULAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO, ALEATORIZADO E DUPLO-
CEGO**

CLERY SAAD ABOUD

São Paulo, SP

2019

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO MESTRADO EM BIOFOTÔNICA
APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE.**

**AValiação da dor, aspecto clínico e citocinas salivares em
pacientes com líquen plano oral submetidos à
fotobiomodulação: estudo clínico, aleatorizado e duplo-
cego**

CLERY SAAD ABOUD

**Dissertação apresentada à
Universidade Nove de Julho, para a
obtenção do título de Mestre em
Biofotônica Aplicada às Ciências da
Saúde**

**Orientadora: Profa. Dra. Maria
Fernanda Setúbal Destro Rodrigues**

**São Paulo, SP
2019**

Abboud, Clery Saad.

Avaliação da dor, aspecto clínico e citocinas livres em pacientes com líquen plano oral submetidos à fotobiomodulação: estudo clínico, aleatorizado e duplo-cego. / Clery Saad Abboud 2019.

90 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE; São Paulo, 2019.

Orientador (a). ProP. Dr^o: Maria Fernanda Setiibal Omtro Rodriguez.

1. Líquen plano oral 2. Citocinas. 3. Fotobiomodulação. 4. EVA 5. Laser em baixa intensidade 6. Corticoide. 7. Linfócitos T CD 8. Saliva. 9. Linfócitos T CD4.

I. Rodriguez, Maria Fmiana Setiibal Deslro.

II. Título.

CDU 615.831

São Paulo, 12 de dezembro de 2019

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Clery Saad Abboud

Título da Dissertação: "Avaliação da dor, aspecto clínico e níveis salivares das citocinas IL-6, IL1 β , IL-10, IL-17 e TNF- α em pacientes com líquen plano oral tratados com fotobiomodulação"

Presidente: PROFª. DRª. MARIA FERNANDA SETÚBAL DESTRO RODRIGUES



Membro: PROFª. DRª. DANIELA DE FÁTIMA TEIXEIRA DA SILVA



Membro: PROFª. DRª. CAMILA DE BARROS GALLO



AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida, pela sua proteção e bençãos que tenho recebido. Pela força e fé que me mantem firme na minha missão.

Agradeço aos meus pais Dalila e Adib que me prepararam para enfrentar a vida com suas dificuldades e prazeres nos ensinando que o conhecimento é nossa fonte de riqueza, nos dando asas para vivermos nossos sonhos e realizá-los. Agradeço à minha família pela estrutura que me deram e na qual me refúgio nos momentos difíceis.

Agradeço ao meu recém marido Luigi, que demonstrou muito amor e compreensão nos momentos de maior angústia, me apoiando e animando a seguir em frente.

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Maria Fernanda por compartilhar seus conhecimentos, com seriedade e profissionalismo.

A Profa. Camila Gallo e a Faculdade de Odontologia da USP (FOUSP) pelo acolhimento e amizade na clínica de estomatologia onde pudemos levar adiante nosso projeto.

A Universidade Nove de Julho pela bolsa de estudos oferecida que possibilitou a realização de mais este sonho.

Aos professores com os quais convivi e que agregaram muitos conhecimentos e carinho, aos colegas e pesquisadores que estavam sempre dispostos a ajudar (Wellington e Camila Esteves) e aos pacientes que aceitaram participar deste estudo clínico, fundamentais para o caminhar desta pesquisa.

Aos amigos queridos Elza (Elzinha) companheira e amiga de longa data e de várias batalhas, Sergio Sobral que em pouco tempo se revelou um grande amigo, Kaline de Sousa e Karen Lopes, que participaram ativa e incansavelmente na execução desta pesquisa.

A todos que deram sua contribuição e apoio em algum momento para a realização deste trabalho.

RESUMO

O líquen plano oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica, mucocutânea, mediada por linfócitos T e por citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α e IL-10. Apresenta sintomatologia dolorosa e alterações no aspecto clínico da mucosa oral. O tratamento convencional é realizado através de corticoide. A fotobiomodulação (FBM) aparece como uma alternativa ao tratamento clássico (corticoide) que, em geral, oferece efeitos colaterais ao paciente como problemas renais, hipertensão, diabetes, entre outros efeitos deletérios. Esta pesquisa foi realizada por estudo clínico, aleatorizado e duplo-cego, sendo os pacientes avaliados através de exames clínico e histopatológico e os que apresentaram resultados positivos em ambos os exames foram incluídos na pesquisa e aleatorizados em dois grupos, o Grupo Controle tratados com corticoide (propionato de clobetasol a 0,05%), aplicado 3 vezes ao dia por 30 dias consecutivos e com laser desligado para mascarar a fotobiomodulação e o outro Grupo FBM tratados com laser (660nm, 100mW, 177J/cm², 5s, 0,5J por ponto) duas vezes por semana por 30 dias consecutivos e gel de placebo 3 vezes ao dia durante o tratamento para mascarar a corticoterapia. A dor foi avaliada por meio da Escala Visual Analógica e o aspecto clínico foi avaliado por escore no *baseline*, semanalmente durante o tratamento e no término. As amostras de saliva foram coletadas no início e no final do tratamento e as concentrações salivares de IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α e IL-10 foram avaliados através do teste ELISA. Tanto a FBM quanto o corticoide, se mostraram eficazes na diminuição da dor e melhora do aspecto clínico das lesões de LPO, e em ambos os tratamentos o aspecto clínico evoluiu para a forma reticular na grande maioria dos casos. A concentração da citocina IL-1 β apresentou valor de *P* significativo, enquanto que a concentração das demais, o valor de *P* não foi significativo. Adicionalmente, houve correlação positiva entre a alta concentração de IL-1 β e o pior escore clínico das lesões de LPO. Não foi observada modulação das citocinas salivares em nenhum dos grupos tanto no início quanto no término do tratamento. A FBM se mostrou tão eficaz quanto o corticoide no tratamento do LPO, com a vantagem de não apresentar efeitos colaterais e nem efeitos adversos.

Descritores: Liquen Plano Oral, Citocinas, Fotobiomodulação, EVA, laser em baixa intensidade, corticoide, linfócitos T, saliva, CD8, CD4.

ABSTRACT

Oral lichen planus (OLP) is a chronic, mucocutaneous inflammatory disease mediated by T lymphocytes and pro and anti-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α and IL-10. It presents painful symptoms and changes in the clinical aspect of the oral mucosa. Conventional treatment is by corticosteroid. Photobiomodulation (PBM) emerges as an alternative to classic treatment (corticosteroids), which generally offers side effects to the patient such as kidney problems, hypertension, diabetes, among other deleterious effects. This research was conducted by a randomized, double-blind clinical study. Patients were evaluated by clinical and histopathological exams, and those who tested positive on both exams were included in these research and randomized into two groups, the Control Group treated with corticosteroids (0.05% clobetasol propionate), 3 times a day for 30 consecutive days and with laser off to mask photobiomodulation and other laser-treated PBM Group (660nm, 100mW, 177J / cm², 5s, 0.5J per point) twice a week for 30 days consecutive and placebo gel 3 times daily during treatment to mask corticotherapy. Pain was assessed using the Visual Analog Scale and clinical aspect was assessed by baseline score, weekly during treatment and at the end. Saliva samples were collected at the beginning and end of treatment and salivary concentrations of IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α and IL-10 were evaluated by ELISA. Both PBM and corticosteroids were effective in reducing pain and improving the clinical aspect of OLP lesions, and in both treatments the clinical aspect evolved to reticular form in the vast majority of cases. The concentration of cytokine IL-1 β presented significant P value, while the concentration of the others, the P value was not significant. Additionally, there was a positive correlation between the high IL-1 β concentration and the worst clinical score of OLP lesions. No salivary cytokine modulation was observed in either group at the beginning or end of treatment. PBM was as effective as corticosteroids in the treatment of OLP, with the advantage of no adverse effects.

Keywords: Oral Lichen Planus, Cytokines, Photobiomodulation, VAS, low-level laser, corticosteroid, T lymphocytes, saliva, CD8, CD4.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios de diagnósticos da OMS modificados por Merj e van der Wall para líquen plano oral (2003).....	29
Tabela 2: Descrição dos parâmetros utilizados para realização da fotobiomodulação nas lesões de líquen plano oral.....	33
Tabela 3: Descrição das características clínicas dos pacientes com LPO incluídos no estudo	39
Tabela 4: Avaliação da dor dos pacientes com LPO nos grupos Controle e FBM no <i>baseline</i> (D0), D7, D14, D21 e D30 (Mediana, IQ=Interquartil, Mínima e Máxima)	40
Tabela 5: Escores clínicos das lesões de LPO nos grupos Controle e FBM no <i>baseline</i> (D0), D7, D14, D21 e D30 (Mediana, IQ=Interquartil, Mínima e Máxima).	42
Tabela 6: Análise de correlação entre os níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 e o escore clínico de pacientes com LPO no D0 e D30.....	52
Tabela 7: Análise de correlação dos níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e a dor de pacientes com LPO no D0 e D30.....	53

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fonte do autor: Imagem representativa de LPO reticular e atrofico localizado em mucosa jugal (A) e na gengiva inserida (B), com os respectivos pontos de irradiação utilizados para a FBM 34
- Figura 2:** Fluxograma 35
- Figura 3:** Avaliação da dor dos pacientes com LPO no grupo controle e FBM no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30. Foi observada diminuição significativa da dor no grupo controle e FBM no período D21 (* $p=0,02$ e $p=0,03$, respectivamente) e no período D30 (** $p=0,001$ e $p=0,0006$, respectivamente) quando comparado com o início do tratamento 41
- Figura 4:** Aspecto clínico de LPO atrofico em paciente do grupo controle no *baseline* e nos períodos D7, D14, D21 e D30. Pode ser observada melhora do aspecto clínico da lesão nos períodos D14, D21 e D30 quando comparado com o *baseline*. Adicionalmente, foi observado melhora clínica no período D14 em relação ao D7 43
- Figura 5:** Aspecto clínico de LPO atrofico em paciente do grupo FBM no *baseline* e nos períodos D7, D14, D21 e D30. Pode ser observada melhora do aspecto clínico da lesão nos períodos D14, D21 e D30 quando comparado com o início do tratamento 44
- Figura 6:** Avaliação dos escores clínicos das lesões de LPO no grupo controle e FBM no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30. Foi observada diferença estatística significativa nos períodos D14, D21 e D30 (** $p<0,0001$) no grupo Controle quando comparado com o *baseline*. Houve também melhora significativa no aspecto clínico das lesões de LPO no período D14 em relação ao D7 (# $p=0,0047$). No grupo FBM, melhora clínica das lesões de LPO foi observada nos períodos D14, D21 e D30 (** $p<0,0001$, $p=0,0047$ e $p<0,0001$, respectivamente) quando comparada ao início do tratamento. Dados apresentados como mediana e IQ. 45
- Figura 7:** Concentração de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 na saliva de pacientes com LPO no início do tratamento. Foi observada produção elevada de IL-1 β nos pacientes com LPO quando comparada com IL-6 (**** $p=0,0007$), TNF- α (** $p<0,0001$), IL-17A (** $p<0,0001$) e IL-10 (**** $p<0,0001$). IL-6 apresentou

maior concentração na saliva quando comparado com as citocinas TNF- α (#
p=0,0002) e IL-10 (#p<0,0001) e IL-17A apresentou maior concentração na saliva
em relação a TNF- α (& p=0,007) e IL-10 (& p<0,0001). 46

Figura 8: Análise dos níveis salivares de IL-6 nos pacientes com LPO dos grupos
Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados
são apresentados como mediana e IQ. Os dados são apresentados como
mediana e IQ. 47

Figura 9: Análise dos níveis salivares de TNF- α nos pacientes com LPO dos
grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os
dados são apresentados como mediana e IQ 48

Figura 10: Análise dos níveis salivares de IL-1 β nos pacientes com LPO dos
grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os
dados são apresentados como mediana e IQ 49

Figura 11: Análise dos níveis salivares de IL-17A nos pacientes com LPO dos
grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os
dados são apresentados como mediana e IQ 50

Figura 12: Análise dos níveis salivares de IL-10 nos pacientes com LPO dos
grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os
dados são apresentados como mediana e IQ 51

SUMÁRIO

Resumo	iii
Abstract.	iv
1. Contextualização	11
1.1 Etiologia e patogênese do Líquen Plano Oral.	11
1.2 Quimiocinas e Citocinas envolvidas na patogênese do LPO.....	15
1.2.1. IL-6	17
1.2.2. TNF- α	18
1.2.3. IL-10	19
1.2.4. IL-17 A.....	20
1.2.5. IL-1 β	21
1.3. Fotobiomodulação no Líquen Plano Oral.	23
2. Objetivo	27
2.1 Objetivos específicos.....	27
3. Materiais e Métodos	28
3.1 Cálculo do tamanho da amostra.....	28
3.2 Critérios de inclusão.....	29
3.3 Critérios de exclusão	30
3.4 Anamnese	30
3.5 Exame clínico.....	30
3.6 Aleatorização e composição dos grupos	31
3.7 Tratamento da doença	31
3.7.1 Tratamento com Corticóide	31
3.7.2 Fotobiomodulação.....	32
3.7.3 Variáveis do estudo	35

3.8 Coleta de saliva.....	36
3.9 Coleta de sangue	36
3.10 Análise estatística	36
4. Resultados	38
4.1 Caracterização dos pacientes com líquen plano oral.	38
4.2 Análise do sintoma da doença.....	39
4.3 Avaliação da característica clínica e tamanho das lesões de LPO.....	41
4.4 Análise dos níveis salivares das citocinas IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 nos pacientes com LPO.	45
4.5 Análise dos níveis salivares de IL-6 nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	46
4.6 Análise dos níveis salivares de TNF- α nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	47
4.7 Análise dos níveis salivares de IL-1 β nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	48
4.8 Análise dos níveis salivares de IL-17A nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	49
4.9 Análise dos níveis salivares de IL-10 nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	50
4.10 Análise da correlação dos níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 com o escore clínico e dor dos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.....	51
5. Discussão.....	54
6. Conclusão	64
7. Referências Bibliográficas	65

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	73
ANEXO 2: Comprovante de registro no Clinical Trials.	76
ANEXO 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	84
APÊNDICE 1: Ficha de anamnese.....	88

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Etiologia e patogênese do Líquen Plano Oral

O Líquen Plano Oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica, mucocutânea mediada por linfócitos T e acomete de 0,5 a 2% da população, com maior prevalência em mulheres de 40-60 anos de idade, na proporção de 2:1 (Jajarm et al., 2018, Thongprasom, 2017, Mozaffari et al., 2018, Othman et al., 2016, Alrashdan et al., 2016, Roopashree et al., e Dan et al. 2010, Payeras et al., 2013, Lavanya et al., 2011, Nogueira et al., 2015). A etiologia ainda é desconhecida mas há evidências que é uma doença com gatilho imunológico cujos antígenos estão presentes nos queratinócitos. (Payeras et al., 2013, Lavanya et al., 2011).

Inúmeros fatores têm sido propostos como relevantes na etiologia do LPO incluindo a história médica e a predisposição genética, materiais dentários, drogas, diabetes, medicamentos para diabete mellitus e anti-malária, agentes cardiovasculares, hipoglicemia, agentes infecciosos bacterianos ou virais como a hepatite C, imunidade, imuno-deficiências, associação a outras doenças autoimunes, hipersensibilidade celular com resposta autoimune dos antígenos do epitélio *versus* a resposta dos antígenos desequilibrados externos, alimentos, processos alérgicos, fatores psicológicos como estresse, ansiedade e depressão, hábitos, traumas mecânicos, hipertensão arterial, neoplasmas malignos e distúrbios intestinais (Chiang et al., 2018, Kurago 2016, Sousa et al., 2008, Payeras et al., 2013). De acordo com De Angeils et al. (2019), os pacientes com LPO, em particular na forma erosiva, tem demonstrado um reservatório significativamente maior de *Candida ssp* quando comparado aos pacientes saudáveis, pode estar envolvida na patogênese do LPO e contra defesa da microflora oral levando a essa desregulação.

As apresentações clínicas mais comuns do LPO são as lesões reticulares, atróficas e erosivas (Nogueira et al., 2015, Chiang et al, 2018). A forma reticular se caracteriza por apresentar estrias brancas, denominadas estrias de Wickham, e em geral, se apresentam bilateralmente. Podem acometer mucosa jugal, lábios, língua, gengiva, palato e assoalho bucal (Chiang et al., 2018, Nogueira et al., 2016; Alrashdan et al., 2016, Roopashree et al., 2010, Payeras et al., 2013).

Na forma atrófica e erosiva, as lesões de LPO são caracterizadas por apresentarem eritemas e erosões que podem afetar a mucosa jugal, língua e gengiva (Chiang et al., 2018, Alrashdan, et al., 2016, Thongprasom 2017, Lu et al., 2013 e Roopashree et al.,2010). A forma erosiva é a mais sintomática causando desconforto e episódios de dor intensa (Payeras et al., 2013).

Os sintomas mais comuns são dor na mucosa, queimação, desconforto na deglutição de alimentos quentes, salgados, ácidos, condimentados e apimentados (Chiang, 2018; Alrashdan 2016, Thongprason, 2018). Outros fatores que também pioram a sintomatologia são o consumo exagerado de álcool e tabaco (Chiang et al., 2018, Alrashaodan et al., 2016).

A patogênese do LPO ainda não é bem estabelecida na literatura (Nogueira et al.,2015, Payeras et al., 2013). Há uma participação ativa do sistema imunológico, mas os antígenos que desencadeiam a resposta ainda são desconhecidos. Acredita-se que auto-antígenos ou antígenos externos como vírus da Hepatite C, uso de materiais dentários restauradores ou uso de drogas possam estar envolvidos (Chiang et al., 2018, Payeras et al., 2013).

Diversas células participam da patogênese do LPO, incluindo queratinócitos, linfócitos T CD8, linfócitos T CD4, células dendríticas, mastócitos, macrófagos e células de Langerhans (Chiang et al., 2018, Payeras et al., 2013, Alrashdan et al., 2016). O aparecimento destas células depende do estágio em que as lesões se encontram. (Payeras et al., 2013). Nos estágios iniciais, os linfócitos T CD4, macrófagos e células dendríticas são encontrados em maior quantidade em relação aos estágios mais avançados do LPO, no qual há maior participação de linfócitos T CD8. Desta maneira, há uma predominância de antígenos celulares no início do desenvolvimento do LPO, responsáveis pela indução da resposta inflamatória, e nos estágios mais avançados há participação de células citotóxicas que desencadeiam a apoptose dos queratinócitos (Payeras et al., 2013).

Qian et al. (2018) em seu estudo piloto, analisaram 30 pacientes com LP cutâneo, com diagnóstico confirmado por biópsia e por dois dermatologistas. O tratamento de todos os pacientes foi realizado com levamisole 50mg 3 vezes ao dia por 30 dias. As amostras de sangue (soro) foram avaliadas através do teste

ELISA e citometria de fluxo para avaliar o comportamento dos linfócitos T CD4 e T CD8 quando comparadas antes e depois do tratamento e notaram uma redução significativa da expressão de células T CD4 e CD8 após o tratamento e que a secreção de IL-2 e IFN- γ , aumentaram acentuadamente enquanto IL-4, IL-6, IL-17 e IL-22 reduziram significativamente após o tratamento. Houve também uma mudança na secreção de citocinas das células Th1, Th2 e Th17, onde Th1 aumentou pós tratamento enquanto que Th2 e Th17 diminuíram, inibindo a destruição dos tecidos causados pelas citocinas (Qian et al. 2018).

Adicionalmente, Yin et al. (2017) demonstraram que o infiltrado de células inflamatórias subepiteliais no LPO é composto predominantemente por linfócitos T CD4 enquanto a maioria dos linfócitos intraepiteliais são linfócitos T CD8.

Vários mecanismos foram hipotetizados para entender a imunopatogênese do LPO. A hipótese mais aceita foi introduzida por Sugerman et al. (2002), na qual há o envolvimento de mecanismos específicos e não específicos da resposta imune no LPO. O mecanismo específico inclui a apresentação de antígenos por queratinócitos da camada basal e sua consequente morte devido ao reconhecimento por linfócitos T CD8 citotóxicos, e podem ser o gatilho para a apoptose de queratinócitos (Sugerman et al., 2002). Os mecanismos não específicos incluem a degranulação de mastócitos e ativação das metaloproteinases da matriz (Sugerman et al., 2002). Ambos os mecanismos resultam no acúmulo de linfócitos T CD4 e CD8 na lâmina própria culminando com o rompimento da membrana basal, incitando a lise celular e apoptose dos queratinócitos (Sugerman et al., 2002, Chiang et al., 2018, Nogueira et al., 2015, Payeras et al., 2013, Lu et al., 2013).

Os macrófagos são encontrados em abundância nas áreas afetadas pelo LPO, fagocitando e processando antígenos que se situam na zona da junção subepitelial tendo um papel importante na patogênese do LPO. (De Angelis et al., 2019). Os linfócitos T CD4 são capazes de ativar os linfócitos B, macrófagos e linfócitos T CD8 sendo responsáveis por orquestrar a resposta imune no LPO. (Payeras et al., 2013).

