NILTON GIOIA DI CHIACCHIO

Eficácia e segurança do uso da eletroquimioterapia associada à bleomicina intralesional comparado ao uso da bleomicina intralesional, no tratamento das verrugas periungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Paulo Ricardo Criado

**São Paulo
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Di Chiacchio, Nilton Gioia
Eficácia e segurança do uso da
eletroquimioterapia associada à bleomicina
intralesional comparado ao uso da bleomicina
intralesional, no tratamento das verrugas
periungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego
/ Nilton Gioia Di Chiacchio. -- São Paulo, 2019.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Dermatologia.
Orientador: Paulo Ricardo Criado.

Descritores: 1.Bleomicina 2.Doenças da unha
3.Eletroquimioterapia 4.Eletroporação 5.Verrugas

USP/FM/DBD-141/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedico esta tese

Ao meu amado pai Nilton Di Chiacchio, meu eterno amigo e professor, e à minha amada mãe Rosely Gioia M. Di Chiacchio, pelo incentivo e amor.

Meus pais: os pilares da minha formação ética, moral e familiar.

À minha amada esposa Sharon I. Q. Di Chiacchio, pelo companheirismo, amor e dedicação à nossa Família.

Sempre ao meu lado.

Às minhas amadas filhas Giovana e Carolina, pela minha ausência durante esse período. São minha inspiração e conforto.

Sempre estarei ao lado de vocês.

AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. Nilton Di Chiacchio, pai, amigo e professor. Agradeço pela honra de poder aprender sempre ao seu lado. Seu incentivo e conhecimento técnico e ético foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Levarei isso comigo!

Prof. Dr. Walter Belda Junior, acompanhou meu crescimento ético e dermatológico. Participou e aconselhou. Um estímulo para o início desta tese.

Prof. Dr. Paulo Ricardo Criado, um exemplo de dermatologista e amigo. Me acolheu e orientou onde precisei. Meu professor, meu amigo...

Prof. Dr. Carlos Brunner, pela sinceridade na vontade de ensinar. Sua disponibilidade e conhecimento foram primordiais para que esta tese se concretizasse. Uma referência na medicina veterinária e eletroquimioterapia.

Dra. Bogdana Victoria Kadunc, pela cumplicidade na troca de conhecimento sobre eletroquimioterapia e pelos conselhos na qualificação da tese.

Dra. Maria Victoria Suaréz, por toda a ajuda no desenho deste estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Machado e toda sua equipe dermatológica da Faculdade de Medicina do ABC, pela confiança e recepção.

Ao meu grande amigo Dr. Emerson H. Padoveze, pela amizade sincera e incentivo.

Ao estatístico José Marcos M. Vendramini, pela competência e excelente trabalho.

Ao amigo e dermatopatologista Alexandre Michalany, pela ajuda e disponibilidade.

A todos os pacientes, que depositaram sua confiança em toda a equipe.

Aos colegas da banca de qualificação, Dra. Bogdana Victória Kadunc, Prof. Dr. Walter Belda Junior, Profa. Dra. Mirian Sotto, Profa. Dra. Neusa Valente e Prof. Dr. Ricardo Romiti. Suas críticas foram fundamentais na finalização desta tese.

Aos colegas do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo, amigos que levarei para sempre, pelo conhecimento e amizade.

Ao Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Taubaté e todos os assistentes que participaram ativamente na minha formação dermatológica.

À minha irmã Ana Carolina, pelo carinho e cumplicidade durante todos estes anos.

Aos meus sobrinhos Maria Fernanda, Rafael, Catarina e Antonela, pela pureza e brilho que trazem à família.

Aos meus primos Mariana e Marcelo, pelo carinho.

Aos meus sogros Nilson e Vera, pela alegria e confiança.

Aos meus cunhados Fábio, Natan e Jéssica pelo prazer em compor nossa família.

Aos colegas e professores Eckart Haneke, Beth Ruben, Antonella Tosti, Bertrand Richert, Michela Starace e Bianca M. Piraccini, pelo estímulo constante e cumplicidade em compartilhar conhecimento.

A minha família, por compreender a minha ausência e me fortalecer diariamente.

As minhas avós Terezita e Dinorah, pelo amor.

Aos meus avôs Nelson Di Chiacchio (*in memoriam*) e Rafael Gioia Junior (*in memoriam*), grandes Homens que lutaram e mudaram a vida de muitos. Momentos que valeram a pena...e continuarão valendo.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de quadros	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo primário	7
2.2 Objetivo secundário	7
3 REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1 Verrugas	9
3.2 Verrugas Ungueais	16
3.3 Tratamento das Verrugas Ungueais	18
3.3.1 Agentes queratolíticos	20
3.3.2 Cantaridina	21
3.3.3 Podofilina/podofilotoxina	21
3.3.4 Agentes virucidas	21
3.3.5 Imunoterapia	22
3.3.6 Antígenos da caxumba e <i>Candida spp.</i>	22
3.3.7 5-Fluorouracil	23
3.3.8 Cimetidina	23
3.3.9 Interferon	23
3.3.10 Crioterapia	24
3.3.11 Excisões	24
3.3.12 Lasers (CO ₂ , pulsados, NdYAG e erbium: YAG)	25
3.3.13 Terapia fotodinâmica	25
3.3.14 Bleomicina	25
3.5 Eletroquimioterapia	31
4 MÉTODOS	35
4.1 Desenho do Estudo	36
4.2 Critérios de Seleção	36
4.2.1 Critérios de inclusão	36
4.2.2 Critérios de exclusão	37
4.2.3 Critérios de saída do estudo ou finalização prematura e Formulário de Relato de Dados	37
4.3 Amostra	37
4.4 Procedimento	38

4.4.1	Assinatura do TCLE	38
4.4.2	Randomização	38
4.4.3	Descrição da técnica	39
4.4.4	Visitas.....	43
4.4.5	Avaliação clínica das lesões	44
4.4.6	Avaliador cego	45
4.5	Análise estatística.....	45
4.6	Coleta de Dados.....	46
4.7	Reporte de eventos adversos.....	46
4.8	Considerações Éticas e Condução Geral do Estudo.....	46
5	RESULTADOS.....	48
5.1	Análise Descritiva, Caracterização das Amostras e Taxa de Cura.....	49
5.2	Efeitos Adversos.....	54
6	DISCUSSÃO	60
7	CONCLUSÕES	66
7.1	Perspectivas.....	67
8	ANEXOS	68
9	REFERÊNCIAS.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEC	- Carcinoma espinocelular
CRF	- Formulário de relato de dados
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
EQT	- Eletroquimioterapia
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
Grupo A	- Grupo da bleomicina intralesional
Grupo B	- Grupo da Eletroporação associada à bleomicina intralesional
HPV	- Papiloma vírus humano
Nd:YAG	- Lasers de estado sólido - neodímio
RNA	- Ácido ribonucleico
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
U/mL	- Unidade por mililitro
V/cm	- Volts por centímetro
YAG	- Lasers de estado sólido
µs	- Microsegundo

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação do nível de evidência das opções terapêuticas para as verrugas cutâneas segundo Rashid e Ahmed (2018)	15
Quadro 2 - Resumo dos estudos onde a bleomicina foi utilizada no tratamento das verrugas ungueais.....	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Aspecto da onda elétrica criada na eletroporação	33
Figura 2 -	Biópsia incisional realizada no hiponíquio com <i>punch</i> de 3 milímetros	40
Figura 3 -	Anatomia patológica confirmando o diagnóstico de verruga (hematoxilina-eosina, da esquerda para direita, 40x e 100x	40
Figura 4 -	Grupo B - após a aplicação intralesional da bleomicina, um gel é aplicado na lesão, e então os eletrodos são introduzidos para que os pulsos sejam disparados	42
Figura 5 -	Figura representando o aparelho eletroporador utilizado no procedimento	43
Figura 6 -	O estudo do seu início até o seu desfecho	51
Figura 7 -	a: Grupo A - dermatoscopia antes do tratamento. b: grupo A - dermatoscopia após o tratamento (término do estudo - 180 dias de pós-operatório) - CURA.....	52
Figura 8 -	a: Grupo A - lesão antes do tratamento. b: Grupo A - (término do estudo - 180 dias de pós-operatório) - CURA.....	52
Figura 9 -	a: Grupo A - lesão antes do tratamento. b: Grupo A - paciente após 180 dias do tratamento - RECIDIVA.....	53
Figura 10 -	a: Grupo B - lesão antes do tratamento. b e c (dermatoscopia): Grupo B - paciente após 180 dias do tratamento - CURA	53
Figura 11 -	a: Grupo B - lesão antes do tratamento. b: Grupo B - paciente após 180 dias do tratamento - RECIDIVA.....	54
Figura 12 -	Necrose hemorrágica no 10º dia de pós-operatório do Grupo B	56
Figura 13 -	Onicólise residual observada após 180 dias do procedimento, provavelmente por uma fibrose gerada pela técnica - Grupo B	56
Figura 14 -	Distrofia simpático reflexa após 30 dias do procedimento - Grupo B	57

Figura 15 - Infecção no 5º dia de pós-operatório - Grupo B.....	57
Figura 16 - Onicomadese transitória observada após 90 dias do procedimento - Grupo B.....	58
Figura 17 - Necrose hemorrágica leve observada no 7º dia de pós- operatório - Grupo A	58
Figura 18 - Necrose hemorrágica leve/moderada observada no 7º dia de pós-operatório - Grupo A.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequências e porcentagens do gênero dos pacientes por grupo de tratamento	49
Tabela 2 - Estatísticas descritivas da idade por grupo de tratamento e no geral	50
Tabela 3 - Frequências e porcentagens de cura por tratamento	50
Tabela 4 - Frequências e porcentagens dos efeitos colaterais por tratamento.....	54
Tabela 5 - Frequências e porcentagens dos efeitos colaterais por tratamento.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-	Porcentagens de cura por grupo de tratamento	50
------------	--	----

RESUMO

Di Chiacchio NG. *Eficácia e segurança do uso da eletroquimioterapia associada à bleomicina intralesional comparado ao uso da bleomicina intralesional, no tratamento das verrugas periungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: as verrugas ungueais são consideradas o tumor benigno que mais acomete o complexo ungueal, sendo causadas pelo papiloma vírus humano. A maioria das alternativas terapêuticas é considerada ineficaz, com altas taxas de recidiva, além do potencial risco de distrofia ungueal. A bleomicina é a opção de tratamento que apresenta bom perfil de segurança e altas taxas de cura. A eletroquimioterapia é uma técnica que combina a eletroporação com a prévia administração de uma droga citotóxica de baixa permeabilidade, aumentando assim a penetração da droga no interior das células, o que amplia a eficácia do tratamento. A bleomicina é o agente quimioterápico mais utilizado na eletroquimioterapia, por ser um excelente exemplo de droga citotóxica não permeável à membrana celular (hidrofílica). **Objetivos:** avaliar a eficácia da eletroquimioterapia com bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais, comparando este método, com o uso isolado da bleomicina intralesional, além de descrever os efeitos adversos relacionados com o emprego das duas técnicas. **Metodologia:** Ensaio clínico randomizado duplo-cego e controlado. Incluíram-se 44 pacientes de ambos gêneros, com idade variando entre 18 e 60 anos, e diagnóstico clínico e histológico de verruga ungueal de quirodactílos. O estudo foi submetido e aceito pelo comitê de ética, e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Vinte e dois pacientes foram tratados apenas com bleomicina intralesional e 21 com eletroquimioterapia associada à bleomicina intralesional. Após uma única aplicação, os pacientes foram acompanhados por 180 dias. A comparação da cura entre os grupos foi avaliada pelo teste exato de Fisher para tabelas 2 x 2. O software utilizado foi o XLSTAT 2018. **Resultados:** dos 44 pacientes que participaram da pesquisa, um paciente do grupo da bleomicina intralesional isolada deixou o estudo antes da realização da técnica. A maioria das lesões se localizava na região periungueal (77,3%), enquanto que, os 22,7% das lesões restantes se localizaram na região subungueal. A média de idade dos pacientes foi de 37 anos para o grupo da eletroquimioterapia associada à bleomicina, e de 36 anos para o grupo da bleomicina. A maioria dos pacientes foi do gênero feminino (68%). Dos 22 pacientes finalizados para o grupo da bleomicina 11 (50,0%) apresentaram

cura, enquanto que, dos 21 pacientes finalizados do grupo da eletroquimioterapia associada à bleomicina, 18 pacientes (85,7%) apresentaram cura. Foi observada associação significativa entre os pacientes com ou sem cura e os tratamentos do grupo bleomicina e do grupo eletroquimioterapia associada à bleomicina (teste exato de Fisher; $p = 0,022$). Nenhum dos pacientes, tanto do grupo da bleomicina, quanto do grupo da eletroquimioterapia associada à bleomicina, apresentou efeitos colaterais sistêmicos. Notou-se que os efeitos colaterais como a necrose hemorrágica e dor moderada ocorreram em maior proporção para os participantes do grupo da eletroquimioterapia associada à bleomicina, com quase 70% do total de 21 pacientes observados. Independentemente da técnica empregada, todos os participantes consideraram os efeitos adversos toleráveis. Conclusão: o uso intralesional da bleomicina associada à eletroporação (eletroquimioterapia), no tratamento das verrugas ungueais (periungueais e subungueais), apresentou cura estatisticamente superior quando comparada ao uso isolado da bleomicina intralesional. Os efeitos colaterais foram mais frequentes no grupo da eletroquimioterapia associada à bleomicina, em relação ao grupo de monoterapia com a bleomicina.

Descritores: bleomicina; doenças da unha; eletroquimioterapia; eletroporação; verrugas.

ABSTRACT

Di Chiacchio NG. *Efficacy and safety of the use of electrochemotherapy associated with intralesional bleomycin compared with the use of intralesional bleomycin alone in the treatment of periungual warts. A randomized, double-blind clinical trial* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2019.

Introduction: ungual warts are considered a benign tumor most commonly affecting the nail complex and caused by the human papillomavirus. Most therapeutic options are considered ineffective, with high relapse rates and a potential risk of ungual dystrophy. Bleomycin is a therapeutic option showing good safety profile, and high cure rates. Electrochemotherapy is a technique combining electroporation with the previous injection of a low permeability cytotoxic drug, which increases drug penetration into the cells, and therefore, enhances treatment efficacy. Bleomycin is the most commonly used chemotherapeutic agent in electrochemotherapy because it is an excellent example of cell-membrane non-permeable cytotoxic drug (hydrophilic). **Objectives:** evaluate the efficacy of electrochemotherapy plus intralesional bleomycin in the treatment of ungual warts in comparison with intralesional bleomycin alone, as well as describe the adverse effects of both techniques. **Methodology:** the research was a randomized, double-blind, controlled clinical trial. Forty-four 18-60-year-old female and male patients clinically and histologically diagnosed with ungual wart on fingers were included. The study was submitted to and accepted by the Ethics Committee, and all patients signed the Informed Consent Form. Twenty-two patients were treated with intralesional bleomycin alone and 21 with electrochemotherapy associated with intralesional bleomycin. After a single application, patients were followed for 180 days. Cure rate between groups was evaluated by using the Fisher's exact test for tables 2 x 2. The software used was XLSTAT 2018. **Results:** of the 44 included patients, 22 were randomized to the bleomycin group and 21 to the electrochemotherapy plus bleomycin group. One patient of the bleomycin group did not complete the study. Most lesions were located in the periungual region (77.3%), while the remaining 22.7% of lesions were located in the subungual region. Patient's mean age was 37 years for the electrochemotherapy plus bleomycin group and 36 years for the bleomycin group. Most patients were females (68%). Of 22 patients in the bleomycin group completing the study, 11 (50%) achieved the cure, while 18 (85.7%) of 21 patients completing the study in the electrochemotherapy plus bleomycin group showed cure. A significant association of patients with or without cure with the treatments received in the bleomycin group and the

electrochemotherapy plus bleomycin group (Fisher's exact test; $p = 0.022$). None of the patients in either group had systemic side effects. Local side effects such as hemorrhagic necrosis and moderate pain were observed to occur in a higher proportion for electrochemotherapy plus bleomycin group, with almost 70% of total (21) patients. Regardless the technique used, all participants considered the adverse effects tolerable. Conclusion: the intralesional use of bleomycin associated with electroporation (electrochemotherapy) for the treatment of ungual warts (both periungual and subungual) showed high cure rate when compared with intralesional bleomycin alone. Side effects were more frequently seen in the electrochemotherapy plus bleomycin group than in the bleomycin monotherapy group.