Os linfócitos T CD4 podem assumir um perfil Th1, Th2 e Th17, e são diferenciados pelas citocinas que produzem, assim, o Th1 são caracterizados por produzirem IFN- γ , IL-2 e TNF- α . (Payeras et al., 2013, Wei W et al., 2018) e

por ativar e induzir a proliferação dos linfócitos T CD8 (Chiang et al., 2018, Yin et al., 2017, Kurago, 2016, Lu et al., 2013).

Th2 são os linfócitos que secretam IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, sendo cruciais para a produção de anticorpos. (Payeras et al., 2013, Wei W et al., 2018)

Th17 é uma recente descoberta das células T CD4, e junto com o Th1 e Th2 constituem uma relação com o sistema imune sendo que o efeito de cada uma pode amplificar ou suprimir a função de outras células por produzirem citocinas e apresentar um papel crítico na doença inflamatória. A característica do desenvolvimento do LPO é o desequilíbrio imune entre Th1/Th2. (Wang et al., 2017).

No perfil Th17 há produção de IL-17 A e IL-17 F, as quais contribuem para o desenvolvimento de doenças autoimunes acompanhadas por reações inflamatórias, exacerbando a resposta induzida pelo perfil Th1 (Kuwabara et al., 2017). No LPO, o nível de IL-17 no soro foi maior em pacientes com LPO atrófico e erosivo quando comparado com o LPO reticular, sugerindo que este subgrupo pode ter um papel importante na patogênese do LPO. (Payeras et al., 2013, Jayanthi et al., 2011).

As citocinas apresentam um papel importante que determina a força, natureza e duração da resposta imune na patogênese do LPO e recentemente evidências mostram que o equilíbrio entre citocinas do perfil Th1 e Th2 possuem um papel fundamental na imunopatogênese do LPO. O aumento dos níveis das citocinas IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ podem estar mais intimamente associadas com as formas erosivas do que com as formas reticulares e atróficas. Embora a patogênese ainda não seja completamente conhecida, os fatores imunológicos e inflamatórios apresentam papel crucial para o desenvolvimento do LPO e a produção exagerada de muitos mediadores inflamatórios estão presentes no desenvolvimento das lesões de LPO (Wang L. et al., 2018, Pekiner F. et al., 2012). O IL-4 é secretado por células Th2 e induz a diferenciação do linfócito T CD4 em perfil Th2, com consequente liberação de IL-10, responsável pelo recrutamento e ativação anticorpos mediadores da resposta imune (Wang Y. et al., 2018). Por outro lado, a presença de IL-6 induz a diferenciação de linfócitos T CD4 no perfil Th17, no qual há liberação de IL-17, responsável pela ativação de células T helper potencializando a resposta inflamatória local (Kuwabara et al., 2017).

Os mecanismos não específicos incluem a degranulação de mastócitos, os quais liberam TNF- α e quimiocinas (Chiang et al., 2018). O TNF α auxilia na exsudação de linfócitos T e participa na ativação de metaloproteinases de matriz, as quais destroem a membrana basal, permitindo a migração de linfócitos T CD8 no interior do tecido epitelial com consequente apoptose das células basais e suprabasais do epitélio (Chiang et al., 2018, Nogueira et al., 2015, Payeras et al., 2013, Lu et al., 2013, De Angelis et al., 2019).

1.2 Quimiocinas e Citocinas envolvidas na patogênese do LPO

Quimiocinas são peptídeos de baixo peso molecular capazes de se associarem com receptores específicos na membrana celular ((Lu et al., 2013, Yin et al., 2017).). São classificadas em quatro grupos (α , β , γ e δ) e divididas de acordo com suas funções (Lu et al., 2013, Yin et al., 2017). As quimiocinas inflamatórias são responsáveis por regular o tráfego, ativação e diferenciação de leucócitos no local da agressão tecidual ((Lu et al., 2013, Yin et al., 2017). As quimiocinas homeostáticas são responsáveis pela migração de células nos órgãos linfóides e cada uma delas é reconhecida por um único receptor, embora ambas possam ser reconhecidas por receptores do mesmo grupo (Scheu,S et al., 2017). Estruturalmente elas contém resíduos de cisteína conservados e um número e uma posição que definem suas posições e características em quatro subclasses nomeadas C-X-C (α) que possui efeito quimiotático com linfócitos T e B e Natural killer (NK) , C-C (β) que podem recrutar monócitos/ macrófagos, NK, linfócitos, basófilos, e eosinófilos para a região da inflamação; C (γ) que agem sobre os linfócitos T especificamente e mantém a sua posição e C-X3-C (δ) que são caracterizadas por apresentarem 3 aminoácidos (Scheu,S et al., 2017).

As quimiocinas desempenham um papel importante na patogênese de doenças autoimunes. Elas apresentam receptores ligantes que fazem uma interação orquestrada de tráfego e múltiplas influências no processo fisiopatológico do processo celular, incluindo a apresentação de citocinas de antígenos e produção de citocinas pelas células dendríticas, participando da modulação da inflamação (Scheu,S et al., 2017)

Uma das quimiocinas amplamente estudadas é a RANTES (*Regulates on Activation, Normal T- cell Expressed and Secreted*) produzida por diferentes tipos de células como linfócitos T, queratinócitos e mastócitos. Tem como função recrutar os linfócitos e células *natural killer*, estimular a desgranulação de mastócitos nas lesões de LPO e aumentar a sobrevivência das células T e assim, contribui para perpetuar a cronicidade do LPO (Sugerman et al., 2002, Payeras et al., 2011 Alrashdan et al., 2016).

Citocinas são proteínas solúveis de baixo peso molecular produzidas por diferentes tipos celulares, incluindo linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas, endoteliais e do estroma, regulando e determinando a natureza da resposta imunológica. Atuam na comunicação entre células alvo por meio de receptores específicos, que uma vez acionados desencadeiam ativação de vias de sinalização intracelulares. Yin et al., (2017) e podem exercer efeitos distintos dependendo do tipo de células alvo e do ambiente (Lu et al., 2013). No sistema imune, as citocinas tem um papel muito importante no controle do direcionamento, extensão e duração da resposta imunológica. As citocinas estão presentes no local da lesão, no sangue periférico e na saliva. (Lu et al. 2013).

Dependendo da sua atuação, as citocinas podem ser denominadas de pró-inflamatórias como IL-1, TNF- α , IL-6, IL-17 e IFN- γ e as que atuam na redução da resposta inflamatória, chamadas de anti-inflamatórias, incluindo IL-10, IL-4, TGF- β . (Lu et al. 2013, Wang L et al., 2018, Wang Y et al., 2018).

As citocinas IL-1 β , TNF α e IL-6 são liberadas pelos linfócitos Th1 que são fortes indutores de macrófagos e ativam os linfócitos T CD8 citotóxicos e mediam a resposta imune nas células locais. (Wang Y et al., 2018) e chegam ao sistema nervoso central onde encontram receptores no hipotálamo e atuam em centros autonômicos que controlam a temperatura corporal, apetite e o sono, podendo provocar perda de peso, insônia e irritabilidade (Lu et al., 2013).

As citocinas que mais estão envolvidas no LPO são IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17 e IL-18, TNF- α e TNF- β , IFN- γ , encontradas tanto no soro quanto na saliva, bem como nos tecidos das lesões propriamente ditas (Lu et al., 2013; Alrashdan et al., 2016, Wei W et al., 2018, Firth F et al., 2015 Yin M et al., 2017).

1.2.1. IL-6

IL-6 é um tipo de citocina pró-inflamatória e vários tipos celulares são responsáveis por sua secreção incluindo células dendríticas, monócitos, macrófagos, queratinócitos, células endoteliais e células epiteliais (Lu et al., 2016, Yin et al., 2017). Atua nas células imunes e na diferenciação de células T citotóxicas, promove a diferenciação de células B, estimula a secreção de imunoglobulinas G, crescimento e diferenciação de células T, e diferenciação de células T citotóxicas. (Yin et al., 2017)

O nível de concentração de IL-6 é mais elevado na saliva de pacientes com LPO quando comparados a pacientes que não apresentam a doença. Na saliva, a elevada concentração de IL-6 ocorre devido a sua secreção pelos queratinócitos, células mononucleares e fibroblastos o que sugere sua participação na patogênese do LPO (Yin et al., 2017, Mozzafari et al., 2018).

Foi observado que pacientes com LPO apresentam níveis elevados de IL-6 nas amostras de saliva no momento do diagnóstico, além do TNF- α , IL-1 α e IL-8, sendo sua concentração reduzida após seis semanas de tratamento com bochecho diário de dexametasona a 0,1% (Rhodus et al. 2006 e Abdel-Haq, 2014). Adicionalmente, a diminuição do nível de citocinas pró-inflamatórias foi acompanhada de uma significativa redução da lesão baseada na análise da Escala Visual Analógica (EVA) que também foi utilizada para avaliar a dor e sintomas subjetivos da doença. (Abdel-Haq et al. 2014, Rhodus et al. 2006).

Xavier et al. (2007) avaliaram a produção das citocinas IL-6, IL-1 β , IL-10 e TNF- α , além de fatores genéticos associados com o LPO, através de células colhidas da mucosa oral e do soro dos pacientes. Em sua pesquisa, consideraram que como há alterações imunológicas na patogênese do LPO e as citocinas envolvidas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α apresentam papel importante na regulação do sistema imune, pode haver também fatores genéticos associados ao LPO. e IL-6 são mais frequentemente detectados em pacientes com LPO, enquanto que IL-1 β e IL-10 não foram relatados no desenvolvimento de LPO.

O aumento da concentração de IL-6 no soro e na saliva de pacientes com LPO suportam a possibilidade de que esta citocina é relevante na patogênese do LPO (Mozzafari et al., 2018, Abdel-Haq et al., 2014).

De acordo com o estudo de meta-análise de Mozaffari et al (2018), IL-6 é uma citocina que contribui com a patogênese do LPO e tem sido associada com resistência de proteínas expressadas nos queratinócitos, e seus níveis também aumentam no soro de pacientes com lesões malignas. Neste estudo foram avaliados através do método ELISA, o soro e a saliva de pacientes com LPO e comparados com os pacientes controle. Houve aumento de IL-6 nos pacientes com LPO, sendo que os níveis salivares e sorológicos de IL-6 foram mais elevados nos estágios mais avançados da doença do que nos estágios iniciais, sendo assim maior no LPO erosivo do que no reticular. Como os níveis salivares de IL-6 (de acordo com os cálculos da meta-análise), se apresentaram maiores na saliva do que no soro, a sua mensuração na saliva pode ser um indicador da evolução e severidade da doença podendo também monitorar sua atividade, além de ser mais conveniente e seguro para os pacientes do que diagnóstico através do soro. (Mozaffari et al., 2018)

1.2.2. TNF- α

TNF- α é uma citocina multifuncional que regula diversas respostas celulares, incluindo a apoptose (Ghallab et al.,2010). É produzido por macrófagos, mas também pode ser produzido por outras células como as células dendríticas, mastócitos, monócitos e neutrófilos. Não são detectadas em pacientes saudáveis, mas é rapidamente liberada após traumas, infecções, exposições ao patógeno e em tecidos inflamados (Lu et al., 2013).

De acordo com Lu et al., 2013, os macrófagos e células T são os principais produtores que TNF- α , entretanto ele tem alcance em outros tipos celulares imunológicos como linfócitos B (células dendríticas, Natural Killer, mastócitos e neutrófilos) e não imunológicos como queratinócitos, fibroblastos. TNF- α pode ser a chave que regula e realça a resposta imune inata. Seu principal papel é a maturação de células dendríticas e ativar a migração de macrófagos para a fagocitose.

As citocinas tem mostrado um papel muito importante na exacerbação e perpetuação da doença, e uma das citocinas mais estudadas tem sido TNF- α e INF- γ , que podem ser a chave do papel regulador da imunopatogênese do LPO. (Ghallab et al., 2010). O TNF- α é altamente pleiotrópico e citocina multifuncional

que regula diversas respostas celulares. O TNF- α é visto como um mediador de fenômenos citotóxicos que levam a apoptose. (Ghallab et al., 2010).

Rhodus et al. (2008), avaliaram os níveis de TNF- α nos fluidos orais nos pacientes com LPO e detectaram que seus níveis são mais elevados do que nos pacientes controle. Estes resultados indicam que estas citocinas inflamatórias podem ajudar no diagnóstico e prognóstico para monitoramento da atividade da doença e tomar decisões terapêuticas em pacientes com LPO. Em 2012, Pekiner et al. relataram que TNF- α são produzidos por macrófagos, células T e outros tipos de células quando estimuladas por IL-2 que são produzidas por células T e agem como um fator de crescimento antígeno-estimulado durante a resposta imune. O IL-2 regula a produção de IFN- γ pelas células T.

De acordo com Kaur et al (2015), os níveis das citocinas TNF- α , IL-6 e IL-8 tanto no soro quanto na saliva dos pacientes com LPO foram mais elevados do que em pacientes controle.

Lu et al. (2013) observou aumento do nível de TNF- α na saliva e no soro em pacientes com LPO. Adicionalmente, seus níveis diminuíram após o tratamento com prednisona e dexametasona, sugerindo que o monitoramento desta citocina pode ser útil para avaliação da atividade da doença e do efeito pós tratamento.

O TNF- α é uma das citocinas mais observadas nas lesões de LPO comparado a outras citocinas sendo que ela não aparece em tecido não lesionados ou normais. (Othman et al., 2016)

1.2.3. IL-10

IL-10 é uma citocina anti-inflamatória secretada por várias células incluindo monócitos, linfócitos T e macrófagos. Atua inibindo a produção de IL-2 e INF- γ oriundas da resposta imune Th1, possui efeito regulador em linfócitos T CD4 e inibe a liberação de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos (Lu et al., 2013; Dan et al., 2011, Pekiner et al., 2013).

Dan et al. (2011), analisaram amostras de sangue e saliva para investigar o papel do IL-10, que é uma citocina importante no controle das respostas imunes, no LPO da população chinesa. Os resultados demonstraram um alto nível de IL-10 e baixo nível de IFN- γ e ambos foram encontrados nas amostras

tanto de sangue quanto saliva dos pacientes com LPO quando comparados com o grupo controle. O elevado nível do IL-10 mostra sua participação na patogênese do LPO e a saliva pode substituir o soro para fazer análises sobre o LPO.

Pekiner et al., 2012, observou que embora não houvesse diferença estatística nos níveis sorológicos de IL-4, IL-5, TNF- α e IFN- γ entre os pacientes do grupo com LPO e do grupo controle, houve diferença estatística significativa nos níveis sorológicos de IL-2 e IL-10 com uma tendência a diminuição dos níveis de IL-2 nos pacientes que apresentavam LPO e uma tendência ao aumento de IL-10 nos níveis sorológicos dos pacientes com LPO quando comparado aos pacientes do grupo controle.

1.2.4. IL-17A

IL-17 é um outro tipo de citocina pró-inflamatória produzidas por ativação de células T CD4 e capaz de induzir a produção de IL-6 (Wong et al., 2001). A IL-17 é uma citocina descoberta recentemente, contribui para indução de processos alérgicos, induz a expressão de genes pró-inflamatórios e atua sinergicamente com TNF- α , IL-6, IL-1 β (Kuwabara et al., 2017). Atualmente sabe-se que as células Th17 tem uma relação de proximidade com as inflamações crônicas e doenças autoimunes (Kuwabara et al., 2017).

Linfócitos T tipo Th17 desempenham um papel regulador importante na defesa do hospedeiro nas doenças inflamatórias (Jin et al., 2013). A família de citocinas IL-17 é composta por seis membros, sendo as mais estudadas a IL-17A e IL-17F (Jin et al., 2013). Células Th17 produzem citocinas IL-17 as quais induzem a diferenciação de células T em células CD4, além de apresentarem papel importante na barreira contra patógenos da mucosa oral, no recrutamento de neutrófilos e células imunes inatas para o local da inflamação. A citocina IL-17A é imuno-reguladora gerando citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que atraem neutrófilos e macrófagos para o local da inflamação (Jin et al., 2013). O desequilíbrio na produção na produção de IL17A pode levar à exacerbação do processo inflamatório e reações auto-imunes. (Jin et al., 2013; Kuwabara et al., 2017).

Kuwabara et al. (2017), relatou que a citocina IL-17 participa das inflamações crônicas autoimunes. A IL-17A foi identificada como uma nova citocina que induz um gene de expressão pró-inflamatório e apresenta um sinergismo com TNF- α , IL-6 além de seus complexos receptores sugerirem um importante papel nas funções biológicas e patológicas sendo um candidato a terapêutica, e apresenta propriedades contra patógenos extra-celulares. Estudos indicam que células Th17 tem uma relação próxima com doenças inflamatórias autoimunes, e que são induzidas por IL-6, mostrando que antes da sua maturação, apresenta alta patogenicidade.

Monteiro et al. (2014), observaram a alta concentração de IL-17 no sangue periférico de pacientes com LPO quando comparados com o grupo controle, sendo que seus níveis mais elevados foram encontrados nos pacientes com LPO erosivo. O papel principal de células Th17, particularmente IL-17 pode ser relatada por potencializar reações mediadas pelos linfócitos T e produção de quimiocinas e outras citocinas, que juntas, exacerbam a resposta inflamatória imune. Estes eventos representam um dos mecanismos de destruição do tecido pelo IL-17A nas lesões de LPO e também o IL17A foi encontrado nos queratinócitos das lesões de LPO e pode agir recrutando células inflamatórias no local da doença. Monteiro et al., (2014).

1.2.5. IL-1 β

As citocinas IL-1 são uma família, codificadas por dois genes separados, a IL-1 α e IL-1 β , que possuem atividades biológicas idênticas e sinalizam através do mesmo complexo receptor (Lu et al. 2013; Dinarello CA 2010), sendo cada membro modulador extremamente potente e todas as suas atividades são reguladas em vários níveis incluindo a transcrição de genes. (Dinarello et al., 2010). A desregularização da sinalização da família IL-1 pode resultar em patologias e sua inibição poderia auxiliar no tratamento das patologias, porém ainda faltam estudos por esta via. (Dinarello et al., 2010).

Dados da literatura indicaram a importância das citocinas como IL-1 β , IL-6, e TNF- α na exacerbação e perpetuação do LPO, também demonstram evidências de associação de fatores genéticos, além de apresentar um papel

importante na regulação do sistema imune e encontraram uma forte associação entre IL-6 e TNF- α nos genes polimorfos, portanto um suporte em bases genéticas para a ocorrência do LPO. (Xavier et al.,2007).

IL-1 afeta todas as células e organelas e é o maior mediador patogênico das doenças autoimunes, infecções e doenças degenerativas, atua no metabolismo do câncer, atuam no sistema nervoso central agindo sobre a febre como é classicamente conhecido, ativam o eixo Adrenal-Pituitária-Hipotálamo, estimulam os efeitos dos neutrófilos e macrófagos. (Dinarello et al., 2009, Mantovani et al., 2011). IL-1 β é produzida principalmente por monócitos e macrófagos, e também por células hematopoiéticas, como os monócitos do sangue, macrófagos dos tecidos,, células dendríticas, ativam outras citocinas como TNF- α . (Dinarello, et al., 2010). Sua principal atividade biológica é a estimulação de células T auxiliares, que são induzidas a secretar IL-2 e a expressar receptores de IL-2. Estudos demonstraram que a IL-1 é um importante mediador da resposta inflamatória e da resposta imune (Gabay et al. 2010; Sims et al. 2010). A IL-1 α e a IL-1 β podem ativar rapidamente vários tipos de células, incluindo células T, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e macrófagos, além de estimular a produção de outras citocinas, como TNF- α , IL-6, IL-8, bem como ela mesma. Adicionalmente, a IL-1 também promove a proliferação de células da medula óssea, linfócitos B, neutrófilos, macrófagos e plaquetas (Sims et al. 2010; Dinarello et al. 2012). Conforme o estudo de Dinarello em 2010, IL-1 β é a citocina mais potente que causa febre em seres humanos e as evidências mostram que o IL-1 β é o real pirogênico endógeno e foi proposto que como sendo uma molécula Master pode causar uma resposta inflamatória no hospedeiro com a ativação imunológica. Se a IL-1 β for bloqueada há diminuição da inflamação, porém, aumenta a infecção. As inflamações são estéreis e a IL-1 induz a secreção de IL-1 β .

Xavier et al., (2007), relataram em seu estudo que IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α são dependentes da citocina NF κ B que tem um papel importante na patogênese do LPO e estão envolvidas na exacerbação e perpetuação do LPO. Considerando que há relatos de alterações imunológicas na patogênese do LPO, as citocinas citadas acima, podem ter um papel importante na regulação do sistema imune juntamente com evidências associação de fatores genéticos com

a doença e concluíram que os achados desta pesquisa mostram claramente que há uma associação genética entre o aumento das citocinas como IL-6 e TNF- α para a ocorrência da doença. O tratamento do LPO com dexametasona, reduziu a concentração destas citocinas pró-inflamatórias na saliva.

1.3 Fotobiomodulação no Líquen Plano Oral

De acordo com Hamblin (2017), fotobiomodulação é conhecida como terapia de laser de baixa intensidade, a luz emitida é vermelha ou o infravermelha e é utilizada para estimular o processo de reparação, aliviar e reduzir a dor por modular o processo inflamatório, e também é uma terapia não-invasiva.