Descriptors: bleomycin; nail diseases; electrochemotherapy; electroporation; warts.

1 INTRODUÇÃO

As verrugas ungueais, assim como as que acometem as demais regiões da pele e mucosas, são causadas por um ácido desoxirribonucleico (DNA) vírus, o Papiloma Vírus Humano (HPV). É o tumor que mais acomete o complexo ungueal (Herschthal *et al.*, 2012), sendo considerado um tumor fibroepitelial, de superfície ceratósica, que na maioria das vezes inicia-se no hiponíquio, e a partir deste local invade a região subungueal e raramente a placa ungueal. Pode sofrer alteração na sua superfície em decorrência do comprometimento do leito ou da matriz ungueal. As lesões periungueais são frequentemente indolores e as subungueais tendem a ser mais dolorosas. Os subtipos HPV 1, 2, 4, 27 e 57 estão associados com lesões em crianças e adultos jovens (Kirnbauer *et al.*, 2007). Já os subtipos 16, 18, 34 e 35 são menos frequentes e podem estar associados à transformação maligna da lesão (carcinoma espinocelular) (Finkel e Finkel, 1984; Zaiac e Weiss, 2001).

Fatores como umidade e trauma constante (hábito de roer as unhas e atividades laborais onde há umidade excessiva) favorecem a penetração/infectividade do vírus na pele fissurada, e fatores como o estado imunológico do hospedeiro determinarão sua patogenicidade.

Os diagnósticos diferenciais da verruga periungueal são: doença de Bowen, queratoacantoma, nevos epidérmicos verrucosos, tumores filamentosos e o carcinoma espinocelular. Desta maneira, a biópsia prévia é

mandatória, principalmente nos casos de lesão única (Sterling *et al.*, 2001; Herschthal *et al.*, 2012).

O tratamento deve ser escolhido baseado em fatores como: idade e estado imunológico do hospedeiro; tamanho e número de lesões; características histológicas e resistência a terapias prévias (Sterling *et al.*, 2001).

Apesar dos inúmeros tratamentos relatados na literatura médica, estes são considerados frustrantes, com altas taxas de recidiva, além do potencial risco de distrofia ungueal. Nos tratamentos tópicos ou intralesionais são utilizados a oclusão, queratolíticos, cantaridina, podofilotoxina, imunoterapia, 5-fluorouracil e bleomicina. Outras modalidades de tratamento como o uso sistêmico de cimetidina e interferon, procedimentos cirúrgicos como crioterapia, excisão e lasers, além da hipnose, são citados como possíveis opções terapêuticas (Herschthal *et al.*, 2012).

A literatura mostra que o uso da bleomicina (intralesional) é considerado primeira linha no tratamento das verrugas periungueais, com taxas de cura superiores, quando comparadas com as demais técnicas, baixo risco de distrofias ungueais e bom perfil de segurança (Sterling *et al.*, 2001; Saitta *et al.*, 2008, AlGhamdi e Khurram, 2011; Herschthal *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2015a; Lee *et al.*, 2015b). Apesar de pouco frequente, o fenômeno de *Raynaud* pode ocorrer em casos onde a aplicação é profunda e com volume excessivo (AlGhamdi e Khurram, 2011).

A eletroquimioterapia é uma técnica que combina a eletroporação com a prévia administração de uma droga citotóxica de baixa

permeabilidade, aumentando assim a penetração da droga no interior das células, o que amplia a eficácia do tratamento. A eletroporação consiste em alterar a permeabilidade da membrana celular de maneira transitória sem causar danos a célula. Está amplamente descrita no tratamento de tumores benignos e malignos de seres humanos e animais (Mir e Orlowski, 1999; Mir, 2001; Kendler *et al.*, 2013; Manca *et al.*, 2013; Brunner *et al.*, 2014; Gatti *et al.*, 2014; Miklavčič *et al.*, 2014). O medicamento pode ser administrado de forma intralesional ou intravenosa, dependendo do tipo, tamanho e número de lesões (Gatti *et al.*, 2014).

As vantagens da eletroquimioterapia são caracterizadas pelas altas taxas de cura (mesmo após uma única sessão), ausência de dano tecidual nas áreas ao redor da lesão, ausência de desnaturação proteica, excelente perfil de segurança, ótima relação custo/benefício frente às drogas e instrumentos utilizados, em outras técnicas e melhora na qualidade de vida dos pacientes (Marty *et al.*, 2006; Sersa, 2006). A bleomicina é o agente quimioterápico mais utilizado, por ser um excelente exemplo de droga citotóxica não permeável à membrana celular (hidrofílica), pela alta citotoxicidade no interior das células, por estimular inúmeras vias de resposta imune, além de macrófagos na atividade contra os tumores, pois induz a secreção de interleucina-2 e elimina a secreção específica do tumor com atividade T-supressora (Abdul Hamied e Turk, 1987; Orlowski *et al.*, 1988; Poddevin *et al.*, 1991; Mir *et al.*, 1996; Mir e Orlowski, 1999; Testori *et al.*, 2010).

Até o presente momento, não existem relatos na literatura mostrando a associação da eletroquimioterapia, utilizando bleomicina de forma intralesional, no tratamento das verrugas ungueais. Frente a eficácia e segurança do uso da bleomicina no tratamento das verrugas periungueais e das características da técnica de eletroquimioterapia, este estudo tem como propósito avaliar a eficácia da eletroquimioterapia, com bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Avaliar a porcentagem dos participantes com cura clínica no grupo tratado com eletroquimioterapia e bleomicina intralesional, comparando-a com a porcentagem de cura clínica obtida, no grupo de doentes tratado apenas com a bleomicina intralesional.

2.2 Objetivo secundário

Descrever os efeitos adversos relacionados com o emprego das técnicas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Verrugas

Os vírus são organismos infecciosos, acelulares e que necessitam obrigatoriamente de uma célula hospedeira para sua replicação. O ciclo de vida viral pode ser dividido em duas partes: extra e intracelular. Na primeira, sua função é de transmissão para um hospedeiro sadio, ou de disseminação da infecção dentro de um hospedeiro infectado. Na segunda, ocorre a replicação viral, podendo ter duração bastante variável (Chisaki *et al.*, 2014).

Lesões verrucosas e papilomatosas que acometem a pele são descritas desde a Grécia antiga. No começo do século XX, iniciaram-se as pesquisas sobre o papilomavírus, e em 1933 o mesmo foi isolado como o possível agente etiológico de verrugas em coelhos. Desde então, essa classe viral tem sido considerada como agentes infecciosos naturais, responsáveis pelo desenvolvimento de verrugas em diferentes grupos de mamíferos, inclusive no homem (Leto *et al.*, 2011).

Os papilomavírus pertencem à família *Papoviridae*, gênero *Papillomavirus*. Trata-se de um vírus não envelopado, e capaz de infectar seres humanos e grande número de espécies de animais (gatos, coelhos e primatas não humanos) (de Villiers *et al.*, 2004). São agrupados nos seguintes gêneros: alfapapilomavírus (mais frequente no epitélio genital),

betapapilomavírus (mais comumente identificados na pele de indivíduos com Epidermodisplasia Verruciforme), gamapapilomavírus (lesões cutâneas), mupapilomavírus (verrugas vulgares e palmares) e nupapilomavírus (apenas o tipo 41) (Leto *et al.*, 2011).

Existem mais de 100 tipos de Papiloma Vírus Humano (HPV) descritos na literatura, todos são considerados um DNA vírus, e diferentemente de outros grupos virais, não são referidos por sorotipos. Sua classificação em tipos distintos se baseia na espécie de origem e no grau de relação dos genomas virais (Hazard, 2007), mediante a comparação da sequência de nucleotídeos do seu genoma viral (de Villiers *et al.*, 2004). Apresentam tropismo por células epiteliais, causando infecções na pele e nas mucosas (genital, oral, laringe, esôfago). Sua replicação ocorre no núcleo das células escamosas epiteliais (Doorbar, 2005), e permanecem no seu hospedeiro por longos períodos (Antonsson *et al.*, 2000; Leto *et al.*, 2011).

Os HPVs podem também ser agrupados de acordo com o seu tropismo tecidual por determinados tipos de epitélio e com a localização onde foram inicialmente isolados. Com base nessas características, destacam-se três grupos de HPV: cutâneos, mucosos e os associados à epidermodisplasia verruciforme (Leto *et al.*, 2011).

A verruga que acomete a pele é uma condição comum, e a grande maioria dos indivíduos apresentará esta condição, ao menos uma vez na vida (Sterling, 2004).

Disfunções na barreira epitelial por traumatismos, pequenas agressões ou macerações provocam perda de solução de continuidade na pele, possibilitando a infecção viral nas células basais epiteliais. Após a inoculação, o período de incubação pode variar de três semanas a oito meses. A presença da proteína viral resulta em proliferação e vacuolização das células basais até a camada suprabasal, formando proteínas estruturais na camada córnea, que quando liberadas, são capazes de infectar outras células basais (Chisaki *et al.*, 2014). A replicação e proliferação viral no epitélio diferenciado, resultará em pápulas e/ou placas verrucosas, com coloração amarelada e pontos enegrecidos (melhor visualizados pela dermatoscopia), que correspondem a trombose dos capilares da derme papilar, gerada pela ação viral (Kwok *et al.*, 2012). Clinicamente podem variar de acordo com o tipo de HPV e sua localização, podendo em alguns casos não ser visível. O tipo 2 é considerado o mais frequente (70%), acometendo mãos e pés, porém os subtipos 1, 4, 27 e 57 também estão associados às verrugas vulgares. As lesões planas costumam ser menores e mais numerosas, localizando-se mais frequentemente no dorso das mãos, antebraços e face, sendo causadas pelos tipos 3 e 10. Quando acometem a região plantar, tendem a ser mais dolorosas e são popularmente chamadas de “olho-de-peixe”, além de poderem ser confundidas com calosidades, quando particularmente localizadas nas áreas de pressão, como o calcanhar e antepé. Quando é disseminada e superficial é chamada de verruga plantar em mosaico; já quando seu crescimento é penetrante, recebe o

nome de mirmécia. As lesões que atingem as mucosas são: condiloma acuminado, papulose bowenoide, tumor de Buschke-Lowenstein, hiperplasia epitelial focal ou doença de Heck, papilomatose oral florida ou tumor de Ackerman e papilomatose respiratória recorrente. As lesões genitais ocorrem mais frequentemente pelos tipos 6 e 10 (Chisaki *et al.*, 2014).

O vírus é transmitido pelo contato direto ou indireto com o indivíduo que tem a lesão. A imunidade mediada por células parece ter um papel importante na resposta do hospedeiro ao HPV. Em pacientes com depressão da imunidade celular, como nos transplantados renais, indivíduos com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana e pacientes com epidermodisplasia verruciforme, observa-se maior prevalência de verrugas e quadros mais extensos e persistentes (Leto *et al.*, 2011). De acordo com a imunocompetência de cada indivíduo, geralmente as verrugas tendem a ser inofensivas e há resolução espontânea, observada em meses ou anos. Inúmeros fatores tais como, a imunidade do hospedeiro, tipo do HPV, local da infecção e número de lesões, irão influenciar na taxa de cura/resolução. Massing e Epstein (1963) relatam involução das lesões de 2/3 da população estudada em até dois anos. Há também relatos onde se defende que as verrugas podem não ser tratadas quando assintomáticas e recentes, já que a chance de involução espontânea é significativa, diferentemente das lesões sintomáticas e que geram alguma comorbidade (Ordoukhanian e Lane, 1997; Bridger e Banatvala, 1999).

Apesar das diferenças estatísticas, sua incidência e prevalência variam conforme a idade, ambiente e estado imunológico do hospedeiro, com taxas entre 0,84% a 33% (Rea *et al.*, 1976; Johnson e Roberts, 1978; Beliaeva, 1990; Williams *et al.*, 1993; Benton, 1997; Kilkenny *et al.*, 1998; Haalen *et al.*, 2009; Chisaki *et al.*, 2014). O HPV é um vírus de distribuição universal e considerado muito frequente, com uma incidência estimada de 7% a 10% na população europeia e de 1% na população americana (Hengge, 2004). Nos imunodeprimidos, por exemplo, nos receptores de transplante renal, esses números aumentam 50 a 100 vezes, chegando a mais de 90% após 15 anos do transplante (Lindelof *et al.*, 2000).

Apesar da discrepância e ausência de dados consistentes, é consenso que estas lesões são menos frequentes nos bebês, comuns nas crianças, e sua incidência declina rapidamente a partir da segunda década de vida (Kilkenny e Marks, 1996; Chisaki *et al.*, 2014). Os principais fatores de risco resumem-se às situações onde existe trauma ou microtrauma, e ambiente úmidos, já que esses promovem a infecção pelo vírus. Pescadores, pessoas com hábito de roer unhas, cozinheiros, pessoas envolvidas nas atividades domésticas, dentre outros, são exemplos de populações frequentemente acometidas.

As características histopatológicas presentes nas verrugas virais são papilomatose, hiperqueratose proeminente, hipergranulose e acantose (Xu *et al.*, 2008). As cristas epidérmicas são alongadas e, na periferia da lesão, apontam radialmente para o centro (arborização). As

características mais importantes para distinguir a verruga vulgar dos demais papilomas são: coilócitos (células pequenas vacuolizadas com núcleo pequeno redondo fortemente basófilo, rodeados por um halo claro e citoplasma que se cora palidamente, localizadas na camada granulosa e espinhosa alta); que representam o efeito citopático viral, fileiras verticais de paraceratose e focos de grânulos de querato-hialina (Xu *et al.*, 2008; Leto *et al.*, 2011).

As verrugas são consideradas uma das mais frequentes e desafiadoras condições pelos médicos, principalmente os dermatologistas. Incontáveis formas e tipos de tratamento são descritas e utilizadas ao longo dos anos, porém nenhuma delas comprovadamente elimina o vírus das células da epiderme, mas visam a destruição das lesões (William *et al.*, 2015). São descritas na literatura inúmeras formas de tratamento para as verrugas, tais como: crioterapia, ácido salicílico, esparadrapagem (oclusão por fita adesiva), bleomicina, interferons e outros antígenos injetáveis, 5-fluorouracil, imunoterapia (dinitroclorobenzeno, difenciprona, dibutil éster, etc), terapia fotodinâmica, laser, dentre outras. O Quadro 1 resume as opções terapêuticas de acordo com o nível de evidência (Rashid e Ahmed, 2018).

Quadro 1 - Classificação do nível de evidência das opções terapêuticas para as verrugas cutâneas segundo Rashid e Ahmed (2018)

	Níveis de evidência
Primeira linha	
Ácido salicílico	A
Nitrato de prata	B
Crioterapia com dimetil éter/propano	C
Segunda linha	
Crioterapia nitrogênio líquido	B
Crioterapia associada ao ácido salicílico	B
Terceira linha (terapias imunológicas)	
Imiquimode	B
Imunoterapia de contato	
Difenciprona	B
Ácido esquárico	D
BCG tópica	D
Imunoterapia intralesional	
Cândida	D
MMR	D
Cimetidina	D
Zinco	
Óxido de zinco tópico	A
Sulfato de zinco intralesional	B
Zinco oral	B
Interferon	B
Terceira linha (terapia destrutiva)	
Cantaridina	D
Ácido glicólico	D
Ácido fórmico	B
Ácido monocloroacético	B
Ácido tricloroacético	B
Hipertermia	B
Eletrocirurgia	B
Pulsed Dye Laser	B
Terapia fotodinâmica	A
Laser CO ₂	D
Nd:YAG laser	D
Er: YAG laser	D
Terceira linha (agentes virucidas)	
Formaldeído	D
Glutaraldeído	B
Terceira linha (terapias anti-proliferativas)	
Ditranol	B
Podofilina	D
5-fluorouracil	A
Bleomicina	B
Cidofovir	D
Terapia oclusiva	B
Retinoides tópicos	D
Retinóides sistêmicos	
Acitretin	E
Isotretinoína	A
Terceira linha (terapias complementares/alternativas)	
Hipnose	B
Acumputura	B

A - Estudos duplo-cego; B - Ensaio clínico > 20; C - Ensaio clínico < 20; D - Série de casos > 5; E - Relato de caso anedótico. BCG - Bacilo de Calmette-Guérin; MMR - *Measles, Mumps, and Rubella*

Os tratamentos tópicos, de uma maneira geral, visam o dano celular da célula infectada pelo vírus. A reação inflamatória causada pelo dano celular, gera uma reação natural e imunomediada que promove a erradicação do vírus.

Em geral, as crianças tendem a responder melhor à terapêutica e frequentemente apresentam cura espontânea. Lesões plantares costumam ser mais resistentes ao tratamento, independente da sua localização (Gibbs *et al.*, 2002).

3.2 Verrugas Ungueais

As verrugas ungueais são consideradas o tumor mais frequente do complexo ungueal (Tosti e Piraccini, 2001). Podem estar ao redor da placa ungueal (periungueal) ou abaixo dessa (subungueal). Os tipos de HPV 1, 2, 4, 27 e 57 estão frequentemente associados às lesões benignas, ocorrendo mais em crianças e adultos jovens (Kirnbauer *et al.*, 2007), enquanto que os tipos 16, 18, 34 e 35 são raros e podem estar associados à transformação maligna (carcinoma espinocelular) (Finkel e Finkel, 1984; Zaiac e Weiss, 2001). Em indivíduos que manuseiam carnes e aves (açougueiros) os tipos 2 e 7 estão mais associados com as verrugas periungueais (Finkel e Finkel, 1984; Zaiac e Weiss, 2001).

Uma quebra da barreira cutânea devido a um trauma ou maceração, permite a infecção viral, e fatores como a imunidade do hospedeiro determinarão a patogenicidade do vírus. Isso ajuda a explicar a maior incidência de verrugas ungueais em pacientes que têm o hábito de roer as

unhas, que exercem atividades laborais relacionadas ao contato com água e ambientes úmidos, e que têm a imunidade comprometida por doença ou medicação. Assim como no restante do corpo, o tempo de inoculação é incerto, podendo variar de semanas, meses ou anos.

Como o HPV precisa das células epiteliais (camada granular) para sua replicação, as lesões das verrugas ungueais têm início na região periungueal (dobras ungueais proximal, laterais e distal). Clinicamente também apresentam superfície verrucosa normocrômica/amarelada, que podem coalescer formando placas. A dermatoscopia é um método diagnóstico de fácil realização e acessível para a maioria dos dermatologistas. Ajuda no diagnóstico diferencial das verrugas ungueais, já que estas apresentam pontos enegrecidos em sua superfície (capilares na derme papilar), não sendo visíveis, na maioria das vezes, a olho nu (Lee *et al.*, 2009). Os principais diagnósticos diferenciais descritos na literatura são: tumores filamentosos subungueais, heloma, nevos verrucosos, tuberculose cutânea, reticulohistiocitose multicêntrica, queratoacantoma, carcinoma espinocelular (*in situ* ou invasivo) (Richert *et al.*, 2013). Pela sua localização, as verrugas ungueais têm maior potencial de infecção para outras áreas do corpo e outros indivíduos. Na maioria das vezes as verrugas periungueais são lesões assintomáticas, porém quando há fissuras podem gerar dor. As lesões subungueais são dolorosas e podem mimetizar outras lesões subungueais, principalmente os tumores. As lesões subungueais podem gerar alterações da placa, tais como onicólise e estrias hemorrágicas em estilhaço. Quando as verrugas estão localizadas na região da dobra ungueal

proximal, e de alguma forma geram uma pressão sobre a matriz ungueal, pode-se observar alterações da superfície da placa ungueal, tais como sulcos ou estrias, longitudinais ou transversais, sendo as linhas de Beau as mais frequentes. A hiperqueratose do leito ungueal está associada com lesões localizadas no hiponíquio, enquanto que a hiperqueratose na cutícula está mais associada com lesões da dobra ungueal proximal. (Herschthal *et al.*, 2012). Histologicamente apresentam características semelhantes às demais regiões do corpo.

3.3 Tratamento das Verrugas Ungueais

O tratamento das verrugas ungueais deve ser selecionado e instituído de acordo com alguns fatores, tais como: tamanho, número, local e histologia das lesões, estado imunitário do paciente e história de resistência prévia às modalidades terapêuticas.

Tratar a lesão verrucosa, não necessariamente significa que o vírus causador dessa lesão está sendo tratado, já que há descrições mostrando que o vírus pode estar até 15 milímetros de distância do tecido perilesional. Desta maneira, deve-se considerar o tratamento das margens das lesões (Ward *et al.*, 1994).

A biópsia é um procedimento importante e deve ser considerada antes do início de qualquer modalidade terapêutica, principalmente nas lesões mais antigas, resistentes a tratamentos prévios, localizadas em dedo único e em pacientes com mais de 40-50 anos de idade. Estas lesões devem ser diferenciadas do carcinoma espinocelular e queratoacantoma,

uma vez que essa diferenciação não pode ser unicamente baseada nos aspectos clínicos e dermatoscópicos (Tosti e Piraccini, 2001; Sterling, 2004; Herschthal *et al.*, 2012).

Apesar de, na maioria dos casos, as lesões tenderem a involução ou resolução espontânea, as verrugas mais antigas, em pacientes com idade mais avançada e imunossuprimidos, costumam apresentar maior resistência ao tratamento, independente da opção terapêutica (Sterling, 2004).

A unidade ungueal apresenta estruturas peculiares do ponto de vista anatômico e fisiológico, sendo assim, deve-se atentar a terapias que possam gerar distrofias da placa ungueal, consequentes a lesões temporárias ou permanentes do leito e/ou matriz, tais como a eletrocoagulação e crioterapia (Herschthal *et al.*, 2012).

De uma maneira geral, independentemente da escolha do tratamento, seja tópico ou cirúrgico, a agressividade da técnica utilizada não se relaciona com taxa de cura. Terapias mais agressivas não estão necessariamente relacionadas com a cura ou involução da lesão (Sterling, 2004; Herschthal *et al.*, 2012).

Quando não tratadas, as verrugas ungueais podem acarretar em complicações, muitas vezes irreversíveis, destruindo todo ou parte do complexo ungueal, incluindo a falange distal (Tosti e Piraccini, 2001; Herschthal *et al.*, 2012).

Assim como nas lesões cutâneas, são descritas inúmeras formas de tratamento para as verrugas ungueais. Os principais tratamentos relatados são: agentes queratolíticos, esparadrapagem, cantaridina, podofilina,

substâncias virucidas, imunoterapia, antígenos da caxumba e *Candida spp.*, 5-fluorouracil, cimetidina, interferon, crioterapia, excisão, laser CO₂, laser pulsado, erbiun: Yag, Nd:YAG, terapia fotodinâmica, bleomicina e técnicas de hipnose (Herschthal *et al.*, 2012).

3.3.1 Agentes queratolíticos

Têm por objetivo destruir a epiderme infectada pelo vírus do HPV. O ácido salicílico é o mais utilizado, porém há descrições do uso do ácido láctico, dicloroacético e tricloroacético, ácido nítrico + láctico (Solcoderm®). São baratos, de fácil manuseio, indolores e estão disponíveis em várias apresentações, além de poderem ser utilizados sob oclusão para um aumento da sua eficácia. O paciente deve ser disciplinado com relação ao uso diário do medicamento durante todo o tratamento, que costuma ter uma duração de semanas a meses. O efeito colateral mais observado é a dermatite de contato por irritante primário. Estudos recentes mostram não haver diferença estatística na taxa de cura quando comparam o uso do ácido salicílico a 50% com a crioterapia no tratamento das verrugas plantares, além de que o queratolítico ter sua eficácia aumentada quando combinado com outras técnicas (Leman e Benton, 2000; Cockayne *et al.*, 2011; Kacar *et al.*, 2011; Cusini *et al.*, 2015).

3.3.2 Cantaridina

Extraída da *Cantharis vesicatoria*. Deve ser aplicada e a lesão ocluída por 24 horas (aplicação indolor). Após 2 semanas ocorre a formação de bolha no local. Novas aplicações podem ser necessárias. A acantólise induzida pela formação da bolha deve gerar morte das células epiteliais. Normalmente essa modalidade terapêutica não gera cicatriz, apesar de ser frequente o eczema perilesional. Há relatos na literatura com taxas de cura ao redor de 80% (Baumbach e Sheth, 2001).

3.3.3 Podofilina/podofilotoxina

A podofilotoxina leva à interrupção da mitose pela sua ligação aos microtúbulos envolvidos neste processo. Estudos em lesões genitais mostram taxas de cura superiores nos grupos tratados com podofilotoxina, quando comparados a podofilina (Hellberg *et al.*, 1995). Não há relatos na literatura do seu uso no tratamento das verrugas ungueais.

3.3.4 Agentes virucidas

Têm por objetivo destruir o vírus. Formaldeído e glutaraldeído atingem resultados semelhantes ao do ácido salicílico e a crioterapia (Tosti e Piraccini, 2001). A taxa de cura de 80% é descrita em estudo onde foi utilizado o glutaraldeído no tratamento de verrugas periungueais (Hirose *et al.*, 1994). Despigmentação reversível e reações eczematosas podem ocorrer.

3.3.5 Imunoterapia

O objetivo da imunoterapia é induzir a imunidade do hospedeiro a combater e destruir o vírus. A substância mais utilizada nessa classe é o imiquimode 5% em creme, que age pelo receptor *toll-like* 7, induzindo citocinas (interferon-alfa, fator de necrose tumoral, interleucina-1 e 6). Seu uso no tratamento das verrugas genitais e da face é descrito e efetivo. Nas lesões periungueais e subungueais também apresenta taxas de cura consideradas boas, em torno de 80% na 16ª semana de tratamento (Micali *et al.*, 2003; Gaspari *et al.*, 2009). Outros agentes também são descritos, como o uso do dibutylester do ácido esquárico, com taxas de cura em torno de 84% (Micali *et al.*, 2000).

3.3.6 Antígenos da caxumba e *Candida spp*

Têm por objetivo estimular uma resposta Th1 na expectativa que esta destrua as células virais. Há estudos comparando seu uso com a crioterapia (74% x 55%, taxa de cura). Eritema, edema e prurido são relatados no local de aplicação, além de reações de hipersensibilidade tardias (Johnson, 2003; Signore, 2002; Clifton *et al.*, 2003).

3.3.7 5-Fluorouracil

Trata-se de um agente antimetabólico que impede a proliferação por meio da inibição do DNA e RNA. Pode ser aplicado como creme ou de forma intralesional. Estudos em lesões plantares apresentaram taxas de cura ao redor de 85%, quando associado à oclusão (Salk *et al.*, 2006). Aplicação intralesional, associado com epinefrina e lidocaína apresentou cura em 70% dos casos (Isçimen *et al.*, 2004).

3.3.8 Cimetidina

Conhecido antagonista do receptor H-2, inibidor das células-T supressoras, que indiretamente aumenta a imunidade celular (Rogers *et al.*, 1999; Mitsuishi *et al.*, 2003). Apesar de relatos de taxas de cura girando em torno dos 82%, estudos melhores desenhados mostraram taxas de curas de 26%, o que coloca essa modalidade terapêutica no mesmo nível dos placebos (Yilmaz *et al.*, 1996; Karabulut *et al.*, 1997).

3.3.9 Interferon

Apresenta relato com bons resultados no tratamento das verrugas peri e subungueais, porém seu custo, efeitos colaterais e a necessidade de administração intravenosa, restringem seu uso apenas para os casos mais extensos e recidivados (Schöfer e Solberg, 1991).

3.3.10 Crioterapia

A crioterapia é considerada como segunda linha no tratamento das verrugas e tem por objetivo causar necrose das células epidérmicas infectadas pelo vírus do HPV, ou induzir reação inflamatória, estimulando resposta celular imunomediada. Inúmeras técnicas são descritas baseando-se no tempo de congelação, temperatura, aplicação (*spray* ou contato) e intervalo entre as sessões, com bons resultados quando comparados às outras técnicas já descritas (ácido salicílico, por exemplo). Geralmente, quanto menor o tempo de intervalo das sessões, maior duração da aplicação e desbastamento prévio das lesões, maiores as taxas de cura e maiores os efeitos colaterais (bolhas) (Herschthal *et al.*, 2012). Importante lembrar que na região ungueal, esta modalidade deve ser aplicada com cautela, já que para que bons resultados terapêuticos sejam atingidos, o risco de dano da matriz e leito ungueal é alto, podendo acarretar em distrofias ungueais permanentes.

3.3.11 Excisões

Não é considerada modalidade de escolha, já que está associada a taxas de recidiva de 30%, além da possibilidade de cicatrizes, o que dificultaria ainda mais nos possíveis tratamentos posteriores (Tosti e Piraccini, 2001; Sterling *et al.*, 2001).

3.3.12 Lasers (CO₂, pulsados, NdYAG e erbium: YAG)

São considerados segunda linha no tratamento das verrugas. Na região do complexo ungueal devem ser utilizados com cautela, já que o risco de cicatriz permanente, a necessidade remoção da placa ungueal para a realização da técnica, a taxa de cura não atrativa e custo, acabam inviabilizando essa modalidade (Herschthal *et al.*, 2012).

3.3.13 Terapia fotodinâmica

Apesar das taxas de cura em torno de 75%, efeitos colaterais como dor e risco distrofias, tornam essa técnica pouco utilizada (Herschthal *et al.*, 2012).

3.3.14 Bleomicina

Originalmente isolada do fungo *Streptomyces verticillus*, em 1962, por Umezawa *et al.* (1966). Trata-se de um glicopeptídeo com efeito antibacteriano e antiviral, porém sua maior utilidade deve-se ao efeito citotóxico. De acordo com sua cadeia de glicopeptídeo, pode ser dividida em dois grupos, a bleomicina A e bleomicina B, e estas em bleomicina A1-6 e bleomicina B1-5 (Umezawa *et al.*, 1966; Dantzig, 1974; Templeton *et al.*, 1994). As bleomicinas do subtipo A2 e B2 são as mais frequentemente comercializadas atualmente (Saitta *et al.*, 2008). Aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento, por via sistêmica, do carcinoma testicular, da efusão pleural maligna, do linfoma de Hodgkin e não

Hodgkin. Como quimioterapia adjuvante, foi aprovada para o tratamento de algumas formas avançadas de carcinoma espinocelular cutâneo (Yamamoto, 2006; Saitta *et al.*, 2008; AlGhamdi e Khurram, 2011). Apesar de não ser aprovada para terapia intralesional, na dermatologia existem muitos relatos de casos e estudos que demonstram eficácia e segurança no tratamento de diversas doenças, como, por exemplo, verrugas virais, queloides, hemangiomas, leishmaniose cutânea, malformações vasculares e algumas neoplasias malignas (carcinoma basocelular, queratoacantoma, carcinoma espinocelular e sarcoma de Kaposi) (Heller *et al.*, 1998; Saitta *et al.*, 2008; Jones *et al.*, 2015; Barkat *et al.*, 2018).

Atua principalmente na via de clivagem da cadeia do DNA, causando apoptose das células da epiderme devido a inibição da síntese proteica e de DNA. Na presença de oxigênio, Fe^{2+} e um agente redutor, a bleomicina transfere elétrons do Fe^{2+} para o oxigênio, criando espécies reativas de oxigênio. O radical livre causa dano oxidativo aos nucleotídeos, clivando a cadeia do DNA (Saitta *et al.*, 2008). Também ocorre degradação do ácido ribonucleico (RNA) celular. Outro mecanismo de ação relacionado à boa resposta terapêutica nas verrugas virais é o dano endotelial (Lee *et al.*, 2015a). Não há relatos descrevendo efeito direto da bleomicina sobre o HPV.

A preparação disponível comercialmente é o sulfato de bleomicina na forma de pó liofilizado, em frasco/ampola com 15U. Por ser uma substância hidrofílica, sua permeabilidade através da membrana celular é baixa. Mizuno e Ishida (1982) demonstraram que a associação da bleomicina com lidocaína, procaína, tetracaína, dibucaína, butacaína ou etanol gera maior

efeito citotóxico. Essas substâncias causariam desestruturação das membranas celulares e consequentemente maior permeabilidade transmembrana *in vitro* (Mizuno e Ishida, 1982; Saitta *et al.*, 2008). Atualmente recomenda-se a diluição com solução salina, já que Shumer e O’Keefe (1983), usando a solução salina como diluente, atingiram taxa de cura superior a Bunney *et al.* (1984), que diluíram a bleomicina em lidocaína.

É considerada uma das opções terapêuticas mais efetivas no tratamento das verrugas ungueais, principalmente nas lesões recidivadas. Inúmeros trabalhos reforçam o uso intralesional da bleomicina no tratamento das verrugas ungueais resistentes a tratamentos prévios, considerando a técnica como terceira linha terapêutica, e nível II de recomendação, sob a ótica da medicina baseada em evidências (Cordero *et al.*, 1980; Shumer e O’Keefe, 1983; Bunney *et al.*, 1984; Johnson, 2003; Wirges *et al.*, 2003).