Seu mecanismo de ação é sobre os cromóforos citocromo C oxidase localizados na mitocôndria e onde os íons cálcio são absorvidos, seu segundo efeito é a absorção de fótons que aumentam os ATPs, atuam sobre as espécies reativas de oxigênio e aumentam o óxido nítrico, além de modular os níveis de cálcio. O terceiro efeito é ativar uma ampla transcrição de principais fatores aumentando a sobrevivência das células, bem como sua proliferação e migração e uma nova síntese protéica. A "resposta à dose bifásica" descreve uma situação em que existe um valor ótimo da "dose" de FBM mais frequentemente definida pela densidade de energia (J/cm²) (Hamblin 2017).

A FBM é bifásica onde há resposta de estímulo pela luz de baixa intensidade enquanto que os altos níveis de luz inibem seus efeitos (Hamblin et al. 2017, Pigatto et al., 2019).

A FBM pode ser realizada utilizando-se LED (Light-emitting diodes) ou laser, com um comprimento de onda entre 625–940nm (Pigatto et al., 2019). Seus efeitos biológicos incluem estimulação da síntese de ATP, redução de edema e de migração de células inflamatórias, analgesia, diminuição da produção de citocinas e mediadores inflamatórios (Pigatto et al. 2019). Há ainda modulação de ciclooxigenases e lipooxigenases, redução de prostaglandinas, bradicininas, histaminas, IL-1 β e TNF- α , aumento da atividade de macrófagos e neutrófilos, IL-10 bem como do metabolismo celular (Pigatto et al., 2019).

Aceita-se que a penetração da luz no tecido seja governada pela absorção e dispersão pelas moléculas e estruturas presentes no tecido. Tanto a absorção

quanto a dispersão tornam-se significativamente menores à medida que o comprimento de onda fica mais longo, portanto, a profundidade de penetração do infra-vermelho é máxima em torno de 810 nm, e em comprimentos de onda maiores a água se torna um absorvedor importante e a profundidade de penetração fica menor (De Freitas et al., 2019).

O laser vermelho ou infra-vermelho pode interagir com as células, alterando os tecidos a nível molecular e celular, embora cada tecido possa responder de maneira diferente quando interage com a luz, apesar que os fótons do laser vermelho ou infra-vermelho são predominantemente absorvidos pelas mitocôndrias.

O tratamento sugerido para o LPO é o uso de corticoide tópico ou sistêmico como a dexametasona ou propionato de clobetasol.

Medicamentos esteroides tópicos reduzem a dor do LPO, porém seu uso prolongado pode induzir a candidíase, promover insuficiência renal, há pacientes alérgicos aos corticoides e outros resistentes ao tratamento (Jajarm, et al., 2018, Othman et al., 2016).

Recentemente, a FBM está sendo aceita como uma nova modalidade de tratamento do LPO (Pavlic et Vuji-Aleksic, 2013). Sua principal vantagem em relação ao tratamento convencional com corticoides consiste no fato de não apresentar efeito colateral. Possui efeito analgésico e anti-inflamatório, favorece a reparação tecidual, aumenta o metabolismo celular e modula o sistema imunológico e pode ser uma alternativa em pacientes resistentes ao tratamento com corticóide (Pavlic et Vuji-Aleksic, 2013).

Dillenburg et al. (2014) avaliou o efeito da FBM (laser de diodo) com comprimento de onda de 660nm, laser vermelho, aplicado 6J/cm², três vezes por semana durante 30 dias no tratamento do LPO em relação ao uso tópico de propionato de clobetasol 0,05% por 30 dias consecutivos. Alguns pacientes que utilizaram corticoide referiram sensação de queimação imediatamente após o uso do medicamento, outros reportaram distúrbios gastrointestinais. O tratamento com FBM teve efeitos positivos no LPO erosivo e atrófico em relação aos sintomas houve uma melhora a partir do D14 (p<0,001) com melhora dos sintomas e se mantiveram no acompanhamento após 2 meses, o efeito da FBM sobre a lesão após o tratamento foi maior do que o corticoide. Quanto a resolução do LPO, a melhora foi mais evidente no grupo da FBM (61,9%)

enquanto que no grupo corticoide foi de 28,6%. Em se tratando da recorrência da doença no D60, houve apenas 1 caso no grupo FBM, enquanto que no grupo corticoide foram 10 casos. Desta maneira, a FBM foi mais efetiva que o tratamento convencional no tratamento do LPO.

Jajarm et al., (2011), avaliaram o efeito da FBM como alternativa ao uso do corticoide. O grupo foi composto de 30 pacientes com LPO atrófico e erosivo. Os pacientes foram tratados com laser de diodo, 630 nm, 1,5 J/cm², 10 mW/cm², um ponto por cm². A irradiação foi feita duas vezes por semana por no máximo dez sessões. Os participantes do outro grupo (controle) foram tratados com corticosteroide dexametasona (0.5 mg em 5 ml de água), com bochecho por 5 minutos e após 30 min, foi utilizado bochecho com 30 drops de Nistatina (100,000 unidades internacionais) por 5 min. Este tratamento foi repetido 4 vezes ao dia por um mês e os pacientes foram acompanhados durante este período. A FBM foi mais efetiva na diminuição da severidade da lesão do que o corticoide e pode ser uma alternativa não farmacológica para o tratamento do LPO, sem os efeitos adversos dos medicamentos.

Othman et al. (2016) avaliaram o efeito do tratamento com corticóide tópico (triamcinolone 0,1% por quatro semanas) e FBM (970 nm, duas vezes por semana por dez sessões) para avaliar o aspecto clínico e os sintomas (dor) no LPO, através da produção de TNF- α no soro. Foi observada diferença estatística significativa de TNF- α no grupo controle em relação ao grupo FBM. Houve diferença estatística significativa quanto aos escores clínicos do LPO, o grupo corticoide mostrou menor diferença estatística do que no grupo FBM depois do tratamento. Após a exacerbação não houve diferença estatística significativa entre os grupos. Os resultados indicam que tanto o corticoide quanto a FBM apresentam resultados efetivos para o tratamento do LPO erosivo e atrófico.

Na revisão sistemática de Akram et al. (2018), não foi observada evidência clínica da eficácia da FBM no LPO, devido a baixa qualidade dos estudos clínicos presentes na literatura e à escassez de estudos clínicos, controlados e randomizados. Como os estudos incluídos na revisão não apresentavam aspectos metodológicos com parâmetros padronizados sobre a FBM e os acompanhamentos foram de curto prazo, o efeito da FBM na melhora dos sinais e sintomas clínicos da LPO, em comparação a terapia com corticoides ainda é discutível. Portanto, estudos com acompanhamento de longo prazo, exclusão de

doença sistêmica e padronização dos parâmetros de FBM são recomendados para avaliar com segurança a eficácia da FBM na redução de sinais e sintomas de LPO. O risco de viés foi considerado alto em quatro estudos e moderado em um estudo. Os comprimentos de onda do laser, potência, tamanho do ponto e duração da exposição ao laser variaram entre 630 a 970 nm, 10 a 3000 mW, 0,2 a 1,0 cm² e 6 a 480 s, respectivamente. O período de acompanhamento variou de 4 a 48 semanas. Todos os estudos incluídos relatando escores clínicos mostraram que a FBM foi eficaz no tratamento da LPO em pacientes adultos. Três estudos mostraram resultados significantes com o uso tópico de corticosteroides em comparação com a FBM, enquanto um estudo mostrou melhora significativa com a FBM. Um estudo mostrou resultados equivalentes entre FBM e aplicação de corticosteroide, Akram et al.,2018.

O mesmo autor, Akram et al., 2017 fizeram uma revisão sistemática sobre a eficácia da PDT (Terapia Fotodinâmica) para gerenciar o LPO, verificaram que não havia uma metodologia adequada para esta avaliação, não haviam parâmetros padronizados, pouco tempo de acompanhamento dos pacientes tratados, e sem um grupo controle tratado com corticoide. Por esta razão, foi sugerido que o papel do PDT para tratamento clínico de sinais e sintomas ainda seria discutível quando comparado ao corticoide. Sugeriram estudos mais robustos quanto aos parâmetros e padronização para avaliar de forma adequada a eficácia do PDT e obter conclusões mais fortes e embasadas.

Desta maneira, considerando que a FBM possui diversos efeitos benéficos em relação à dor, modulação da resposta inflamatória e reparação tecidual, e ainda, devido à vantagem de sua utilização como alternativa terapêutica, este estudo se propôs a avaliar a modulação de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias na saliva de pacientes com LPO por meio de um estudo clínico controlado, randomizado e duplo cego.

2. OBJETIVO

Este estudo clínico, controlado, aleatorizado e duplo-cego teve como objetivo avaliar a dor, aspecto clínico e a concentração da produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias na saliva de pacientes com líquen plano oral tratados com fotobiomodulação em comparação ao tratamento convencional com corticoide.

2.1 Objetivos específicos

- 2.1.1.** Avaliar o aspecto clínico (reticular, atrófico e erosivo) das lesões de LPO durante o tratamento com a FBM em comparação ao tratamento com corticoide.
- 2.1.2.** Avaliar a produção das citocinas IL-6, IL-1 β , TNF α , IL-17 e IL-10, envolvidas na patogênese do LPO, na saliva de pacientes com LPO tratados com a FBM em comparação ao tratamento convencional com corticoide, no início e no término do tratamento.
- 2.1.3.** Correlacionar os níveis das citocinas IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17 e TNF α na saliva com o aspecto clínico e dor dos pacientes com LPO no início e no término do tratamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio clínico, único-centro, controlado, aleatorizado e duplo-cego, com acompanhamento de 2 meses foi de acordo com os critérios para delineamento de um protocolo clínico CONSORT *Statement*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) (parecer nº 2.375.410) (Anexo 1) e está registrado no clinicaltrials.gov sob o número NCT 03320460 (Anexo 2). A amostra foi composta de 34 pacientes com diagnóstico clínico e histopatológico de líquen plano oral, de acordo com a Organização Mundial de Saúde e segundo os critérios de inclusão descritos abaixo.

Os participantes da pesquisa foram atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) (Instituição Co-Participante), no período de novembro de 2017 a setembro de 2019 para tratamento da doença. O desenho experimental consistiu em dois grupos (descrito com detalhes no item 3.1). Todos os participantes foram avaliados semanalmente durante 30 dias, período no qual foi realizado o tratamento.

Após a explicação verbal e por escrito do estudo, os pacientes que aceitaram participar da pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNINOVE e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP (Anexo 3). O estudo está em conformidade com a Declaração de Helsinki (revisada em Fortaleza, 2013).

3.1 Cálculo do tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado utilizando-se como referência os valores de média e desvio padrão obtidos por Dillenburg et al. (2015) para a análise da dor ao término do tratamento, por meio do software GPower e do teste T (*Difference between two independent means*), considerando nível de significância $\alpha = 0,05$ e o mínimo de 80% do poder do teste. Assim, o número de participantes da pesquisa em cada grupo de estudo foi de 17 no grupo controle corticoideterapia e 17 no grupo experimental fotobiomodulação, totalizando um $n = 34$.

3.2 Critérios de inclusão

Todos os pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, gênero masculino ou feminino, apresentando LPO reticular, atrófico e/ou erosivo, sintomático e com diagnóstico clínico e histopatológico de LPO de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) e modificados por van der Meij e van der Waal (2003) foram incluídos neste estudo (Tabela 1). O diagnóstico final de LPO dos pacientes incluídos no estudo foi somente estabelecido quando todos os critérios clínicos e histopatológicos estiveram presentes. Foram mantidos os pacientes fumantes, portadores de doenças sistêmicas controladas e pacientes que faziam uso de enxaguantes orais.

Tabela 1: Critérios diagnósticos da OMS modificados por Meij e van der Waal (2003) para líquen plano oral.

Critérios Clínicos
<p>Presença de lesões bilaterais e simétricas;</p> <p>Presença de uma rede, tipo renda, de linhas branco-acinzentadas, levemente levantadas (padrão reticular);</p> <p>Lesões erosivas, atróficas, bolhosas e tipo placa são aceitas apenas como subtipo na presença de lesões reticulares em outros locais da mucosa oral;</p> <p>Em todas as outras lesões que se assemelham a LPO, mas não completam os critérios acima mencionados, o termo “cl clinicamente compatível com” deve ser utilizado.</p>
Critérios Histológicos
<p>Presença de uma zona bem definida, tipo banda, de infiltração celular que é confinada a parte superficial do tecido conjuntivo, consistindo principalmente de linfócitos;</p> <p>Sinais de degeneração por liquefação da camada de células basais;</p> <p>Ausência de displasia epitelial;</p> <p>Quando as características histológicas forem menos óbvias, o termo “histologicamente compatível com” deve ser utilizado.</p>
Diagnóstico Final de LPO
<p>Para alcançar o diagnóstico final devem ser incluídos critérios tanto clínicos quanto histopatológicos e preenchimento de todos os critérios mencionados.</p>

3.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentavam no seu histórico tratamento do LPO no último mês, portadores de doenças de base descompensadas, gestantes, lactantes, consumidores de drogas ilícitas, pacientes com uso de medicação imunossupressora, medicamentos associados a reações liquenóides, displasia epitelial constatada no exame histopatológico, presença de restaurações de amálgama próximas às lesões do LPO.

3.4 Anamnese

Todos os participantes da pesquisa responderam as questões elaboradas da anamnese antes de iniciar o tratamento (Apêndice1). As questões eram relacionadas com a saúde geral do paciente, sua história médica como as doenças anteriores, realização de cirurgias e uso atual de medicamentos. Os dados demográficos como gênero, idade, profissão, estado civil, nível educacional foram anotados, além das questões relacionadas a sua principal queixa, tratamentos prévios e história atual. O exame físico foi realizado extra e intra oral, localizando-se as lesões e avaliando suas características clínicas.

3.5 Exame clínico

Um único avaliador realizou o atendimento dos pacientes sem o conhecimento da alocação dos pacientes no grupo controle e experimental. Os pacientes foram atendidos sempre no período da manhã. Todas as lesões foram fotografadas com auxílio de uma câmera digital (Nikon, modelo D5200 tipo DSLR) no início do tratamento, semanalmente e após 30 dias do término do tratamento.

As lesões de LPO receberam os seguintes escores de acordo com as características clínicas e tamanho: escore 0 (ausência de lesão), escore 1 (lesões hiperqueratóticas), escore 2 (área atrófica $\leq 1\text{cm}^2$), escore 3 (área atrófica $>1\text{cm}^2$), escore 4 (área erosiva $\leq 1\text{cm}^2$) e escore 5 (área erosiva $>1\text{cm}^2$), de acordo com Thongprasom et al. (1992).

3.6 Aleatorização e composição dos grupos

Os participantes da pesquisa foram aleatoriamente distribuídos nos grupos de estudo por meio de um sorteio com 34 números em bloco de 8 números utilizando-se o site *www.randomize.com*. A informação referente ao tratamento a ser utilizado foi colocada em envelopes opacos previamente identificados com números sequenciais. A preparação dos envelopes e o sorteio foram realizados por uma pessoa não envolvida no estudo. Imediatamente antes do tratamento, um envelope (sem alterar a sequência numérica) foi aberto pelo pesquisador responsável e o procedimento indicado foi realizado. Deste modo, os 34 participantes da pesquisa foram alocados nos grupos experimental e controle (considerando-se um *drop out* de 20%), da seguinte maneira:

Grupo Controle - Corticóide (n=17) – os participantes da pesquisa foram tratados com Propionato de Clobetasol 0,05% em gel, três vezes ao dia durante 30 dias consecutivos e com o laser desligado duas vezes por semana durante 30 dias para mascarar o tratamento.

Grupo FBM (n=17) – os participantes da pesquisa foram tratados com laser em baixa intensidade ($660\pm 20\text{nm}$, potência 100mW, exposição radiante $177\text{J}/\text{cm}^2$, 5 segundos, 0,5J energia por ponto) duas vezes por semana 30 dias e gel placebo 3 vezes por dia durante 30 dias consecutivos para mascarar o tratamento.

Todos os pacientes incluídos neste estudo receberam instruções de higiene oral no momento da anamnese para reduzir o acúmulo local de bactérias e placa bacteriana.

3.7 Tratamento da doença

3.7.1 Tratamento com Corticoide

Os participantes da pesquisa do grupo (Controle) corticoide foram tratados com Propionato de Clobetasol 0,05% em gel aplicação 3 vezes ao dia nas lesões após a realização da higiene oral durante 30 dias consecutivos. A falta de duas aplicações foi aceita para que o paciente continuasse no estudo.

Antes de realizar a aplicação tópica, os pacientes receberam orientação para secar o local da lesão com gaze e, em seguida, aplicar a medicação. Todos os pacientes receberam um frasco contendo o medicamento sem identificação e com bico dosador para que cada aplicação correspondesse a 1g do medicamento. Para mascarar o tratamento, o paciente recebeu laser placebo, duas vezes por semana. O equipamento permaneceu desligado durante a aplicação e o barulho de acionamento do laser foi gravado e utilizado para mimetizar a irradiação.

Para a prevenção de candidíase, foi receitado para os os participantes da pesquisa o uso profilático da medicação antimicótica Micostatin® (Nistatina solução oral, 100.000USP/ml, Bristol-Myers Squibb Brasil S.A., São Paulo, Brasil). Foi orientado para que os pacientes realizassem bochecho com 5ml da solução oral Micostatin® (Neo Química) por 3 minutos e em seguida cuspir a solução. Este procedimento foi repetido uma vez ao dia os 30 dias do tratamento com propionato de clobetasol.

3.7.2 Fotobiomodulação

Os participantes da pesquisa do grupo Fotobiomodulação foram tratados com laser em baixa intensidade (laser diodo InGaAIP; DMC, São Carlos, São Paulo, Brasil) com comprimento de onda de $660\pm 20\text{nm}$, potência 100mW, exposição radiante $177\text{J}/\text{cm}^2$, 5 segundos, 0,5J energia total por ponto. Os parâmetros estão descritos com detalhes na Tabela 2. A potência de saída foi verificada com auxílio do Laser Check (DMC Therapy XT, São Paulo, Brazil) ante de cada irradiação.

Tabela 2: Descrição dos parâmetros utilizados para a realização da fotobiomodulação nas lesões de líquen plano oral.

Parâmetros	Valores/unidades
Comprimento de onda (λ)	660 \pm 20 nm
Potência radiante (P)	100 mW
Tempo de exposição por ponto (t)	5 s
Área do feixe na superfície do alvo (A)	0,0034 cm ²
Área de saída do aparelho (A)	0,0034 cm ²
Energia radiante (E) por ponto	0,5 J
Irradiância na superfície do alvo (I)	35,4 mW/cm ²
Exposição radiante na superfície do alvo (H)	177 J/cm ²
Número de pontos	Variável de acordo com o tamanho da lesão
Número de sessões	8
Técnica de aplicação	Pontual

Tanto a área da lesão como sua respectiva margem foram irradiadas, respeitando-se a distância de 1cm entre os pontos a partir da periferia da lesão, como demonstrado na Figura 1. As irradiações foram realizadas por um único profissional, duas vezes por semana (Segunda-feira e Quarta-feira) por 4 semanas consecutivas, totalizando 8 sessões no período de 30 dias. O número de pontos utilizados foi variado de acordo com o tamanho da lesão, de maneira que toda a lesão fosse irradiada. Para mascarar o tratamento, o paciente realizou aplicação de gel placebo a base de carboximetilcelulose nas lesões 3 vezes por dia durante 30 dias consecutivos. Os pacientes receberam instrução para secar o local da lesão gaze e, em seguida, aplicar a medicação. Um frasco sem identificação contendo um bico dosador foi entregue a cada participante, para que cada aplicação correspondesse a 1g do gel placebo.

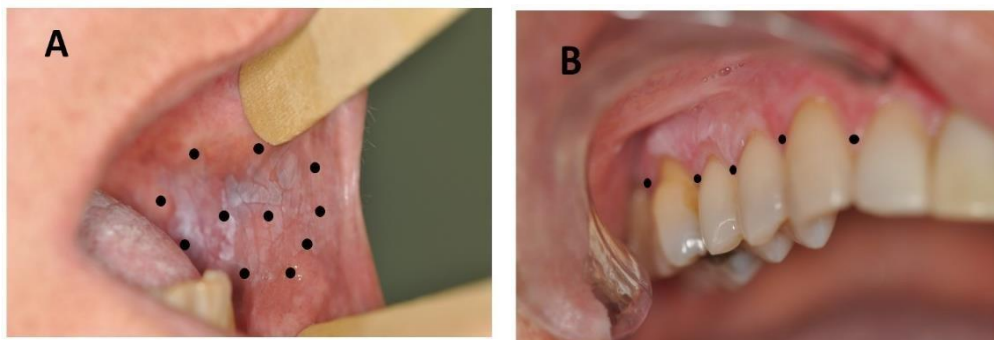


Figura 1: Imagem representativa de LPO em placa (hiperqueratótico) e atrófico localizado em mucosa jugal (A) e na gengiva inserida (B), com os respectivos pontos de irradiação utilizados para a FBM.

Para prevenção de candidíase, os participantes da pesquisa fizeram uso profilático da medicação antimicótica Micostatin® (Nistatina solução oral, 100.000USP/ml, Bristol-Myers Squibb Brasil S.A., São Paulo, Brasil) uma vez ao dia durante os 30 dias do tratamento. Os pacientes foram orientados a realizar bochecho com 5ml da solução oral Micostatin® (Neo Química) por 3 minutos e em seguida descartar a solução. Esta conduta foi utilizada para ambos os grupos.