Pode ser aplicada de duas maneiras: injeção direta na lesão ou aplicada em gotas sobre a lesão após puntura (bleopunção) da verruga, causando menos dor quando comparada às aplicações intralesionais (Al-Naggar *et al.*, 2019).

Sua excreção é essencialmente renal, porém sugere-se que exista a participação hepática (Dantzig, 1974; Saitta *et al.*, 2008), além de destruição enzimática por meio da bleomicina hidrolase, enzima presente em diversos tecidos, porém em concentrações variáveis (Saitta *et al.*, 2008).

Pode ser administrada em várias sessões e na maioria das vezes a concentração varia de 1 U/mL a 5 U/mL da solução, não havendo dose padronizada. Nesta técnica, a absorção sistêmica é considerada baixa,

porém a possibilidade dela existir, limita o uso da bleomicina nas crianças, gestantes, pacientes com doenças vasculares e condições imunitárias deficientes. Dor e eritema no local de aplicação são esperados nas primeiras 72 horas. A necrose hemorrágica é esperada nos primeiros dias após a aplicação e é considerada um efeito frequentemente observado, podendo persistir por até 3 ou 4 semanas. Fenômeno de *Raynaud* e potencial risco de distrofias são complicações descritas, porém tendem a ocorrer nos casos onde há aplicação de bleomicina em quantidades maiores e mais profundamente à lesão verrucosa.

Os efeitos colaterais relatados com o uso da bleomicina estão diretamente relacionados a dose e via de administração utilizados. Toxicidade severa é relatada com doses maiores que 150 miligramas e administradas por via endovenosa (Bremner, 1976; Bunney *et al.*, 1984; Bunney, 1985; Saitta *et al.*, 2008). Na dermatologia, a dose total utilizada é baixíssima (menor que 5 miligramas) e a maioria das doenças é tratada com técnica de aplicação intralesional (Saitta *et al.*, 2008). Necrose hemorrágica, atrofia, cicatriz e alterações de pigmentação (pós-inflamatória) são os efeitos colaterais mais descritos. Na maioria das vezes, apresenta boa tolerabilidade e boa aceitação pelos pacientes. Estudos mostram que a dor, na maioria das vezes, é considerada moderada e bem tolerada, com níveis de aceitação superiores quando comparada com a crioterapia (Shumer e O'Keefe, 1983; Kruter *et al.*, 2015). Não há evidências de toxicidade sistêmica no uso intralesional da bleomicina para verrugas ungueais (Shumer e O'Keefe, 1983; Kruter *et al.*, 2015).

Apesar de seu uso no tratamento das verrugas ter sido descrito desde a década de 70 do século XX, existe uma discrepância entre os trabalhos, com relação às taxas de cura e a maneira como estes estudos são conduzidos e controlados (Shumer e O'Keefe, 1983; Kruter *et al.*, 2015; Al-Naggar *et al.*, 2019). Alguns mostram taxas de cura variando de 0% a 100%, sendo que na maioria destes a taxa de cura gira em torno dos 75-80% (Cordero, 1980; Amer *et al.*, 1988; Shelley e Shelley, 1991; Baumbach e Sheth, 2001; Bigby *et al.*, 2004; Sardana *et al.*, 2010; Soni *et al.*, 2011; Singh Mehta *et al.*, 2018). O Quadro 2 resume esses estudos previamente publicados e o método de como foram conduzidos.

Quadro 2- Resumo dos estudos onde a bleomicina foi utilizada no tratamento das verrugas ungueais

Autor	Tipo do estudo	Nº de lesões ungueais	Nº de aplicações	Tempo sem tratamento	Acompanhamento	Taxa de cura	Efeitos colaterais
Cordero <i>et al.</i> (1980)	Ensaio clínico, sem randomização e não cego	11	1 ou 2	40% sem tratamento lesões 1-3 anos	3 meses	82%	Edema Dor Queimação
Amer <i>et al.</i> (1988)	Ensaio clínico cruzado, sem randomização e não cego	14	2	6 meses	3 meses	71%	Dor Escara
Shumer e O'Keefe (1983)	Ensaio clínico cruzado, randomizado e duplo-cego	32	1 ou 2	6 meses	Até 6-12 meses	50% 1 aplicação 94% com 1 ou 2 aplicações	Dor Edema Eritema
Bunney <i>et al.</i> (1984)	Ensaio clínico cruzado, randomizado e duplo-cego	2	3	3 meses	3 meses	76%	Dor Edema Eritema Escara
Soni <i>et al.</i> (2011)	Ensaio clínico randomizado e duplo-cego	8	1 ou 2	3 meses	1 ano	87% 1 aplicação 100% com 1 ou 2 aplicações	Dor Hiperpigmentação pós-inflamatória

3.5 Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia é uma técnica que combina a eletroporação com a prévia administração de uma droga citotóxica de baixa permeabilidade, aumentando assim a penetração da droga no interior das células, o que amplia a eficácia do tratamento.

A eletroporação consiste em alterar a permeabilidade da membrana celular de maneira transitória sem causar danos a célula. Introduzida em 1982 por Neumann *et al.* para facilitar a transferência de genes em células de mamíferos. À partir deste ponto tem sido utilizada para facilitar a penetração de macromoléculas hidrofílicas, corantes fisiológicos, íons, marcadores radioativos, drogas, DNA e RNA.

Na prática médica, inúmeras drogas podem ser utilizadas, porém a bleomicina e a cisplatina são as mais usadas, sendo a bleomicina, pelo seu maior poder citotóxico e menores efeitos colaterais, mais frequentemente utilizada. Uma vez dentro da célula, a droga exerce seu poder citotóxico, e no caso da bleomicina, há inibição do ciclo celular, apoptose e morte celular mitótica. A eletroquimioterapia está amplamente descrita no tratamento de tumores benignos de difícil tratamento (queloides), bem como em tumores malignos, como o melanoma, carcinoma espinocelular, metástases cutâneas e subcutâneas, sarcoma de Kaposi, dentre outros, com boa eficácia e excelente perfil de segurança (Mir e Orlowski, 1999; Manca *et al.*, 2013; Kendler *et al.*, 2013; Miklavčič *et al.*, 2014; Gatti *et al.*, 2014).

Apesar de não se conhecer exatamente os mecanismos de ação da eletroquimioterapia nos tumores, sabe-se que grande parte do sucesso terapêutico ocorre devido a três fatores: ao poder citotóxico da droga administrada, que com essa técnica passa a ser maior e com menos efeitos colaterais, pela diminuição do aporte sanguíneo do tumor e pelo estímulo imunológico que o processo inflamatório gerado causa sobre o tumor (Miklavčič *et al.*, 2014).

Na medicina veterinária a eletroquimioterapia também tem sido utilizada com sucesso no tratamento de neoplasia epiteliais como fibropapilomas e em tumores malignos da pele e nas mucosas em cães e gatos (Silveira *et al.*, 2010; Silveira *et al.*, 2011; Brunner *et al.*, 2014).

O medicamento pode ser administrado de forma intralesional ou intravenosa, dependendo do tipo, tamanho e número de lesões. Nos casos do uso intralesional o bloqueio anestésico é mandatório.

A dose do medicamento deve ser calculada de acordo com volume do tumor (Miklavčič *et al.*, 2014). Após 2 a 5 minutos da aplicação intralesional da bleomicina, a eletroporação é realizada, e então uma corrente elétrica de alta intensidade, curta e de forma pulsada (Figura 1) (8 pulsos, 100 μ s e 1.000 V/cm), é aplicada, de forma que são criados poros transitórios na membrana celular, afim de permitir a entrada de drogas não permeáveis no interior da célula (Mir e Orlowski, 1999).

Figura 1 - Aspecto da onda elétrica criada na eletroporação

Existem diferentes tipos de eletrodos de maneira que os pulsos elétricos devam cobrir toda a área tumoral, independente, da localização da lesão tratada. Quando a bleomicina é administrada de forma intralesional, o procedimento é bem tolerado, não sendo necessário o monitoramento da função hepática, renal ou pulmonar (Saitta *et al.*, 2008). Durante o procedimento, pode-se observar irritação local e contração muscular e logo após pode haver leve eritema e edema da área tratada (Marty *et al.*, 2006; Sersa, 2006). As principais contraindicações para o uso desta técnica resumem-se aos casos onde a via de administração é a intravenosa, devendo assim ser evitada na presença de insuficiência renal e/ou hepática e alergia ao medicamento (Marty *et al.*, 2006; Testori *et al.*, 2010).

As vantagens da técnica são caracterizadas pelas altas taxas de cura (mesmo após uma única sessão), ausência de dano tecidual nas áreas ao redor da lesão, ausência de desnaturação proteica, excelente perfil de segurança, ótima relação custo/benefício frente às drogas e aos instrumentos utilizados, e melhora na qualidade de vida dos pacientes (Marty *et al.*, 2006; Sersa, 2006).

A bleomicina é o agente quimioterápico mais utilizado na eletroquimioterapia pelas seguintes razões: excelente exemplo de droga citotóxica não permeável à membrana celular (hidrofílica), alta citotoxicidade no interior das células, estimula inúmeras vias de resposta imune, estimula os macrófagos na atividade contra tumores, induz a secreção de interleucina-2, elimina a secreção específica do tumor de atividade T-supressora, além de não apresentar efeito imunossupressor (Abdul Hamied e Turk, 1987; Orlowski *et al.*, 1988; Poddevin *et al.*, 1991; Mir *et al.*, 1996; Mir, 1999).

Estudo recente demonstrou a maior eficácia do uso da eletroquimioterapia utilizando a bleomicina intralesional no tratamento de verrugas plantares, quando comparado somente ao uso da bleomicina intralesional (Pasquali *et al.*, 2017).

Até o presente momento, não existem relatos na literatura mostrando a associação da eletroquimioterapia, utilizando bleomicina de forma intralesional, no tratamento das verrugas ungueais. Frente a eficácia e segurança do uso da bleomicina no tratamento das verrugas periungueais e das características da técnica de eletroquimioterapia, este estudo visa avaliar a eficácia da eletroquimioterapia, com bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais.

4 MÉTODOS

4.1 Desenho do Estudo

Ensaio clínico randomizado duplo-cego e controlado.

Duração do estudo: 180 dias (entre janeiro e dezembro de 2016).

4.2 Critérios de Seleção

4.2.1 Critérios de inclusão

- Participantes dos gêneros masculino e feminino com idade entre 18 e 60 anos.
- Diagnóstico clínico e histológico da verruga do aparelho ungueal (periungueal e/ou subungueal), de apenas um quirodáctilo.
- Nos casos onde existem mais de uma verruga ao redor do mesmo complexo ungueal serão considerados como sendo apenas uma lesão.
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A).

4.2.2 Critérios de exclusão

- Participantes que relatem tratamento das verrugas até 6 meses da aplicação da técnica.
- Participantes imunossuprimidos.
- Participantes com doenças vasculares periféricas.
- Tabagistas.
- Gestantes/nutrizes.
- Pacientes com diabetes melito.

4.2.3 Critérios de saída do estudo ou finalização prematura e Formulário de Relato de Dados

Os critérios de saída do estudo ou finalização prematura e o formulário de relato de dados (CRF) estão nos Anexos B e C.

4.3 Amostra

Foram incluídos 44 participantes neste estudo. A população-alvo foi a de participantes que compareceram no ambulatório de dermatologia do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo (ente janeiro e dezembro de 2016), respeitaram os critérios de seleção e assinaram o TCLE.

4.4 Procedimento

4.4.1 Assinatura do TCLE

Foi explicada ao participante ou responsável a natureza do estudo. O participante ou responsável leu o TCLE. Se for o desejo do participante, o mesmo pode levar o TCLE e consultá-lo com outra pessoa antes de assiná-lo. Todas as perguntas do participante foram respondidas e as dúvidas foram sanadas. Posteriormente o participante assinou voluntariamente o documento e recebeu uma cópia.

4.4.2 Randomização

Os participantes foram alocados em dois grupos de doentes: Grupo A (tratamento com bleomicina intralesional) e Grupo B (tratamento com eletroquimioterapia e bleomicina intralesional). Desta maneira, foi realizada randomização por blocos, de forma que cada participante teve a mesma chance de receber qualquer um dos tratamentos. Foram então distribuídos os envelopes que continham a informação da técnica a ser realizada, para cada um dos participantes, momentos antes da realização do procedimento, de maneira que somente o investigador responsável de aplicar a técnica e o estatístico tivessem conhecimento desta informação.

4.4.3 Descrição da técnica

Todas as lesões tratadas tinham o diagnóstico clínico e histológico de verruga. Para a confirmação histológica do diagnóstico clínico, foi realizada uma biópsia incisional de todas as lesões. A biópsia foi realizada sob anestesia local (bloqueio distal do dígito acometido), com lidocaína a 2% sem vasoconstritor, aplicado um torniquete, e então realizada a retirada do material, com o auxílio de um *punch* de 3 milímetros de diâmetro, até sua porção mais profunda, de modo que o *punch* tocasse a região do periósteo (Figura 2). O espécime era retirado com uma tesoura reta de Íris, colocado em formalina a 10% e enviado ao dermatopatologista. Todos os espécimes foram analisados pelo mesmo dermatopatologista e o diagnóstico histológico de verruga foi confirmado (Figura 3). A ferida operatória era deixada para cicatrizar por segunda intenção. Um curativo compressivo com vaselina sólida, algodão, gaze e faixa crepe foi realizado em todos os participantes. Após 24 horas, os participantes foram orientados a retirar o curativo e realizar limpeza da ferida com água morna corrente e sabão 2-3 vezes ao dia, até cicatrização da ferida. Nenhum dos participantes apresentou intercorrência e/ou efeitos colaterais nesta etapa prévia ao início da realização da técnica.

Figura 2 - Biópsia incisional realizada no hiponíquio com *punch* de 3 milímetros

Figura 3 - Anatomia patológica confirmando o diagnóstico de verruga (hematoxilina-eosina, da esquerda para direita, 40x e 100x)

Para a aplicação da técnica em questão, todos os participantes foram submetidos à:

- Antissepsia com clorexidina aquosa a 0,2% da região a ser tratada;
- Bloqueio anestésico proximal e distal do quirodáctilo, utilizando lidocaína a 2% sem vasoconstritor. Foi utilizado seringa com capacidade para 3 mililitros e agulha 30 G;

- Não foi utilizado torniquete em nenhum dos grupos;
- A bleomicina utilizada nos dois grupos foi diluída com soro fisiológico 0,9%. Um total de 5 mililitros foram usados na diluição de cada frasco. Como cada frasco contém 15 U, foi obtida a concentração de 3 U/mL por frasco.
- Em todas as aplicações a diluição foi feita momentos antes da realização da técnica.
- A solução de bleomicina remanescente de cada frasco não foi reutilizada em momento algum, todas foram descartadas;
- A infiltração da bleomicina nos dois grupos foi realizada com seringas da marca BD ULTRA FINE™ 30 U, de agulhas com 6 milímetros de comprimento e 0,25 milímetros de calibre;
- Independente do grupo, quando havia lesão subungueal, a porção da placa ungueal onicolítica era removida com o auxílio de um alicate reto, de modo a não traumatizar o leito ungueal, e expor toda a lesão verrucosa, desta forma que toda a lesão fora tratada.

Grupo A (bleomicina intralesional): Após infiltração intralesional de 0,1 mL de bleomicina (3 U/mL), sem que o paciente pudesse observar, foi simulada a eletroporação da lesão, ou seja, o mesmo gel era aplicado sobre a lesão, porém os eletrodos não tocaram na pele do participante, a fim de manter o cego do paciente.

Grupo B (eletroquimioterapia com bleomicina intralesional): Infiltração intralesional de 0,1 mL de bleomicina (3 U/mL). Após 3 minutos da infiltração da bleomicina, um gel era aplicado por toda a lesão e região perilesional

para que os eletrodos fossem inseridos e então aplicados os ciclos de 8 pulsos (eletroporação), de modo a abranger toda a lesão (Figuras 4 e 5).

Após a realização da técnica, foi realizado um curativo com vaselina sólida e gaze. Após 24 horas, os participantes foram orientados a retirar o curativo e realizar limpeza da ferida com água morna corrente e sabão 2-3 vezes ao dia. Analgesia simples (paracetamol 500 mg até 8/8 horas e/ou dipirona sódica 500 mg até de 6/6 horas) foi orientada a todos os participantes no caso de dor.

Figura 4 - Grupo B - após a aplicação intralesional da bleomicina, um gel é aplicado na lesão, e então os eletrodos são introduzidos para que os pulsos sejam disparados

Figura 5 - Figura representando o aparelho eletroporador utilizado no procedimento

4.4.4 Visitas

Visita 1 - dia 0: história clínica, revisão dos critérios de seleção, exame físico, assinatura do TCLE, teste urinário de gravidez, documentação fotográfica, aplicação de técnica, curativo, orientações ao participante e agendamento do retorno.

Visita 2 - dia 5: história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e agendamento do retorno.

Visita 3 - dia 10: história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e agendamento do retorno.

Visita 4 - dia 30: história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica, avaliação da eficácia e agendamento do retorno.

Visita 5 - dia 90: história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica, avaliação da eficácia e agendamento do retorno.

Visita 6 - dia 180 (fim do estudo): história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e avaliação da eficácia.

Visita suplementar: caso o participante apresentasse algum evento adverso ou julgar necessário, pode marcar um retorno antes da próxima de visita.

4.4.5 Avaliação clínica das lesões

Nos casos onde existem mais de uma verruga ao redor do mesmo complexo ungueal foram consideradas como sendo apenas uma lesão.

O avaliador cego foi um membro da equipe de pesquisa, médico dermatologista, com experiência em doenças do complexo ungueal. O mesmo não teve acesso às informações coletadas no prontuário nem no CRF. Unicamente entrou no consultório para avaliar clinicamente a lesão sendo que os dados da avaliação foram passados verbalmente para o investigador responsável por preencher o prontuário e o CRF. Esses dados sobre a avaliação de eficácia foram registrados imediatamente tanto no prontuário quanto no CRF.

A avaliação da eficácia foi realizada observando a lesão clínica *in vivo* e dermatoscopicamente (quando necessário, com o dermatoscópio DermLite DL3N®), e comparando-a com a foto do dia 0. A dermatoscopia foi utilizada como método auxiliar nos casos onde clinicamente a regressão total ou permanência/recidiva da verruga não pode ser avaliada. A presença de pontos enegrecidos, algo violáceos (capilares trombosados da derme papilar), sugere o diagnóstico de verruga.

Foi considerada cura da lesão: ausência total de lesão clínica.

Considerou-se falha terapêutica/recidiva: presença de lesão independentemente da redução da lesão. Reaparecimento da lesão durante o período do estudo, mesmo que após involução da mesma.

4.4.6 Avaliador cego

Foi sempre o mesmo ao longo do estudo para todos os participantes. Não teve acesso ao CRF, prontuário ou lista de randomização dos participantes.

4.5 Análise estatística

As comparações entre os participantes com cura clínica no Grupo A *versus* os participantes com cura clínica obtido no Grupo B, foram realizadas pela análise exploratória por meio de frequência e porcentagem. A comparação da cura entre os grupos foi avaliada pelo teste exato de Fisher para tabelas 2 x 2. O software utilizado foi o XLSTAT 2018.

4.6 Coleta de Dados

Todos os dados foram preenchidos no CRF. A história clínica, assim como os dados requeridos no CRF, foi anotada também no prontuário do participante.

4.7 Reporte de eventos adversos

Foram preenchidos na ficha correspondente (Anexo D), do CRF. Qualquer evento ocorrido depois de assinado o TCLE foi registrado como evento adverso e o investigador determinou se estava ou não relacionado com o tratamento. Os eventos adversos sérios, se ocorressem seriam informados nas primeiras 24 horas de ocorridos e comunicados ao comitê de ética e pesquisa. Os eventos não graves foram coletados periodicamente pelo investigador. Caso o evento adverso esteja diretamente relacionado com o produto injetado ou com a técnica realizada o laboratório Meizler Biopharma S/A e LC Pesquisa Ltda ME seriam avisados.

4.8 Considerações Éticas e Condução Geral do Estudo

Neste estudo todas as respectivas emendas foram revisadas e aprovadas pelo comitê de ética do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo Anexos E e F. Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos originados da Declaração de Helsinki, o documento das Américas, com as diretrizes das Boas Práticas Clínicas e leis federais.

Este estudo não foi patrocinado por qualquer fabricante de aparelhos médicos ou medicamentos. Trata-se de um estudo de iniciativa própria do investigador. Os custos gerados pelo estudo, inclusive os da análise estatística, foram de responsabilidade do investigador principal. No caso de efeito adverso, ao participante foi fornecido todo o suporte terapêutico, pelo investigador principal, no Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo.

5 RESULTADOS

5.1 Análise Descritiva, Caracterização das Amostras e Taxa de Cura

Neste estudo, um total de 44 pacientes participaram da pesquisa, porém um paciente do grupo A deixou o estudo antes da realização da técnica, sendo 22 do Grupo A e 21 do Grupo B. Não foi observada associação significativa entre a falha (taxa de saída) entre os tratamentos do Grupo A e do Grupo B (teste exato de Fisher; $p = 1,000$).

A maioria das lesões se localizou na região periungueal (77,3%), enquanto que, os 22,7% das lesões restantes se localizaram na região subungueal.

A média de idade dos pacientes foi de 36 anos, variando de 19 a 57 para o Grupo A, e de 37 anos, variando de 18 a 56 para o Grupo B. A maioria dos pacientes foi do gênero feminino (68%). As proporções do gênero e distribuição das idades se mantiveram similares entre os grupos do estudo, conforme ilustrado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Frequências e porcentagens do gênero dos pacientes por grupo de tratamento

Gênero	Grupo A		Grupo B		Total	
	n	%	n	%	n	%
Feminino	16	69,6	14	66,7	30	68,2
Masculino	7	30,4	7	33,3	14	31,8

Tabela 2 - Estatísticas descritivas da idade por grupo de tratamento e no geral

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Grupo A	23	36,4	13,3	19,0	34,0	57,0
Grupo B	21	37,0	12,8	18,0	36,0	56,0
Total	44	36,7	12,9	18,0	35,5	57,0

A Tabela 3 ilustra os resultados observados para a variável primária de eficácia, definida como os pacientes que apresentaram cura ao final do estudo.

Tabela 3 - Frequências e porcentagens de cura por tratamento

Cura	Grupo A		Grupo B	
	n	%	n	%
Sim	11	50,0	18	85,7
Não	11	50,0	3	14,3

Dos 22 pacientes finalizados para o Grupo A, 11 (50,0%) apresentaram cura, enquanto que, dos 21 pacientes finalizados do Grupo B, 18 pacientes (85,7%) apresentaram cura (Gráfico 1).

Gráfico 1- Porcentagens de cura por grupo de tratamento

Foi observada associação significativa entre os pacientes com ou sem cura e os tratamentos do Grupo A e do Grupo B (teste exato de Fisher; $p = 0,022$).

A cura para o grupo de pacientes que utilizou o tratamento com eletroquimioterapia associada à bleomicina foi significativamente superior em relação ao grupo de pacientes que utilizou apenas a bleomicina.

A Figura 6 ilustra o estudo do seu início até o seu desfecho.

Figura 6 - O estudo do seu início até o seu desfecho

Dos 11 pacientes que não apresentaram cura para o Grupo A, quatro (36,4%) apresentaram recidiva no 90º dia de pós-operatório e sete (63,6%) no 180º dia de pós-operatório. Dos três pacientes que não apresentaram cura para o Grupo B, um apresentou recidiva no 90º dia de pós-tratamento e dois no 180º dia de pós-tratamento.

As Figuras 7 e 8 são exemplos de casos onde a cura foi obtida após o uso isolado da bleomicina (Grupo A).

Figura 7 - a: Grupo A - dermatoscopia antes do tratamento. b: Grupo A - dermatoscopia após o tratamento (término do estudo - 180 dias de pós-operatório) - CURA

Figura 8 - a: Grupo A - lesão antes do tratamento. b: Grupo A - (término do estudo - 180 dias de pós-operatório) - CURA

A Figura 9 mostra um caso de recidiva do grupo onde foi utilizado a bleomicina isolada (Grupo A).

Figura 9 - a: Grupo A - lesão antes do tratamento. b: Grupo A - paciente após 180 dias do tratamento - RECIDIVA

A Figura 10 mostra um caso de cura, do grupo onde foi associada a bleomicina à eletroporação (Grupo B), enquanto que a Figura 11 mostra um caso de recidiva do mesmo grupo.

Figura 10 - a: Grupo B - lesão antes do tratamento. b e c (dermatoscopia): Grupo B - paciente após 180 dias do tratamento - CURA

Figura 11 - a: Grupo B - lesão antes do tratamento. b: Grupo B - paciente após 180 dias do tratamento - RECIDIVA

5.2 Efeitos Adversos

Nenhum dos pacientes, tanto do Grupo A, quanto do Grupo B, apresentou efeitos colaterais sistêmicos. Notou-se que os efeitos colaterais como a necrose hemorrágica e dor moderada ocorreram em maior proporção para os participantes do Grupo B, com quase 70% do total de 21 pacientes observados. A maior parte dos pacientes que não relatou efeito colateral foi do Grupo A (41%), enquanto que, apenas dois pacientes (9,1%) não apresentaram efeito colateral para o Grupo B. Sugere-se que, apesar de uma maior eficácia de cura, o tratamento do Grupo B apresentou uma maior proporção de pacientes com efeito colaterais comparado ao Grupo A (Tabela 4).

Tabela 4 - Frequências e porcentagens dos efeitos colaterais por tratamento

Efeito colateral	Grupo A		Grupo B	
	n	%	n	%
Dor moderada	2	9,1	15	68,2
Necrose hemorrágica	10	45,5	15	68,2
Dor leve	11	50,0	4	18,2
Onicólise	0	0,0	3	13,6
Sem efeito	9	40,9	2	9,1
Inflamação/infecção	1	4,5	2	9,1
Distrofia simpático reflexa	0	0,0	1	4,5
Inflamação	1	6,7	0	0,0

A Tabela 5 ilustra o número de pacientes com os efeitos colaterais por grupo segundo o período pós-operatório que o evento adverso ocorreu. A maioria das necroses hemorrágicas ocorreu do 5º ao 7º dia de pós-operatório. As dores moderadas variaram entre o 3º e 10º dia de pós-operatório e as dores leves entre o 3º e 7º de pós-operatório. As onicólises ocorreram nos 5º e 6º dias de pós-operatório, a distrofia simpático reflexa ocorreu no 30º dia de pós-operatório, infecção no 6º dia de pós-operatório e a ulceração no 20º dia de pós-operatório.

Tabela 5 - Frequências e porcentagens dos efeitos colaterais por tratamento

Pós-operatório	Necrose		Pós-operatório	Dor Moderada		Pós-operatório	Dor Leve	
	BLEO	EQT + BLEO		BLEO	EQT + BLEO		BLEO	EQT + BLEO
3º	2	0	3º	0	4	3º	2	1
5º	2	2	4º	0	5	4º	0	3
6º	0	6	5º	0	2	5º	2	0
7º	5	2	6º	0	3	6º	1	0
9º	0	1	8º	0	1	7º	6	0
10º	1	0	10º	1	0			
13º	0	1						
14º	0	1						
15º	0	1						

As Figuras 12 a 18 ilustram os efeitos colaterais mais frequentes e relevantes deste estudo.

De uma maneira geral, apesar de grande parte dos pacientes ter apresentado efeitos colaterais independentemente da técnica empregada, todos os participantes consideraram os efeitos adversos toleráveis.

Figura 12 - Necrose hemorrágica no 10º dia de pós-operatório do Grupo B

Figura 13 - Onicólise residual observada após 180 dias do procedimento, provavelmente por uma fibrose gerada pela técnica - Grupo B

Figura 14 - Distrofia simpático reflexa após 30 dias do procedimento - Grupo B

Figura 15 - Infecção no 5º dia de pós-operatório - Grupo B

Figura 16 - Onicomadese transitória observada após 90 dias do procedimento - Grupo B

Figura 17 - Necrose hemorrágica leve observada no 7º dia de pós-operatório - Grupo A

Figura 18 - Necrose hemorrágica leve/moderada observada no 7º dia de pós-operatório - Grupo A

6 DISCUSSÃO

As verrugas ungueais são consideradas o tumor mais frequente do complexo ungueal (Tosti e Piraccini, 2001), podendo estar ao redor da placa ungueal (periungueal) ou abaixo desta (subungueal), e em alguns casos pode haver transformação maligna da lesão (Finkel e Finkel, 1984; Zaiac e Weiss, 2001). O tratamento das verrugas, independente da sua localização, é frustrante tanto para o paciente, quanto para o médico.

Devido às particularidades anatômicas observadas no complexo ungueal, a terapêutica tende a ser mais desafiadora. Lesões que iniciam na pele das dobras ungueais, proximal, distal e laterais, podem penetrar para a região subungueal dificultando a sua visualização. Desta maneira o tratamento torna-se ineficaz por não atingir tais áreas. Muitas vezes a remoção da placa ungueal é necessária para que o tratamento seja mais abrangente. Este procedimento, bem como o tratamento de áreas atingidas pela verruga podem causar danos temporários ou permanentes no complexo ungueal o que desencoraja o médico (Sardana *et al.*, 2010; Kwok *et al.*, 2012).

A maioria dos tratamentos relatados na literatura trata as lesões visíveis (queratolíticos, esparadrapagem, cantaridina, podofilina, substâncias virucidas, 5-flurouracil, crioterapia, excisão, laser CO₂, laser pulsado, erbio: Yag, Nd:YAG, terapia fotodinâmica) (Herschthal *et al.*, 2012), e apresenta

resultados variáveis. Em contrapartida, a bleomicina intralesional pode ser aplicada tanto na lesão visível como na área subungueal, resultando numa maior abrangência da área tratada com mínimo ou nenhum efeito distrófico permanente (Amer *et al.*, 1988).

Inúmeros autores relatam as mais diferentes técnicas e variações na aplicação da bleomicina no tratamento das verrugas ungueais, com diferentes taxas de cura (71 a 100%) (Shumer e O'Keefe, 1983; Bunney *et al.*, 1984; Amer *et al.*, 1988; Dhar *et al.*, 2009; Soni *et al.*, 2011; Kruter *et al.*; 2015; Lee *et al.*, 2015a). No presente estudo a taxa de cura com a monoterapia com bleomicina foi de 50%.

Cordero *et al.* (1980), Shumer e O'Keefe (1983), Bunney *et al.* (1984), Amer *et al.* (1988) e Soni *et al.* (2011) utilizaram mais de uma aplicação intralesional de bleomicina nas verrugas com taxas de cura variando de 71% a 100% e tempo de seguimento variável de 40 a 365 dias. Neste estudo foi realizada apenas uma aplicação e o acompanhamento por 6 meses. Isso explica o motivo da taxa de cura do grupo da bleomicina isolada (50%) estar abaixo da taxa de cura média (71%-94%).

Soni *et al.* (2011) são os únicos autores que mostram uma taxa de cura de 87%, no tratamento de oito verrugas periungueais, com apenas uma aplicação intralesional de bleomicina num período de 3 meses. No presente estudo, a taxa de 50% de cura foi obtida de um grupo de 22 pacientes e num período de 6 meses, sete dos 11 que apresentaram recidiva, a tiveram no 180º dia do estudo, e quatro dos 11 no 90º dia do estudo, portanto, se este estudo tivesse terminado no terceiro mês de acompanhamento, haveria 18

dos 22 pacientes considerados curados (81,8%), o que aproxima-se com o observado por Soni *et al.* (2011).

Shumer e O'Keefe (1983) mostram uma taxa de cura de 50% das lesões periungueais com apenas uma aplicação, e 94% após a segunda aplicação, mostrando uma taxa de cura semelhante ao que foi observado no presente estudo.

Outra observação a ser feita é com relação a localização das verrugas ungueais. Na maioria dos trabalhos essas lesões são classificadas como periungueais, o que teoricamente, do ponto de vista anatômico e fisiopatológico, tenderiam a ser menos resistentes aos tratamentos do que as lesões subungueais. Neste estudo a maioria das lesões (77,3%) localizava-se na região periungueal, porém, assim como nos demais estudos, esse dado não foi avaliado a fim de correlacionar a taxa de cura da técnica com a localização da lesão.

No que se refere a efeitos colaterais, assim como o que é citado na literatura, não foi observado efeito colateral sistêmico, corroborando que a bleomicina quando utilizada de forma intralesional é segura. Os efeitos colaterais relacionados ao uso intralesional da bleomicina descritos na literatura são semelhantes aos observados no presente estudo. A dor considerada leve ou moderada e a necrose hemorrágica foram os mais frequentes. Todos os pacientes consideraram toleráveis esses efeitos adversos. Bunney *et al.* (1984) são os únicos autores que relacionam a dor com o local de aplicação, mostrando que as lesões plantares e periungueais tiveram maior dor nos primeiros dias de pós-operatório.