3.7.3 Variáveis do estudo

Na figura 2 está representado o fluxograma do estudo dos pacientes com LPO. Foram avaliados o aspecto clínico do LPO e os níveis salivares das citocinas IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17 e TNF- α no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30).

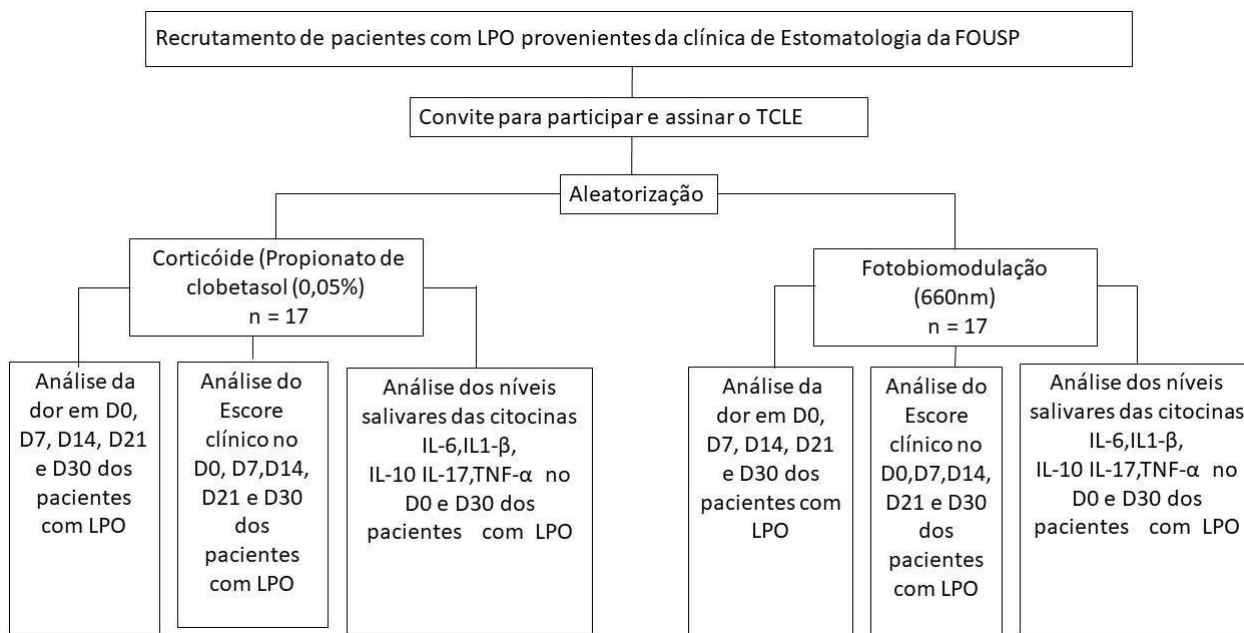


Figura 2: Fluxograma do estudo.

3.8 Coleta de saliva

As coletas de saliva foram sempre realizadas no período da manhã no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Foi solicitado aos pacientes que depositassem a saliva em um tubo de plástico com capacidade para 15mL, com fechamento através de uma tampa rosqueada, até completarem a coleta de 8mL de saliva total não estimulada, sem estipular de tempo. Após a coleta ser mantida em gelo, foi realizada a centrifugação da mesma a 4°C por 10 min a 19,34g (aceleração gravitacional). Em seguida, o sobrenadante foi aliquoteado e armazenado no freezer -80 °C até o momento de sua utilização.

3.9 Determinação das concentrações salivares das citocinas IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-17 e IL-10.

As concentrações salivares das citocinas IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17 e TNF- α foram determinados pelo método ELISA, utilizando-se kits comerciais para IL-6 (430501, Biolegend, San Diego, California, EUA), IL-1 β (437004, Biolegend), IL-10 (430601, Biolegend), IL-17 (433914, Biolegend) e TNF- α (430204, Biolegend), de acordo com as instruções do fabricante. Em todas as reações foi incluída uma curva padrão fornecida pelo kit. A quantificação da produção das citocinas foi realizada por meio da leitura de absorbância em comprimento de onda 450 nm no equipamento BIOTEK- SYNERGY- HT (Bio-Stack Ready).

3.10 Análise Estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os dados que apresentaram normalidade foram submetidos ao teste ANOVA duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunns. Os dados que não apresentaram normalidade foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis. Em todos os testes foram considerados uma significância de 5% ($\alpha=$

5%), com o valor de $p < 0,05$. A proporção da quantidade das amostras, foram submetidas ao teste Qui-quadrado. Os testes de correlação entre dor e aspecto clínico e as concentrações salivares das citocinas IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-17 e IL-10 foram realizados utilizando-se o teste de correlação de Spearman ou Pearson para os dados não normais ou normais respectivamente. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software GraphPad Prism 8.0.2.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização dos pacientes com Líquen Plano Oral

Neste estudo, 110 pacientes com diagnóstico histopatológico de LPO foram atendidos na clínica de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Setenta e quatro pacientes recrutados não atenderam aos critérios de inclusão descritos anteriormente. Portanto, 36 pacientes foram incluídos no estudo no período de maio de 2018 a setembro de 2019. Durante o tratamento, um paciente incluído no grupo FBM apresentou manifestação cutânea do líquen plano, sendo necessária a utilização de corticoide sistêmico e um paciente incluído no grupo Controle não pode comparecer ao atendimento em mais de duas sessões de tratamento e, portanto, ambos foram excluídos.

Na Tabela 3 são apresentadas as características clínicas dos pacientes com LPO incluídos no estudo, de acordo com o sexo, localização e aspecto clínico do LPO no início do tratamento (*Baseline*). Foi observado que a maioria dos pacientes foram do sexo feminino (32/34) e a média de idade foi de 62,2 anos, sendo a idade mínima de 30 anos e a máxima de 83 anos.

No total, 134 lesões de LPO foram diagnosticadas e incluídas no tratamento, sendo 89 lesões atróficas, 31 lesões reticulares e 14 lesões erosivas. A maioria das lesões localizavam-se em mucosa jugal (51/134), seguido pela gengiva (31/134) e língua (28/134). As demais lesões se localizaram em lábio (5), rebordo alveolar (4), fundo de sulco (4), palato (10) e assoalho (1).

O Teste Qui-Quadrado foi utilizado para analisar a distribuição das lesões de LPO nos grupos Controle e FBM de acordo com o aspecto clínico reticular, atrófico e erosivo no *baseline* (D0), não havendo diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,60$), indicando que os grupos foram homogêneos.

Tabela 3: Descrição das características clínicas dos pacientes com LPO incluídos no estudo.

Características Clínicas	N	Grupo Controle	Grupo FBM
Sexo			
Feminino	32	16	16
Masculino	2	1	1
Localização			
Mucosa jugal	51	25	26
Gengiva	31	16	15
Língua	28	10	18
Palato	10	6	4
Lábio	5	2	3
Rebordo	4	4	0
Fundo de sulco	4	2	2
Assoalho de língua	1	0	1
Aspecto clínico			
Atrófica	89	43	46
Reticular	31	14	17
Erosiva	12	7	5

4.2 Análise do sintoma da doença

A dor e desconforto geral dos pacientes com LPO foi avaliada por meio da Escala Visual Analógica no *baseline* (D0), semanalmente durante o tratamento (D7, D14, D21, e no término do tratamento (D30).

Não foi observada distribuição normal dos dados referentes à dor dos pacientes com LPO incluídos no estudo, portanto, são apresentados na Tabela 4 os valores de mediana e o intervalo interquartil nos diferentes períodos avaliados no grupo Controle e FBM.

No início do tratamento, não houve diferença significativa em relação à dor entre os grupos Controle e FBM ($p > 0,99$), demonstrando homogeneidade em relação a esse parâmetro entre os grupos.

Tabela 4: Avaliação da dor dos pacientes com LPO nos grupos G1 e G2 no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30 (Mediana, IQ=Interquartil, Mínima e Máxima).

Período	Corticóide			FBM		
	Mediana	IQ	Min-Máx	Mediana	IQ	Min-Máx
D0	5,4	[3,3-7]	0,6-10	5,8	[3,6-7,8]	1,6-9,1
D7	3,5	[2,0-5,5]	1,1-8,3	3,6	[2,2-5,0]	1,4-7
D14	2,7	[1-5,6]	0-6,2	3,6	[1,4-4,6]	0-5,8
D21	2,0	[0-4,2]	0-7,8	2,8	[0,8-4,7]	0-7,3
D30	1,3	[0-2,7]	0-7,2	2,1	[0-4,2]	0-5,3

No grupo Controle, os pacientes com LPO mostraram redução significativa da dor no período D21 ($p= 0,0283$) e no término do tratamento ($p= 0,0010$) em relação ao início do tratamento (D0) (Figura 3). Já no grupo FBM, também foi observada redução significativa da dor dos pacientes com LPO no período D21 ($p= 0,0371$) e D30 ($p= 0,0006$) quando comparada com o início do tratamento (Figura 3).

Não houve diferença estatística significativa na comparação entre os tratamentos, em relação à redução da dor entre o grupo Controle e FBM nos períodos D7, D14, D21 e D30 ($p>0,99$). Desta maneira, ambos os tratamentos foram eficazes em reduzir a dor e desconforto dos pacientes com LPO nos protocolos clínicos utilizados.

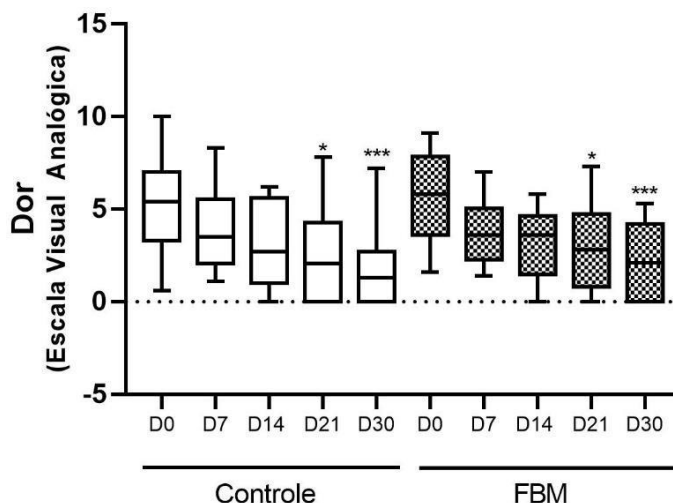


Figura 3: Avaliação da dor dos pacientes com LPO no grupo Controle e FBM no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30. Foi observada diminuição significativa da dor no grupo G1 e G2 no período D21 (* $p=0,02$ e $p=0,03$, respectivamente) e no período D30 (** $p=0,001$ e $p=0,0006$, respectivamente) quando comparado com o início do tratamento.

4.3 Avaliação da característica clínica e tamanho das lesões de LPO

As características clínicas e o tamanho das lesões de LPO foram avaliadas no *baseline* (D0), semanalmente durante o tratamento (D7, D14, D21) e no término do tratamento (D30), de acordo com Thongprason et al. (1992).

Na Tabela 5 são apresentados os valores de mediana e o intervalo interquartil do escore clínico das lesões de LPO obtidos nos pacientes do grupo Controle e FBM nos diferentes períodos avaliados.

No início do tratamento, a mediana do escore clínico em ambos os grupos foi 2, demonstrando que houve um predomínio de lesões com área atrófica $\leq 1\text{cm}^2$ nos pacientes incluídos, não sendo observada diferença significativa entre os grupos ($p>0,99$). Desta maneira, ambos os grupos apresentaram distribuição homogênea em relação ao aspecto clínico das lesões no início do tratamento.

No grupo Controle foi observada melhora significativa do escore clínico da lesão dos pacientes com LPO nos períodos D14, D21 e no término do tratamento quando comparado com o escore clínico da lesão no *baseline* ($p<0,0001$, respectivamente), sendo que ao término do tratamento, as lesões receberam

escore 1, caracterizadas por apresentarem-se clinicamente como lesões hiperqueratóticas. Adicionalmente, foi observada redução significativa do escore clínico das lesões de LPO no grupo Controle no período D14 quando comparado com o D7 ($p= 0,0023$), demonstrando uma melhora clínica em relação ao aspecto da lesão após duas semanas de tratamento (Figura 4 e 6).

Tabela 5: Escores clínicos das lesões de LPO nos grupos G1 e G2 no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30 (Mediana, IQ=Interquartil, Mínima e Máxima).

Período	Corticóide			FBM		
	Mediana	IQ	Min-Máx	Mediana	IQ	Min-Máx
D0	2	[2-3]	1-5	2	[1,5-3]	1-5
D7	2	[1-3]	0-5	2	[1-3]	1-5
D14	1	[1-2]	0-5	2	[1-2,5]	0-4
D21	1	[1-2]	0-5	1	[1-3]	0-4
D30	1	[1-2]	0-4	1	[1-2]	0-5

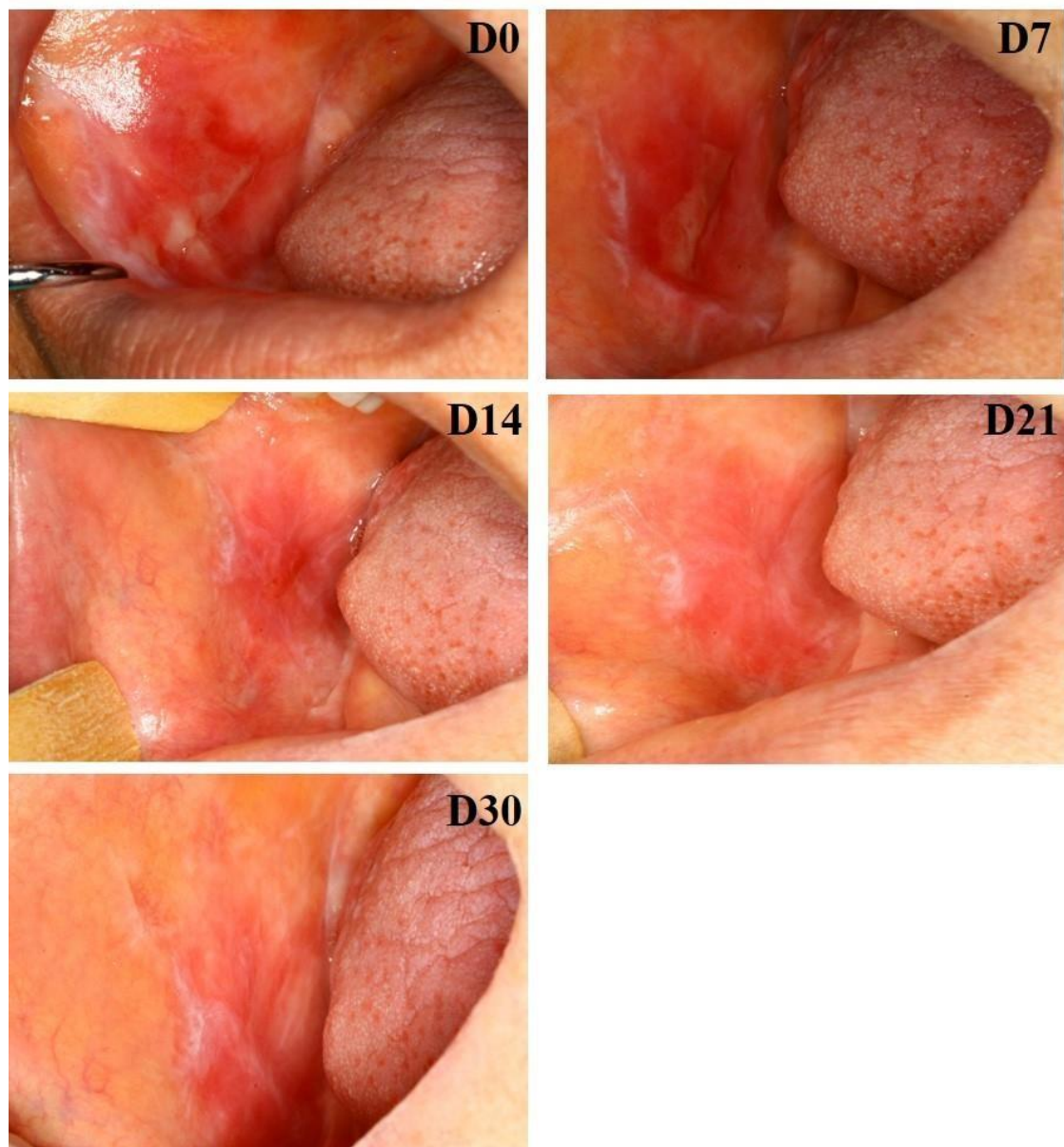


Figura 4: Aspecto clínico de LPO atrófico em paciente do grupo Controle no *baseline* e nos períodos D7, D14, D21 e D30. Pode ser observada melhora do aspecto clínico da lesão nos períodos D14, D21 e D30 quando comparado com o *baseline*. Adicionalmente, foi observado melhora clínica no período D14 em relação ao D7.

No grupo FBM foi observada melhora significativa no escore clínico da lesão dos pacientes com LPO nos períodos D14, D21 e no término do tratamento quando comparado com o escore clínico da lesão no *baseline* ($p < 0,0001$, $p = 0,0047$ e $p < 0,0001$, respectivamente) (Figura 5 e 6). Assim como observado no grupo Controle, pacientes tratados com a FBM apresentaram lesões com aspecto clínico reticular após o tratamento.

Não foi observada diferença em relação ao aspecto clínico das lesões de LPO entre o grupo Controle e FBM nos períodos avaliados ($p>0,99$), de maneira que ambos os tratamentos foram eficazes em promover a melhora do aspecto clínico das lesões.

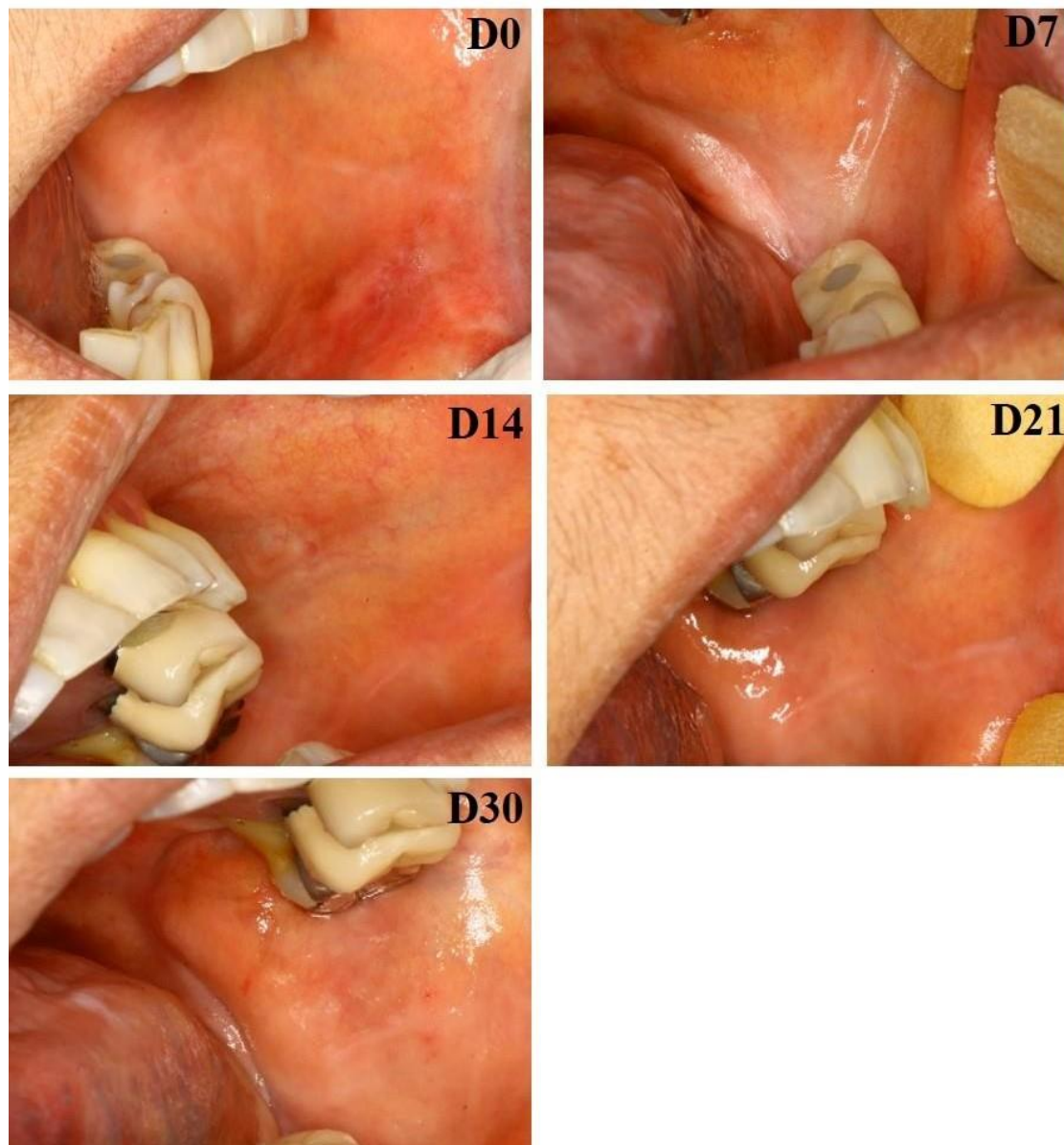


Figura 5: Aspecto clínico de LPO atrófico em paciente do grupo G2 no *baseline* e nos períodos D7, D14, D21 e D30. Pode ser observada melhora do aspecto clínico da lesão nos períodos D14, D21 e D30 quando comparado com o início do tratamento.

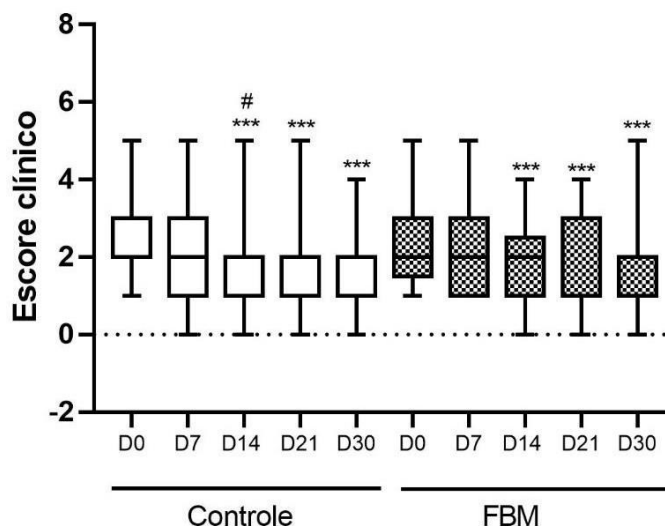


Figura 6: Avaliação dos escores clínicos das lesões de LPO no grupo Controle e FBM no *baseline* (D0), D7, D14, D21 e D30. Foi observada diferença estatística significativa nos períodos D14, D21 e D30 (***) $p < 0,0001$) no grupo Controle quando comparado com o *baseline*. Houve também melhora significativa no aspecto clínico das lesões de LPO no período D14 em relação ao D7 (# $p = 0,0047$). No grupo FBM, melhora clínica das lesões de LPO foi observada nos períodos D14, D21 e D30 (***) $p < 0,0001$, $p = 0,0047$ e $p < 0,0001$, respectivamente) quando comparada ao início do tratamento. Dados apresentados como mediana e IQ.

4.4 Análise dos níveis salivares no *baseline* das citocinas IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 nos pacientes com LPO.

Os níveis salivares das citocinas IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 de todos os pacientes participantes da pesquisa no *baseline* foram avaliados por ELISA e correlacionados com o escore clínico das lesões bem como com a dor. Foi observado que a IL-1 β é a citocina que apresenta maior concentração na saliva dos pacientes com LPO quando comparada com as concentrações de IL-6 ($p = 0,0007$), TNF α ($p < 0,0001$), IL-1 β ($p < 0,0001$), IL-17A ($p < 0,0001$) e IL-10 ($p < 0,0001$) (Figura 7). Em seguida, foi observado que a IL-6 apresenta maiores níveis na saliva dos pacientes com LPO em relação aos níveis observados para TNF α ($p = 0,0002$) e IL-10 ($p < 0,0001$). Em relação, aos níveis de IL-17A, foi observado que esta citocina apresenta maior concentração quando comparado com as citocinas TNF α ($p = 0,007$) e IL-10 ($p < 0,0001$).

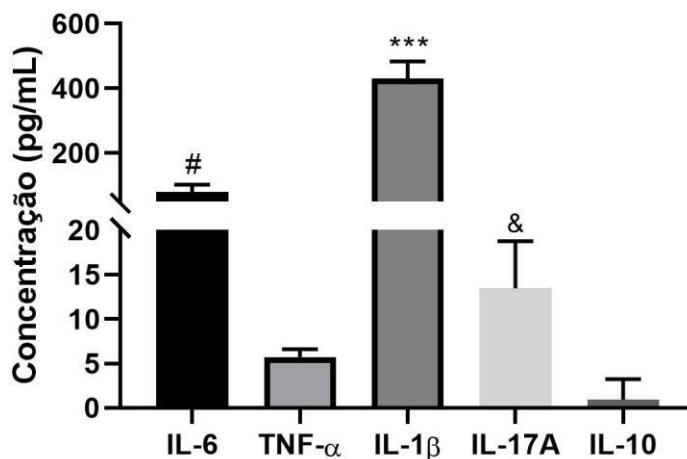


Figura 7: Concentração de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 na saliva de pacientes com LPO no início do tratamento. Foi observada produção elevada de IL-1 β nos pacientes com LPO quando comparada com IL-6 (**** $p=0,0007$), TNF- α (*** $p<0,0001$), IL-17A (*** $p<0,0001$) e IL-10 (**** $p<0,0001$). IL-6 apresentou maior concentração na saliva quando comparado com as citocinas TNF- α (# $p=0,0002$) e IL-10 (# $p<0,0001$) e IL-17A apresentou maior concentração na saliva em relação a TNF- α (& $p=0,007$) e IL-10 (& $p<0,0001$).

Não houve correlação entre o escore clínico dos pacientes com LPO e os níveis salivares de IL-6 ($r=0,14$ e $p=0,41$), TNF- α ($r=0,20$ e $p=0,24$), IL-17A ($r=0,25$ e $p=0,14$) e IL-10 ($r=0,18$ e $p=0,29$). Foi observada correlação positiva entre o escore clínico e IL-1 β ($r=0,39$ e $p=0,02$), de maneira que quanto maior a concentração de IL-1 β , maior o escore das lesões de LPO.

Adicionalmente, não foi observada correlação entre a dor dos pacientes com LPO e os níveis salivares de IL-6 ($r=0,02$ e $p=0,87$), TNF α ($r=0,17$ e $p=0,314$), IL-1 β ($r=0,09$ e $p=0,60$), IL-17A ($r=25$ e $p=0,14$) e IL-10 ($r=0,09$ e $p=0,60$).

4.5 Análise das concentrações salivares de IL-6 nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.

Na análise dos níveis salivares de IL-6, a mediana no início do tratamento foi de 41,77 pg/mL [0-207,0] e 31,08 [0-634,6] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente. No término do tratamento, a mediana referente aos

níveis salivares de IL-6 foi de 11,38 [0-348,7] e 19,27 [0-345,1] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente. Não foi observada significância na concentração desta citocina no início do tratamento ($p=0,85$) entre os grupos Controle e FBM.

Tanto no grupo Controle quanto no grupo FBM foi observada uma redução nas concentrações salivares de IL-6 no término do tratamento em relação ao início, embora sem diferença estatística significativa ($p>0,99$). Adicionalmente, não foi observada diferença nos níveis de IL-6 entre os grupos Controle e FBM no término do tratamento ($p>0,99$) (Figura 8).

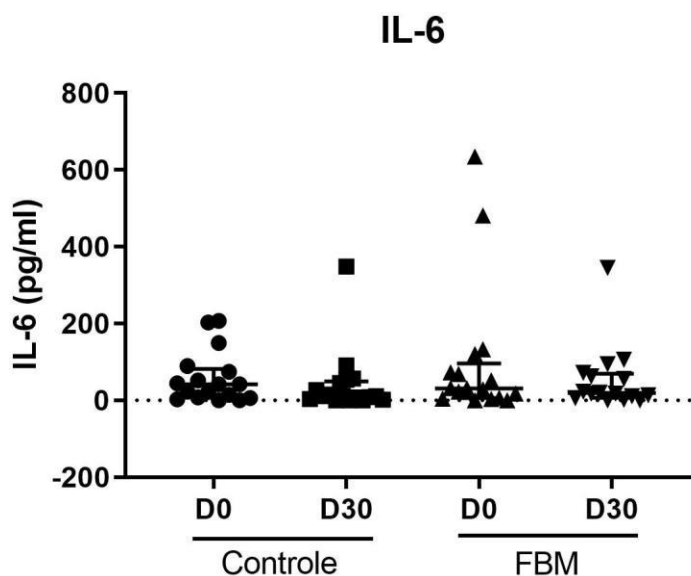


Figura 8: Análise dos níveis salivares de IL-6 nos pacientes com LPO dos grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados são apresentados como mediana e IQ. Os dados são apresentados como mediana e IQ.

4.6 Análise das concentrações salivares de TNF- α nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM

Os níveis salivares de TNF- α na saliva de pacientes com LPO apresentaram mediana 3,25 [0-6,84] e 5,30 [0-16,9] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente. Ao término do tratamento, foram observados

valores de mediana 3,51 [0-16,8] e 5,56 [0-19,41] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente, sendo similares aos valores encontrados no início do tratamento.

Não houve diferença estatística significativa entre o *baseline* e o término do tratamento (D30) no grupo Controle ($p>0,99$) e no grupo FBM ($p>0,99$). Adicionalmente, não foi observada diferença nos níveis salivares de TNF- α entre o grupo Controle e FBM no *baseline* e no término do tratamento ($p>0,99$) (Figura 9).

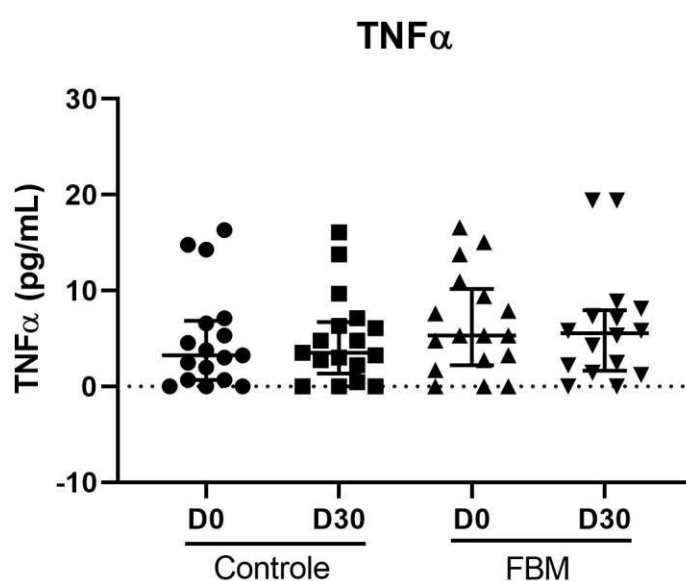


Figura 9: Análise das concentrações salivares de TNF- α nos pacientes com LPO dos grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados são apresentados como mediana e IQ.

4.7 Análise das concentrações salivares de IL-1 β nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.

Na análise dos níveis salivares de IL-1 β na saliva de pacientes com LPO, os valores de mediana obtidos foram de 357,7 [33,71-1186] e 390,5 [13,59-952,2] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente. Já no término do tratamento, houve redução no valor da mediana no grupo Controle (mediana 173,3; 16,07-638,5). No grupo FBM, a mediana referente à concentração de IL1- β ao término do tratamento foi de 368,6 [20,98-1134].

Não foi observada diferença estatística significativa entre o *baseline* e o término do tratamento (D30) no grupo Controle ($p=0,15$) e no grupo FBM ($p>0,99$). Adicionalmente, não foi observada diferença nos níveis salivares de IL-1 β entre o grupo Controle e FBM no *baseline* ($p=0,98$) e no término do tratamento ($p>0,12$). (Figura 10)

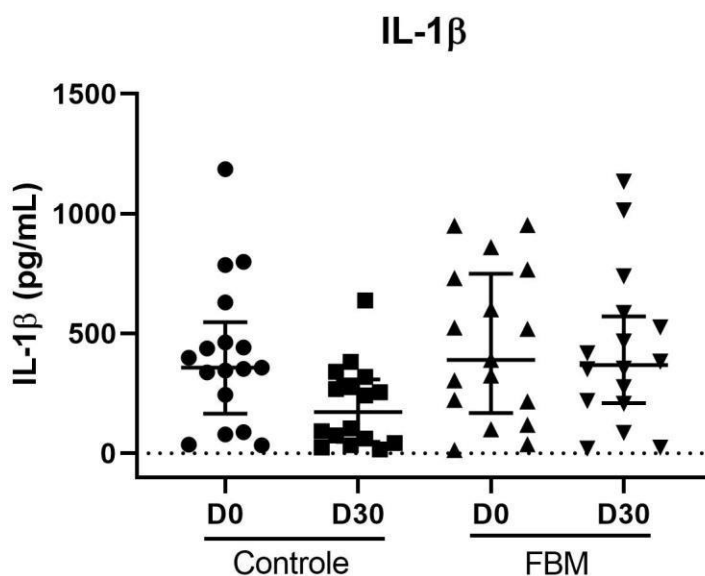


Figura 10: Análise dos níveis salivares de IL-1 β nos pacientes com LPO dos grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados são apresentados como mediana e IQ.

4.8 Análise das concentrações salivares de IL-17A nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM

Na análise dos níveis salivares de IL-17A na saliva de pacientes com LPO, os valores de mediana obtidos foram de 12,32 [5,77-23,68] e 14,14 [4,19-27,77] nos pacientes do grupo Controle e FBM, respectivamente. Já no término do tratamento, estes valores se mantiveram praticamente inalterados no grupo Controle (mediana 15,27; 6,97-21,25) e FBM (mediana 14,14; 7,80-22,92).

Não foi observada diferença estatística significativa entre o *baseline* e o término do tratamento (D30) no grupo Controle ($p=0,11$) e no grupo FBM ($p>0,99$). Adicionalmente, não foi observada diferença nos níveis salivares de IL-

17 entre o grupo Controle e FBM no *baseline* e no término do tratamento ($p>0,99$) (Figura 11).

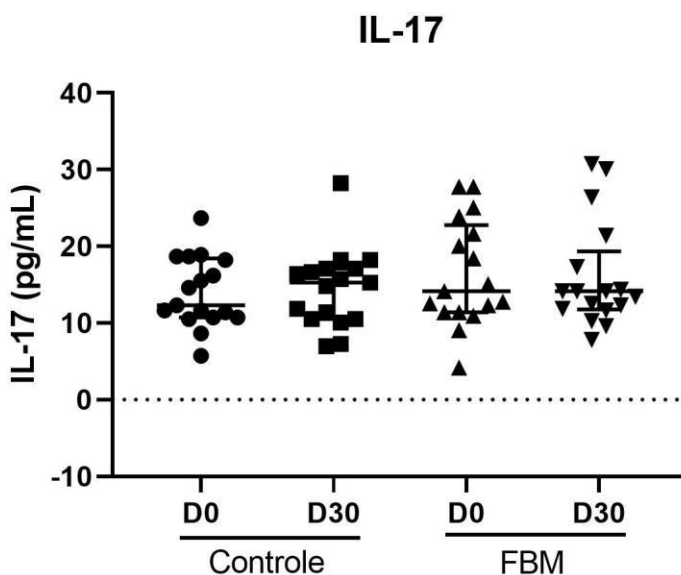


Figura 11: Análise dos níveis salivares de IL-17A nos pacientes com LPO dos grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados são apresentados como mediana e IQ.

4.9 Análise das concentrações salivares de IL-10 nos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM.

Na análise dos níveis salivares de IL-10, foi observado que 5 amostras dos pacientes incluídos no grupo Controle e no grupo FBM apresentaram níveis indetectáveis de IL-10. No grupo Controle, a mediana no início e término do tratamento foi de 0,77 [0-34,71] e 0,94 [0-19,87]. No grupo FBM, a mediana referente aos níveis de IL-10 na saliva foi de 2,82 [0-8,74] e 1,91 [0-8,41] no início e término do tratamento, respectivamente.

Não houve diferença estatística significativa em relação aos níveis salivares de IL-10 nos pacientes com LPO no início e término do tratamento tanto com corticoide quando FBM ($p>0,99$). Adicionalmente, não foi observada entre os grupos Controle e FBM no *baseline* e no término do tratamento ($p>0,99$) (Figura 12).

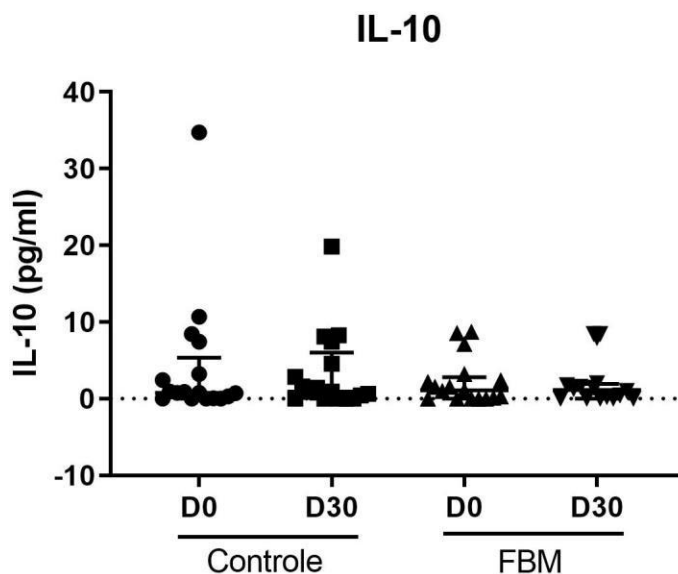


Figura 12: Análise dos níveis salivares de IL-10 nos pacientes com LPO dos grupos Controle e FBM no *baseline* (D0) e no término do tratamento (D30). Os dados são apresentados como mediana e IQ.

4.10 Análise da correlação das concentrações salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 com o escore clínico e dor dos pacientes com LPO submetidos ao tratamento com a FBM

Nas tabelas 6 e 7 estão apresentados os valores obtidos após a análise de correlação dos níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 com o escore clínico e dor, respectivamente, nos pacientes com LPO no início (D0) e término do tratamento (D30) com corticoide (Controle) e FBM. Foi observada correlação positiva em relação aos níveis salivares de TNF- α e IL-1 β e o escore clínico no início do tratamento dos pacientes com LPO tratados com FBM ($r=0,48$ e $p=0,04$), de maneira que quanto maior os níveis salivares destas citocinas, pior o escore clínico das lesões de LPO. Não houve diferença significativa no D0 em nenhum dos grupos em relação as outras citocinas analisadas. Na tabela 7, os resultados indicam que não houve correlação de nenhuma citocina no tocante a dor.

Tabela 6: Análise de correlação entre os níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 e o escore clínico de pacientes com LPO no D0 e D30.

Grupo/ Citocinas	Controle		FBM	
	Escore clínico D0	Escore clínico D30	Escore clínico D0	Escore clínico D30
IL-6 D0	r=-0,24 p=0,34		r=0,44 p=0,07	
IL-6 D30	r=-0,20 p=0,42		r=0,17 p=0,52	
TNF α D0	r=-0,01 p=0,95		r=0,48 p=0,04	
TNF α D30	r=-0,29 p=0,25		r=0,04 p=0,86	
IL-1 β D0	r=0,11 p=0,65		r=0,70 p=0,0021	
IL-1 β D30	r=-0,07 p=0,77		r=0,17 p=0,36	
IL-17A D0	r=-0,29 p=0,25		r=0,19 p=0,44	
IL-17A D30	r=-0,10 p=0,67		r=0,28 p=0,29	
IL-10 D0	r=-0,07 p=0,76		r=0,36 p=0,14	
IL-10 D30	r=0,04 p=0,87		r=0,38 p=0,12	

No grupo FBM, houve diferença significativa no D0, de acordo com a tabela 6, e na tabela 7, não houve nenhuma correlação em relação a dor em nenhum dos grupos.

Tabela 7: Análise de correlação dos níveis salivares de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17A e IL-10 na dor de pacientes com LPO no D0 e D30.

Grupo/ Citocinas	Controle		FBM	
	Dor D0	Dor D30	Dor D0	Dor D30
IL-6 D0	r=-0,13 p=0,59		r=0,27 p=0,29	
IL-6 D30		r=-0,13 p=0,61		r=0,13 p=0,61
TNF α D0	r=-0,01 p=0,95		r=0,04 p=0,86	
TNF α D30		r=-0,29 p=0,25		r=-0,02 p=0,91
IL-1 β D0	r=0,09 p=0,6		r=0,13 p=0,60	
IL-1 β D30		r=-0,44 p=0,08		r=0,42 p=0,11
IL-17A D0	r=-0,29 p=0,25		r=-0,11 p=0,67	
IL-17A D0		r=-0,15 p=0,53		r=0,08 p=0,76
IL-10 D0	r=-0,07 p=0,76		r=0,36 p=0,14	
IL-10 D30		r=0,04 p=0,87		r=0,38 p=0,12

5. DISCUSSÃO

Esta pesquisa revelou que o tratamento com o corticoide propionato de clobetasol 0,05%, assim como a FBM foram efetivos na redução da dor e melhora no aspecto clínico nas lesões de LPO, sendo que não houve diferença significativa entre eles. Os dois tratamentos aliviaram a dor dos pacientes e a FBM pode ser uma alternativa em potencial para os futuros tratamentos de LPO, pois não apresenta os efeitos colaterais e nem tampouco os efeitos adversos do uso de corticoide, além disso, não apresentam contra-indicações.

De acordo com os resultados desta pesquisa, as citocinas inflamatórias não foram moduladas nas amostras de saliva no final do tratamento (D30) de ambos os grupos (Controle e FBM) quando comparadas ao início do tratamento, e a correlação entre a dor e o aspecto clínico também não foram observadas. A citocina pró-inflamatória IL-1 β foi a que apresentou maiores níveis salivares nos pacientes com LPO no início do tratamento, seguida pelas citocinas IL-6 e TNF- α , demonstrando assim o envolvimento destas citocinas na patogênese do LPO, como também cita o autor, Xavier G et al.(2007), que estas citocinas exacerbam e perpetuam o LPO.