Apesar do uso da bleomicina no tratamento das verrugas ser considerado eficaz e seguro pela grande maioria dos autores, uma metanálise mostrou que o tratamento de escolha para as verrugas ainda permanece duvidoso (Dhar *et al.*, 2009).

A literatura mostra que a eletroporação aumenta a eficácia e o perfil de segurança de inúmeras drogas, e que a bleomicina é a medicação que apresenta as características mais adequadas para a eletroporação. Quando a bleomicina é utilizada intralesionalmente, os resultados encontrados são considerados bons e apresentam perfil de segurança satisfatório.

O objetivo deste estudo foi comparar o uso da bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais ao uso da bleomicina intralesional seguido da eletroporação, já que não existem relatos do uso de eletroquimioterapia, no tratamento das verrugas ungueais.

Estudo recente faz esta comparação no tratamento de verrugas plantares de 22 pacientes, com taxa de cura, estatisticamente significativa, superior no grupo onde foi realizada a eletroquimioterapia associada ao uso intralesional da bleomicina, corroborando com a teoria de que a eletroporação melhora a eficácia da bleomicina (Pasquali *et al.*, 2017). Nesse estudo os autores realizaram apenas uma aplicação e acompanhamento dos pacientes por 3 meses. No grupo da bleomicina associada à eletroporação, obteve 78% de cura, enquanto que no grupo da bleomicina isolada 16%. Assim como neste estudo, também foi realizada biópsia de todas as lesões previamente ao início do tratamento e em todos os casos, as lesões estavam sem tratamento há pelo menos 6 meses. No

presente estudo, houve 44 pacientes, acompanhados por 6 meses após a realização da técnica e se obteve uma taxa de cura de 85,7% no grupo da eletroquimioterapia, contra 50% do grupo da bleomicina isolada, o que reforça o perfil de eficácia do uso da eletroporação associada à bleomicina intralesional, apesar dos efeitos adversos locais, mais frequentes em relação a monoterapia com a bleomicina.

Assim como neste trabalho, Pasquali *et al.*, (2017) também tiveram como objetivo secundário comparar os efeitos colaterais das técnicas. Os autores relatam apenas eritema e edema no local de aplicação de eletroquimioterapia, sem efeitos sistêmicos. Já no presente estudo, nota-se que os efeitos colaterais foram mais frequentemente observados no grupo da eletroquimioterapia (dor leve a moderada, necrose hemorrágica e onicólise), em um caso foi observado processo infeccioso e em outro caso distrofia simpática reflexa. Apesar de mais frequentes e intensos, os efeitos colaterais do grupo da eletroquimioterapia foram toleráveis pelos pacientes, não houve sequelas a longo prazo, e não foi observado nenhum efeito adverso sistêmico.

Apesar do número reduzido de estudos sobre eletroquimioterapia na dermatologia, em geral, os resultados deste estudo encorajam seu uso no tratamento das verrugas ungueais.

7 CONCLUSÕES

O uso intralesional da bleomicina associada à eletroporação (eletroquimioterapia), no tratamento das verrugas ungueais (periungueais e subungueais), apresentou cura estatisticamente superior quando comparada ao uso isolado da bleomicina intralesional.

Os efeitos colaterais foram mais frequentes no grupo da eletroquimioterapia e bleomicina, em relação ao grupo de monoterapia com a bleomicina.

7.1 Perspectivas

Este estudo abre a oportunidade para avaliação de um maior número de doentes sob uso desta técnica, além de possibilitar o desenho de estudos onde se comparou a eletroquimioterapia associada à bleomicina com outras técnicas e ou medicamentos já descritos no tratamento das verrugas ungueais.

Anexo A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****TÍTULO DO PROTOCOLO:**

Eficácia e segurança do uso da eletroquimioterapia associada à bleomicina intralesional comparado ao uso da bleomicina intralesional, no tratamento das verrugas periungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. Nilton Gioia Di Chiacchio

COINVESTIGADOR: Dr. Nilton Di Chiacchio

COORDENADOR DO CENTRO: Dra. Maria Victoria Suarez

CENTRO DE PESQUISA: Clínica de Dermatologia do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo.

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, do projeto de pesquisa mencionado acima.

Antes de se decidir pela participação neste estudo, você deve conhecer os objetivos, possíveis riscos e benefícios do mesmo e o que é esperado de você durante a participação. Este Termo de Consentimento lhe dará essas informações, por isto deverá lê-lo cuidadosamente. Um membro da equipe do estudo discutirá todas as informações com você e responderá a todas suas dúvidas. Somente depois dos procedimentos estarem plenamente explicados é que você deve tomar a sua decisão.

JUSTIFICATIVA

As verrugas periungueais, assim como as que acometem as demais regiões da pele e mucosas, são causadas pelo HPV (papiloma vírus humano). São consideradas as lesões que mais acometem o complexo ungueal, no tecido periungueal ou no leito ungueal.

O diagnóstico diferencial da verruga periungueal é feito com a doença de Bowen, queratoacantoma, tumores filamentosos e carcinoma espinocelular, justificando a biópsia previa principalmente nos casos de lesão única.

O tratamento deve ser escolhido baseado em fatores como: idade e estado imunológico do paciente, o tamanho e número de lesões, características histológicas e resistência a terapias prévias.

Apesar dos inúmeros tratamentos relatados na literatura médica, a maioria destes são considerados frustrantes, com altas taxas de recidiva, além do potencial risco de deformidades ungueais. Nos tratamentos tópicos ou intralesionais são utilizados queratolíticos, cantaridina, podofilotoxina,

imunoterapia, 5-fluorouracil e bleomicina. Outras modalidades de tratamento como o uso sistêmico de cimetidina e interferon, procedimentos cirúrgicos como crioterapia, excisão e lasers, além de hipnose e oclusão estão citados como possíveis terapêuticas.

A literatura mostra que o uso da bleomicina injetada na lesão é considerado como primeira linha no tratamento das verrugas periungueais, com taxas de cura superiores quando comparadas com as demais técnicas, baixo risco de deformidades ungueais e segurança na sua aplicação. Apesar de pouco frequente, o efeito adverso relatado é o fenômeno de Raynaud (falta de irrigação sanguínea), ocorrendo em casos de aplicação profunda e volume excessivo.

A eletroquimioterapia é uma técnica que combina a eletroporação (aplicação de uma corrente elétrica) com a prévia administração de uma droga, na região afetada. Desta maneira, aumenta a penetração desta droga no interior das células levando a uma maior eficácia do tratamento. Está amplamente descrito no tratamento de tumores benignos de difícil tratamento (queloides), bem como em tumores malignos, como no melanoma, carcinoma espinocelular, metástases cutâneas e subcutâneas, sarcoma de Kaposi, dentre outros.

Os principais efeitos colaterais da eletroquimioterapia são mínimos, transitórios, restringe-se ao local de aplicação e são bem tolerados. Após o procedimento pode haver leve vermelhidão e inchaço da área tratada. As vantagens da técnica são caracterizadas pelas altas taxas de cura, mesmo após uma única sessão, ausência de dano tecidual às áreas ao redor da lesão, excelente perfil de segurança, ótima relação custo/benefício frente as drogas e instrumentos utilizados, e melhora na qualidade de vida dos pacientes.

Frente a eficácia e segurança do uso da bleomicina no tratamento das verrugas e das características da técnica de eletroquimioterapia, este projeto de pesquisa visa avaliar a eficácia e segurança da eletroquimioterapia, com bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais comparado com o tratamento somente com infiltração de bleomicina.

DESCRIÇÃO E METODOLOGIA DO ESTUDO

Este protocolo se realizará na Clínica de Dermatologia do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo e reunirá 30 participantes do sexo feminino ou masculino com idade entre 18 e 60 anos que, como você, procuraram um dermatologista para tratar as verrugas periungueais. Sua participação no estudo é totalmente voluntária e iniciará imediatamente depois de assinado este termo de consentimento. O grupo de participantes será dividido em dois, sendo que metade dos pacientes receberão como tratamento para as verrugas periungueais, bleomicina intralesional (injetada na lesão), e o outro receberá a bleomicina intralesional associada à eletroquimioterapia. Você terá a mesma chance de ser alocado em qualquer um dos dois grupos. Porém você só saberá o tipo de tratamento que foi realizado quando o estudo for finalizado ou se acontecer alguma reação adversa grave. O detalhe do que será realizado em cada uma das visitas (consultas), está descrito a seguir:

Visita 1: Sua participação no estudo iniciará imediatamente depois que assinado este termo de consentimento. Se você concordar, seu médico preencherá o formulário da coleta de dados do estudo com as informações referentes a sua saúde. Seu médico realizará história clínica, revisão dos critérios de seleção, exame físico, assinatura do TCLE, teste urinário de gravidez, documentação fotográfica do local a ser tratado, aplicação da técnica, curativo, orientações ao participante e agendamento do retorno. Seu médico realizará a aplicação intralesional de bleomicina, associado ou não à eletroquimioterapia. Igualmente ele preencherá o formulário de coleta de dados do estudo com as informações referente à técnica utilizada durante o procedimento. O médico lhe dará as orientações com relação ao período após a realização da técnica, como analgesia e cuidados de curativo. Como acostumado com este tipo de procedimento, seu médico irá fotografar a área tratada antes, durante e depois do tratamento para observar e acompanhar a evolução. Esta prática faz parte do acompanhamento de rotina em qualquer procedimento cirúrgico.

Visita 2 (5 dias após o procedimento): Seu médico realizará história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e agendamento do retorno.

Visita 3 (10 dias após o procedimento): Seu médico realizará história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e agendamento do retorno.

Visita 4 (30 dias após o procedimento): Seu médico realizará história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica, avaliação da eficácia e agendamento do retorno.

Visita 5 (90 dias após o procedimento): Seu médico realizará história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica, avaliação da eficácia e agendamento do retorno.

Visita 6 (180 dias após o procedimento – fim do estudo): Seu médico realizará história clínica, exame físico, avaliação de efeitos adversos, documentação fotográfica e avaliação da eficácia.

Visita complementar: Caso houver uma reação na área tratada ou algum agravo à sua saúde, você deverá avisar seu médico e marcar um retorno com ele o quanto antes. Seu médico realizará um exame físico, perguntas relacionadas à sua saúde e se necessário poderá solicitar algum exame.

RISCOS E/OU DESCONFORTOS

Se algum agravo à sua saúde ocorrer durante o período de realização desta pesquisa, você poderá ser atendido sem nenhum custo no próprio centro onde foi realizado o tratamento, seja pelo médico responsável que realizou o procedimento e responsável pela pesquisa, seja por um dos médicos pertencentes ao corpo clínico do centro. Havendo necessidade, você será encaminhado para serviço médico especializado. Se este evento estiver relacionado (nexo causal comprovado) com o produto da gama Cinaleo® injetado

todos os custos dos tratamentos necessários serão pagos pelo MeizlerBiopharma S/A, bem como os relacionados com o aparelho de eletroporação - LC Pesquisa Ltda ME.

Se ocorrerem reações desagradáveis ou qualquer agravo à saúde após a injeção do produto você deverá avisar imediatamente o médico responsável: Dr. Nilton Gioia Di Chiacchio, endereço Rua Castro Alves, nº 60, quinto andar, sala 52 telefone (11) 38641816 / (11) 983262296 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (11) 33978099.

Em caso de qualquer dano ou desconforto, causados pela injeção de Cinaleo® você receberá cuidados médicos adequados para a solução do problema.

Sua participação no estudo iniciará imediatamente depois que assinado o termo de consentimento livre e esclarecido. As reações adversas mais frequentes observadas com a aplicação de bleomicina e eletroquimioterapia são dor durante o procedimento, sensibilidade e dor na região tratada durante os primeiros dias após realização do procedimento, inflamação, e aparecimento de coloração arroxeada na região tratada. Existem alguns casos descritos de infecção depois que realizado o procedimento. Se você tiver febre, vermelhidão na região tratada e a dor aumentar, você deverá entrar em contato imediatamente com o médico pesquisador. Todas as reações adversas secundárias ao procedimento estão descritas no folheto interno do produto que você vai receber, as quais foram submetidas e aprovadas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que é o órgão que regulamenta, entre outras coisas, a venda de produtos farmacêuticos no Brasil.

BENEFÍCIOS POTENCIAIS DESTA PESQUISA

Se concordar e for aceito para participar do estudo, você estará contribuindo a ampliar o conhecimento sobre a utilização da eletroquimioterapia associada ao uso da bleomicina de forma intralesional, no tratamento das verrugas periungueais, e com certeza outras pessoas como você se beneficiarão no futuro.

PAGAMENTOS E COMPENSAÇÕES.

Durante o estudo, você não deverá assumir nenhum custo pelo tratamento nem pelas visitas de acompanhamento.

COBERTURA POR COMPLICAÇÕES.

Caso houver um evento adverso relacionado (nexo causal comprovado) com qualquer uma das técnicas, você terá direito a tratamento médico pela equipe de pesquisa ou profissional especializado, bem como as indenizações legalmente estabelecidas, custeado pela Meizler Biopharma S/A e/ ou LC Pesquisa Ltda ME, responsáveis pela molécula injetada e aparelho utilizado, respectivamente. Desta maneira nem você, nem o investigador terão que pagar estas despesas.

O Laboratório não fornecerá compensação nem se responsabiliza pelo custo do acompanhamento ou tratamento, se a lesão resultou de alguma conduta

que não esteja de acordo com as indicações do produto ou seja decorrente da técnica do procedimento. Nesse caso você continuará recebendo atendimento pelo Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo.

QUEM NÃO PODERÁ PARTICIPAR

Para participar no protocolo os pacientes deverão obedecer aos critérios de inclusão.

Por tratar-se de um protocolo de investigação, se você estiver grávida deverá avisar o investigador e seu médico e não poderá participar no protocolo.

Durante o estudo você não poderá realizar nenhum tratamento da área em questão.

O QUE ACONTECE SE VOCÊ DECIDIR NÃO PARTICIPAR OU RETIRAR SEU CONSENTIMENTO.

Caso você não deseje participar no estudo, você poderá continuar o acompanhamento médico com seu médico de confiança e não perderá nenhum direito de cuidado ou atenção. Lembre-se que sua participação é inteiramente voluntária.

Se você decidir participar, terá liberdade para retirar seu consentimento a qualquer momento. Se for o caso, por favor não esqueça de avisar ao médico investigador e comparecer a uma última visita.

RAZÕES PELAS QUAIS VOCÊ PODERÁ SER EXCLUÍDO DO ESTUDO SEM SEU CONSENTIMENTO.

- O estudo parou ou foi cancelado.
- Submeter-se ao estudo pode causar prejuízos à sua saúde.
- Você não pode comparecer às consultas programadas.

CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações coletadas a seu respeito, incluindo as fotografias, serão tratadas com a maior confidencialidade possível e somente serão conhecidas pela equipe de investigadores, as autoridades Brasileiras e o CEP (Comitê de Ética em Pesquisa). A base de dados será mantida pela equipe de investigadores e permanecerá disponível por 10 anos, quando será destruída. As fotografias poderão ser usadas para acompanhar publicações científicas dos resultados obtidos, protegendo sempre a sua identidade.

Garantimos que os resultados desta pesquisa serão analisados e publicados seguindo o rigor técnico, científico e ético exigido atualmente, e se for seu desejo, você poderá conhecer estes resultados depois de finalizado o estudo.

DÚVIDAS

Se você tiver qualquer dúvida a respeito deste estudo poderá entrar em contato com a Dr. Nilton Gioia Di Chiacchio, endereço Rua Castro Alves, nº 60, quinto andar, sala 52 telefone (11)38641816 / (11) 983262296 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (11) 33978099.

AUTORIZAÇÃO

Os investigadores me explicaram a importância e o significado deste estudo. Também me explicaram que deverão tirar fotos da(s) área(s) tratadas para avaliar minha evolução e, se for necessário, acompanhar publicações científicas. Tive a possibilidade de fazer todo tipo de perguntas e foram resolvidas todas as minhas dúvidas referentes à pesquisa. Qualquer informação pessoal será estritamente confidencial. Se for meu desejo poderei solicitar os resultados do estudo, quando finalizado, ao pesquisador ou ao CEP.