Diversos autores (Jajarm et al., 2018, Thongprasom, 2017, Mozaffari et al., 2018, Othman et al., 2016, Alrashdan et al., 2016, Roopashree et al., e Dan et al. 2010, Payeras et al., 2013, Adamo et al., 2014) descreveram o LPO como uma doença inflamatória, crônica, e mediada por linfócitos T com etiologia ainda desconhecida, e a classificam em três principais categorias reticular, atrófico e erosivo. O tipo erosivo apresenta em seu aspecto clínico, áreas eritematosas e ulceradas apresentando a sintomatologia mais agressiva, causando dor intensa e ardência com sensação de queimação. (Chiang et al., 2018, Alrashdan et al., 2016, Nogueira et al., 2015, Chiang et al., 2018).

Atualmente o corticoide é considerado padrão-ouro para o tratamento do LPO, podendo ser administrado via tópica ou sistêmica, de acordo com a gravidade do caso. No nosso estudo, utilizamos o corticoide (propionato de clobetasol 0,05%) gel tópico porque é a medicação que mostra a melhor resposta para o LPO (Dillenburg 2014, Alrashdan et al., 2016, Jajarm et al., 2011). O corticoide tópico, em geral, é bem tolerado, entretanto pode causar efeitos colaterais como candidíase secundária, atrofia da mucosa, secura bucal, e

retardo na cicatrização, (Thongprasom et al., 2008; Alrashdan et al., 2016), além de insuficiência renal, desordens gastrointestinais, hipertensão e diabetes. (Akram et al., 2017), e seu uso prolongado, pode proporcionar resposta refratária, e diminuição da sua efetividade nos tecidos biológicos, (Jajarm et al., 2011) estas razões são bastantes relevantes e por este motivo tem-se estudado outras alternativas de terapias para o LPO que não apresentem desvantagens aos pacientes, que sejam efetivos e tenham o mínimo de efeitos colaterais.

Jajarm et al., 2011 fizeram um estudo piloto que comparava laser de baixa intensidade versus corticosteroide para tratamento de LPO atrófico e erosivo. Selecionaram os pacientes sintomáticos, que foram separados em grupo experimental, tratados com laser de diodo (Mustang) - Rússia, 630nm, 10mW, ondas contínuas, com exposição de 2,5 min; 1,5J/cm², por sessão, irradiância de 10mW/cm², por ponto na área de 1cm. As irradiações eram feitas 2x por semana por no máximo 10 sessões. Os pacientes do grupo controle foram tratados com dexametasona (0,5 mg em 5ml de água) através de bochecho por 5 minutos, e após 30 minutos era feito o bochecho com 30 drops de Nistatina (100 000 UI) por 5 minutos, 4 vezes ao dia durante 30 dias e os pacientes foram acompanhados semanalmente durante este período. A dor foi avaliada pela VAS e sua redução avaliada de acordo com a classificação de Thongprasom e a sua severidade baseada na presença da classificação reticular, atrófica ou erosiva. Seus resultados indicaram semelhantes de eficácia entre os dois grupos e 50% do grupo experimental e 40% do grupo controle não recidivaram no acompanhamento durante as sessões de tratamento, não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos.

A FBM tem-se mostrado uma alternativa interessante para a substituição do corticoide nos tratamento de LPO, pois modula o processo inflamatório tanto agudo como o crônico, produz efeito analgésico, é bioestimulador promovendo o processo de reparação (Martins et al., 2012; Gao et al., 2009; Bjordal et al., 2006), além de não causar efeitos colaterais que já é um dos ganhos inestimáveis para a saúde dos pacientes, além ser uma alternativa para os casos refratários onde os pacientes são resistentes a terapia clássica com corticoides (Pavlic et Vuji-Aleksic, 2013). A FBM se mostrou tão eficaz quanto o uso de corticoide no estudo piloto de Jajarm et al., (2011), e neste estudo

também se relata que há uma forte importância do comprimento de onda que se utiliza na FBM, quanto melhor for escolhido o comprimento de onda melhor será o resultado final. Os lasers vermelhos e infra-vermelho apresentam maior penetração nos tecidos o que está bem documentado na literatura, por este motivo, foi escolhido o laser de 630nm para curar as feridas do LPO, além de não apresentarem os efeitos colaterais de outras drogas. Eles sugerem que estudos duplo-cego, aleatorizados e com controle placebo sejam realizados.

Foi observada diminuição da dor a partir da terceira semana de tratamento para ambos os grupos. Quanto ao aspecto clínico, houve uma redução no escore clínico das lesões a partir da segunda semana de tratamento nos dois grupos, e no término dos tratamentos a maioria das lesões apresentaram aspecto reticular. Jajarm et al. (2013) avaliaram os efeitos da FBM (630nm, 1,5J/cm², 10mW, 10mW/cm², 150s) em relação à corticoterapia tópica em trinta pacientes com LPO erosivo/atrófico. Houve melhora da dor e aspecto clínico nos tipos de tratamento. Dillenburger et al. (2014), no seu estudo clínico controlado randomizado observou melhora significativa nos pacientes tratados com a FBM 660nm (6J/cm², 40mW, 1000mW/cm², 6s, 3 sessões por semana) em relação à dor, aspecto clínico, índice de ansiedade, resolução clínica e menor recorrência das lesões quando comparado aos pacientes tratados com propionato de clobetasol (0,05%). Em 2017, Akram et al., em sua revisão de literatura analisaram os lasers de baixa intensidade que variavam entre (630 e 970nm, 10-3000mW, 120 J/cm², 0,2-1,0 cm², 6-480s), sugeriram que o laser de baixa intensidade pode ser um tratamento estratégico para o LPO em contraste com o uso da terapia convencional de corticoides principalmente por evitar complicações sistêmicas e também sugerem que a frequência da aplicação do laser pode ter influência na eficácia do tratamento.

IL-6 é um tipo de citocina pró-inflamatória com múltiplas funções e vários tipos de células são responsáveis por sua secreção, incluindo células dendríticas, monócitos, macrófagos, queratinócitos, células endoteliais e células epiteliais (Lu et al., 2016, Yin et al., 2017). Não há na literatura estudo que se propôs a avaliar eficácia da FBM na modulação de IL-6 na saliva de pacientes com LPO comparado ao tratamento com corticoide. Neste estudo, apesar de ser observada uma redução na concentração de IL-6 após os tratamentos com FBM

e corticoide, os resultados não foram significantes. Kaur et al. (2015) verificaram que os níveis salivares de IL-6 foram significativamente mais elevados em lesões mais graves de LPO. Abdel-Haq et al. (2014) também demonstraram que os casos de LPO erosivo/atróficos estão associados com maiores níveis de IL-6 na saliva quando comparado com casos de LPO reticular. Mozzafari et al., (2018), consideraram que os níveis de IL-6 na saliva dos pacientes com LPO, podem ser indicadores confiáveis da resposta terapêutica nas bases moleculares.

IL-10 é uma citocina anti-inflamatória secretada por monócitos, macrófagos, linfócitos T, e está envolvida na resposta imunológica de doenças autoimunes, e seu efeito potencial no LPO tem sido estudado. (Qiu M et al., 2017). Estes autores fizeram um estudo genético para avaliar se o IL-10 está ou não estabelecida na patogênese do LPO e concluíram que etnias asiáticas e caucasianos podem apresentar diferenças nos genes e talvez algum risco para a patogênese o LPO.

No nosso estudo não observamos alteração da concentração de IL-10 após os dois tratamentos. Dan H et al. (2011) demonstraram elevada concentração de IL-10 na saliva de pacientes com LPO atrófico e erosivo em pacientes chineses, sendo 79 pertencentes ao grupo experimental e 41 ao grupo controle, a avaliação dos níveis desta citocina foi analisado pelo método ELISA, observaram que os níveis de IL-10 na saliva e no soro dos pacientes com LPO estavam elevados e que a IL-10 pode estar associada a patogênese do LPO. Pekiner F et al. (2012) observaram que a IL-10 suprime a produção de citocinas pró-inflamatórias quimiocinas e moléculas de adesão, produzidas por macrófagos/monócitos e células dendríticas em sua pesquisa no soro de pacientes com LPO através de citometria de fluxo e concluíram que há predominância da resposta Th2, e que há mudança do equilíbrio entre Th1/Th2. Zhou G et al., (2012) avaliaram 22 pacientes com LPO e 8 pacientes controle e observaram níveis mais baixos de IL-10 nos pacientes com LPO do que nos pacientes do grupo controle, havendo controvérsias na literatura a esse respeito. Adicionalmente, não há na literatura estudos que avaliaram os níveis salivares de IL-10 associado a alguma forma tratamento para o LPO.

A IL-1 β é uma citocina recém descoberta e na literatura existem poucos estudos que a relacionam ao desenvolvimento do LPO. IL-1 β afeta todas as

células e organelas e é o maior mediador patogênico das doenças autoimunes, sendo produzido por células hematopoiéticas, como os monócitos do sangue, macrófagos dos tecidos, células dendríticas, ativam outras citocinas como TNF- α . (Dinarello, et al., 2011). Dados da literatura indicam a importância das citocinas IL-1 β , IL-6, e TNF- α na exacerbação e perpetuação do LPO.

No nosso estudo foi observado que a IL-1 β é a citocina que apresenta maior concentração na saliva dos pacientes com LPO quando comparada com as concentrações de IL-6, TNF α , IL-17A e IL-10. Foi observada correlação entre o escore clínico e IL-1 β , assim, quanto maior a concentração de IL-1 β , maior o escore das lesões de LPO, embora não se tenha observado correlação de dor nos pacientes com LPO. Também não há na literatura artigos que tenham avaliado a eficácia do tratamento com FBM na modulação de IL-1 β em amostras de saliva. Takeuchi Y et al. (1988) verificaram pela primeira vez a presença de IL-1 nos queratinócitos e células endoteliais vasculares na lâmina própria das lesões de 10 pacientes com LPO. Essa constatação foi validada por um trabalho de Ge Y et al. (2012), que também revelaram coloração positiva de IL-1 β nos queratinócitos espinhosos e basais, além de linfócitos infiltrados nas lesões de 35 pacientes com LPO comparado com amostras de mucosa oral normal de 10 indivíduos. Adicionalmente, Yamamoto T et al.(1995) descobriram que o número de células produtoras de IL-1 β e as concentrações de IL-1 β nos sobrenadantes da cultura de queratinócitos e células mononucleares infiltrantes de tecido isoladas de tecidos lesionais de LPO aumentaram em comparação com inflamação gengival e mucosa normal.

Apesar da escassez de estudos correlacionando a citocina IL-1 β ao LPO, existem trabalhos que verificam a concentração desta citocina na saliva por meio de diferentes abordagens. Fratta et al. (2018) correlacionaram a IL-1 β na saliva e soro de 61 pacientes à estados emocionais, e demonstraram que as concentrações plasmáticas e salivares desta citocina estavam significativamente relacionadas ao estresse sócio-cognitivo. Belstrom et al. (2018) avaliaram os níveis salivares de IL-1 β em 28 pacientes com inflamação gengival e demonstraram uma diminuição desta citocina após o desenvolvimento de 10 dias da gengivite experimental. Por outro lado, Liukkonen et al. (2016) também avaliaram os níveis salivares de IL-1 β em pacientes com problemas periodontais

e demonstraram um aumento significativo na concentração desta citocina na saliva de indivíduos com periodontite generalizada. Adicionalmente, Jaedicke et al. (2015) realizaram um estudo sobre biomarcadores da periodontite e demonstraram que de 13 estudos levantados na literatura associando IL-1 β à periodontite, 9 mostraram um nível significativamente maior de IL-1 β em pacientes com periodontite em comparação com controles saudáveis.

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória recém descoberta, portanto, não há muita informação na literatura relacionada ao LPO. Ela induz a expressão de genes pró-inflamatórios e atua sinergicamente com TNF- α , IL-6, IL-1 β (Kuwabara et al., 2017), é produzida por ativação de células T CD4 e capaz de induzir a produção de IL-6 (Wong et al., 2001). O desequilíbrio na produção na produção de IL-17A pode levar à exacerbação do processo inflamatório e reações auto-imunes. (Jin et al., 2013; Kuwabara et al., 2017).

Não foi observada diferença significativa nas concentrações salivares de IL-17A tanto no início quanto no término do tratamento dos pacientes com LPO de ambos os grupos. Adicionalmente, Monteiro et al. (2014) relataram que os níveis mais elevados de IL-17 foram encontrados nos pacientes com LPO erosivo, sendo um fator relevante na destruição tecidual. A IL-17 foi encontrada nos queratinócitos das lesões de LPO e pode agir recrutando células inflamatórias no local da doença (Monteiro et al., 2014).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória, produzida por células T, Natural-Killer, células dendríticas, macrófagos e queratinócitos. Estes últimos liberam TNF- α em resposta à presença de IFN- γ (Lu et al. 2015). Observamos que o TNF- α não apresentou significância entre os grupos controle e FBM tanto no início quanto no término do tratamento. Entretanto houve correlação positiva dos níveis salivares e escore clínico no início do tratamento dos pacientes com LPO no grupo FBM, de maneira que elevada concentração de TNF- α está associada com pior escore clínico.

Ghallab et al. (2010) demonstrou elevação nos níveis salivares de TNF- α em pacientes com LPO quando comparados aos pacientes sem a doença, e por esta razão pode ter um bom potencial para auxiliar no diagnóstico do LPO, e é um método não invasivo de coleta, tendo menor custo-efetividade e também

pode ser utilizado no monitoramento da doença, e Mozaffari et al. (2017) sugerem que a saliva pode ser um bom medidor de TNF- α e pode ser utilizado como proposta para o diagnóstico e tratamento do LPO. As amostras de saliva foram colhidas de pacientes sintomáticos (LPO erosivo e atrófico), sem estímulo, no período da manhã, antes e depois do tratamento com prednisona e avaliadas pelo método ELISA. Os pacientes responderam bem ao tratamento com prednisona, e nos casos mais severos de LPO erosivo ou atrófico, o corticoide pode ser indicado de maneira sistêmica. O aumento desta citocina nas amostras de saliva, indicam que elas podem ser produzidas em dois locais, nas células do infiltrado inflamatório e/ou pelos próprios queratinócitos. A redução significativa dos níveis salivares de TNF- α depois do tratamento com prednisona, pode estar baseada no fato de ter um papel importante no processo inflamatório e imunopatogênese do LPO, sendo o gatilho para apoptose induzindo a diferenciação e ativação do CD8. Pezelj-Ribaric et al. (2004) demonstraram que os níveis salivares de TNF- α em pacientes com LPO eram maiores do que nos pacientes do grupo controle e esse aumento indicava que havia correlação na severidade da doença (atrófico e erosivo). Mozaffari et al. (2017), em sua revisão sistemática, relataram que o TNF- α apresenta maiores concentrações na saliva em pacientes com LPO em relação aos pacientes que não apresentavam a doença e que este aumento pode ter um papel importante na progressão da patologia do LPO, entretanto os estudos da literatura de língua inglesa que medem os níveis salivares, tem mostrado resultados diferentes quanto ao TNF- α , todavia relatam que esta meta-análise sofreu limitações porque os estudos tinham metodologias diferentes como variação nos critérios de seleção dos pacientes sem a doença, variação do tipo da severidade do LPO, consumo de cigarros e álcool pelos pacientes que podem indicar diferentes resultados. Kaur et al. (2015) verificou que os níveis salivares de TNF- α foram significativamente mais altos nos estágios mais avançados das lesões de LPO em comparação ao início da doença.

O LPO é uma doença de etiologia ainda desconhecida, sendo tratada a sintomatologia dos pacientes. O tratamento clássico ainda é o corticoide, porém há pacientes que não respondem a esse tratamento. Pavlic e Vujic-Aleksic (2013) sugerem a FBM como uma outra modalidade de tratamento que poderia

ser utilizada em conjunto com o corticoide. Em seu estudo, foi avaliada a FBM com laser de diodo 904 e 980nm e $4\text{J}/\text{cm}^2$, variando o número de sessões de acordo com as características da lesão e sua localização, o laser de diodo de 980nm apresentou ação mais superficial do que o laser de 904nm.

Um estudo randomizado que compara os efeitos da FBM com corticoide no tratamento das lesões atróficas e erosivas do LPO foi de Dillenburg et al. (2014). Os parâmetros do equipamento foram laser de diodo com comprimento de onda em 660nm, irradiação pontual, com spot $0,04\text{ cm}^2$, potência de 40mW, densidade de $1000\text{mW}/\text{cm}^2$, 6s de exposição por ponto e 0,24J total por ponto. Os resultados da FBM foram mais efetivos do que o corticoide no tratamento das lesões de LPO e seus efeitos mais duradouros em relação ao período de controle que foi de 90 dias, e a FBM se mostrou uma promissora estratégia terapêutica para o tratamento de LPO e sem apresentar efeitos colaterais e talvez a única desvantagem seja o custo do equipamento de laser.

Mutafchieva et al. (2018) sugeriram substituir o corticoide, que apresenta efeitos adversos e colaterais por uma outra terapêutica, principalmente para as formas de LPO atróficas e erosivas que são as mais dolorosas e causam a sensação de queimação além da literatura relatar que há pacientes que não respondem ao tratamento clássico. Doze pacientes com diagnóstico clínico e histopatológico do LPO receberam o tratamento com FBM (810 nm, 0.5 W, 30 s, $1.2\text{ J}/\text{cm}^2$) três vezes por semana durante um mês, sendo no total 59 lesões tratadas. Foi observada diminuição da dor e melhora no aspecto das lesões de LPO. Todos os pacientes experimentaram algum grau de melhora, portanto, a FBM pode ser considerada efetiva no controle do LPO atrófico e erosivo sem apresentar os efeitos colaterais do corticoide. Entretanto, El Shenawy H (2015) avaliou a FBM (laser de diodo 970nm) em comparação ao corticoide uso tópico, 4 vezes ao dia por 4 semanas, e os pacientes foram acompanhados semanalmente durante este período. A avaliação da dor foi realizada pela EVA antes, durante e depois do tratamento. O grupo laser recebeu irradiação por 8 minutos em 4 sucessivas aplicações por 2 minutos cada, sem contato, 3W de potência e 30 Hertz de frequência, 2 vezes por semana, por 2 meses até no máximo 10 sessões. Após as aplicações de laser, os pacientes receberam aplicação de frio para evitar edema e utilizaram Oralcure gel no pós-operatório.

Embora sua amostra tenha sido pequena com apenas 24 pacientes divididos em dois grupos de 12, onde um grupo recebeu o tratamento de laser e o outro de corticoide, seus resultados mostraram que o corticoide foi mais efetivo que a FBM.

Othman et al., (2016) também analisaram o laser de diodo a 970nm Sirona- Germany, 2 vezes por semana, por no máximo 10 sessões. As áreas das lesões foram irradiadas a mais de 3 milímetros da borda da lesão visível, com o aparelho de 2W de potência, ondas contínuas e sem contato, 8 minutos de aplicação em 4 sessões subsequentes com espaço de 1 minutos entre as aplicações para relaxar o tecido. Recomendavam dieta fria e uso de clorexidina gel oral no pós-operatório. Não houve efeitos colaterais em nenhum momento do tratamento e nem no acompanhamento. Já o grupo corticoide, utilizou acetato triamcinolone em orabase (Kenacort-A orabase pomada–Turquia). Seus resultados mostraram que o corticoide foi mais eficaz que o laser apesar do laser estimular os tecidos aumentando a microcirculação local, reduzindo a quantidade de mediadores inflamatórios, aumentando a atividade celular, diminuindo a quantidade de tecido de granulação e conseqüentemente estimular o processo fisiológico de reparação, o corticoide é um potente agente na diminuição de dor já conhecido por inibir a enzima fosfolipase, prevenindo a transformação em ácido aracdônico e produção de prostaglandinas e concluíram que o laser pode ser uma boa opção para os casos da impossibilidade de se utilizar o corticoide.

Mirza et al. (2018) comparou o uso de corticoide dexametasona 0,5mg em 5 ml de água, bochecho por 5 minutos e após 30 minutos uso de drops de Nistatina 100 000 UI (Unidades Internacionais), 4 vezes ao dia por 30 dias com laser de baixa intensidade (630nm, 10mW, ondas contínuas, 1,5J/cm²), por 2,5 minutos, 1cm² por ponto, com irradiação duas vezes por semana, sendo máximo 10 sessões e concluíram que o corticoide foi mais efetivo no tratamento de LPO atrófico-erosivo, mas que o laser pode ser uma alternativa para o tratamento.

Akram et al. (2018) em sua revisão de literatura avaliou o laser com parâmetros entre (630 e 970nm, 10-3000 mW, 0.2-1.0cm², e 6-480s), respectivamente. O período de acompanhamento foi de 4 a 48 semanas e em todos os estudos o resultado foi positivo eficaz no tratamento do LPO, sendo que

3 estudos mostraram uma melhor eficácia do corticoide em relação a FBM e outro mostrou melhora com a FBM sobre o corticoide e outro estudo mostrou resultados semelhantes entre as duas terapias. Adicionalmente eles sugerem que estudos clínicos e randomizados são recomendados para se aumentar o nível de evidência dos estudos e poder avaliar de maneira robusta a eficácia da FBM no LPO.

Nosso estudo é o primeiro na literatura que se propôs a avaliar a eficácia da FBM em comparação ao tratamento clássico com corticoide nos casos de LPO. Foi realizado um estudo clínico, controlado, aleatorizado e duplo-cego que demonstrou resultados de elevada evidência clínica, mesmo não tendo alcançado ainda o número de pacientes necessário para a conclusão do trabalho proposto. Até o presente momento os resultados obtidos indicam que a FBM e o corticoide são efetivos no tratamento do LPO em relação à diminuição da dor e melhora no aspecto clínico. Vale ressaltar que a FBM, não está associada a efeitos colaterais, surgindo como uma alternativa muito promissora para o tratamento de LPO.

6. CONCLUSÕES

- Tanto a FBM quanto o tratamento com corticoide foram capazes de diminuir a dor e desconforto dos pacientes com LPO após 3 semanas de tratamento (D21) e ao término do tratamento, sendo ambos eficazes.
- Em relação ao aspecto clínico, o tratamento com corticoide e FBM foi associado com melhora no aspecto clínico das lesões de LPO, não havendo diferença entre os tratamentos.
- A citocina IL-1 β apresentou maiores níveis salivares nos pacientes com LPO, seguido das citocinas IL-6, IL-17, TNF- α e IL-10. Além disso, esta citocina foi correlacionada com pior aspecto clínico das lesões de LPO.
- Não foi observada correlação entre os níveis salivares das citocinas IL-6, IL-17, TNF- α e IL-10 dos pacientes com LPO e dor bem como com o aspecto clínico.
- Não foi observada modulação das citocinas IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17 e TNF- α nos pacientes com LPO após o tratamento com a FBM e corticoide.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Haq A, Kusnierz-Cabala B, Darczuk D, Sobuta E, Dumnicka P, Wojas-Pelc A, Chomyszyn-Gajewska M. Interleukin-6 and neopterin levels in the serum and saliva of patients with Lichen planus and oral Lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2014; 43(10):734-9

Akram Z, Javed F, Hosein M, Al-Qahtani MA, Alshehri F, Alzahrani AI, Vohra F. Photodynamic therapy in the treatment of symptomatic oral lichen planus: A systematic review. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2018; 34(3):167-174

Akram Z, Abduljabbar T, Vohra F, Javed F. Efficacy of low-level laser therapy compared to steroid therapy in the treatment of oral lichen planus: A systematic review. *J Oral Pathol Med.* 2018 Jan;47(1):11-17.

Al-Maweri SA, Kalakonda B, Al-Soneidar WA, Al-Shamiri HM, Alakhali MS, Alaizari N. Efficacy of low-level laser therapy in management of symptomatic oral lichen planus: a systematic review. *Lasers Med Sci.* 2017 Aug;32(6):1429-1437.

Alrashdan MS, Cirillo N, McCullough March. Oral lichen planus: a literature review and update. *Dermato.Res.* 2016; 308(8):539-51.

Belstrøm D, Damgaard C, Könönen E, Gürsoy M, Holmstrup P, Gürsoy UK. Salivary cytokine levels in early gingival inflammation. *J Oral Microbiol.* 2017 Aug 11;9(1):1364101.

Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RA. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomedicine and Laser Therapy* 2006; 24 (2): 158-168.

Chiang CP, Yu-Fong Chang J, Wang YP, Wu YH, Lu SY, Sun A. Oral lichen planus - Differential diagnoses, serum autoantibodies, hematologic deficiencies, and management. *J Formos Med Assoc.* 2018;117(9):756-765.

Dan H, Liu W, Zhou Y, Wang J, Chen Q, Zeng X. Association of interleukin-8 gene polymorphisms and haplotypes with oral lichen planus in a chinese population. *Information*. 2010; 33(2).

Dan H, Liu W, Wang J, Wang Z, Wu R, Chen Q, Zeng X, Zhou Y. Elevated IL-10 concentrations in serum and saliva from patients with oral lichen planus. *Quintessence Int*. 2011 Feb;42(2):157-63.

DeAngelis LM, Cirillo N, McCullough MJ . The immunopathogenesis of oral lichen planus-Is there a role for mucosal associated invariant T cells? *J Oral Pathol Med*. 2019 Aug;48(7):552-559

Dillenburg CS, Martins MA, Munerato MC, Marques MM, Carrard VC, Sant'Ana Filho M, Castilho RM, Martins MD. Efficacy of laser phototherapy in comparison to topical clobetasol for the treatment of oral lichen planus: a randomized controlled trial. *J Biomed Opt*. 2014 Jun;19(6):068002.

Dinarello CA Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009; 27:519-50

Dinarello CA. IL-1: discoveries, controversies and future directions. *Eur J Immunol* 2010; 40: 599–606.

Dinarello CA, Simon A, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11: 633–52.

El Shenawy HM, Eldin AM . A Comparative Evaluation of Low-Level Laser and Topical Steroid Therapies for the Treatment of Erosive-Atrophic Lichen Planus. *Open Access Maced J Med Sci*. 2015 Sep 15;3(3):462-64. *J Biomed Opt*. 2014; 19(6).

Firth FA, Friedlander LT, Parachuru VP, Kardos TB, Seymour GJ, Rich AM. Regulation of immune cells in oral lichen planus. *Arch Dermatol Res*. 2015 May;307(4):333-9

Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 232–41

Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *Journal of Biomedical Science* 2009; 16 (1): 4.

Ghallab NA, el-Wakeel N, Shaker OG. Levels of salivary IFN-gamma, TNF-alfa, and TNF receptor-2 as prognostic markers in (erosive) oral lichen planus. *Mediators Inflamm*; 2010: 847632.

Ge Y, Xu Y, Sun W, et al. The molecular mechanisms of the effect of Dexamethasone and Cyclosporin A on TLR4/NFjB signaling pathway activation in oral lichen planus. *Gene* 2012; 508: 157–64.

Gupta S, Jawanda MK. Oral lichen planus: An update on etiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and management. *Indian Journal of Dermatology* 2015, 60 (3): 222.

Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.* 2017;4(3):337-361

Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2016 Feb;70(1):164-83.

Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ.

Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2016 Feb;70(1):164-83.

Jajarm HH, Falaki F, Mahdavi O. A comparative pilot study of low intensity laser versus topical corticosteroids in the treatment of erosive-atrophic oral lichen planus. *Photomedicine and Laser Surgery* 2011; 29 (6): 421-425.

Jajarm H, Asadi R, Bardideh E, Shafae H, Khazaei Y, Emadzadeh M. The effects of photodynamic and low-level laser therapy for treatment of oral lichen planus-A systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Dent.* 2016; 8(5):566-570.

Jajarm H, Asadi R, Bardideh E, Shafae H, Khazaei Y, Emadzadeh M. Photodiagnosis Photodyn Ther. The effects of photodynamic and low-level laser therapy for treatment of oral lichen planus-A systematic review and meta-analysis. 2018 Sep; 23:254-260

Jin W, Dong C. IL-17 cytokines in immunity and inflammation Emerg Microbes Infect. 2013 Sep;2(9):60

Kaur J, Jacobs R. "Proinflammatory cytokine levels in oral lichen planus, oral leukoplakia, and oral submucous fibrosis" J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 41: 171-175 (2015).

Kurago ZB. Etiology and pathogenesis of oral lichen planus: an overview. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;122(1):72-80.

La Fratta I, Tatangelo R, Campagna G, Rizzuto A, Franceschelli S, Ferrone A, Patruno A, Speranza L, De Lutiis MA, Felaco M, Grilli A, Pesce M. The plasmatic and salivary levels of IL-1 β , IL-18 and IL-6 are associated to emotional difference during stress in young male. Sci Rep. 2018 Feb 14;8(1):3031.

Lavanya N, Jayanthi P, Umadevi K Rao, Ranganathan K. Oral lichen planus: an update on pathogenesis and treatment. Journal of Oral Maxillofac pathol. 2011; 15 (2):127-32.

Liukkonen J, Gürsoy UK, Pussinen PJ, Suominen AL, Könönen E. Salivary Concentrations of Interleukin (IL-1 β , IL-17A, and IL-23 Vary in Relation to Periodontal Status. J Periodontol. 2016 Dec;87(12):1484-1491.

Lu R, Zhang J, Sun W, Du G, Zhou G. Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: an overview. J Oral Pathol Med. 2015 Jan; 44(1):1-14

Martins MA, Martins MD, Lascalea CA, Curi MM, Migliorati CA, Tenis CA, Marques MM. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study. Oral Oncology 2012; 48 (1): 79-84.

Mirza S, Rehman N, Alrahlah A, Alamri WR, Vohra F. Efficacy of photodynamic therapy or low-level laser therapy against steroid therapy in the treatment of erosive-atrophic oral lichen planus. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;21:404-408.

Monteiro BV, Pereira Jdos S, Nonaka CF, Godoy GP, da Silveira ÉJ, Miguel MC. Immunoexpression of Th17-related cytokines in oral lichen planus. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2015 Jul;23(6):409-15

Mozaffari HR, Ramezani M, Mahmoudiahmadabadi M, Omidpanah N, Sadeghi M. Salivary and serum levels of tumor necrosis factor-alpha in oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 2017; 124 (3): e183-e189.

Mozaffari HR, Sharifi R, Sadeghi M. Interleukin-6 levels in the serum and saliva of patients with oral lichen planus compared with healthy controls: a meta-analysis study. *Cent Eur J Immunol.* 2018; 43(1):103-108.

Mutafchieva MZ, Draganova-Filipova MN, Zagorchev PI, Tomov GT. *Folia Med (Plovdiv).* Effects of Low Level Laser Therapy on Erosive-atrophic Oral Lichen Planus. 2018 Sep 1;60(3):417-424

Nogueira PA, Carneiro S, Ramos-e-Silva M. Oral lichen planus: an update on its pathogenesis. *Int J Dermatol.* 2015; 54(9):1005-10.

Othman NA, Shaker OG, Elshenawy HM, Abd-Elmoniem W, Eldin AM, Fakhr MY. The effect of diode laser and topical steroid on serum level of TNF-alpha in oral lichen planus patients. *J. Clin Exp. Dent.* 2016.

Pavlic V, Vujic-Aleksic V. Phototherapy approaches in treatment of oral lichen planus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2014 Feb; 30(1):15-24.

Payeras MR, Cherubini K, Figueiredo MA, Salum FG. Oral lichen planus: focus on etiopathogenesis. *Arch Oral Biol* 2013; 58(9):1057-69

Pezelj-Ribaric S, Prso IB, Abram M, Glazar I, Brumini G, Simunovic-Soskic M. Salivary levels of tumor necrosis factor- α in oral lichen planus. *Mediators of Inflammation* 2004; 13 (2): 131-133.

Pekiner FN, Demirel GY, Borahan MO, Ozbayrak S. Cytokine profiles in serum of patients with oral lichen planus. *Cytokine*. 2012 Dec;60(3):701-6.

Pigatto GR, Silva CS, Parizotto NA. Photobiomodulation therapy reduces acute pain and inflammation in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2019 Jul;196:111513

Qian H, Jiao L, Fan Z, Wang L, Liu B, Miao G. Analysis of Immunologic Function Changes in Lichen Planus After Clinical Treatment. *Med Sci Monit*. 2018 Dec 2;24 :8716-8721

Qiu M, Wang J, He P, Xu H, Wei J, Gong W, Jiang L, Chen Q. Association between -1082 A/G polymorphism in IL-10 and oral lichen planus: A meta-analysis. *J Dermatol Sci*. 2017;85(3):252-253.

Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Bowles W, Ho V, Ondrey F. A comparison of the pro-inflammatory, NF- κ B-dependent cytokines: TNF- α , IL-1- α , IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients. *Clinical Immunology* 2005; 114 (3): 278-283.

Rhodus NL, Cheng B, Bowles W, Myers S, Miller L, Ondrey F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. *Oral Dis*. 2006 Mar;12(2):112-6.

Roopashree MR, Gondhalekar RV, Shashikanth MC, George J, Thippeswamy SH, Shukla A. Pathogenesis of oral lichen planus--a review. *J Oral Pathol Med*. 2010; 39(10):729-34.

Scheu S, Ali S, Ruland C, Arolt V, Alferink J. *Int J Mol Sci*. 2017 The C-C Chemokines CCL17 and CCL22 and Their Receptor CCR4 in CNS Autoimmunity. Nov 2;18(11).

Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 89 –102.

Sousa FA, Rosa LE. Oral lichen planus: clinical and histopathological considerations. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2008; 74(2):284-92.

Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, Seymour GJ, Bigby The pathogenesis of oral lichen planus. *M Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(4):350-65.

Sugerman PB, Savage NW. Oral lichen planus: causes, diagnosis and management. *Aust Dent J.* 2002 Dec;47(4):290-7. Review.

Takeuchi Y, Tohnai I, Kaneda T, Nagura H. Immunohistochemical analysis of cells in mucosal lesions of oral lichen planus. *J Oral Pathol* 1988; 17: 367–73.

Thongprasom K, Luangjarmekorn L, Sererat T, Taweessap W. Relative efficacy of fluocinoloneacetonide compared with triamcinolone acetonide in treatment of oral lichen planus. *J Oral Pathol. Med.* 1992 Nov; 21 (10): 456-8.

Thongprasom K, Dhanuthai K. Sterioids in the treatment of lichen planus: a review. *Journal of Oral Science* 2008; 50 (4): 377-385.

Thongprasom K A Review of the Effectiveness and Side-Effects of Fluocinolone Acetonide 0.1% in the Treatment of Oral Mucosal Diseases. *Acta Stomatol Croat.* 2017 Sep;51(3):240-247

Thongprasom K Oral lichen planus: Challenge and management. *Oral Dis.* 2018; 24 (1-2):172-173.

Van der Meij EH, van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med.* 2003 Oct; 32 (9): 507-12.

Xavier GM, de Sá AR, Guimarães AL, da Silva TA, Gomez RS Investigation of functional gene polymorphisms interleukin-1beta, interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor in individuals with oral lichen planus. *J Pathol Oral* 2007 Sep;36(8):476-81.

Wang H, Zhang D, Han Q, Zhao X, Zeng X, Xu Y, Sun Z, Chen Q. Role of distinct CD4+ T helper subset in pathogenesis of oral lichen planus. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 2016; 45(6): 385-393.

Wei W, Sun Q, Deng Y, Wang Y, Du G, Song C, Li C, Zhu M, Chen G, Tang G. Mixed and inhomogeneous expression profile of Th1/Th2 related cytokines detected by cytometric bead array in the saliva of patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Aug; 126(2):142-151.

Wong CK, Ho CY, Ko FW, Chan CH, Ho AS, Hui DS, Lam CW. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-gamma, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol.* 2001 Aug;125(2):177-83.

Yamamoto T, Osaki T. Characteristic cytokines generated by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J Invest Dermatol* 1995;104: 784–8.

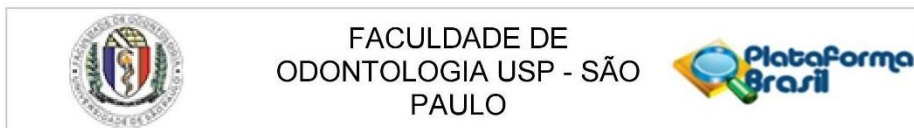
Yin M, Li G, Song H, Lin S. Identifying the association between interleukin-6 and lichen planus: A meta-analysis. *Biomed Rep.* 2017 May; 6(5):571-575.

Zhang Y, Lin M, Zhang S, Wang Z, Jiang L, Shen J, Bai J, Gao F, Zhou M, Chen Q. NF-kappaB-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. *Cytokine.* 2000/8 Feb;41(2):144-9.

Zhou G, Zhang J, Ren XW, Hu JY, Du GF, Xu XY. Increased B7-H1 expression on peripheral blood T cells in oral lichen planus correlated with disease severity. *J Clin Immunol.* 2012 Aug; 32(4):794-801.

ANEXOS

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da eficácia do tratamento com laser em baixa intensidade no líquen plano oral.

Pesquisador: Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 74043317.2.3001.0075

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.375.410

Apresentação do Projeto:

O ensaio clínico único-centro randomizado, duplo cego, controlado e prospectivo com acompanhamento de 2 meses está de acordo com os critérios para delineamento de um protocolo clínico SPIRIT Statement. O Projeto será registrado no www.clinicaltrials.gov. A amostra será composta por pacientes com diagnóstico clínico e histopatológico de líquen plano oral, de acordo com a Organização Mundial de Saúde segundo critérios de

inclusão descritos abaixo. Após explicação verbal e por escrito do estudo, os pacientes que aceitarem participar da pesquisa assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Os participantes da pesquisa serão atendidos na Faculdade de

Odontologia da Universidade de São Paulo-USP (Instituição Co-Participante), no período de dezembro de 2017 a outubro de 2018 para tratamento da doença.

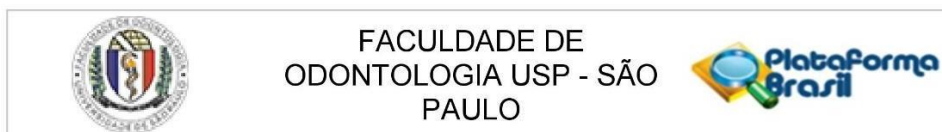
Objetivo da Pesquisa:

O objetivo desta pesquisa é avaliar a resposta clínica do líquen plano oral tratado com laser em baixa intensidade em comparação ao tratamento convencional com corticóide.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os participantes da pesquisa serão submetidos à coleta de sangue no início do tratamento

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227	
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 05.508-900
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960	Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



Continuação do Parecer: 2.375.410

e imediatamente após o tratamento, havendo desconforto da picada da agulha para realização do procedimento, o qual será semelhante ao realizado em laboratório de análises clínicas. Caso o paciente apresente alguma intercorrência, o mesmo será levado ao Hospital Universitário da Universidade de São Paulo para atendimento. Pode haver algum constrangimento dos participantes da pesquisa ao responder o questionário referente à qualidade de vida. A saliva dos participantes da pesquisa será coletada no início e ao término do tratamento, sem risco para o paciente.

Benefícios: Esta pesquisa poderá contribuir diretamente para o paciente com líquen plano oral, melhorando a dor, aspecto clínico e recorrência da doença. Além disso, irá contribuir para o conhecimento sobre a eficácia do laser em baixa intensidade como alternativa para o tratamento de pacientes com líquen plano oral, uma vez que o tratamento convencional com corticoide está associado com efeitos colaterais. Além disso, o laser também pode ser uma alternativa para os casos de líquen plano que não respondem ao tratamento convencional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto já aprovado por sua instituição proponente, que nesse momento solicita inclusão da Faculdade de Odontologia da USP como instituição co-participante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram apresentados e apreciados pela instituição proponente.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados inadequações éticas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.375.410

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_emenda.pdf	29/10/2017 10:50:37	Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues	Aceito
Outros	autorizacao_diretor_fousp.pdf	29/10/2017 10:35:43	Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues	Aceito
Outros	Carta_alteracoes.pdf	29/10/2017 10:30:32	Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	29/10/2017 10:27:10	Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues	Aceito
Outros	Declaracao.pdf	21/08/2017 11:09:39	Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 10 de Novembro de 2017

Assinado por:

Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

ANEXO 2: Comprovante de registro no Clinical Trials

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov Protocol Registration and Results System (PRS) Receipt
 Release Date: December 21, 2018

ClinicalTrials.gov ID: NCT03320460

Study Identification

Unique Protocol ID: 2.375.410

Brief Title: Photobiomodulation in Oral Lichen Planus

Official Title: Efficacy of Photobiomodulation for Oral Lichen Planus Treatment

Secondary IDs:

Study Status

Record Verification: December 2018

Overall Status: Recruiting

Study Start: November 1, 2018 [Actual]

Primary Completion: November 2020 [Anticipated]

Study Completion: December 2020 [Anticipated]

Sponsor/Collaborators

Sponsor: University of Nove de Julho

Responsible Party: Principal Investigator

Investigator: Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues [mrodrigues]

Official Title: Professor

Affiliation: University of Nove de Julho

Collaborators:

Oversight

U.S. FDA-regulated Drug: No

U.S. FDA-regulated Device: No

U.S. FDA IND/IDE: No

Human Subjects Review: Board Status: Approved

Approval Number: 2.236.318

Board Name: Research Ethics Committee of Nove de Julho University (UNINOVE)

Board Affiliation: Research Ethics Committee of Nove de Julho University (UNINOVE)

Phone: + 55 11 3385-9197

Email: comitedeetica@uninove.br

Address:

Rua Vergueiro, 235/249 - Liberdade, São Paulo - SP, 01504-000

Data Monitoring: Yes

FDA Regulated Intervention: No

Study Description

Brief Summary: The aim of this study was to compare the efficacy of PBM (660nm) and corticosteroid therapy with clobetasol propionate 0.05% in the treatment of OLP. This is a protocol for a randomized, controlled, double blind clinical trial. Forty-four patients will be randomized in two experimental groups. Control group will be treated with clobetasol propionate 0.05% for 30 consecutive days and with placebo PBM twice a week. The experimental group will be treated with placebo gel for 30 consecutive days to mask the treatment and patients will receive PBM twice a week during 1 month (laser $\lambda = 660 \pm 10$ nm; power 100mW; radiant energy 177J/cm²; 5-s exposure time per point and 0.5J of energy per point). The primary variable (pain) and the secondary variables including clinical scores and functional scores as well as patient anxiety and depression (The Hospital Anxiety and Depression Scale-HADS), will be evaluated at the baseline, once a week during treatment and after 30 and 60 days of follow up. Evaluation of clinical resolution will be performed at the end of the treatment (30 days). Evaluation of recurrence will be performed after 30 and 60 days of follow up. Serum and salivary levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated at baseline and at the end of treatment (30 days). Quality of life will be evaluated by OHIP-14 questionnaire at baseline, at the end of treatment and after 30 and 60 days of follow up. The chi-square test, Student's t-test and ANOVA will be used and the level of significance of 5% will be considered ($p < 0.05$).