Considerando que aceitarei participar do estudo, segundo minhas possibilidades, me comprometo a seguir as instruções e comparecer às visitas. Certifico ser maior de idade e dou minha aprovação para fazer parte desta pesquisa.

Aceito _____ - Não aceito _____

ASSINATURA	NOME	RG	DATA
------------	------	----	------

Paciente

ASSINATURA	NOME	RG	DATA
------------	------	----	------

Investigador Principal

ASSINATURA	NOME	RG	DATA
------------	------	----	------

Testemunha 1

ASSINATURA	NOME	RG	DATA
------------	------	----	------

Testemunha 2

ASSINATURA	NOME	RG	DATA
------------	------	----	------

Anexo B - Critérios de saída do estudo ou finalização prematura

Todos os participantes são livres para interromper sua participação neste estudo a qualquer tempo e por qualquer razão, especificada ou não especificada e sem nenhum prejuízo. Não serão colocadas restrições para o atendimento normal dos participantes e os mesmos podem ser colocados sob qualquer outra terapia convencional, a pedido do doente ou sempre que clinicamente necessário. As razões da descontinuação podem incluir, porém não estão limitadas às seguintes:

- * por solicitação do investigador, por razões de segurança (por exemplo: reações adversas graves ou terapia concomitante não autorizada) ou por solicitação do participante;
- * quando os requisitos do protocolo não são respeitados;
- * quando for relatada, ou requerida pelo participante, terapia concomitante capaz de interferir com os resultados do estudo, o investigador relatará esta informação no Formulário de Relato de Dados (CRF), (Anexo C) e decidirá se o participante deve ou não ser retirado do estudo. Na medida do possível o participante continuará comparecendo as visitas até finalizar o estudo.

Quando é perdido o contato com um participante, o investigador tentará entrar em contato com o mesmo por telefone em duas oportunidades e via sistema de correio em uma e deixando a ocorrência registrada, antes de considerar o participante como “perda de seguimento”. Estas ações serão relatadas no CRF e prontuário médico.

Todas as descontinuações precoces e suas causas devem ser cuidadosamente documentadas pelo investigador no CRF e se necessário no relatório de “Eventos Adversos”. Nenhum participante que tenha sido incluído e tenha recebido um número do estudo, mas que tenha interrompido o tratamento deverá ser substituído por outro, independentemente da razão da descontinuação. No caso de descontinuação precoce o investigador deve assegurar que o participante receba o tratamento adequado para sua condição. Se, por alguma razão, o participante for eliminado antes da última visita, a razão para a descontinuação deve ser justificada.

As razões para a conclusão/descontinuação do estudo são definidas como segue:

Conclusão Normal do estudo - O participante completou o estudo conforme planejado.

Falta de Eficácia/Agravamento da Condição - No caso de avaliação exclusiva do investigador, preencher o formulário de Eventos Adversos. No caso de opinião exclusiva do Participante, marcar como solicitação do mesmo.

Evento Adverso - Preencher o formulário de Eventos Adversos.

Solicitação do Paciente - Retirada do consentimento, mudança de domicílio, horário incompatível. Explicar nos comentários do CRF.

Violação do Protocolo (contatar o Monitor, antes da decisão) - Violação importante do protocolo, discrepância no critério de inclusão/exclusão etc. Explicar nos comentários do CRF.

Perda de Contato - Documentar com dois telefonemas e uma carta registrada sem resposta, que deve ser anexada ao CRF.

Outros - Explicar nos comentários.

Retirada voluntária do consentimento esclarecido: em qualquer momento do protocolo o participante terá a liberdade de retirar o consentimento.

Anexo C - Formulário de Relato de Dados**VISITA 1 DIA 0 (REALIZAÇÃO DE TÉCNICA)**

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

5- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

6- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 1 DIA 0 (realização de técnica)

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

5- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

6- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 2 DIA 5

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

5- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

6- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 3 DIA 10

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

5- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

6- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 4 DIA 30

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- APRESENTA SINAIS CLÍNICOS DE INVOLUÇÃO DA LESÃO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

5- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM _____ 2 NÃO _____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

6- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

7- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016_____
ASSINATURA DO INVESTIGADOR

Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 5 DIA 90

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- APRESENTA SINAIS CLÍNICOS DE INVOLUÇÃO DA LESÃO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

5- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM _____ 2 NÃO _____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

6- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

7- PRÓXIMA CONSULTA: _____ / _____ / 2016_____
ASSINATURA DO INVESTIGADOR

Nilton Gioia Di Chiacchio

VISITA 6 DIA 180 (FIM DO ESTUDO)

DATA DA VISITA: ____ / ____ / 2016

1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:

NÚMERO: ____

INICIAIS: ____

2- O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO NO EXAME FÍSICO OU HISTÓRIA CLÍNICA?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

QUAL: _____

SE SIM, JUSTIFICA EXCUSÃO DO PACIENTE DA ESTUDO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

3- DADOS REFERENTES À APLICAÇÃO DA TÉCNICA:**LOCAL:**

____ QD ____

____ DOBRA UNGUEAL PROXIMAL

____ DOBRA UNGUEAL DISTAL / HIPONÍQUEO

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL EXTERNA

____ DOBRA UNGUEAL LATERAL INTERNA

____ SUBUNGUEAL

4- APRESENTA SINAIS CLÍNICOS DE INVOLUÇÃO DA LESÃO?

1 SIM ____ 2 NÃO ____

5- HOUVE ALGUM EVENTO ADVERSO?

1 SIM _____ 2 NÃO _____

SE A RESPOSTA FOR AFIRMATIVA, FAVOR PREENCHER O FORMULÁRIO DE EVENTOS ADVERSOS.

6- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:

1. SIM _____ 2 NÃO _____

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

Anexo D - Registro de Eventos Adversos**REGISTRO DE EVENTOS ADVERSOS****1- IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE:**

NÚMERO: _____

INICIAIS: _____

A. Diagnóstico: _____**B. Data de início:** _____ / _____ / 2016**C. Gravidade do evento:**

1 Não grave _____ 2 grave _____

I. Se não é grave

1 Leve _____ 2 Moderado _____ 3 severo _____

II. Decisão adotada

1 Nenhuma _____

2 Descontinuar tratamento em forma permanente _____

D. Foi usado algum tratamento para este evento?

1 SIM _____ 2 NÃO _____

E. Se a resposta foi SIM, favor preencher o formato tratamentos concomitante**F. Foi necessária internação?****G.**

1 SIM _____ 2 NÃO _____

H. Data de início: _____ / _____ / 2016**I. Data término:** _____ / _____ / 2016

J. Evolução do efeito secundário

- I. Continua
II. 1 SIM _____ 2 NÃO _____

K. Desapareceu, sem efeitos residuais:

1 SIM _____ 2 NÃO _____

L. Desapareceu, com efeitos residuais :

1 SIM _____ 2 NÃO _____

M. Morte:

1 SIM _____ 2 NÃO _____

N. Relação do efeito secundário com o medicamento do estudo:

- I. _____ Não está relacionado
II. _____ Improvável
III. _____ Possível
IV. _____ Provável
V. _____ Diretamente relacionado

COMENTÁRIOS:

ASSINATURA DO INVESTIGADOR
Nilton Gioia Di Chiacchio

Anexo E - Folha de rosto para pesquisa envolvendo seres humanos

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS			
1. Projeto de Pesquisa: Eficácia e segurança do uso da eletroquimioterapia associada a bleomicina intralesional comparado ao uso da bleomicina intralesional, no tratamento das verrugas periungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego.			
2. Número de Participantes da Pesquisa: 30			
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4, Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: NILTON GIOIA DI CHIAICCHIO			
6. CPF: 335.058.768-28		7. Endereço (Rua, n.º): AMOROSO COSTA JARDIM SAO PAULO(ZONA NORTE) 403 SAO PAULO SAO PAULO 02045040	
8. Nacionalidade: BRASILEIRO		9. Telefone: 11983262296	10. Outro Telefone:
11. Email: niltongioia@terra.com.br			
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: <u>22 / 03 / 2016</u>		Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
12. Nome: Hospital do Servidor Público Municipal		13. CNPJ: 46.854.998/0001-92	
14. Unidade/Orgão:			
15. Telefone: (11) 3397-8069		16. Outro Telefone:	
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: _____		CPF: _____	
Cargo/Função: _____			
Data: ____ / ____ / ____		Dr. Vinício Falleiros Diretor Técnico Departamento Técnico de Atenção à Saúde HSPM Assinatura	
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			

Anexo F - Parecer Consubstanciado do CEP

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"><div>HOSPITAL DO SERVIDOR PÚBLICO MUNICIPAL - SP</div><div> </div></div>										
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP										
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA										
Título da Pesquisa: Eficácia e segurança do uso da eletroquimioterapia associada a bleomicina intralesional comparado ao uso da bleomicina intralesional, no tratamento das verrugas perungueais. Ensaio clínico randomizado duplo-cego.										
Pesquisador: NILTON GIOIA DI CHIACCHIO										
Área Temática:										
Versão: 1										
CAAE: 54836316.1.0000.5442										
Instituição Proponente: Hospital do Servidor Público Municipal										
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio										
DADOS DO PARECER										
Número do Parecer: 1.528.531										
Apresentação do Projeto: O estudo parece exequível e tem relevância científica e social. O texto é coerente claro e conciso e a linguagem adequada a um trabalho científico. O título é adequado e reflete o objetivo do trabalho. O resumo descreve o conteúdo do projeto e explicita os principais aspectos do trabalho. Os descritores são adequados, pertinentes ao trabalho e encontrados no Decs.										
Objetivo da Pesquisa: O objetivo principal do estudo é avaliar a eficácia da eletroquimioterapia com bleomicina intralesional no tratamento das verrugas ungueais comparando com o uso isolado da bleomicina intralesional.										
Avaliação dos Riscos e Benefícios: O estudo observa estritamente as normas éticas. Há aparente cuidado e respeito ao participante da pesquisa em sua dignidade e autonomia. Há ponderação entre os riscos e benefícios. Estão previstos procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade dos participantes. Estão assegurados, aos participantes, condições de acompanhamento, tratamento e orientação referente a qualquer dano resultante da participação na pesquisa, previsto ou não no TCLE, o direito à indenização, por parte do pesquisador e do patrocinador.										
<table border="0" style="width: 100%;"><tr><td colspan="2">Endereço: Rua Castro Alves, 63/73 - 6º andar - sala 64</td></tr><tr><td>Bairro: Aclimação</td><td>CEP: 01.532-001</td></tr><tr><td>UF: SP</td><td>Município: SAO PAULO</td></tr><tr><td>Telefone: (11)3397-8069</td><td>Fax: (11)3208-1015</td></tr><tr><td colspan="2">E-mail: ppgiannini@gmail.com</td></tr></table>	Endereço: Rua Castro Alves, 63/73 - 6º andar - sala 64		Bairro: Aclimação	CEP: 01.532-001	UF: SP	Município: SAO PAULO	Telefone: (11)3397-8069	Fax: (11)3208-1015	E-mail: ppgiannini@gmail.com	
Endereço: Rua Castro Alves, 63/73 - 6º andar - sala 64										
Bairro: Aclimação	CEP: 01.532-001									
UF: SP	Município: SAO PAULO									
Telefone: (11)3397-8069	Fax: (11)3208-1015									
E-mail: ppgiannini@gmail.com										
<small>Página 01 de 03</small>										

HOSPITAL DO SERVIDOR PÚBLICO MUNICIPAL - SP

Continuação do Parecer: 1.528.531

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A introdução explicita a importância do trabalho e justifica os objetivos de maneira adequada. Os métodos são apropriados para atingir os objetivos propostos. A seleção da amostra está clara, com descrição dos critérios de inclusão e exclusão e da alocação dos participantes em cada grupo. Há descrição do processo de coleta de dados. A mensuração do principal desfecho está clara. A análise estatística é apropriada. Há discriminação dos recursos necessários e fonte de financiamento. O cronograma é viável. As referências são atualizadas e em número suficiente para justificar o estudo para o parecerista.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A folha rosto está completa e adequadamente preenchida, assinada pelo pesquisador responsável e pelo diretor do Departamento de Atenção à Saúde. Há autorização dos coordenadores dos setores envolvidos. Há declaração de ausência de ônus ao HSPM. Entretanto, o TCLE apresenta alguns termos em linguagem não muito clara e acessível a todos os participantes. Há indicação de telefones pessoais dos pesquisadores para contato. Há indicação do telefone do CEP do HSPM.

Recomendações:

Recomenda-se adequar o TCLE, utilizando linguagem mais clara, especialmente em termos como "periungueais" ou "agravos", entre outros, de forma a favorecer a compreensão do texto completo por parte dos participantes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado, após correção recomendada acima. Solicita-se o envio da versão corrigida do TCLE ao CEP antes do início da coleta de dados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_684358.pdf	01/04/2016 09:01:04		Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_nilton.pdf	01/04/2016 08:49:22	NILTON GIOIA DI CHIAICCHIO	Aceito
Outros	carta_encaminhamento_CEP_Nilton.jpg	31/03/2016 10:34:10	NILTON GIOIA DI CHIAICCHIO	Aceito
Outros	declaracao_onus_Nilton.jpg	31/03/2016 10:33:06	NILTON GIOIA DI CHIAICCHIO	Aceito

Endereço: Rua Castro Alves, 63/73 - 6º andar - sala 64
 Bairro: Adimação CEP: 01.532-001
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3397-8069 Fax: (11)3208-1015 E-mail: ppglannini@gmail.com

HOSPITAL DO SERVIDOR PÚBLICO MUNICIPAL - SP

Continuação do Parecer: 1.528.531

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Nilton_FINAL.docx	30/03/2016 22:11:52	NILTON GIOIA DI CHIACCHIO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FINAL_Nilton.docx	30/03/2016 22:11:05	NILTON GIOIA DI CHIACCHIO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 04 de Maio de 2016

Assinado por:

Susana Pimentel Pinto Giannini
(Coordenador)

Endereço: Rua Castro Alves, 63/73 - 6º andar - sala 64

Bairro: Aclimação

CEP: 01.532-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3397-8089

Fax: (11)3208-1015

E-mail: ppgiannini@gmail.com

9 REFERÊNCIAS

Abdul Hamied TA, Turk JL. Enhancement of interleukin-2 release in rats by treatment with bleomycin and adriamycin in vivo. *Cancer Immunol Immunother.* 1987;25(3):245-9.

AlGhamdi KM, Khurram H. Successful treatment of periungual warts with diluted bleomycin using translesional multipuncture technique: a pilot prospective study. *Dermatol Surg.* 2011;37(4):486-92.

Al-Naggar MR, Al-Adl AS, Rabie AR, Abdelkhalk MR, Elsaie ML. Intralesional bleomycin injection vs microneedling-assisted topical bleomycin spraying in treatment of plantar warts. *J Cosmet Dermatol.* 2019;18(1):124-8.

Amer M, Diab N, Ramadan A, Galal A, Salem A. Therapeutic evaluation for intralesional injection of bleomycin sulfate in 143 resistant warts. *J Am Acad Dermatol.* 1988;18(6):1313-6.

Antonsson A, Forslund O, Ekberg H, Sterner G, Hanson BG. The ubiquity and impressive genomic diversity of human skin papillomaviruses suggest a commensalic nature of these viruses. *J Virol.* 2000;74(24):11636-41.

Barkat MT, Abdel-Aziz RTA, Mohamed MS. Evaluation of intralesional injection of bleomycin in the treatment of plantar warts: clinical and dermoscopic evaluation. *Int J Dermatol.* 2018;57(12):1533-7.

- Baumbach JL, Sheth PH. Topical and intralesional antiviral agents. In: Wolverton S, editor. Topical and intralesional antiviral agents. Philadelphia: WB Saunders Company: 2001. p. 524-536.
- Beliaeva TL. The population incidence of warts. *Vestn Dermatol Venerol*. 1990;(2):55-8.
- Benton EC. The epidemiology of human cutaneous papilloma virus infections. In: Williams HC, Strachan DP editors. The challenge of dermato-epidemiology. Boca Raton: CRC press; 1997.
- Bigby M, Gibbs S, Harvey I, Sterling J. Warts. *Clin Evid*. 2004;(11):2209-23.
- Bremner R. Warts: treatment with intralesional bleomycin. *Cutis*. 1976;18(2):264-6.
- Bridger PC, Banatvala JE. Minor surgery in primary care - warts and all [internet]. 1999 [acesso 2018 nov 12]. Disponível em: <http://www.medicine.ox.ac.uk/bandolier/bandopubs/WART.html>.
- Brunner CHM, Dutra G, Silva CB, Silveira LMG, Martins MDFM. Electrochemotherapy for the treatment of fibropapillomas in *Chelonia mydas*. *J Zoo Wildl Med*. 2014;45(2):213-8.
- Bunney M, Nolan M, Buxton P, Going SM, Prescott RJ. The treatment of resistant warts with intralesional bleomycin; a controlled clinical trial. *Br J Dermatol*. 1984;111(2):197-207.

Bunney M. Intralesional bleomycin sulfate in treatment of recalcitrant warts. *Clin Dermatol*. 1985;3(4):189-94.

Chisaki C, Pereira WA, Madeira CL. Dermatoviroses. In: Belda Junior W, Di Chiacchio N, Criado PR. Tratado de dermatologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2014. p. 1178-80.

Clifton MM, Johnson SM, Roberson PK, Kincannon J, Horn TD. Immunotherapy for recalcitrant warts in children using intralesional mumps or Candida antigens. *Pediatr Dermatol*. 2003;20(3):268-71.

Cockayne S, Curran M, Denby G, Hashmi F, Hewitt C, Hicks K, Jayakody S, Kang'ombe A, McIntosh C, McLarnon N, Stamuli E, Thomas K, Turner G, Torgerson D, Watt I; EVerT team. EVerT: cryotherapy versus salicylic acid for the treatment of verrucae – a randomised controlled trial. *Health Technol Assess*. 2011;15(32):1-170.

Cordero AA, Guglielmi HA, Woscoff A. The common wart: intralesional treatment with bleomycin sulfate. *Cutis*. 1980;26(3):319-24.

Cusini M, Micali G, Lacarrubba F, Puviani M, Barcella A, Milani M. Efficacy and tolerability of nitric-zinc complex in the treatment of external genital warts and "difficult-to-treat" warts: a "proof of concept", prospective, multicentre, open study. *G Ital Dermatol Venereol*. 2015;150(6):643-8.

Dantzig PI. Immunosuppressive and cytotoxic drugs in dermatology. *Arch Dermatol*. 1974;110(3):393-406.

de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27.

Dhar SB, Rashid MM, Islam A, Bhuiyan M. Intralesional bleomycin in the treatment of cutaneous warts: a randomized clinical trial comparing it with cryotherapy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2009;75(3):262-7.

Doorbar J. The papillomaviruses life cycle. *J Clin Virol*. 2005;32(Suppl1):S7-15.

Finkel ML, Finkel DJ. Warts among meat handlers. *Arch Dermatol*. 1984;120(10):1314-7.

Gaspari AA, Tying SK, Rosen T. Beyond a decade of 5% imiquimod topical therapy. *J Drugs Dermatol*. 2009;8(5):467-74.

Gatti A, Stinco G, di Meo N, Noal C, Maione V, Trevisan G. Electrochemotherapy for a locally advanced basal cell carcinoma on the forehead. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2014;80(4):378-80.

Gibbs S, Harvey I, Sterling J, Stark R. Local treatments for cutaneous warts: systematic review. *BMJ*. 2002;325(7362):461.

Haalen FM, Bruggink SC, Gussekloo J, Assendelft WJJ, Eekhof JAH. Warts in primary schoolchildren: prevalence and relation with environmental factors. *Br J Dermatol*. 2009;161(1):148-52.

Hazard K. Cutaneous human papillomaviruses [Thesis]. Malmo: Lund University; 2007.

- Hellberg D, Svarrer T, Nilsson S, Valentin J. Self-treatment of female external genital warts with 0.5% podophyllotoxin cream (Condyline) vs weekly applications of 20% podophyllin solution. *Int J STD AIDS*. 1995;6(4):257-61.
- Heller R, Jaroszeski MJ, Reintgen DS, Puleo CA, DeConti RC, Gilbert RA, Glass LF. Treatment of cutaneous and subcutaneous tumors with electrochemotherapy using intralesional bleomycin. *Cancer*. 1998;83(1):148-57.
- Hengge UR. Papillomavirus diseases. *Hautarzt*. 2004;55(9):841-51.
- Herschthal J, McLeod MP, Zaiac M. Management of ungual warts. *Dermatol Ther*. 2012;25(6):545-50.
- Hirose R, Hori M, Shukuwa T, Uono M, Yamada M, Koide T, Yoshida H. Topical treatment of resistant warts with glutaraldehyde. *J Dermatol*. 1994;21(4):248-53.
- Iscimen A, Aydemir EH, Goksugur N, Engin B. Intralesional 5-fluorouracil, lidocaine and epinephrine mixture for the treatment of verrucae: a prospective placebo-controlled, single-blind randomized study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(4):455-8.
- Johnson ML, Roberts J. Skin conditions and related need for medical care among persons 1-74 years. United States, 1971-1974. *Vital Health Stat* 11. 1978;(212):i-v, 1-72.

Johnson SM. Evidence based medicine. In: Brodell RT, Johnson SM, editors. Warts diagnosis and management – an evidence-based approach. London: Martin Dunitz, 2003. p. 148-154.

Jones CD, Guiot L, Samy M, Gorman M, Tehrani H. The use of chemotherapeutics for the treatment of keloid scars. *Dermatol Reports*. 2015;7(2):5880.

Kacar N, Tasli L, Korkmaz S, Ergin S, Erdogan BS. Cantharidin-podophylotoxin-salicylic acid versus cryotherapy in the treatment of plantar warts: a randomized prospective study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;26(7):889-3.

Karabulut AA, Sahin S, Eksioglu M. Is cimetidine effective for nongenital warts: a double-blind, placebo-controlled study. *Arch Dermatol*. 1997;133(4):533-4.

Kendler M, Micheluzzi M, Wetzig T, Simon JC. Electrochemotherapy under tumescent local anesthesia for the treatment of cutaneous metastases. *Dermatol Surg*. 2013;39(7):1023-32.

Kilkenny M, Marks R. The descriptive epidemiology of warts in the community. *Aust J Dermatol*. 1996;37(2):80-6.

Kilkenny M, Merlin K, Young R, Marks R. The prevalence of common skin conditions in Australian school students: 1. Common plane and plantar viral warts. *Br J Dermatol*. 1998;138(5):840-5.

Kirnbauer R, Lenz P, Okun MM. Human papilloma virus. In: Bologna J, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. *Dermatology*. Spain: Mosby; 2007. p. 1183-1198.

Kruter L, Saggat V, Akhavan A, Patel P, Umanoff N, Viola KV, Stebbins W, Smith E, Akhavan A, Cohen JV, Cohen SR. Intralesional bleomycin for warts: patient satisfaction and treatment outcomes. *J Cutan Med Surg*. 2015;19(5):470-6.

Kwok CS, Gibbs S, Bennett C, Holland R, Abbott R. Topical treatments for cutaneous warts. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(9):CD001781.

Lee DY, Park JH, Lee JH, Yang JM, Lee ES. The use of dermoscopy for the diagnosis of plantar wart. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 Jun;23(6):726-7.

Lee JH, Burm JS, Yang WY, Kang SY, Byun SW. Treatment of verruca vulgaris in both external auditory canals using bleomycin injections. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2015a;8(3):295-7.

Lee JY, Kim CW, Kim SS. Preliminary study of intralesional bleomycin injection for the treatment of genital warts. *Ann Dermatol*. 2015b;27(2):239-41.

Leman JA, Benton EC. Verrucas. Guidelines for management. *Am J Clin Dermatol*. 2000;1(3):143-9.

Leto Md, Santos Júnior GF, Porro AM, Tomimori J. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. *An Bras Dermatol*. 2011;86(2):306-17.

Lindelof B, Sigurgeirsson B, Gabel H, Stern RS. Incidence of skin cancer in 5356 patients following organ transplantation. *Br J Dermatol*. 2000;143(3):614-8.

Manca G, Pandolfi P, Gregorelli C, Cadossi M, de Terlizzi F. Treatment of keloids and hypertrophic scars with bleomycin and electroporation. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(4):621e-630e.

Marty M, Sersa G, Garbay J, Gehl J, Collins C, Snoj M, Billard V, Geertsen P, Larkin J, Miklavcic D, Pavlovic I, Paulin-Kosir S, Cemazar M, Morsli N, Rudolf Z, Robert C, O'Sullivan G, Mir L. Electrochemotherapy - an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Eur J Cancer Suppl*. 2006;4(11):3-13.

Massing AM, Epstein WL. Natural history of warts. A two-year study. *Arch Dermatol*. 1963;87:306-10.

Micali G, Dall'Oglio F, Nasca MR. An open label evaluation of the efficacy of imiquimod 5% cream in the treatment of recalcitrant subungual and periungual cutaneous warts. *J Dermatolog Treat*. 2003;14(4):233-6.

- Micali G, Nasca MR, Tedeschi A, Dall'Oglio F, Pulvirenti N. Use of squaric acid dibutylester (SADBE) for cutaneous warts in children. *Pediatr Dermatol*. 2000;17(4):315-8.
- Miklavčič D, Mali, Kos B, Heller R, Serša G. Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice. *Biomed Eng Online*. 2014;13(1):29.
- Mir LM, O. Tounekti, S. Orlowski, Bleomycin: revival of an old drug. *Gen Pharmacol*. 1996;27(5):745-8.
- Mir LM, Orlowski S. Mechanisms of electrochemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999;35(1):107-118.
- Mir LM. Therapeutic perspectives of in vivo cell electroporation. *Bioelectrochemistry*. 2001;53(1):1-10.
- Mitsuishi T, Iida K, Kawana S. Cimetidine treatment for viral warts enhances IL-2 and IFN-gamma expression but not IL-18 expression in lesional skin. *Eur J Dermatol*. 2003;13(5):445-8.
- Mizuno S, Ishida A. Selective enhancement of bleomycin cytotoxicity by local anesthetics. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982;105(2):425-31.
- Neumann E, Schaefer-Ridder M, Wang Y, Hofschneider PH. Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. *EMBO J*. 1982;1(7):841-5.
- Ordoukhanian E, Lane AT. Warts and molluscum contagiosum: beware of treatments worse than the disease. *Postgrad Med*. 1997;101(2):223-35.

Orlowski S, Belehradek J Jr, Paoletti C, Mir LM. Transient electroporabilization of cells in culture: increase of the cytotoxicity of anticancer drugs. *Biochem Pharmacol*. 1988;37(24):4727-33.

Pasquali P, Freitas-Martinez A, Gonzalez S, Spugnini EP, Baldi A. Successful treatment of plantar warts with intralesional bleomycin and electroporation: pilot prospective study. *Dermatol Pract Concept*. 2017;7(3):21-6.

Poddevin B, Orlowski S, Belehradek J Jr, Mir LM. Very high cytotoxicity of bleomycin introduced into the cytosol of cells in culture. *Biochem Pharmacol*. 1991;42(Suppl):S67-75.

Rashid RS, Ahmed I. Viral warts. In: Lebwohl MG, Heymann WR, Berth-Jones J, Coulson I. Treatment of skin disease. 1st ed. China: Elsevier; 2018. p. 852-858.

Rea JN, Newhouse ML, Halil T. Skin disease in Lambeth: a community study of prevalence and use of medical care. *Br J Prev Soc Med*. 1976;30(2):107-14.

Richert B, Lecerf P, Caucanas M, André J. Nail tumors. *Clin Dermatol*. 2013;31(5):602-17.

Rogers CJ, Gibney MD, Siegfried EC, Harrison BR, Glaser DA. Cimetidine therapy for recalcitrant warts in adults: is it any better than placebo? *J Am Acad Dermatol*. 1999;41(1):123-7.

Saitta P, Krishnamurthy K, Brown LH. Bleomycin in dermatology: a review of intralesional applications. *Dermatol Surg*. 2008;34(10):1299-313.

Salk RS, Grogan KA, Chang TJ. Topical 5% 5-fluorouracil cream in the treatment of plantar warts: a prospective, randomized, and controlled clinical study. *J Drugs Dermatol*. 2006;5(5):418-24.

Sardana K, Garg V, Relhan V. Complete resolution of recalcitrant periungual/subungual wart with recovery of normal nail following "prick" method of administration of bleomycin 1%. *Dermatol Ther*. 2010;23(4):407-10.

Schöfer H, Sollberg S. [Systemic treatment of common warts with beta-interferon]. *Hautarzt*. 1991;42(6):396-8.

Sersa G. The state-of-the-art of electrochemotherapy before the ESOPE study; advantages and clinical uses. *Eur J Cancer Suppl*. 2006;4(11):52-9.

Shelley WB, Shelley ED. Intralesional bleomycin sulfate therapy for warts. A novel bifurcated needle puncture technique. *Arch Dermatol* 1991;127(2):234-6.

Shumer SM, O'Keefe EJ. Bleomycin in the treatment of recalcitrant warts. *J Am Acad Dermatol*. 1983;9(1):91-6.

Signore RJ. Candida albicans intralesional injection immunotherapy of warts. *Cutis*. 2002;70(3):185-92.

Silveira LMG, Brunner CHM, Cunha FM, Rocha M, Futema F, Xavier JG, et al. Electrochemotherapy in canine perianal adenocarcinoma. *J Heal Sci Inst.* 2011;29(2):136–8.

Silveira LMG, Brunner CHM, Futema F. Utilização de eletroquimioterapia em neoplasias de origem epitelial ou mesenquimal localizadas em pele ou mucosas de cães. *Bra J Vet Res Anim Sci.* 2010;47(1):55-66.

Singh Mehta KI, Mahajan VK, Chauhan PS, Chauhan S, Sharma V, Rawat R. Evaluation of efficacy and safety of intralesional bleomycin in the treatment of common warts: Results of a pilot study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2018 Jun 27.

Soni P, Khandelwal K, Aara N, Ghiya BC, Mehta RD, Bumb RA. Efficacy of Intralesional Bleomycin in Palmo-plantar and Periungual Warts. *J Cutan Aesthet Surg.* 2011;4(3):188-91.

Sterling JC, Handfield-Jones S, Hudson PM. Guidelines for the management of cutaneous warts. *Br J Dermatol.* 2001;144(1):4-11.

Sterling JC. Viral infections. In: Burns DA, Breathnach SM, Cox N, Griffiths C editor(s). *Rook's textbook of dermatology*. 7th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd; 2004. p. 25.1-25.81.

Templeton S, Solomon A, Swerlick R. Intradermal bleomycin injections into normal human skin. *Arch Dermatol.* 1994;130(5):577-83.

Testori A, Tosti G, Martinoli C, Spadola G, Cataldo F, Verrecchia F, Baldini F, Mosconi M, Soteldo J, Tedeschi I, Passoni C, Pari C, Di Pietro A, Ferrucci PF. Electrochemotherapy for cutaneous and subcutaneous tumor lesions: a novel therapeutic approach. *Dermatol Ther*. 2010;23(6):651-61.

Tosti A, Piraccini BM. Warts of the nail unit: surgical and nonsurgical approaches. *Dermatol Surg*. 2001;27(3):235-9.

Umezawa H, Maeda K, Takeuchi T, Okami Y. New antibiotics, bleomycin A and B. *J Antibiot (Tokyo)*. 1966;19(5):200-9.

Ward KA, Winter PC, Walsh M, Maw RD, Dinsmore WW. Detection of human papillomavirus by the polymerase chain reaction in histologically normal penile skin adjacent to penile warts. *Sex Transm Dis*. 1994;21(2):83-8.

William VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. HPV DNA integration and carcinogenesis: roles of inflammation and oxidative stress. *Future Virol*. 2015;6(1):45-57.

Williams HC, Pottier A, Strachan D. The descriptive epidemiology of warts in British school children. *Br J Dermatol*. 1993;128(5):504-11.

Wirges ML, Davis CM, Johnson SM. Bleomycin. In: Brodell RT, Johnson SM, eds. Warts diagnosis and management – an evidence-based approach. London: Martin Dunitz; 2003. p.80-88.

Xu X, Erickson L, Chen L, Elder DE. Diseases caused by viruses. In: Elder DE, Elenitsas R, Johnson Jr BL, Murphy GF, Xu X. Ed - Lever's Histopathology of the skin. 10 ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins; 2008. p. 649-52.

Yamamoto T. Bleomycin and the skin. *Br J Dermatol*. 2006;155(5):869-75.

Yilmaz E, Alpsoy E, Basaran E. Cimetidine therapy for warts: a placebo-controlled, double-blind study. *J Am Acad Dermatol*. 1996;34(6):1005-7.

Zaiac MN, Weiss E. Mohs micrographic surgery of the nail unit and squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 2001;27(3):246-51.