Detailed Description: Oral lichen planus is an idiopathic chronic mucocutaneous disease with a wide range of clinical manifestations, including white reticular patches, erosive/ulcerative and atrophic lesions, both associated with intense symptomatology. CD4+ and CD8+ T lymphocytes cells play an important role in the pathogenesis of OLP and are responsible for the production of different cytokines, including IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α . Treatment is symptomatic and topical corticosteroids are commonly used as standard therapy. However, patients frequently present relapses after treatment's discontinuation, develop resistance to corticosteroids therapy as well as secondary candidiasis. Photobiomodulation (PBM) has shown to be a potential therapeutic tool to treat inflammatory disorders, including OLP. Some studies have demonstrated that PBM improves the clinical presentation of OLP (erosive/ulcerative or atrophic lesions to reticular lesions), reduces pain and recurrence. However, it remains controversy if PBM is more effective than corticosteroid in the treatment of OLP. The aim of this study is to evaluate the efficacy of PBM in the treatment of OLP in relation to the standard therapy with corticosteroids. This is a protocol for a randomized, controlled, doubled blind clinical trial, with two months of follow up.

Patients with symptomatic OLP and with histopathological diagnosis of OLP based on WHO criteria will be included in this study. Forty-four patients will be randomized in two experimental groups. Control group will be treated with clobetasol propionate 0.05% gel for 30 consecutive days and the laser device will be positioned over the lesion but will be switched off to mask the treatment. The experimental group will be treated with placebo gel for 30 consecutive days to mask the treatment and patients will receive laser treatment twice a week during 1 month for PBM (laser $\lambda = 660 \pm 10$ nm; power 100mW; radiant energy; 177J/cm²; 5-s exposure time per point and 0.5J of energy per point). The primary variable (pain by VAS scale) and the secondary variables (clinical scores, functional scores and Patient anxiety and depression) will be evaluated at the baseline, once a week during treatment and after 30 and 60 days of

follow up. Evaluation of clinical resolution will be performed at the end of the treatment (30 days). Evaluation of recurrence will be performed after 30 and 60 days of follow up. Serum and salivary levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated at baseline and at the end of treatment (30 days). Quality of life will be evaluated by OHIP-14 questionnaire at baseline, at the end of treatment and after 30 and 60 days of follow up. The findings will be computed and submitted to statistical analysis. Interval estimates will be used for the variables of interest to determine the prevision of the estimates and perform comparisons. If necessary, transformation methods or non-parametric tests will be applied. The chi-square test, Student's t-test and ANOVA will be used and the level of significance of 5% will be considered ($p < 0.05$).

Conditions

Conditions: Lichen Planus, Oral
Low-Level Light Therapy

Keywords: oral lichen planus; photobiomodulation; inflammation

Study Design

Study Type: Interventional

Primary Purpose: Treatment

Study Phase: N/A

Interventional Study Model: Parallel Assignment
Control group Experimental Group

Number of Arms: 2

Masking: Triple (Participant, Investigator, Outcomes Assessor)

Control group will be treated with clobetasol propionate 0.05% gel for 30 consecutive days and the laser device will be positioned over the lesion but will be switched off to mask the treatment. The experimental group will be treated with placebo gel for 30 consecutive days to mask the treatment and patients will receive laser treatment twice a week during 1 month for PBM

Allocation: Randomized

Enrollment: 44 [Anticipated]

Arms and Interventions

Arms	Assigned Interventions
<p>Experimental: Photobiomodulation</p> <p>Patients will be treated with localized PBM with a diode laser with continuous wave (laser $\lambda = 660$ nm; power 100mW; radiant energy: 177J/cm²; 5-s exposure time per point and 0.5J of energy per point) applied directly to the surrounding oral mucosa and to the center of OLP, always by the same operator, twice a week for 4 weeks, totaling 8 session. The number of points will be variable according to the lesion size. The output power of the laser equipment will be evaluated using a power meter (Laser Check; MMOptics LTDA, São Paulo, Brazil) before treatment to confirm the effective mean power as well as the doses applied during the procedure.</p>	<p>Device: Photobiomodulation</p> <p>Patients will be treated with localized PBM with a diode laser with continuous wave (laser $\lambda = 660$ nm; power 100mW; radiant energy: 177J/cm²; 5-s exposure time per point and 0.5J of energy per point) applied directly to the surrounding oral mucosa and to the center of OLP, always by the same operator, twice a week for 4 weeks, totaling 8 session. The number of points will be variable according to the lesion size. The output power of the laser equipment will be evaluated using a power meter (Laser Check; MMOptics LTDA, São Paulo, Brazil) before treatment to confirm the effective mean power as well as the doses applied during the procedure.</p>

Arms	Assigned Interventions
	<p>Other Names:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Low level laser therapy <p>Placebo gel Placebo gel for 30 consecutive days to mask the treatment</p> <p>Other Names:</p> <ul style="list-style-type: none"> • inactive gel
<p>Active Comparator: Propionate clobetasol gel 0.05% Patients will be treated with Propionate clobetasol gel 0.05% for 30 consecutive days. Laser device will be positioned over the lesion but will be switched off to mask the treatment. Patients will be instructed to apply the propionate clobetasol gel 0.05% in the entire lesion three times/days. To prevent oral candidiasis, patients will use micostatin solution (Nystatin oral suspension 100,000 USP/ml) once a day during 4 weeks.</p>	<p>Drug: Propionate clobetasol gel 0.05% Patients will be treated with Propionate clobetasol gel 0.05% for 30 consecutive days and with placebo laser twice a week. Patients will be instructed to apply the propionate clobetasol gel 0.05% in the entire lesion three times/days. To prevent oral candidiasis, patients will use micostatin solution (Nystatin oral suspension 100,000 USP/ml) once a day during 4 weeks.</p> <p>Other Names:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clobetasol <p>Placebo Photobiomodulation Laser device will be positioned over the lesion but will be switched off to mask the treatment.</p> <p>Other Names:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Laser off

Outcome Measures

Primary Outcome Measure:

1. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: Participants will be evaluated at baseline (Day 0)]

2. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: Participants will be evaluated after 1 week of treatment (Day 7)]

3. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: Participants will be evaluated after 2 weeks of treatment (Day 14)]

4. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: Participants will be evaluated after 3 weeks of treatment (Day 21)]

5. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: Participants will be evaluated after 4 weeks of treatment (Day 30)]

6. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

7. Assessment of Pain of OLP

The pain will be assessed by applying a Visual Analog Scale, consisting of a 100-mm line numbered in centimeters, with two closed ends. One end is labeled "0" and the other "100", meaning no pain and terrible pain, respectively. Each patient will be instructed to mark a vertical line according to the best value that matches the intensity of pain during the evaluation.

[Time Frame: 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

Secondary Outcome Measure:

8. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: Participants will be evaluated at baseline (Day 0)]

9. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: Participants will be evaluated after 1 week of treatment (Day 7)]

10. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: Participants will be evaluated after 2 weeks of treatment (Day 14)]

11. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: Participants will be evaluated after 3 weeks of treatment (Day 21)]

12. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: Participants will be evaluated after 4 weeks of treatment (Day 30)]

13. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

14. Assessment of clinical presentation of OLP

Clinical data will be evaluated by scores according to Thongprasom et al

[Time Frame: 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

15. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: Participants will be evaluated at baseline (Day 0)]

16. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: Participants will be evaluated after 1 week of treatment (Day 7)]

17. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: Participants will be evaluated after 2 weeks of treatment (Day 14)]

18. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: Participants will be evaluated after 3 weeks of treatment (Day 21)]

19. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: Participants will be evaluated after 4 weeks of treatment (Day 30)]

20. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

21. Function

The functional scores will be applied to evaluate chewing function, swallowing, fluid intake and altered sense of taste according to Libelly et al (2006). Each function evaluated will receive the follow scores: 0 (no difficulty) , 1 (mild difficulty) , 2, (moderate difficulty), 3, (severe difficulty), and 4 (impossibility to perform certain function).

[Time Frame: 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

22. Clinical Resolution

The clinical resolution will be evaluated at the end of treatment (day 30) according to Corozzo et al. (1999). Complete resolution will be considered when patients present absence of symptoms and remission of atrophic/erosive lesions regardless the presence of any persisting hyperkeratotic lesions. Partial resolution will be considered when a decrease but not the complete remission of atrophic/erosive areas and symptoms were observed. No response to treatment will be considered when OLP lesions present the same clinical or worse presentation in relation to the baseline condition.

[Time Frame: Participants will be evaluated after 4 weeks of treatment (Day 30)]

23. Recurrence rate

No recurrence will be considered when the patient presents the same clinical aspect of lesion at the end of treatment and recurrence, when the patient present new atrophic/erosive lesion at the same site during the follow-up period.

[Time Frame: The recurrence rate will be evaluated 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

24. Recurrence rate

No recurrence will be considered when the patient presents the same clinical aspect of lesion at the end of treatment and recurrence, when the patient present new atrophic/erosive lesion at the same site during the follow-up period.

[Time Frame: The recurrence rate will be evaluated 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

25. Salivary levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α

The samples will be centrifuged and stored at -80°C. Salivary levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA), according to manufacturer's instructions.

[Time Frame: Baseline (day 0)]

26. Salivary levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α

The samples will be centrifuged and stored at -80°C . Salivary levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA), according to manufacturer's instructions.

[Time Frame: After 4 weeks of treatment (Day 30)]

27. Serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α
Peripheral blood will be centrifuged at 400xg for 10 min at 4°C . Serum will be collected and stored at -80°C . Serum levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA), according to manufacturer's instructions.

[Time Frame: Baseline (Day 0)]

28. Serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α
Peripheral blood will be centrifuged at 400xg for 10 min at 4°C . Serum will be collected and stored at -80°C . Serum levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , INF- γ and TNF- α will be evaluated by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA), according to manufacturer's instructions.

[Time Frame: After 4 weeks of treatment (Day 30)]

29. Assessment of Quality of life in OLP patients
Patient quality of life will be measured by means of the Oral Health Impact Profile (OHIP 14)

[Time Frame: Baseline (Day 0)]

30. Assessment of Quality of life in OLP patients
Patient quality of life will be measured by means of the Oral Health Impact Profile (OHIP 14)

[Time Frame: After 4 weeks of treatment (Day 30)]

31. Assessment of Quality of life in OLP patients
Patient quality of life will be measured by means of the Oral Health Impact Profile (OHIP 14)

[Time Frame: 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

32. Assessment of Quality of life in OLP patients
Patient quality of life will be measured by means of the Oral Health Impact Profile (OHIP 14)

[Time Frame: 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

33. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: Baseline (Day 0)]

34. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: Participants will be evaluated after 1 week of treatment (Day 7)]

35. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: Participants will be evaluated after 2 weeks of treatment (Day 14)]

36. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: Participants will be evaluated after 3 weeks of treatment (Day 21)]

37. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: Participants will be evaluated after 4 weeks of treatment (Day 30)]

38. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: 30 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

39. Anxiety and Depression
Patient anxiety and depression will be measured by means of The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

[Time Frame: 60 days after the discontinuation of treatment (follow-up period)]

Eligibility

Minimum Age: 18 Years

Maximum Age:

Sex: All

Gender Based:

Accepts Healthy Volunteers: No

Criteria: Inclusion Criteria:

- The participants in this study will be male and female (aged over 18 years) diagnosed with symptomatic oral lichen planus, based on the clinical and histopathological criteria of the World Health Organization (WHO).

Exclusion Criteria:

- Patients with ongoing cancer; pregnant or breastfeeding women; patients with history of corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory treatment in the last one months, patients with uncontrolled systemic disease; consumption of illicit drugs; use of medication associated with oral lichenoid reactions; amalgam restoration near to OLP lesions; epithelial dysplasia in the histopathological examination.

Contacts/Locations

Central Contact Person: Ana Paula C Silva, Bachelor
Telephone: + 55 11 3385-9197
Email: aninha@uninove.br

Central Contact Backup: Anna Carolina RT Horliana, PhD
Telephone: +55 13 981999848
Email: annacrth@gmail.com

Study Officials: Maria Fernanda SD Rodrigues, PhD
Study Principal Investigator
University of Nove de Julho

Locations: Brazil
Scholl of Dentistry, University of São Paulo
[Recruiting]
São Paulo, SP, Brazil, 05508000
Contact: Camilla Barros Gallo, PhD 11 30917883
fernandarodrigues@uni9.pro.br
Principal Investigator: Maria F Rodrigues, PhD
Sub-Investigator: Camila B Gallo, PhD

IPDSharing

Plan to Share IPD: No

ANEXO 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCLE - Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do Voluntário: _____

Endereço: _____

Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____

E-mail: _____

1. Convite: Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “Avaliação da eficácia do tratamento com laser em baixa intensidade no líquen plano oral”.

2. Objetivo: O objetivo desta pesquisa é avaliar a resposta clínica do líquen plano oral tratado com laser em baixa intensidade em comparação ao tratamento convencional com corticóide.

3. Justificativa: O líquen plano é uma doença inflamatória crônica que ocorre tanto na pele quanto em mucosa. As lesões em mucosa oral podem apresentar-se na forma de estrias brancas ou áreas erosivas/ulceradas, as quais estão associadas com intensa sintomatologia dolorosa e desconforto. O laser em baixa intensidade tem papel importante na redução da dor e da inflamação em diferentes doenças. Poucos trabalhos avaliaram a eficácia do tratamento com laser em baixa intensidade em lesões de líquen plano oral.

4. Procedimentos: Os participantes da pesquisa serão divididos aleatoriamente em dois grupos: controle (tratado com propionato de clobetasol 0,05% durante 30 dias consecutivos e com laser desligado duas vezes por semana durante 4 semanas) e experimental (tratado com gel sem o princípio ativo por 30 dias consecutivos e com laser em baixa intensidade, duas vezes por semana durante 4 semanas). Durante a realização

do tratamento, bem como após 30 e 60 dias do término do tratamento, será realizada avaliação da qualidade de vida, do aspecto clínico da lesão, sintomatologia, presença de alterações funcionais, resolução da doença e recorrência.

5. Desconforto ou Riscos Esperados: Os participantes da pesquisa serão submetidos à coleta de sangue no início do tratamento e imediatamente após o tratamento por um profissional de Enfermagem, havendo desconforto da picada da agulha para realização do procedimento, o qual será semelhante ao realizado em laboratório de análises clínicas. Caso o paciente apresente alguma intercorrência, o mesmo será levado ao Hospital Universitário da Universidade de São Paulo para atendimento. Pode haver algum constrangimento dos participantes da pesquisa ao responder o questionário referente à qualidade de vida. A saliva dos participantes da pesquisa será coletada no início e ao término do tratamento, sem risco para o paciente.

7. Benefícios: Esta pesquisa poderá contribuir diretamente para o paciente com líquen plano oral, melhorando a dor, aspecto clínico e recorrência da doença. Além disso, irá contribuir para o conhecimento sobre a eficácia do laser em baixa intensidade como alternativa para o tratamento de pacientes com líquen plano oral, uma vez que o tratamento convencional com corticoide está associado com efeitos colaterais. Além disso, o laser também pode ser uma alternativa para os casos de líquen plano que não respondem ao tratamento convencional.

8. Métodos Alternativos Existentes: O tratamento convencional do líquen plano consiste no uso de corticoide tópico ou sistêmico, sendo o uso do laser em baixa intensidade uma alternativa para o tratamento desta doença.

9. Retirada do Consentimento: O participante da pesquisa tem plena liberdade de retirar seu consentimento e deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem qualquer penalização por parte dos pesquisadores responsáveis ou prejuízo do tratamento que porventura estiver fazendo na Faculdade de Odontologia da USP.

10. O participante da pesquisa terá acesso aos resultados dos exames realizados durante a pesquisa e seus dados serão confidenciais cabendo aos pesquisadores responsáveis o sigilo das informações;

11. No caso de interrupção da pesquisa o participante da pesquisa receberá assistência que for adequada, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário;
12. O participante da pesquisa receberá ressarcimento de todos os gastos decorrentes da pesquisa;
13. O participante da pesquisa receberá assistência integral e imediata de forma gratuita pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa;
14. O participante da pesquisa recebe o compromisso dos pesquisadores responsáveis de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.
15. O participante da pesquisa tem o direito a indenização em caso de danos decorrentes da pesquisa;
16. Em qualquer etapa da pesquisa, o participante da pesquisa poderá contatar os pesquisadores responsáveis pela pesquisa, Dra. Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues e Dra. Camila de Barros Gallo para esclarecimentos de eventuais dúvidas através do endereço Avenida Professor Lineu Prestes 2227, telefone 3091-7883 ou 3091-7901 (Profa. Camila de Barros Gallo) ou Rua Vergueiro n.235/249, telefone 99908-5555 (Profa. Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues);
17. Local da Pesquisa: A pesquisa será desenvolvida na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, localizada na Av. Professor Lineu Prestes 2227, na Clínica Odontológica, especialidade Estomatologia.
18. Qualquer dúvida sobre a ética da pesquisa, o participante da pesquisa poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa CEP-FOUSP – Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – Avenida professor Lineu Prestes 2227 – 05508-000 – São Paulo- SP – telefone (11) 3091-7960 – email: cepfo@usp.br de segunda a sexta-feira das 9 às 12h e de 14 às 16h (exceto em feriados e recesso universitário) ou Comitê de Ética em Pesquisa da UNINOVE – Rua Vergueiro n.235/249 – 12 ° andar – Liberdade – São Paulo – SP – CEP 01504-001 – telefone (11) 3385-9010 – email: comitedeetica@uninove.br. O Comitê é um colégio interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da

pesquisa em sua integridade e dignidade para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos (Resolução CNS nº466 de 2012).

19. Declaro ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo a pesquisa “Avaliação da eficácia do tratamento com laser em baixa intensidade no líquen plano oral”. Concordo voluntariamente em participar do estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, sem penalidade ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido neste serviço.

20. Este documento foi elaborado em duas vias sendo uma do participante da pesquisa e outra dos pesquisadores responsáveis.

Nome do participante da Pesquisa _____

Assinatura do Participante da Pesquisa _____.

Data ____/____/____.

Assinatura da testemunha _____ Data ____/____/____ -

(Para casos de participantes da pesquisa analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual).

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação nesta pesquisa.

Nome do Pesquisador Responsável: _____.

Assinatura _____.

Data ____/____/____.

APÊNDICE 1: Ficha de anamnese

Anamnese

Pesquisa “Avaliação da eficácia do tratamento com laser em baixa intensidade no líquen plano oral”

Identificação

Nome: _____

Sexo: _____ Cor: ()branco () negro () amarelo

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

EstadoCivil: _____ profissão: _____

End.Residencial: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ UF: _____ CEP: _____

Fone: _____ Celular: _____ Emergência: _____

Escolaridade: _____ RG: _____ CPF: _____

Email: _____

Acompanhante ou Responsável:

Nome do responsável _____

RG _____ Telefone _____ Celular _____

Grau de Parentesco ou Responsabilidade _____

Anexos

_____/_____/_____

_____/_____/_____

_____/_____/_____

_____/_____/_____

Saúde Geral

Está ou esteve em tratamento médico? _____

Está tomando algum remédio? _____

Usou antibiótico nos últimos três meses? _____ Qual? _____

Usou antiinflamatório nos últimos três meses? _____ Qual? _____

Alguma vez teve que suspender o uso de algum remédio? _____

Está grávida? Sim Não Quantos meses? _____

Tem alergia? _____ É sensível a látex ou metais? _____

É diabético? _____ Tem anemia? _____ Tem asma? _____

É HIV positivo? _____ Pressão alta ou baixa? _____ Diabetes? _____

Tem ou teve epilepsia, ataques nervosos ou convulsões? _____

Já teve algum tipo de câncer? _____ Qual? _____

Usa marca-asso ou válvula cardíaca? _____

Problemas renais? _____ Problemas gástricos? _____

Problemas cardíacos? _____ Problemas hepáticos? _____

Problemas de tireóide? _____ Febre reumática? _____

Fuma? _____ Ingere bebidas alcoólicas? _____ Faz uso de drogas? _____

Tem problemas com hemorragia ou cicatrização? _____

Já tomou anestesia? _____ Já foi operado?

História da doença atual

Exame Físico

Extra bucal:

Linfonodos: _____

Desvio de abertura e fechamento: _____

Sintomatologia dolorosa: _____

Limitação dolorosa: _____

Creptação e estalidos: _____

Pulso: ____/min PA: ____/____ Resp: ____/min Temp: ____°C

Intrabucal:

Localização da lesão:

Características clínicas:
