

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E NANOBIOTECNOLOGIA

LUCIANO FERREIRA MORGADO

Terapia Fotodinâmica com nanoemulsão de AlumínioCloroFtalocianina para
tratamento de onicomicose – estudo clínico

Brasília - DF

2016

LUCIANO FERREIRA MORGADO

Terapia Fotodinâmica com nanoemulsão de AlumínioCloroFtalocianina para
tratamento de onicomicose – estudo clínico

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Nanociência e
Nanobiotecnologia para obtenção do título
de Mestre em Nanociência e
Nanobiotecnologia

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Figueiró Longo

Brasília – DF

2016

Agradecimentos

Agradeço a todos que participaram direta ou indiretamente deste trabalho, em especial:

A minha família, principalmente a minha esposa Ana Regina Trávolo, pelo apoio nas horas de cansaço e ajuda nas nossas outras atividades e à minha filha Luana, que alegrou as nossas vidas com sua chegada em maio de 2015.

Ao grande professor Dr. João Paulo Figueiró Longo, que abriu as portas para iniciar esse trabalho e me auxiliou diretamente em várias etapas do percurso, sempre com grande companheirismo e compreensão. Sem a sua ajuda não seria possível concluir essa jornada.

À colega dermatologista Letícia Oba Galvão, que me inspirou na ideia de realizar um trabalho de tratamento de onicomicose com terapia fotodinâmica e me indicou a equipe da nanotecnologia para viabilizar o projeto.

A toda a equipe de professores da Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, que sempre se mostraram receptivos, em especial ao Prof.Dr. Ricardo Bentes de Azevedo, que também deu importante apoio a este projeto.

Ao professor Paulo Souza (Instituto de Física) e aos alunos Rodrigo Barbosa Nunes e Pedro Alencar Gomes Pereira, por gentilmente desenvolverem e disponibilizarem o equipamento de LED utilizado em todos os tratamentos do projeto.

A todos os meus pacientes voluntários que participaram ativamente e de forma assídua às etapas de tratamento.

Resumo

A onicomicose é uma das patologias mais comuns do aparelho ungueal, com uma prevalência populacional de até 30%, resultando em danos estéticos e funcionais, facilitando o encravamento da unha e predispondo a infecções bacterianas secundárias. O seu tratamento padrão envolve o uso prolongado de medicações tópicas e antifúngicos sistêmicos, que apresentam potencial de hepatotoxicidade, além de várias possibilidades de interações medicamentosas. Dessa forma, a investigação de novas terapias locais eficazes é de extrema relevância. Entre estas terapias, destaca-se a Terapia Fotodinâmica (TFD), que se baseia na aplicação de um fármaco fotossensibilizador (FS), com posterior irradiação com uma luz de comprimento de onda específico. Consequentemente, ocorre uma ativação do FS, com transferência de energia ao oxigênio molecular e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que reagem com as estruturas celulares adjacentes, promovendo a morte das células alvo. Neste trabalho realizamos o tratamento com TFD em 18 pacientes com um FS de segunda geração, a AlumínioCloroFtalocianina (AICIFt), associada a um carreador nanoestruturado (nanoemulsão), de forma a aumentar a penetração e dispersão do FS nos tecidos ungueais. As sessões foram realizadas a cada duas semanas, com um tempo de oclusão do FS de 15 minutos, e irradiação com LED (660 nm), a $51,5 \text{ mW/cm}^2$, por 10 minutos, a 10 cm das unhas afetadas. Os pacientes foram tratados previamente com uréia a 40% por 7 dias. Obtivemos uma taxa de cura clínica ou micológica de 63,6% e com melhora entre 70 e 90% das unhas afetadas na maioria dos pacientes não completamente curados, com o número de sessões realizadas variando entre 3 e 7. Percebeu-se também, durante o estudo, uma tendência à cura clínica na maioria dos pacientes, com o aumento do número de sessões realizadas. Entre as vantagens do uso da AICIFt como FS podemos citar o menor tempo de oclusão necessário (15 minutos) em relação aos derivados porfirínicos (1-3 horas), com uma razoável taxa de cura com não muitas sessões. Todavia, observamos uma taxa de recidiva de até 42,8%, o que justifica adaptações no protocolo como forma de aumentar o efeito fungicida do tratamento e

melhorar ainda mais a penetração do FS na lâmina ungueal. Entre estas adaptações, podemos citar a possibilidade de associação de agentes antifúngicos tópicos durante o tratamento e modificações no veículo nanoestruturado carreador, visando maior penetração nos tecidos ungueais.

Palavras – chave: Onicomicose. Terapia fotodinâmica. AlumínioCloroFtalocinina.

ABSTRACT

Onychomycosis is one of the most common conditions of the nail unit, with a population prevalence of 30%, resulting in damage aesthetic and functional, facilitating the locking of the nail and predisposing to secondary bacterial infections. Your standard treatment involves prolonged use of topical medications and systemic antifungal drugs that have the potential for hepatotoxicity, as well as several potential drug interactions. Thus, research into new effective local therapies is extremely important. Among these therapies, there is photodynamic therapy, which relies on the application of photosensitizing drugs (FS), with subsequent irradiation with light of a specific wavelength. Consequently, there is an activation of the photosensitizer with energy transfer to molecular oxygen and generation of reactive oxygen species (ROS), which react with the adjacent cell structures, promoting the death of the target cells. In this work, we conducted treatment with photodynamic therapy of 18 patients with a second generation photosensitizer, the aluminumchloridephthalocyanine (AlClPc) associated with a nanostructured carrier (nanoemulsion) in order to increase the FS penetration of the nail tissue. The sessions were held every two weeks with an FS occlusion time of 15 minutes and irradiation with 660 nm LED, intensity of 51,5 mW/cm², for 10 minutes, at 10 cm from the affected nails. Patients were pre-treated with urea at 40% for 7 days. We obtained a clinic or mycological cure rate of 63.6% and improvement of 70 to 90% of the affected nails in most patients not fully cured. The number of sessions was from 3 to 7. It was also noticed during study, a trend towards clinical cure in many patients, with increased number of sessions. Among the advantages of using AlClPc as FS we can quote the lowest necessary occlusion time (15 minutes) compared to the porphyrin derivatives (1-3 hours) with a reasonable cure rate with not many sessions. However, we observed a recurrence rate of up to 42.8%, which justifies adjustments to the protocol in order to increase the fungicidal effect of the treatment and further improve the penetration of the FS in the nail plate. Among these changes, we can mention the possibility of association of

antifungal topical agents for the treatment and changes in vehicle nanostructured carrier, seeking greater penetration in nail tissues.

Keywords: Onychomycosis. Photodynamic therapy.
Aluminumchloridephthalocyanine

Lista de Abreviaturas

5-ALA	ácido 5 aminolevulínico
ALT	transaminase pirúvica
AST	transaminase oxalacética
AICIFt	alumínioclorofteralocianina
BHCG	gonadotrofina coriônica
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CO₂	gás carbônico
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CYP3A4	citocromo
DMSO	dimetilsulfóxido
EVA	escala visual analógica de dor
FS	fotossensibilizador
⁰FS	fotossensibilizador no estado fundamental
⁰FS*	fotossensibilizador no estado excitado
Gamagt	gamaglutamiltransferase
J/cm²	joule por centímetro quadrado
KOH	hidróxido de potássio
LED	diodo emissor de luz (light emitting diode)
MAL	cloridrato de aminolevulinato de metila
mW/cm²	miliwatts por centímetro quadrado
nm	nanômetro
O₂	oxigênio
⁰O₂	oxigênio no estado singleto
²O₂	oxigênio no estado tripleto
PAS	ácido periódico schiff
ROS	espécies reativas de oxigênio

TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TFD	terapia fotodinâmica
<i>T. interdigitale</i>	<i>Trichophyton interdigitale</i>
<i>T. rubrum</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
UnB	Universidade de Brasília
µm	micrômetro
µM	micromolar

Lista de Figuras

Figura 1 - Conjunto Anatômico Ungueal e seus cortes transversal e longitudinal	pag 15
Figura 2 - Imagem de onicomicose subungueal distal e lateral.....	pag 17
Figura 3 – Imagem de onicomicose branca superficial.....	pag. 17
Figura 4 – Imagem de onicomicose subungueal proximal.....	pag. 18
Figura 5 – Imagem de onicomicose distrófica total	pag. 18
Figura 6 – Sequência clínica utilizada para a aplicação da Terapia Fotodinâmica nas unhas acometidas por onicomicose.....	pag. 34
Figura 7 – Representação gráfica dos resultados das aplicações de terapia fotodinâmica: número de sessões, cura clínica, cura micológica e recidiva.....	pag. 41
Caso 1 – Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 42
Caso 2 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 43
Caso 3 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 43
Caso 4 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 44
Caso 5 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 44
Caso 6 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 45
Caso 7 - Exemplo clínico fotográfico antes e após o tratamento.....	pag. 46
Figura 8 – Representação gráfica que quantifica os sintomas adversos nas sessões de tratamento com terapia fotodinâmica.....	49

Lista de Quadros

Quadro 1 – Quadro que apresenta os possíveis diagnósticos diferenciais de onicomicose conforme a manifestação clínica apresentada.....pag. 20

Quadro 2 – Representação dos pacientes tratados, com a especificação do fungo identificado, número de sessões realizadas, cura clínica, cura micológica e recidivapag. 38

Quadro 3 - Representação dos efeitos adversos locais e sistêmicos apresentados por cada um dos pacientes durante a aplicação da terapia fotodinâmica.....pag. 48

Sumário

1. Introdução.....	14
1. 1. Unha.....	14
1. 1. 1. Anatomia Ungueal	14
1. 1. 2. Microscopia Ungueal	15
1. 2. Onicomicose: etiologia, diagnóstico e tratamentos habituais.....	16
1. 3. Diagnóstico	18
1. 4. Tratamentos Habituais.....	21
1. 4. 1. Efeitos colaterais e interações medicamentosas.....	22
1. 5. Terapia Fotodinâmica	23
1. 5. 1. Fotossensibilizadores.....	25
1. 5. 2. Vantagens da Terapia Fotodinâmica em relação aos agentes microbianos	26
1. 5. 3. Terapia fotodinâmica em onicomicose – uma nova perspectiva de tratamento.....	27
2. OBJETIVOS:.....	31
2.1. Objetivo Principal	31
2. 2. Objetivos Secundários.....	31
3. MÉTODOS	32
3. 1. Seleção dos Pacientes.....	32
3. 3. Exames Sanguíneos	35
3. 4. Avaliação Micológica	35
3. 5. Avaliação da Presença de Sinais e Sintomas Adversos.....	36
3. 6. Avaliação de Melhora Clínica.....	36
3. 7. Avaliação de Cura Micológica	36
4. Resultados	38
4. 1. Exemplos Clínicos Fotográficos	43
4.3. Avaliação de Alterações dos Exames Sanguíneos	49
5. Discussão.....	51
6. Considerações finais e perspectivas	59
7. Conclusão	62
8. Referências	63
Anexo 1 – Comprovante de Aprovação pelo CEP da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.	67

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	69
Anexo 3 – Critérios de Inclusão e Exclusão e Check List (consulta inicial).....	72
Anexo 4– Escala visual de dor e avaliação de efeitos adversos na aplicação da terapia fotodinâmica.....	77

1. Introdução

1. 1. Unha

1. 1. 1. Anatomia Ungueal

As unhas são lâminas queratinizadas que recobrem a última falange dos dedos. Uma unha tem quatro partes: a posterior ou matriz (raiz), que está em uma dobra de pele; a lâmina, que está aderente ao leito ungueal na sua porção inferior; as dobras laterais e a borda livre[1].

A raiz ou matriz ungueal é uma área semilunar de células epiteliais proliferativas, parcialmente vedada pela dobra ungueal posterior e visível, parcialmente, em área mais clara, chamada lúnula. A dobra ungueal posterior apresenta um prolongamento da camada córnea que recobre a porção proximal da unha, a cutícula e, abaixo desta, o eponíquio, que adere à lâmina ungueal. Há uma rica rede vascular, dependente de duas artérias digitais, para nutrição da matriz ungueal[1].

A espessura das unhas varia de 0,5 a 0,75 mm e o crescimento é de cerca de 0,1 mm/dia ou 3 mm/mês nas unhas das mãos. As unhas dos pés crescem um terço da medida das mãos (1mm/mês). Uma renovação completa da unha leva de 4 a 6 meses nas unhas das mãos e de 12 a 18 meses nas unhas dos pés[1]. A lâmina ungueal é formada, fundamentalmente, pela matriz ungueal (80%), especialmente pela sua parte proximal. O leito ungueal contribui com 20 % da sua formação. A matriz proximal é responsável pela formação dos dois terços dorsais da lâmina ungueal, enquanto a matriz distal forma o terço ventral da lâmina ungueal[1]. Veja a figura 1.

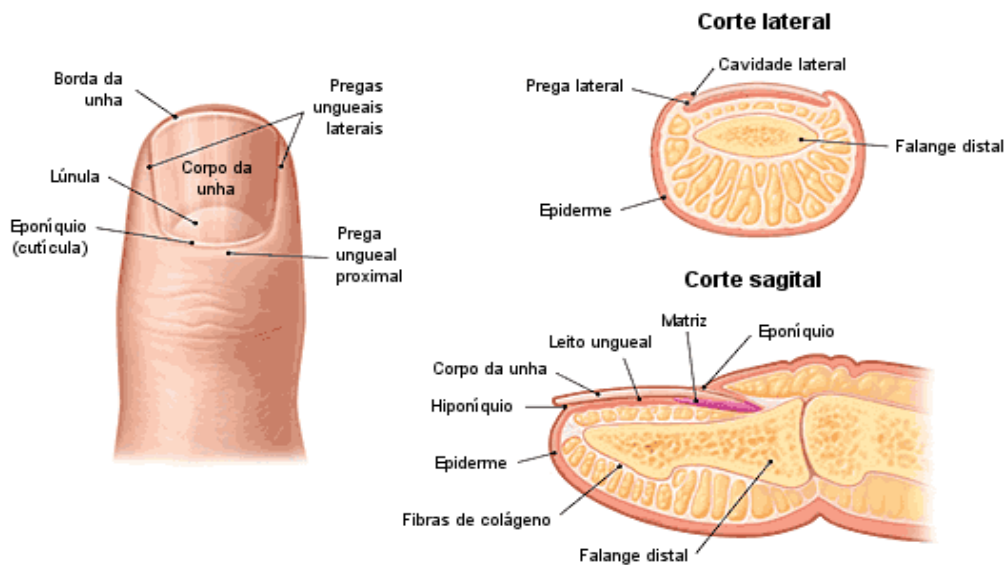


Figura 1 – Conjunto anatômico ungueal e seus cortes transversal e longitudinal.
 Fonte: Moreira Júnior Editora[42]

1. 1. 2. Microscopia Ungueal

A matriz e o leito ungueal são formados por epitélio hiperpapilomatoso, que se ceratiniza subitamente, sem grânulos de ceratoialina. A derme da matriz é caracterizada pela presença de grupos de colágeno densamente compactados que garantem uma conexão lateral entre a borda da matriz e o perióstio das falanges, sendo responsáveis pela convexidade da unha. A derme do leito ungueal, despojada de qualquer suplemento, contém também uma rede importante de fibras verticais de colágeno, que garantem a adesão do leito ungueal ao perióstio[1].

Por sua vez, a lâmina ungueal é formada por 25 densas camadas de queratina fortemente aderidas, sem espaço intersticial, ricas em pontes de enxofre, que conferem grande dureza e resistência à placa ungueal[39], fatores importantes para a proteção da região distal dos dedos; mas que, ao mesmo tempo, dificultam a penetração de ativos medicamentosos através da mesma, tornando bastante difícil o tratamento das micoses e outras patologias que afetam o leito ungueal.

1. 2. Onicomicose: etiologia, diagnóstico e tratamentos habituais

A Onicomicose é uma das doenças mais comuns da unhas, com uma prevalência que pode atingir de 20 a 30%, tendo progredido constantemente nos últimos 20 anos. Raramente é observada em crianças (0,5%), sendo frequente nos adultos, chegando a atingir 50% dos pacientes acima de 70 anos[5]. Entre os fatores predisponentes para adquirir a infecção podemos citar o uso frequente de sapatos fechados, o trauma ungueal repetitivo, diabetes, imunodeficiência, doença arterial periférica e a presença de infecção fúngica na sola dos pés e entre os dedos[3,6].

Dentre as numerosas espécies (quase 100) responsáveis pela onicomicose, os fungos dermatófitos (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* e *Epidermophyton floccosum*) são os maiores responsáveis (60 a 90% dos casos). Leveduras como a *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Torulopsis* sp e *Rhodotorula* sp também são isoladas nas infecções ungueais, sendo a presença das leveduras mais frequente na unhas das mãos[4,6]. Fungos filamentosos não dermatófitos (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Scytalidium*, *Penicillium*) podem também ser encontrados, sendo uma porta de entrada para infecções sistêmicas em indivíduos imunossuprimidos.

Há quatro portas de entrada principais para os fungos na unha, cada uma resultando em padrões clínicos diferentes:

1) Via **região subungueal distal e sulco lateral da unha**. Neste caso, o fungo invade a camada de queratina do hiponíquio e/ou leito ungueal e a parte inferior da lâmina ungueal torna-se opaca, amarelo-acastanhada e hiperkeratótica. Algumas vezes a infecção pode se apresentar como uma onicolise (descolamento da unha) sem qualquer hiperkeratose do leito ungueal. Esta é a **forma mais comum**[7]. O agente etiológico mais comum nestes casos é o *Trichophyton rubrum*.



Figura 2 – Onicomicose subungueal distal e lateral. Fonte: Rossana Sette – Micologia Médica[43].

2) Via superfície dorsal da lâmina ungueal, produzindo a chamada **onicomicose branca superficial**. Esta forma é normalmente confinada aos dedos dos pés. Nesta forma peculiar de manifestação clínica, o agente mais frequentemente encontrado é o *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale*[3,7]. Manifesta-se pela presença de placas brancas no dorso da lâmina ungueal, podendo atingi-la por completo.



Figura 3 – Onicomicose branca superficial. Fonte: Rossana Sette – Micologia Médica[43].

3) Via superfície inferior da prega ungueal proximal, na chamada **onicomicose subungueal proximal**. Neste caso, áreas brancas começam a aparecer a partir da cutícula. O *Trichophyton rubrum* é comumente o agente mais encontrado[3,7].



Figura 4 – Onicomicose subungueal proximal. Fonte: Rossana Sette – Micologia Médica[43].

4) **Onicomicose distrófica total**, na qual ocorre uma alteração estrutural ou mesmo destruição de toda a lâmina ungueal. Pode ser decorrente de uma infecção fúngica de longa evolução (forma secundária) ou ocorrer associadamente a quadros de candidíase mucocutânea crônica ou outros estados de imunodeficiência[3,7].



Figura 5 – Onicomicose distrófica total. Fonte: Rossana Sette – Micologia Médica[43].

1. 3. Diagnóstico

Embora saibamos quais são os agentes mais frequentemente encontrados em diversos casos, é impossível estabelecer o diagnóstico etiológico apenas com critérios clínicos. O diagnóstico de onicomicose e clínico-laboratorial, ou seja, necessita da confirmação laboratorial em um caso com clínica sugestiva de onicomicose.

Além disso, alterações estruturais e de cor da unha podem ser provocadas por diversas outras patologias (Quadro 1)[3,5]. Sendo assim, o diagnóstico laboratorial é mandatório para que os pacientes não sejam

submetidos desnecessariamente a tratamentos com antifúngicos orais, que podem muitas vezes ser tóxicos ao organismo.

Dois exames laboratoriais são utilizados para o diagnóstico: **exame micológico direto**, no qual o material é observado diretamente no microscópio óptico após dissolução em solução de hidróxido de potássio (KOH de 10 a 20%) e cultura para fungos em meios apropriados[5]. O exame micológico direto é útil para rastreamento e início de tratamento, uma vez que é mais rápido. A **cultura** pode demorar entre 3 a 4 semanas para confirmação do agente etiológico. É mandatório que o material seja colhido com cureta diretamente da região afetada (subungueal na maioria dos casos) para que se obtenha sucesso no exame.

Em casos negativos com forte suspeita de infecção fúngica, o exame histopatológico da queratina da lâmina ungueal, por meio da coloração pelo ácido periódico schiff (PAS) pode ajudar a confirmar o diagnóstico[8].

No exame direto são observadas hifas hialinas artrosporadas, características dos dermatófitos, hifas hialinas septadas, que sugerem fungos não dermatófitos, ou blastoconídeos globosos ou ovais e pseudo-hifas, sugestivas de *Candida spp*[5,8].

No exame de cultura o *T.rubrum* caracteriza-se pelo verso algodinoso e reverso avermelhado; o *T. interdigitale* pelo verso algodinoso e reverso amarronzado e a *Candida spp* se caracteriza por uma coloração que vai do branco ao creme[3,9].

Quadro 1- Diagnóstico diferencial de onicomicose conforme a manifestação clínica.

Onicomicose subungueal distal com hiperkeratose subungueal	Psoríase Doença de Reiter Pitiríase Rubra Pilar Líquen Plano Doença de Darier Eczema crônico
Onicomicose subungueal distal com onicólise subungueal	Psoríase Atrito (fricção) Tumor subungueal Fotonicólise
Onicomicose subungueal proximal com leuconíquia	Psoríase Trauma da prega ungueal proximal
Onicomicose subungueal proximal com leuconíquia e paroníquia aguda	Infecção bacteriana
Onicomicose subungueal proximal com paroníquia	Imersões repetidas Onicotilomania Dermatite atópica Síndrome da unha amarela
Onicomicose branca superficial	Granulações de queratina
Onicomicose distrófica total	Psoríase Onicogribose Microtrauma repetido

1. 4. Tratamentos Habituais

O tratamento de escolha para as onicomicoses consiste no **uso associado** de medicações tópicas e sistêmicas [10]. O uso isolado de medicações tópicas mostra-se ineficaz na maioria dos casos, só conseguindo curar casos em que até um terço da unha está acometida.

Entre os medicamentos tópicos, as formulações em esmalte são mais efetivas que os cremes ou soluções, devido à maior capacidade de permanência e penetração na lâmina ungueal. Os esmaltes funcionam como um sistema transungueal de distribuição da droga[4,11]. As duas substâncias utilizadas nos medicamentos em esmalte são a ciclopirox olamina a 8% e a amorolfina a 5%, normalmente aplicadas 1x por semana sobre as unhas afetadas. Além disso, medidas higiênicas são necessárias associadamente às medicações, como lixar semanalmente a região distal das unhas e evitar, na medida do possível, o uso de sapatos fechados por muitas horas durante o dia e as meias sintéticas, que provocam maior sudorese, criando ambiente favorável ao crescimento dos fungos.

As medicações sistêmicas mais utilizadas para o tratamento da onicomicose são o fluconazol, o itraconazol e a terbinafina[5,10].

O fluconazol é utilizado na dosagem de 150 mg a 300 mg uma vez por semana até a cura completa. É eficaz contra *Candida*, outras leveduras e dermatófitos[3,5,11].

O itraconazol possui o espectro *in vitro* mais amplo dos antifúngicos orais. É eficaz contra fungos dermatófitos, *candida* e alguns fungos filamentosos não dermatófitos. É administrado como terapia intermitente, na dosagem de 400 mg/dia, em duas doses diárias durante as refeições, por uma semana no mês. Normalmente são realizados de dois a três pulsos para tratamento da onicomicose das mãos e três a cinco pulsos para a onicomicose dos pés, a depender da extensão do acometimento ungueal e da resposta terapêutica individual de cada paciente[3,5,11].

A terbinafina tem mostrado ser a droga mais eficaz na prática clínica atual para tratamento das onicomicoses. É o único fármaco fungicida oral in vitro eficaz contra dermatófitos, algumas espécies de *candida* e até mesmo algumas espécies de fungos filamentosos não dermatófitos. É administrada na dosagem de 250 mg diariamente, durante uma das refeições, por dois a 3 meses para a onicomicose das unhas das mãos e por 3 a 6 meses para a infecção das unhas dos pés. Alguns autores preconizam o seu uso também na forma de pulsoterapia, com a dose de 500 mg/dia (em duas tomadas) por uma semana no mês[3,5,11].

A taxa de cura com o uso associado dos antifúngicos orais e tópicos tem estado entre 60 e 70% (média de 65%) segundo a maioria dos ensaios clínicos randomizados. Todavia, as recidivas são frequentes na prática clínica, sendo recomendada a aplicação regular de antifúngicos tópicos após o tratamento, tanto nas unhas, assim como entre os dedos e na sola dos pés. É recomendável também manter o uso quinzenal de esmaltes antifúngicos com o intuito de prevenir estas recorrências, por pelo menos um ano[5,7,11].

1. 4. 1. Efeitos colaterais e interações medicamentosas

Além de poder ocorrer falha na cura micológica em 30 a 40 por cento dos pacientes, os medicamentos utilizados sistemicamente têm potencial hepatotóxico, além de poderem apresentar efeitos colaterais e interações medicamentosas, o que dificulta o seu uso particularmente em pacientes idosos, que normalmente já fazem uso de várias medicações para tratar outras doenças[5].

O itraconazol pode causar dispepsia, náuseas, dor abdominal, constipação e hepatite. Além disso, por ser metabolizado principalmente pelo citocromo CYP3A4, assim como diversas outras medicações, o itraconazol pode levar ao aumento da biodisponibilidade de anticoagulantes orais, da quinidina, cizaprida, do saquinavir, indinavir, ritonavir, do verapamil, da carbamazepina e da digoxina, entre outros. Além disso, pode potencializar o efeito tóxico de estatinas como a sivastatina e lovastatina e do triazolan e

midazolam. O uso da rifampicina pode reduzir o efeito terapêutico do Itraconazol[4,12,13,41].

A terbinafina é normalmente bem tolerada, mas alguns pacientes podem apresentar dispepsia, náuseas, sensação de plenitude gástrica, perda de apetite, dor abdominal leve e diarreia. Exantemas e urticária também podem ocorrer. Por ser metabolizada pelo citocromo P450, a terbinafina pode induzir ou inibir a depuração de medicamentos que utilizam esta mesma via, como os anticoncepcionais orais, a ciclosporina, terfenadida e o triaxazolam. Por sua vez, a rifampicina aumenta a depuração plasmática da terbinafina, enquanto a cimetidina diminui a sua eliminação, devendo ser realizados ajustes nas doses quando do uso concomitante com estas medicações[4,12,13,41].

O fluconazol geralmente é bem tolerado, mas pode cursar com cefaleia, dor abdominal, diarreia, náuseas, rash cutâneo, leucopenia e hepatite medicamentosa sem relação com a dose utilizada. Dentre os antifúngicos orais, é o mais relacionado com casos de dano hepático letal[14]. Além disso, por competir com os mecanismos de metabolismo de outras drogas, pode aumentar a concentração plasmática de medicamentos como os anticoagulantes warfarínicos, o midazolam, a cisaprida, a ciclosporina e o tacrolimus. A rifampicina pode reduzir os níveis plasmáticos do fluconazol, enquanto a hidoclorotiazida pode aumentar estes níveis[4,12,13,41].

Dessa forma, em virtude da dificuldade de cura, das frequentes recidivas e das possibilidades de efeitos colaterais e interações medicamentosas dos antifúngicos orais, a investigação de novas terapias locais para a onicomicose mostra-se como uma área de extrema importância. Entre estas novas terapias locais, a terapia fotodinâmica ganha especial destaque.

1. 5. Terapia Fotodinâmica

O mecanismo de ação da terapia fotodinâmica baseia-se na interação de fótons de luz, de apropriado comprimento de onda, com moléculas

chamadas de fotossensibilizadores (FS). A absorção de fótons pelos FS torna-os excitados e instáveis que, para retornar ao seu estado fundamental, transferem energia para moléculas circundantes ou para o oxigênio molecular, produzindo uma série de espécies reativas de oxigênio que, por sua vez, destroem as células alvo da terapia[2].

Os FS têm uma configuração eletrônica estável, em um estado de baixa energia, chamado de estado fundamental (^0FS). Nesse estado, os spins dos elétrons estão todos pareados. Após a absorção de um fóton de luz de um comprimento de onda específico, a molécula do fotossensibilizador é promovida a um estado excitado ($^0\text{FS}^*$), de curta duração, entre 10^{-6} e 10^{-9} s, denominado de estado singleto. A partir deste momento, o FS pode voltar ao estado basal pela emissão de fótons de energia luminosa ou pela perda de energia na forma de calor[15]. Essa capacidade de emissão de fluorescência é muito interessante para a detecção clínica do fotossensibilizador, já que o próprio se torna passível de ser identificável. Alternativamente à emissão de fluorescência, o fotossensibilizador pode se converter a um segundo estágio de excitação, denominado estado tripleto $^2\text{FS}^*$ que, apesar de ser mais energético, é mais estável e possui meia vida mais longa. Esse estado tripleto de excitação, para retornar ao seu estado fundamental, transfere energia para as biomoléculas circundantes (reação Tipo I) ou para o oxigênio molecular (reação Tipo II). Ambas as reações geram uma cascata de espécies reativas, que reagem com os componentes celulares próximos, promovendo os efeitos citotóxicos da reação[15,16,17].

A **reação tipo I** leva à produção de radicais livres e íons, pela transferência de elétrons ou de prótons. Estas espécies reativas, após interação com o oxigênio, podem produzir espécies reativas de oxigênio (**ROS**) altamente reativas, como os ânions superóxidos e peróxidos, que atacam os alvos celulares. Muito Embora a reação tipo I não necessariamente precise de oxigênio e possa causar dano celular diretamente, pela ação dos radicais livres[15,17].

A **reação tipo II**, por sua vez, requer a transferência de energia do fotossensibilizador no seu estado tripleto para o oxigênio molecular, que normalmente está no seu estado tripleto (2O_2). Embora possua uma pequena durabilidade de aproximadamente 10^{-6} s, uma concentração suficiente de oxigênio singleto (1O_2) é produzida para gerar um irreversível dano celular[15,17].

O fotossensibilizador não necessariamente é destruído, podendo retornar ao seu estado de base por fosforescência, estando apto a repetir o processo de transferência de energia outras vezes. Por outro lado, pode retornar ao seu estado basal pela transferência de energia ao oxigênio molecular ou pode também ser destruído por oxidação[15].

Fica evidente que muitos dos efeitos da terapia fotodinâmica são dependentes do oxigênio e da sua concentração no alvo. As reações tipo I e tipo II podem ocorrer simultaneamente e as porcentagens de cada uma dependem de vários fatores, como o tipo de fotossensibilizador, o substrato, a quantidade de oxigênio e da capacidade de ligação do fotossensibilizador ao alvo. O oxigênio singleto, todavia, é o principal responsável pelos efeitos terapêuticos na terapia fotodinâmica. Devido a sua extrema reatividade, o oxigênio singleto tem uma meia vida curta e limitada difusão nos tecidos (aproximadamente $0,1 \mu\text{m}$) [15,17].

1. 5. 1. Fotossensibilizadores

Para uma molécula agir como um eficiente fotossensibilizador, deve possuir a habilidade de absorver a energia luminosa, tornando-se excitada para o seu estado tripleto e então transferir energia para o oxigênio molecular. As principais classes de fotossensibilizadores empregadas na terapia fotodinâmica são as porfirinas, as ftalocianinas e fenotizinas[18].

As fenotizinas têm estruturas tricíclicas planares simples, tipicamente catiônicas. Os compostos mais usados são o azul de metileno e azul de toluidina. Ambos são eficientes produtores de oxigênio singlet e têm a

absorção máxima de comprimento de onda em 656 nm para o azul de metileno e 625 nm para o azul de toluidina[18,19].

As porfirinas são macrociclos heterocíclicos, com máximo espectro de absorção na parte visível do espectro eletromagnético, entre 360 e 400 nm (banda de Soret), com mais quatro picos (bandas Q) de absorção entre 500 e 635 nm[18].

Por sua vez, as ftalocianinas possuem um espectro de absorção em comprimentos de onda mais largos, com maior intensidade nas bandas Q. São fotossensibilizadores potentes e habitualmente incluem um átomo central de zinco, silício ou alumínio para aumentar a capacidade de produção de oxigênio singlet. Elas têm uma forte absorção no comprimento de onda de 670 nm, sendo ativadas clinicamente na fluência de 100 j/cm². Em virtude de serem extremamente hidrofóbicas, são habitualmente encapsuladas em lipossomos, acumulando-se nas mitocôndrias, induzindo apoptose[18].

1. 5. 2. Vantagens da Terapia Fotodinâmica em relação aos agentes microbianos

Uma vez que a geração do oxigênio singlet ocorre por um curto período de tempo e o mesmo apresenta baixa capacidade de difusão, normalmente não são observados efeitos adversos fora do local alvo da terapia fotodinâmica. Além disso, até o momento não foram relatados efeitos mutagênicos com a terapia fotodinâmica[18,19].

O oxigênio singlet gerado com a ativação de um fotossensibilizador também é um agente oxidante que age de forma não específica. Dessa forma, não há defesa celular contra ele. Age via inativação de enzimas e outras proteínas, peroxidação de lipídeos, promovendo lise das membranas celulares, dos lisossomos e das mitocôndrias[18,19].

Isso significa que mesmo organismos com resistência a tratamentos antimicrobianos podem ser suscetíveis à terapia fotodinâmica. Além disso, o curto tempo de exposição, a atividade oxidativa inespecífica e a não migração

para outros locais do corpo torna improvável o desenvolvimento de resistência a esta terapia por parte dos microorganismos, em contraste com a frequente resistência desenvolvida pelo uso prolongado dos antimicrobianos[18,19].

1. 5. 3. Terapia fotodinâmica em onicomicose – uma nova perspectiva de tratamento

Para o tratamento das onicomicoses, foco central deste projeto, a TFD já demonstrou ser uma alternativa terapêutica segura e eficaz. Entre as principais vantagens da TFD, podemos citá-la como uma terapia não invasiva[20,21,22], com boa seletividade às células fúngicas alvo, além de ser um procedimento terapêutico realizado em um curto espaço de tempo, o que facilita a adesão dos pacientes ao tratamento[22,23].

Os resultados apresentados, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*, relacionados ao tratamento de onicomicoses com TFD têm sido animadores em muitas ocasiões, mas em outras nem tanto[24,25,26]. Em um desses trabalhos, por exemplo, houve a total destruição das hifas fúngicas e inativação dos esporos, com ausência de crescimento por três meses após o tratamento (tratamento *in vitro* de *T.rubrum* incubado por uma hora com componente porfirínico e irradiado com luz vermelha). Por outro lado, outros estudos mostraram que a terapia fotodinâmica pode não ter um efeito fungicida, mas apenas de adiamento na progressão da infecção fúngica, com subsequente recrescimento das células fúngicas[20]. Uma das explicações levantadas para o resultado incompleto é a presença de concentrações inadequadas de drogas fotossensibilizantes nas áreas infectadas, bem como nas células fúngicas.

Com relação aos ensaios clínicos, estudos menores mostraram resultados animadores com a TFD para o tratamento de onicomicoses[20,21]. Em um desses estudos, por exemplo, a unha do paciente foi pré-tratada com uréia a 40% por 7 dias para redução do excesso de massa ungueal e facilitação da penetração medicamentosa. Em seguida, foi utilizado um creme de MAL (cloridrato de aminolevulinato de metila) a 16% sob oclusão por três

horas com subsequente exposição a uma luz vermelha, com 630 nm, por 7,24 minutos. Foram realizadas três sessões (uma a cada 15 dias), sendo obtida cura micológica em cultura após três meses da última sessão, tendo essa cura persistido após 24 meses. Além disso, foram reportados poucos efeitos colaterais durante o tratamento. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos realizados com poucos pacientes (um a dois pacientes), utilizando o mesmo protocolo acima [20,21] ou com algumas variações no tempo de oclusão medicamentosa (3 a 5 horas) e no número de sessões (3 a 7 sessões).

Todavia, em um estudo maior, realizado por Sotiriou et al[20,35], com 30 pacientes com onicomicose infectados por *T. rubrum*, tratados com 3 sessões com intervalo de 15 dias, o resultado já não foi tão animador[20]. Os pacientes foram pré-tratados com uréia 40% por 10 dias, sendo então aplicado um creme de 20% de 5-ALA (ácido 5 aminolevulínico) no leito ungueal por três horas sob oclusão e subsequente irradiação com uma luz vermelha (570-670 nm). Apenas 43% dos pacientes mostraram cura clínica com exame microscópico negativo para fungos com um ano de seguimento, tendo essa taxa caído para 36,6% após um ano e 6 meses. Além disso, a dor foi um efeito colateral freqüente durante a irradiação, sendo necessária a sua interrupção por alguns minutos em muitos pacientes[20].

Os estudos relatados anteriormente foram todos realizados com precursores porfirínicos, como o 5-ALA[27], classificados como fotossensibilizantes de primeira geração. Entre as desvantagens da aplicação da TFD mediada por esses fármacos, podemos citar a necessidade de espera (1-3 horas) entre a aplicação do fármaco e a fotoativação com a fonte de luz, devido à necessidade de metabolismo pela bioquímica fúngica intracelular da pró-droga 5-ALA (aplicada) em protoporfirina, que é o agente fotossensibilizante. Como proposta de alternativa de aprimoramento da técnica, a utilização de fármacos fotossensibilizantes de segunda geração, como os derivados de ftalocianinas, poderia reduzir o tempo de oclusão das lesões, já que essas moléculas não necessitam de metabolismo na

maquinaria fúngica, já sendo as moléculas fotossensibilizantes[22,23]. Importante destacar que, até o momento, não existem estudos clínicos envolvendo a utilização da TFD mediada por derivados de ftalocianina para tratamento de onicomicoses como o proposto no presente projeto.

A AlumínioCloroFtalocianina (AICIFt), fotossensibilizador (FS) selecionado no presente projeto, é uma droga FS de segunda geração já bastante estudada em pesquisas para a aplicação da TFD, tanto em lesões neoplásicas[28,29,30], quanto em sítios infecciosos[22]. Como vantagens descritas para a utilização da AICIFt podemos citar a sua excitação em comprimentos de onda mais largos, o que permite o tratamento de camadas mais profundas nos tecidos alvo; além de ser um fotossensibilizante com excelente rendimento quântico, que melhora o efeito antifúngico da terapia. Como principal desvantagem da AICIFt, podemos citar a forte hidrofobicidade da molécula, o que inviabiliza a sua aplicação em sistemas biológicos aquosos. Como forma de aumentar a dispersão da AICIFt em soluções aquosas, nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido diferentes tipos de carreadores nanoestruturados[21,29,30] com o intuito de permitir a utilização deste derivado de ftalocianina em sistemas biológicos.

A associação da AICIFt com o carreador nanoestruturado de drogas, definido como sistemas fotossensibilizadores de terceira geração, tem sido amplamente utilizada na literatura e apresenta uma série de vantagens, além da capacidade de aumentar a dispersão destas moléculas em soluções aquosas. Entre as principais, de interesse para o presente projeto, são a capacidade de direcionamento às células alvo, a propriedade de aumentar a permeação nos tecidos ungueais e o fato de serem mais rapidamente adsorvidos por células fúngicas. Tudo isso justifica que esses veículos farmacológicos sejam avaliados quanto a sua eficácia no tratamento das onicomicoses. Importante ressaltar nesse ponto que a segurança e efetividade de carreadores lipídicos nanoestruturados de AICIFt contra tumores e infecções bacterianas já foram investigadas em diferentes níveis de

complexidade, tanto em estudos laboratoriais *in vitro* e *in vivo*, quanto em estudos clínicos[22,30,31,32,33].

2. OBJETIVOS:

2.1. Objetivo Principal

Avaliar a efetividade da Terapia Fotodinâmica mediada pela AlumínioCloroFtalocianina associada em nanoemulsões lipídicas para o tratamento de onicomicoses em um estudo clínico piloto.

2.2. Objetivos Secundários

- Avaliar a efetividade por meio de avaliações clínicas e fotográficas do efeito da aplicação da terapia fotodinâmica mediada pela AlumínioCloroFtalocianina nas lesões fúngicas tratadas;
- Avaliar a segurança, bem como os possíveis efeitos adversos locais decorrentes da aplicação da terapia fotodinâmica mediada pela AlumínioCloroFtalocianina;
- Avaliar a redução da carga fúngica (negativação do exame micológico) das lesões tratadas;
- Avaliar as possíveis recidivas das lesões tratadas após 6 meses da aplicação da Terapia Fotodinâmica mediada pela AlumínioCloroFtalocianina.

3. MÉTODOS

Todos os procedimentos clínicos descritos neste documento envolvendo pacientes voluntários foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Faculdade de Medicina - UnB. O comprovante de aprovação e autorização para a atividade de pesquisa descrita neste documento está apresentado no Anexo 1 desta dissertação.

3. 1. Seleção dos Pacientes

Dezoito pacientes de ambos os gêneros foram selecionados para participar do estudo clínico segundo os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão no estudo: (i) pacientes com diagnóstico clínico e micológico de onicomicose;

Critérios de exclusão no estudo: (i) doenças sistêmicas graves que comprometam o tratamento da onicomicose; (ii) uso de antifúngico tópico ou sistêmico nos últimos seis meses; (iii) pacientes grávidas ou em período de lactação. (iiii) história de doenças psiquiátricas ou neurológicas que possam prejudicar a capacidade do paciente de compreender ou de cumprir os requisitos do estudo, ou para fornecer o consentimento informado; (iiiii) uso de medicamento fotossensibilizante por até 4 semanas anteriores à seleção; (iiiiiii) uso de medicamentos que alterem a cicatrização da pele, ou que possam alterar a coagulação, história clínica de distúrbio de coagulação; (iiiii) história de Lúpus Eritematoso ou de qualquer quadro de fotossensibilidade que possa levar a reação exacerbada com o uso de terapia fotodinâmica; (iiiii) participação em pesquisa clínica ou uso de terapêutica experimental nos 30 dias anteriores à fase de seleção do presente estudo.

Entre as doenças graves podemos citar a presença de significativa neuropatia/vasculopatia periférica ou lesões cutâneas periungueais que possam dificultar a cicatrização pós terapia fotodinâmica (Anexo 3).

Antes do início da pesquisa, os pacientes foram informados sobre toda a sequência de procedimentos clínicos a ser realizada. Esta comunicação prévia foi acordada através de documentação escrita representada pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2) previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

3. 2. Desenho do Estudo

O presente projeto descreve um Ensaio Clínico Terapêutico Piloto que teve como objetivo avaliar a atividade e estabelecer a segurança em curto prazo da TFD mediada pela AICIFt em nanoemulsões para o tratamento de onicomicoses. Os resultados obtidos no grupo de pacientes tratados com TFD mediada pela AICIFt serão comparados a resultados publicados na literatura para o tratamento padrão de onicomicose.

Durante a triagem dos pacientes em um ambulatório de atendimento clínico de dermatologia, os mesmos foram convidados a responder uma ficha clínica com dados demográficos e submetidos a uma anamnese para confirmar os critérios de inclusão e exclusão do estudo (Anexo 3).

Em seguida, foram submetidos ao seguinte protocolo de tratamento com terapia fotodinâmica:

4. Utilização de creme de ureia a 40% sob oclusão à noite por sete dias e subsequente onicoabrasão (desbastamento de toda a lâmina ungueal com o dermoabrasor Beltec®, com ponteira diamantada, em rotação média) para diminuir a espessura da unha a ser tratada, facilitando a penetração do agente terapêutico;
5. Aplicação de agente nanoestruturado contendo AICIFt (concentração final de 65 µM), ocluindo o mesmo com filme plástico e protegendo da luz com papel alumínio por um período de 15 minutos;
6. Retirada do papel alumínio e filme plástico e do excesso do fotossensibilizador com gaze e subsequente irradiação do leito ungueal

afetado com LED Vermelho* (660 nm, com potência de 51,5 mW/cm², por 10 minutos) a uma distância de 10 cm da lesão. *O equipamento LED Vermelho utilizado é um protótipo desenvolvido pelo Instituto de Física da Universidade de Brasília;

7. Repetição desse mesmo ciclo de tratamento até que fosse observada a cura clínica de todas as unhas afetadas, com intervalos de 15 dias;
8. Novas sessões, com o mesmo intervalo (15 dias), foram realizadas de acordo com a evolução clínica de cada paciente. Os pacientes foram acompanhados clinicamente e submetidos a novos exames micológicos após o término das sessões e seis meses após o tratamento realizado.

A Figura 6 (seções A-H) descreve a sequência clínica utilizada para a aplicação da terapia fotodinâmica nas unhas acometidas por onicomicose.

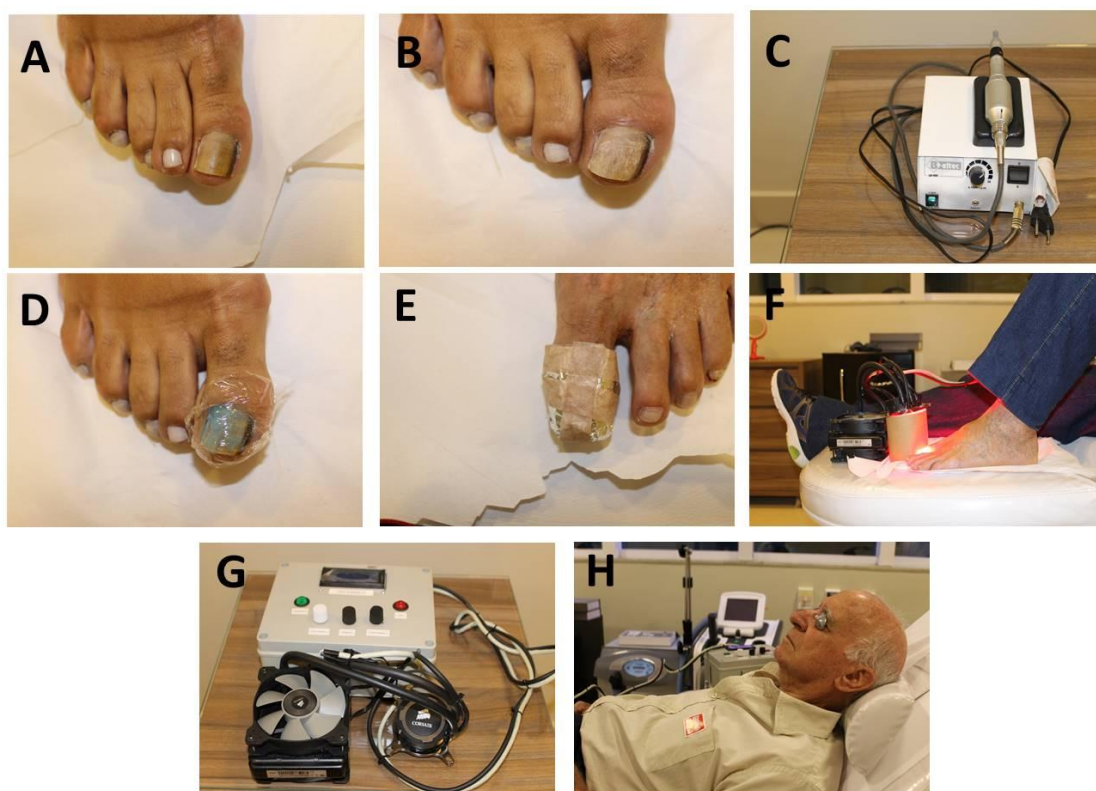


Figura 6: Imagens ilustrativas da metodologia do Estudo Clínico. Unha antes da onicoabrasão (A); unha logo após a onicoabrasão, realizada para facilitar a penetração do fotossensibilizador (B); dermaabrator utilizado para realizar a

onicoabrasão (C); oclusão do agente nanoestruturado com filme plástico (D); proteção do medicamento ocluído com papel alumínio, em virtude de ser um medicamento fotossensível. Oclusão por 15 minutos (E); execução da terapia fotodinâmica (F); equipamento utilizado para realização da terapia fotodinâmica (G); paciente com proteção ocular durante a execução do procedimento (H).

3. 3. Exames Sanguíneos

Exames de sangue foram realizados antes e após a participação dos voluntários no estudo clínico. Esta etapa teve como objetivo garantir os critérios de exclusão no estudo, além de ter sido utilizada para avaliar a possível toxicidade sistêmica promovida pela aplicação do tratamento. Todos os exames sanguíneos foram realizados em parceria com o laboratório Sabin (www.sabinonline.com.br). O exame sanguíneo incluiu:

- I. Hemograma Completo;
- II. Glicemia em jejum;
- III. Ureia;
- IV. Creatinina;
- V. Transaminase Oxalacética TGO (AST);
- VI. Transaminase Pirúvica TGP (ALT);
- VII. GamaGlutamilTransferase (gamagt);
- VIII. Bilirrubina total e frações;
- IX. Gonadotrofina Coriônica.

3. 4. Avaliação Micológica

Para a realização dos exames diagnósticos e de avaliações pós-tratamento, amostras das unhas incluídas no estudo foram coletadas para avaliação da carga fúngica por meio de exame micológico direto e cultura de fungos para contagem de unidades formadoras de colônia. Todos os exames laboratoriais, desde a coleta até a conclusão do exame micológico foram realizados por meio de uma parceria com laboratório Sabin (www.sabinonline.com.br).

3. 5. Avaliação da Presença de Sinais e Sintomas Adversos

Para a avaliação da presença de sinais e sintomas adversos durante e após a aplicação da Terapia Fotodinâmica, uma avaliação clínica individual foi realizada durante cada uma das sessões. Nessa avaliação foram observados os seguintes sinais clínicos: presença de eritema, de edema, ulceração e alterações estruturais na placa ungueal e região periungueal, durante e logo após o término das sessões. Os pacientes foram também questionados sobre sintomas, como ardência e dor, náuseas, tontura, cefaléia, palpitações, dispnéia, dor abdominal, febre, calafrios, artralgia, mialgia. Todos os pacientes tinham o contato telefônico da clínica e do examinador para comunicação de efeitos colaterais após o término das sessões e eram também questionados sobre eventuais sintomas apresentados posteriormente ao término das aplicações. A quantificação do sintoma de dor/ardência durante e após a aplicação da TFD foi realizada pela mensuração de escala de desconforto de acordo com a escala visual de dor (Anexo IV).

3. 6. Avaliação de Melhora Clínica

Para avaliação da melhora clínica, foram analisadas as fotografias das unhas afetadas de cada paciente antes e após o término das sessões de tratamento. As unhas afetadas foram divididas em 10 faixas horizontais, cada uma correspondendo a 10% da unha. Foi então verificada e quantificada a diminuição, em termos percentuais, da área acometida da unha (áreas com alteração de cor, de estrutura e de espessura da unha, correspondentes à infecção fúngica). A avaliação clínica da diminuição da intensidade da cor da área acometida pela infecção fúngica também foi considerada nessa análise.

3. 7. Avaliação de Cura Micológica

Para avaliação da cura micológica foram comparados os exames micológicos e culturas realizadas antes e após o término das sessões. Foi

considerada cura micológica quando o paciente apresentou negatificação tanto do exame micológico direto quanto da cultura após o término das sessões.

4. Resultados

Dezoito pacientes foram selecionados para o tratamento com terapia fotodinâmica com AlumínioCloroFtalocianina. Abaixo segue um quadro resumo com as iniciais dos pacientes, sexo, idade, local acometido (se unha das mãos ou dos pés), exame micológico prévio à aplicação, número de sessões realizadas, percepção de cura clínica pelo investigador ou melhora clínica (especificando em quanto tempo), cura micológica e percepção de recidiva (especificando em quanto tempo).

Quadro 2 – Resumo dos pacientes, número de sessões, cura clínica e micológica e recidiva.

Nome	Micológico Inicial	Sessões	Cura Clínica	Cura Micológica	Recidiv a
A.R.O. Fem. 23a (mão)	<i>Rhodotorula sp</i>	3	Não. Melhora (70%)	Não. <i>Candida Albicans</i>	
C.H.A Fem. 62a (pé)	<i>Trichophyton rubrum</i>	3	Sim - 11 semanas	Sim - 8 semanas	Não - 9 meses
M.B.M.V Fem. 53a (mão)	<i>Candida parapsilosis</i>	4	Sim - 8 semanas	Não fez logo em seguida	Sim - 8 meses. <i>Candida parapsilosis</i>
D.C.S 46a Masc. (pé)	<i>Candida parapsilosis</i>	7	Não. Melhora de 40%	Não - hifas em 16 semanas	Censura do
R.C.D.R 49a Masc. (pé)	<i>Trichophyton rubrum</i>	7	Não, mas melhora de 80%	Não - hifas em 18 semanas	Censura do
R.F.O.S	<i>Fusarium spp</i>	4	Não. Melhora	Sim - 19	Sim -

Fem. 46a (pé)			de 90%	semanas	recidiva clínica em 23 semanas
M.M.C.S Fem. 84a (mão)	<i>Candida albicans</i>	4	Sim – 7 semanas	Sim – 10 semanas	Aguarda ndo o retorno (6meses)
M.S.P.S Fem.52a (mão)	Positivo	3	Sim – 8 semanas	Não <i>Candida parapsilosis</i>	Sim – 12 semanas . Piora clínica
N.F.O Fem. 66a (pé)	<i>Candida parapsilosis</i>	3	Sim – 6 semanas	Sim -10 semanas	Aguarda ndo o retorno (6 meses)
J.E.G.F Masc.59a (pé)	Positivo	4	Não – melhora de 80% 12 semanas	Não – Hifas 7 semanas	Censura do
J.P.D Masc. 45a (pé)	Positivo	6	Em tratamento. Melhora 40% mas teve trauma na unha com piora - sangramento		
O.P.A Masc. 74a (pé)	Positivo	5	Em tratamento. Melhora de 90%		

M.V.G, Fem. 63a (pé)	<i>Fusarium spp</i>	5	Sim – 8 semanas, mas fará mais uma sessão		
C.R.D Masc. 45a (pé)	<i>Trichophyton rubrum</i>	3	Em tratamento – melhora de 50%		
N.F.P Fem. 45 ^a (pé)	<i>Candida Haemulonii</i>	2	Em tratamento – melhora de 50%		
L.R.P Masc. 39 ^a (pé)	<i>Trichophyton rubrum</i>	2	Em tratamento – melhora de 50%		
A.M.S.S Fem. 55a (mão)	<i>Candida parapsilosis</i>	2	Em tratamento – melhora de 30%		
C.M.S Fem. 45 (pé)	Positivo	1			

Podemos perceber que em todos os pacientes houve uma melhora no decorrer do tratamento, variando de 40% nos piores casos, chegando a 100% (percepção de cura clínica) e com cura micológica nos melhores casos. Infere-se da tabela também que o número de sessões inicialmente planejado (3 sessões) foi insuficiente na maioria dos casos, embora em 3 casos tenha se conseguido a cura clínica com três sessões, com cura micológica em dois

deles. O examinador, ao perceber a dificuldade de cura dos pacientes em apenas três sessões nos tratamentos iniciais, passou a prolongar o tratamento pelo número de sessões necessárias para se obter o clareamento clínico de todas as unhas afetadas de cada paciente ou até a presença de eventual toxicidade do tratamento.

Observou-se durante os tratamentos uma maior facilidade de clareamento das unhas das mãos, muito provavelmente decorrente da menor espessura da lâmina ungueal em relação aos pés, com conseqüente maior facilidade de penetração do fotossensibilizador, atingindo em maior concentração as áreas com fungos, com conseqüente maior rendimento fotodinâmico.

Três pacientes optaram, durante o tratamento, por iniciar um tratamento clínico antifúngico com medicação tradicional, dois (D.C.S e R.C.D.R) após já terem sido realizadas 7 sessões, sendo que o paciente D.C.S estava com resposta mais lenta (40%) e o paciente R.C.D.R, apesar de estar com um resposta satisfatória (80% de melhora), estava com dificuldade para comparecer quinzenalmente para realização das sessões. Ambos então iniciaram o tratamento tradicional com antifúngico oral (Terbinafina 250 mg/dia) e tópico (esmalte de amorolfina). Já o paciente J.E.G.F, após a quarta sessão, apresentava uma melhora clínica de 80%, mas optou por terminar o tratamento apenas com um tratamento antifúngico tópico (esmalte de amorolfina 1x/semana).

Uma representação gráfica com os dados apresentados no Quadro 2 está apresentada na Figura 7 a seguir. Na Figura, podemos ter uma visão mais clara dos resultados obtidos, com especial destaque para a porcentagem de cura clínica (Figura 7D) observada nos pacientes envolvidos no estudo.

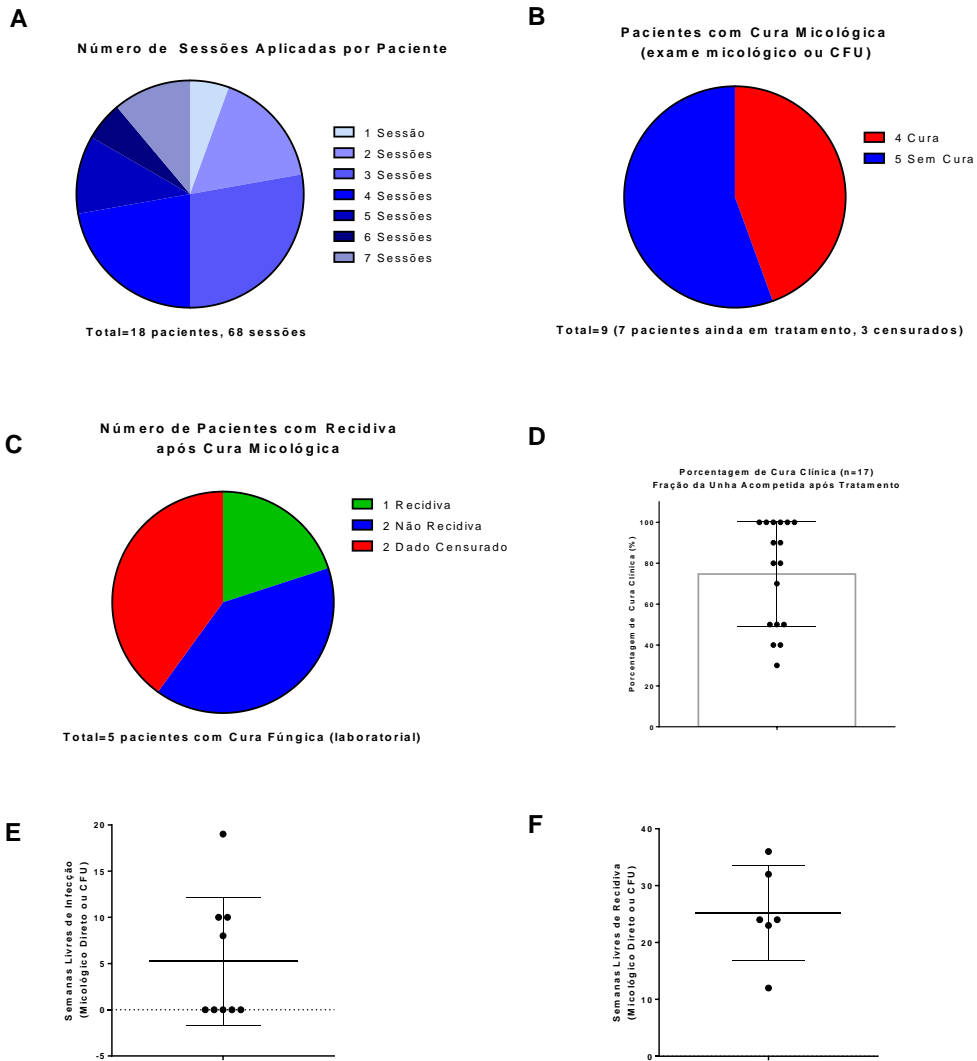
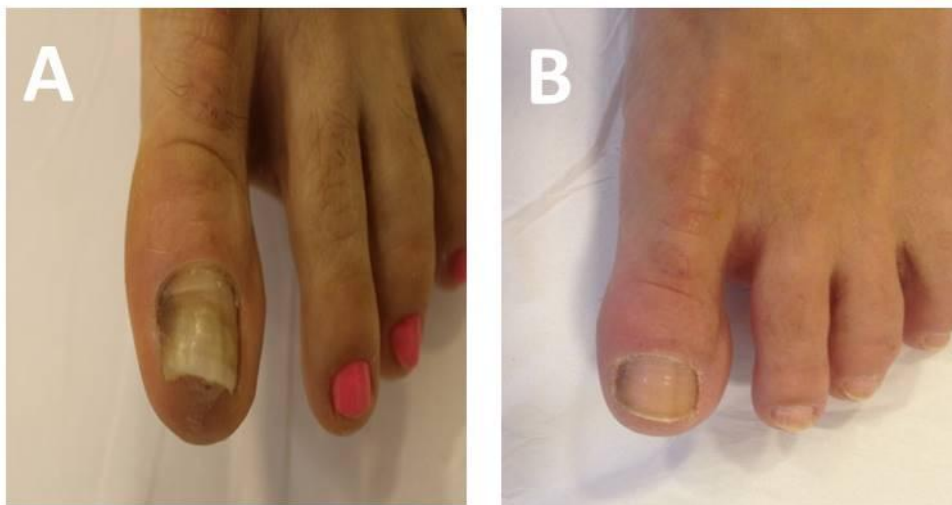


Figura 07: Resumo dos dados obtidos no estudo clínico. (A) Número de sessões aplicadas por paciente envolvido no estudo clínico; (B) Número de pacientes com cura micológica; (C) Número de pacientes com recidiva micológica após o estudo; (D) Porcentagem de cura clínica observada em cada paciente envolvido no estudo; (E) Número de semanas livres de infecção após o diagnóstico final; (F) Semanas livres de recidivas após o fim do tratamento. Nos gráficos, cada ponto apresentado representa um paciente.

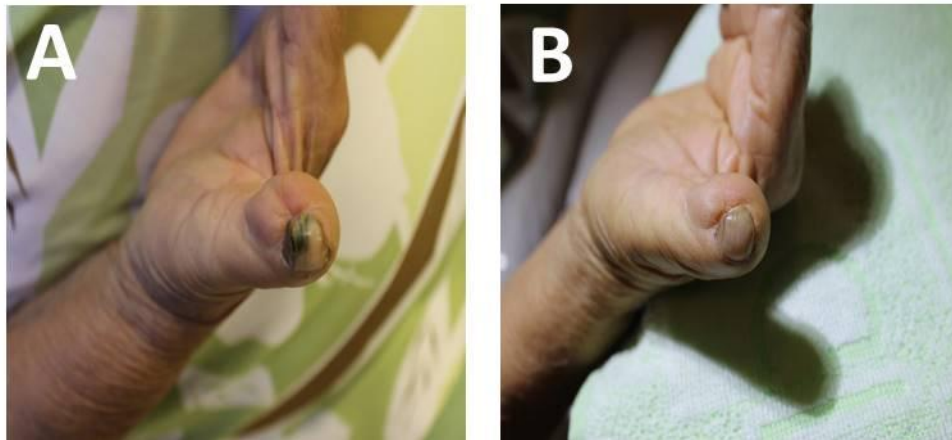
Dados censurados indicam dados que foram perdidos ou que o paciente decidiu sair do protocolo clínico.

4. 1. Exemplos Clínicos Fotográficos

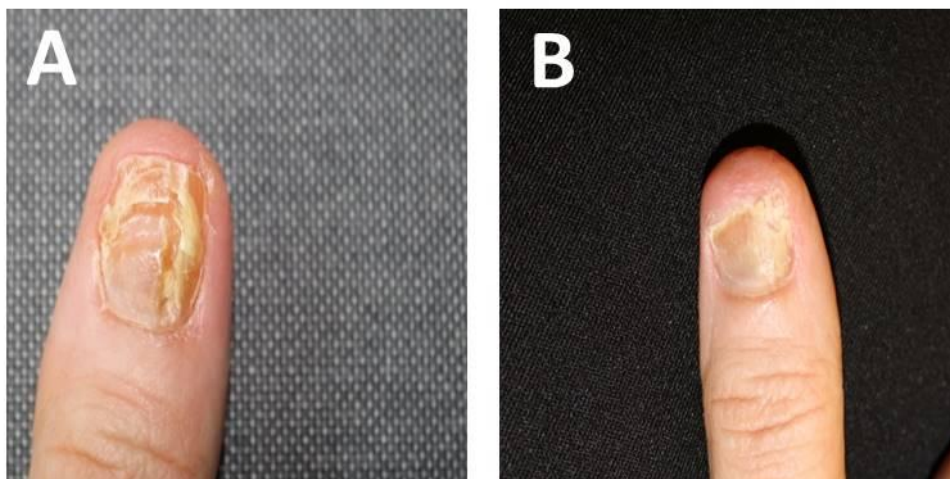
A sequência de relatos de casos clínicos abaixo (1-7) é uma amostragem dos efeitos da Terapia Fotodinâmica mediada pela AICIFt. As figuras, bem como as descrições tiveram como objetivo apresentar um retrato da situação clínica das lesões no momento do diagnóstico e após a participação no estudo clínico. Como comentado anteriormente, o número de sessões a que cada paciente foi submetido foi variado e dependeu da resposta clínica e micológica avaliada pelo investigador clínico do estudo.



Caso 1 – Paciente C.H.A, submetida a 3 sessões de terapia fotodinâmica. Na foto A é possível observar a presença de aspecto em mancha de óleo, com alteração de coloração e ligeira hiperqueratose subungueal, quadro sugestivo de onicomicose. A infecção foi confirmada pelo exame micológico direto e cultura, que identificou o fungo *Trichophyton rubrum*. Em B, após 9 meses do início do tratamento, observamos uma melhora clínica completa. O exame micológico e a cultura permaneceram negativos.



Caso 2– Paciente M.M.C.S submetida a 4 sessões de terapia fotodinâmica. Na figura A observamos a unha com aspecto esverdeado, tendo o diagnóstico de onicomicose sido confirmado com a presença do fungo *Candida albicans*. Após o tratamento, na figura B, observamos o clareamento completo da área esverdeada, compatível com uma cura clínica completa. A cura micológica também ocorreu, com exame micológico direto e cultura negativa após 10 semanas do início do tratamento.



Caso 3 – Paciente M.S.P.S, submetida a três sessões de terapia fotodinâmica. Na figura A evidencia-se uma unha distrófica e com coloração amarelada, compatível com onicomicose, confirmada com um exame micológico direto positivo. Na figura B, observamos um melhora clínica significativa, com diminuição da distrofia, melhora da cor amarelada, com a

unha crescendo com aspecto de normalidade. Todavia, a paciente não apresentou cura micológica (*Candida parapsilosis*) e, após a interrupção do tratamento, voltou a apresentar piora clínica precoce (4 semanas após o término).

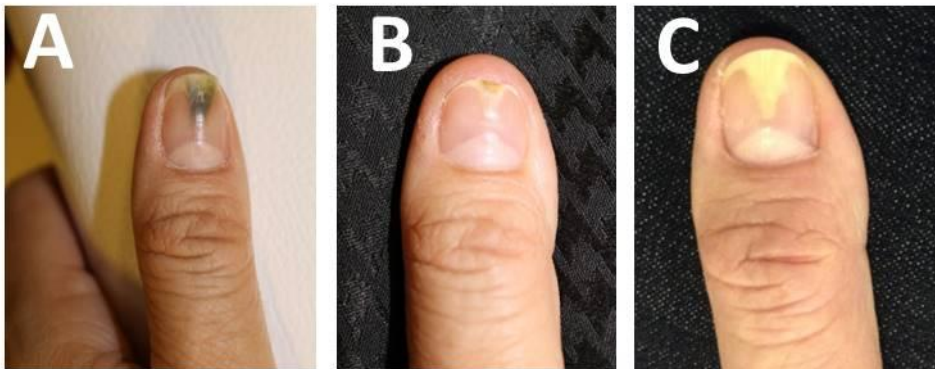


Caso 4 – Paciente M.V.G, submetida a 4 sessões de terapia fotodinâmica. Na figura A, observamos as unhas dos primeiros pododáctilos com coloração amarelada na sua região distal lateral, mais acentuadamente à esquerda. A cultura evidenciou o fungo filamentoso não dermatófito *Fusarium spp*. Após a realização de 4 sessões, percebemos, na figura B, uma melhora clínica completa, com clareamento total das áreas amareladas. A paciente ainda foi submetida a mais duas sessões antes da coleta de novos exames micológicos.



Caso 5 – Paciente J.E.G.F, submetido a 4 sessões de terapia fotodinâmica. Na figura A, observa-se a presença de distrofia e coloração amarelada até a região proximal da unha. A infecção fúngica foi confirmada com a positividade do exame micológico direto. Após as sessões (figura B), observamos um

clareamento significativo das áreas fúngicas amareladas, além de diminuição da distrofia ungueal, em uma melhora classificada em 80%. Apesar disso, ainda apresentava hifas no exame micológico direto, tendo-se optado por continuar o tratamento com antifúngico tópico neste paciente.



Caso 6- Paciente M.B.V, submetida no total a 4 sessões de terapia fotodinâmica. A foto A mostra o aspecto clínico da primeira unha do quirodáctilo esquerdo, apresentando uma área esverdeada em formato de V da sua região médio-distal, bastante sugestiva de onicomicose. A suspeita clínica foi confirmada com a realização do exame micológico direto e cultura, que evidenciou o fungo *Candida parapsilosis*. Na figura B, observamos a unha após as três sessões de terapia fotodinâmica, apresentando um clareamento significativo da área esverdeada, compatível com eliminação clínica da carga fúngica. Na figura C observamos o aparecimento da área amarelada em V, compatível com recidiva do quadro de onicomicose, que foi confirmada com cultura positiva para *Candida parapsilosis* realizada 8 meses após o início do tratamento.



Caso 7 – Paciente R.C.D.R, submetido a 7 sessões de terapia fotodinâmica. Na figura A, observa-se acometimento da primeira, segunda, terceira e quinta unhas do pé direito, com extensas áreas de coloração amarelo-esverdeada, que chegam a atingir até a região proximal. A cultura deste paciente evidenciou o fungo dermatófito *Trichophyton rubrum*. Em B, após 6 sessões de terapia fotodinâmica, já apresentava melhora significativa (classificada em 80%), com expressivo clareamento das áreas amareladas. E virtude da dificuldade de comparecimento para novas sessões e da ligeira piora quando o paciente comparecia para nova aplicação, optamos por terminar o tratamento com medicações antifúngicas.

4. 2. Presença de Sinais e Sintomas Adversos Locais

A presença de sinais clínicos adversos locais, bem como a manifestação de sintomatologia clínica desconfortável foi avaliada em todas as sessões de aplicação da TFD neste estudo clínico. Ao longo do atendimento dos dezoito pacientes envolvidos no estudo clínico, foram executadas 50 sessões de TFD, sendo que a escala visual de dor, bem como o exame clínico no local das lesões foi procedido em todas elas.

Abaixo apresentamos um quadro com a descrição dos sinais e sintomas apresentados individualmente pelos pacientes participantes do estudo. Podemos observar grande segurança com relação ao tratamento. O eritema observado após as aplicações foi leve em todos os casos e não houve

qualquer queixa com relação a sintomas sistêmicos. Quantificamos também a ardência relatada pelos pacientes.

Quadro 3 – Pacientes e efeitos colaterais

	Ardência	Eritema	Edema	Ulceração	Esfarelamento	Sintomas Sistêmicos
ARS	1+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
CH.A	1+/10	Leve	Não	Não	Sim	Não
MBMV	5+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
DCS	5+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
RCDR	5+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
RFO	9+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
MMCS	4+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
MSPS	3+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
NFO	2+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
JEGF	1+/10	Leve	Não	Não	Sim	Não
LPD	1+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
OPA	1+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
MVG	1+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
CRD	2+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
NFP	2+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
LRP	4+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
AMSS	2+/10	Leve	Não	Não	Não	Não
CMS	1+/10	Leve	Não	Não	-	Não

A Figura 8 apresenta uma representação gráfica que quantifica a ardência local durante as aplicações de TFD. O quadro 3 apresenta os sinais adversos locais e sintomas sistêmicos observados no estudo clínico.

Podemos observar que a ardência local após a TFD foi relatada em todos os pacientes, porém em média, a indicação de ardência na escala

visual (0-10) foi de 2,7 pontos. Já para os sinais locais, pode-se observar eritema leve transitório em todos os pacientes e esfarelamento da unha em dois pacientes. Importante relatar que nenhum sintoma adverso sistêmico foi observado.

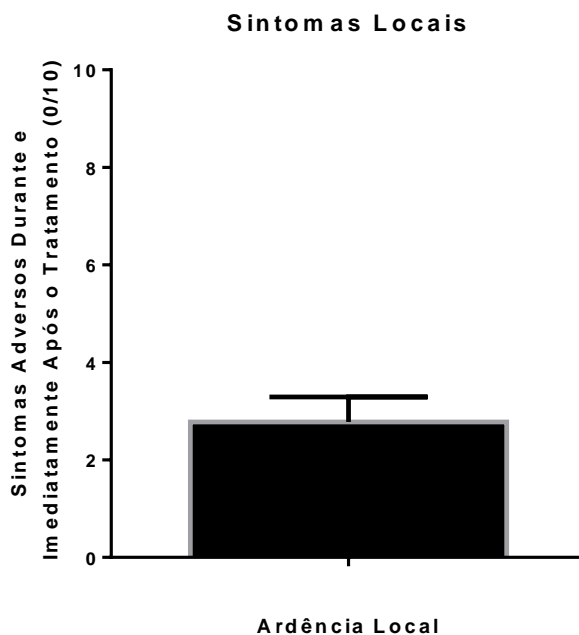


Figura 8: Dados de medida na escala visual de dor (0-10) relatados pelos pacientes durante a aplicação da TFD.

4.3. Avaliação de Alterações dos Exames Sanguíneos

- a) Hemograma – Todos os pacientes do estudo foram submetidos à realização do hemograma completo antes e após os tratamentos realizados, não sendo evidenciada alteração nos índices hematimétricos e nas plaquetas em relação ao valor de referência do laboratório.
- b) Bioquímica – Os pacientes foram também submetidos a análises bioquímicas (ureia, creatinina, glicemia, tgo, tgo, gamagt, bilirrubina total e frações) antes e após a realização das sessões, não sendo observadas alterações nestes exames em relação aos valores de referência padrão do laboratório.

Os exames foram checados individualmente pelo examinador, antes e após a realização do tratamento completo nos pacientes, conferindo-se os resultados com o padrão de referência fornecido pelo laboratório Sabin. A ausência de alterações em relação aos valores de referência evidencia segurança em relação aos alvos analisados: fígado, rim e células sanguíneas.

5. Discussão

A onicomicose é uma das lesões fúngicas mais prevalentes na população mundial, e ainda hoje consiste em um grande desafio médico tratá-las por completo, já que o tratamento convencional pode não atingir a cura completa em muitos casos. Como os protocolos terapêuticos atualmente utilizados para o tratamento deste tipo de infecção são de longa duração, e contam com baixa adesão pelos pacientes, alternativas vêm sendo pesquisadas para oferecer uma alternativa terapêutica para o tratamento da onicomicose. Dentro deste contexto a TFD vem sendo aplicada com o objetivo de tratar de forma efetiva essas lesões. A presente dissertação de mestrado teve como objetivo central a avaliação clínica da eficácia, bem como da segurança, da aplicação da TFD mediada pela AICIFt encapsulada em nanoemulsões para o tratamento de onicomicoses em seres humanos.

Eficácia

Em relação à eficácia, podemos observar que houve uma melhora clínica completa ou negativação micológica em 7 de 11 pacientes (63,6%) que finalizaram o protocolo, dado aproximado ao da cura média com o tratamento medicamentoso descrita na literatura (65%)[5,20]. Ressaltando que em uma destas pacientes (M.S.P.S) observamos a cura clínica, mas não micológica, e em outra paciente (R.F.O), atingimos uma melhora clínica de 90%, mas já com exame micológico negativo nesse momento.

Ressalta-se que mesmo não atingindo uma melhora completa (100%), a maioria dos pacientes apresentou significativa melhora clínica, mostrando-se satisfeitos com os resultados. Dos quatro pacientes não curados, em 2 (J.E.G.F e R.C.D.R) obteve-se uma melhora de cerca de 80% em termos clínicos, em uma obteve-se melhora de 70% (A.R.O) e em apenas um a melhora foi de apenas 40% (D.C.S). Alguns autores, inclusive, consideram cura clínica quando se atinge uma melhora de 80 a 90% na aparência da unha, mesmo que haja positividade ao exame micológico [20,34]

Convém ressaltar que nos 8 pacientes que ainda seguem em tratamento, já se obteve a cura clínica em um (M.V.G), após 5 sessões; melhora de 90% em outro (O.P.A), também após 5 sessões; melhora clínica de 50% em dois após duas sessões (M.F.P e L.R.P) e em um após 3 sessões (C.R.D). Em um destes pacientes (J.P.D) que seguem em tratamento, obtivemos apenas 40% de melhora após 5 sessões, mas a análise do seu resultado ficou um pouco prejudicada em virtude de o mesmo ter tido um trauma na unha em tratamento, com sangramento subungueal e consequente descolamento e alteração de coloração da unha.

Com base nestes resultados, podemos inferir que há uma tendência à cura clínica caso se persista na realização das sessões de terapia fotodinâmica. A melhora tende a atingir 90% ou 100% entre a quinta e a sétima sessão, podendo ocorrer antes para as unhas das mãos ou em unhas mais finas.

Comparando-se os resultados obtidos com o estudo realizado por Sotiriou et al.[16,19,20,35] com 30 pacientes em protocolo utilizando 5 – ALA sob oclusão por 3 horas, obtivemos uma taxa de cura até o momento superior (63,6% x 43,3%) e com menor tempo de oclusão (15 minutos), demonstrando a vantagem de se utilizar um FS de segunda geração, como a AlumínioCloroFtalocianina, em comparação com os derivados porfirínicos. Todavia, devemos seguir os pacientes por mais tempo, pois a nossa recidiva pode aumentar no decorrer do tempo, já que neste estudo citado, essa taxa de cura foi verificada em até um ano após o tratamento.

Por outro lado, comparando-se os resultados com o estudo realizado por Figueiredo Souza et al em 2014[16,19,36], obtivemos uma taxa de cura inferior (63,6% x 90%). Neste estudo foram tratados 40 pacientes com o corante azul de metileno em solução aquosa a 2%, sob oclusão por apenas 3 minutos, logo após abrasão mecânica da unha, sendo feita irradiação com LED de 630 nm, a uma fluência de 18 j/cm² (irradiância de 100 mW/cm²). Todavia, neste estudo foram realizadas 12 sessões em todos os pacientes, um número bem maior do que as realizadas no nosso protocolo. Dessa forma,

como já discutido acima, ao aumentarmos o número de sessões em nosso protocolo, também observamos uma tendência de cura na maioria dos casos, sendo bastante provável que atingíssemos a taxa de cura evidenciada no trabalho de Figueiredo Souza et al[16,19,36].

Além disso, em outro estudo similar também utilizando o azul de metileno a 2%, com a mesma irradiância, e com uma fluência inclusive superior (36 J/cm^2), só que desta vez comparando o tratamento de pacientes com onicomicose leve a moderada com pacientes com onicomicose severa (22 no total), a taxa de cura obtida foi de 63,3% para os pacientes com onicomicose severa[16,19,37], similar à obtida no nosso protocolo, só que com 12 sessões realizadas, um número bastante superior ao realizado no nosso estudo. Depreende-se mais uma vez dessa análise, que a TFD com a AICIFt pode ser bastante efetiva para o tratamento das onicomicoses, com ajustes de protocolo, particularmente no número de sessões e na melhora da permeação ungueal.

Silva et al[44,45] também obteve cura clínica e micológica com não muitas sessões (5 a 6) ao realizar o tratamento dos dois hálux de um paciente com o derivado porfirínico Photogem[®][44] e de outros dois pacientes com onicomicose nos dedos das mãos com o fotossensibilizador natural curcumina[45] (um paciente tratado com gel de curcumina e o outro com emulsão água/óleo). Todavia, convém ressaltar que, embora tenha obtido a melhora com um número de sessões similar ao encontrado no nosso estudo, os fotossensibilizadores foram ocluídos por uma hora antes do tratamento, tempo muito superior à oclusão com a AICIFt (15 min.), o que evidencia a vantagem do nosso fotossensibilizador nanoestruturado, com maior capacidade de penetração na lâmina ungueal. Além disso, no estudo realizado com a curcumina, foram tratadas as unhas das mãos, com melhora entre 5 e 6 sessões. Nos nossos casos tratados com a AICIFt, obtivemos a melhora das unhas das mãos (mais finas) com apenas 3 a 4 sessões, além da questão do menor tempo de oclusão com o fotossensibilizador.

Também em um estudo maior, Silva et al[46] tratou 90 pacientes, sendo 45 pacientes com solução tópica de curcumina (1,5 mg/ml) e 45 pacientes com o derivado porfirínico Photogem[®] (1mg/ml). Novamente foi utilizada a oclusão por 1 hora dos fotossensibilizadores, sendo realizadas sessões semanais, com uma intensidade de 100mW/cm², em 20 minutos de irradiação. Sendo que para o Photogem[®] utilizou-se o LED de 630 nm e para a curcumina o LED de 450 nm. Nesse estudo, a taxa de cura obtida já foi de 68,8%, aproximando-se da taxa obtida até o momento no nosso estudo. Todavia, para a cura da maioria dos casos foram necessárias entre 16 a 22 sessões, um número bastante elevado. Apenas os casos leves, com menor tempo de evolução, foram solucionados com 2 a 4 sessões. Isso evidencia, mais uma vez, vantagem em se utilizar a nanoemulsão de AICIFt como fotossensibilizador, tendo em vista a tendência em se obter a cura em menos sessões, com menor tempo de oclusão e também menor tempo de irradiação (10 min x 20 min); o que faz muita diferença na prática clínica de consultório, onde se requer agilidade no tratamento dos pacientes. Silva et al, em seus trabalhos[44,45,46], também realizou as sessões semanalmente, o que nos faz pressupor que, caso reduzamos o tempo de aplicação das sessões de TFD com AICIFt (2 semanas no nosso protocolo), podemos obter clareamento das unhas em menor tempo e possivelmente aumentar o efeito fungicida do tratamento, diminuindo o número de recidivas e de recrescimento de hifas não mortas na sessão anterior.

Segurança

Em relação à segurança, pudemos observar que o tratamento foi muito bem tolerado pela maioria dos pacientes, não sendo necessária a interrupção do mesmo em nenhum dos tratamentos realizados (18 pacientes já se submeteram às aplicações). Todos referiram sensação de calor ou ardência local, mas em um nível que permitiu a realização das aplicações com tranquilidade.

Comum em todos os pacientes, um eritema (vermelhidão) leve na região periungueal foi observado após a aplicação. Nenhum deles referiu dor ou outras intercorrências clínicas, como infecção, após as aplicações, fato que indica a segurança na aplicação do protocolo clínico. Em dois casos (C.H.A e J.E.G.F) houve um esfarelamento parcial da lâmina ungueal no local da aplicação. Não ocorreu presença de edema ou ulceração na região tratada em nenhum dos pacientes e não houve casos de cefaleia, palpitações, náuseas, tontura, dispneia ou febre em nenhum dos pacientes. Também não foi necessário o uso de analgésicos.

Na escala de sensação de dor utilizada (0 a10) a maioria dos pacientes (12 pacientes ou 66% do total) apresentou sensação de ardência/queimação leve (1 a 3) durante a aplicação. Cinco pacientes (27,7%) apresentaram sensação de ardência/queimação moderada (4 ou 5) e apenas uma paciente (5,5%) referiu sensação de ardência/queimação intensa (9) durante a aplicação, mas sem necessidade de interrompê-la. Em média, os valores obtidos na escala visual de dor em todas as sessões realizadas (n=50) foi de 2,7. Esse dado é bem inferior ao observado por Sotiriou et al. (2010) [35] que foi de 6,8 para a primeira sessão e 6,4 e 6,5 para a segunda e terceira sessões respectivamente.

Comparando-se com dados da literatura[16,19,20,35], o nosso protocolo também se mostrou mais tolerável em relação aos casos tratados com derivados porfirínicos, nos quais o relato de dor durante a aplicação foi mais evidente, inclusive com necessidade de interrupção das aplicações por vários minutos antes de ser retomada. Por sua vez, os trabalhos realizados por Silva et al[44,45,46] também evidenciaram resultados semelhantes aos nossos, com pouco ou nenhum desconforto relatado pelos pacientes nos tratamentos realizados com curcumina e Photogen®.

Com relação aos exames laboratoriais (hemograma e bioquímica) realizados antes e após o término da participação no protocolo clínico, não houve alteração significativa nos mesmos em nenhum dos pacientes que

terminaram o tratamento até o momento, evidenciando a segurança sistêmica do tratamento com Terapia Fotodinâmica com AICIFt.

Cura Micológica

Em termos de cura micológica, observamos que a mesma ocorreu em apenas 4 dos 10 (40%) pacientes que haviam “terminado” o ciclo de tratamento. Todavia, três destes pacientes (D.C.S, R.C.D.R e J.E.G.F) optaram por terminar o tratamento com antifúngicos orais ou tópicos antes de uma cura clínica total; sendo possível que a cura micológica ocorresse com a persistência do tratamento. Uma das pacientes não realizou o exame micológico logo após o término do tratamento, quando apresentava cura clínica, só realizando o exame no controle tardio após 6 meses, sendo possível que apresentasse cura micológica caso tivesse realizado o exame precoce. Em uma das pacientes (M.S.P.S) obtivemos cura clínica, mas falha na cura micológica.

Recidiva

Com relação à recidiva, dos 7 pacientes que obtiveram a cura clínica ou micológica, em três pacientes observamos recidiva até o momento (42,8%). Em dois pacientes essa recidiva foi precoce (R.F.O.S e M.S.P.S) e em uma paciente (M.B.M.V) a recidiva foi detectada no exame de controle tardio, após 6 meses do término do tratamento. Duas pacientes (M.M.C.S e N.F.O) já foram contactadas para realização do exame de controle após 6 meses do término do tratamento.

Essa alta presença de recidiva está acima do relatado na literatura (20 a 27%) para o tratamento padrão medicamentoso[16,34], o que justifica a introdução de algum tratamento preventivo após o término das sessões de TFD. Muito embora, em alguns trabalhos há referência a taxas de recorrência entre 10 a 50%[47], o que nos colocaria na média. Na prática clínica as recidivas também são frequentes e normalmente são utilizados esmaltes

antifúngicos (amorolfina ou ciclopirox olamina) em aplicação semanal como forma de tratamento preventivo.

Uma das hipóteses para explicar essa maior taxa de recidiva seria a possibilidade de a TFD com AICIFt estar tendo na maioria das vezes um efeito fungistático sobre as estruturas fúngicas, em vez de fungicida, como citado no estudo in vitro com *Trichophyton rubrum* realizado por Smijs et al[16,38]. Isso foi também uma percepção prática, uma vez que, em alguns casos, quando o paciente retornava após duas semanas, notava-se uma leve piora na coloração em algumas partes da unha. Isso justifica mais ainda um ajuste no protocolo, no sentido de associar um antifúngico tópico entre as sessões ou mesmo durante a sessão, como forma de aumentar o efeito fungicida do tratamento.

Praticidade

Comparando o nosso protocolo com os trabalhos realizados por Sotiriou et al (entre outros com derivados porfirínicos)[16,19,20,35] e com os protocolos de Silva et al[44,45,46], o nosso mostrou ser o mais prático a ser realizado em um consultório, em virtude do muito menor tempo de oclusão do fotossensibilizador. O protocolo de Figueiredo Souza[16,19,36] seria superior, por ser realizado com uma oclusão de apenas 3 minutos. Todavia, o número de sessões para finalizar o tratamento foi bastante superior ao nosso (12x7), o que acaba por tornar o tratamento cansativo, aumentando o número de desistências. Dessa forma, o uso da nanoemulsão de AICIFt como fotossensibilizador parece inicialmente despontar como ideal, ao aliar um alto rendimento quântico do fotossensibilizador, com baixo número de sessões de tratamento e com um também baixo tempo de oclusão para penetração nos tecidos ungueais (15 minutos).

Já com relação ao equipamento ideal para fazer a aplicação da terapia fotodinâmica no aparelho ungueal, a metodologia desenvolvida por Silva et al[46,48] mostrou ser de grande valia e praticidade no dia a dia, já que foram desenvolvidos dois protótipos com várias pequenas cabeças adaptadas ao

formato das unhas, um deles inclusive com velcro, que permite uma adaptação ainda melhor a unhas de tamanhos diferentes. Esse equipamento tem a grande vantagem de permitir a aplicação em várias unhas simultaneamente, e com precisão, tornando mais factível o tratamento de pacientes com várias unhas acometidas. Essa foi uma grande dificuldade de ordem prática no nosso trabalho, já que o nosso aparelho não permitia o tratamento de unhas distantes ao mesmo tempo, aumentando o tempo de aplicação em pacientes que precisavam tratar mais de uma unha ao mesmo tempo.

6. Considerações finais e perspectivas

Tendo em vista os resultados obtidos até o momento, acreditamos ser a terapia fotodinâmica uma alternativa útil no tratamento das onicomicoses pelos seguintes motivos[15,16,20]:

1- Apresenta amplo espectro de ação, já que um mesmo fotossensibilizador pode ser utilizado para tratar diferentes espécies de fungos.

2- Possibilidade de eficácia independente do padrão de resistência antimicrobiana dos patógenos presentes no sítio de infecção, já que atua através da ação direta das espécies reativas de oxigênio, resultando em necrose ou apoptose. Ao mesmo tempo, não foi demonstrada até o momento surgimento de resistência microbiana com o uso da Terapia Fotodinâmica.

3- O fato de ser um tratamento local, sem os inconvenientes do uso dos antifúngicos orais, com possibilidade de hepatotoxicidade, interações medicamentosas e efeitos colaterais como náuseas e cefaleia. No nosso protocolo em particular, evidenciou-se ainda segurança, sem dano aos tecidos sadios adjacentes (apenas leve eritema) e boa tolerância durante a aplicação. O menor tempo de oclusão do componente nanoestruturado com AlumínioCloroFtalocianina (15 minutos) torna mais factível a execução do tratamento na prática clínica diária, em comparação ao tempo de oclusão com os derivados porfirínicos (3 horas).

4- Possibilidade de ser associada com outros tratamentos antimicóticos existentes no mercado, objetivando aumento da eficácia e redução das recidivas pós-tratamento.

Dentro dessa linha abordada no item 4, como forma de melhorar a eficácia e, principalmente, diminuir as recidivas com o protocolo adotado neste trabalho, algumas ações podem ser implementadas em um novo projeto de tratamento com terapia fotodinâmica:

a) Associar um esmalte antifúngico (ciclopirox olamina 8% ou amorolfina 5%) que seria aplicado entre as sessões de Terapia Fotodinâmica, tendo em vista que alguns pacientes voltavam apresentando ligeira piora clínica após a última sessão. Diminuir o intervalo das aplicações de bissemanal para semanal, também com o mesmo intuito, evitando o recrescimento de hifas não mortas na sessão anterior.

b) Desenvolver um agente nanoestruturado que, além de carrear a AlumínioCloroFtalocinina, possa carrear também uma agente antifúngico que seja deixado no leito ungueal, com capacidade de atingir as células fúngicas, logo após a aplicação da Terapia Fotodinâmica, como forma de aumentar a eficácia do tratamento. Isso se torna particularmente importante tendo em vista que, mesmo que as estruturas fúngicas não sejam completamente mortas após a aplicação, elas tornam-se mais suscetíveis aos agentes terapêuticos, em virtude das alterações celulares provocadas durante a terapia fotodinâmica.

c) Desenvolver uma formulação com maior capacidade de penetração na lâmina de queratina ungueal, de forma a atingir em maior concentração as células fúngicas, visando diminuir o número de sessões necessárias para o tratamento. Uma das possibilidades com boa viabilidade prática seria o uso do DMSO (dimetilsulfóxido) como veículo carreador da nanoemulsão de AICIFt. Silva et al[45] solubilizou o fotossensibilizador curcumina em dimetilsulfóxido com sucesso em formulações em gel e emulsão água/óleo.

Nesse sentido, vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver agentes, substâncias ou equipamentos capazes de permear melhor a lâmina ungueal, uma vez que a mesma é formada por 25 camadas densas de queratina fortemente aderidas, ricas em pontes de enxofre (S-S)[39], o que dificulta sobremaneira a penetração dos agentes terapêuticos. Dentro dessa linha, algumas substâncias químicas mostraram capacidade de quebra das pontes de enxofre da queratina, aumentando a permeação da lâmina ungueal, como o ácido tioglicólico seguido da aplicação de ureia H_2O_2 , o ácido salicílico, ácido láctico, o sulfato de sódio e também a ureia isolada[39].

A própria água, em virtude da hidratação da queratina, demonstrou aumentar a penetração de substâncias pela lâmina queratinizada, evidenciando a superioridade de formulações e esmaltes aquosos em detrimento dos vinílicos. As substâncias fosfato de sódio, fosfato de cálcio e fosfato de potássio mostraram capacidade de aumentar em até 5 vezes a penetração de terbinafina na lâmina ungueal[39].

Entre os equipamentos, os aparelhos de iontoforese aumentaram a permeação de terbinafina na lâmina ungueal e o laser de CO₂ também mostrou aumento da porosidade na lâmina ungueal, além de ter atividade fungicida[39,47]. O trabalho de Oliveira et al[40] evidenciou cura micológica em todos os 7 pacientes submetidos a duas sessões associadas de laser de CO₂ e de terapia fotodinâmica com cloridrato de aminolevulinato de metila a 16% (oclusão por 2 horas) com intervalo de 60 dias e clareamento clínico de 78% dos quadrantes ungueais acometidos. Todavia, considerando-se a lâmina ungueal inteira, evidenciou clareamento clínico completo só em 43% das unhas tratadas.

d) Manter um tratamento tópico antifúngico (esmalte com ciclopirox olamina 8% ou amorolfina 5%) após o término das sessões, de forma a prevenir as recidivas após o tratamento com Terapia Fotodinâmica. Tal prática já é adotada na prática clínica após o término do tratamento com as medicações por via oral.

7. Conclusão

Pode-se concluir, com base nos diversos trabalhos analisados e na experiência clínica com este trabalho em particular, que a terapia fotodinâmica é sim uma alternativa terapêutica para o tratamento dos pacientes com onicomicose, principalmente naqueles com poucas unhas acometidas, o que torna mais prática a realização do procedimento no dia a dia de um consultório de dermatologia. É uma alternativa particularmente útil naqueles pacientes já em uso de várias medicações sistêmicas ou com comprometimento hepático ou renal, o que dificulta sobremaneira a utilização por vários meses de um antifúngico oral. A terapia fotodinâmica mostrou em vários casos uma taxa de cura similar ou superior ao tratamento medicamentoso padrão, todavia, o protocolo ideal e o melhor fotossensibilizador ainda necessitam de trabalhos mais extensos, controlados, para serem descobertos.

Em relação ao protocolo realizado no nosso estudo, entre as suas vantagens, podemos citar o baixo tempo necessário para incubação com o fotossensibilizador (15 minutos), uma taxa de cura clínica similar à média do tratamento padrão medicamentoso e várias curas obtidas com um número não tão grande de sessões. Todavia, mostra-se necessário melhorar a permeação ungueal e também realizar a associação com agentes antifúngicos locais para aumentar o efeito fungicida do tratamento, objetivando reduzir as taxas de recidiva em curto prazo, assim como diminuir ainda mais o número de sessões, de forma a aumentar a aderência ao tratamento e a praticidade de execução do mesmo no dia a dia de um ambulatório de dermatologia.

8. Referências

1. de Berker, D., *Nail anatomy*. Clinics in dermatology, 31.5 (2013): p. 509-515.
2. Piraccini, Bianca Maria. "Nail Anatomy and Physiology for the Clinician." *Nail Disorders*. Springer Milan, (2014): p. 1-6.
3. Ramos-e-Silva, Marcia, and Maria Cristina Ribeiro de Castro. *Fundamentos de dermatologia*. Atheneu, (2008): p.1863-1896.
4. Sampaio, Sebastião AP, and E. A. Rivitti. "Dermatologia. 3ª edição." (2008): p.523-526.
5. Westerberg, Dyanne P., and Michael J. Voyack. "Onychomycosis: Current trends in diagnosis and treatment." *American family physician* 88.11 (2013):762-770
6. Grover, Chander, and Ananta Khurana. "Onychomycosis: newer insights in pathogenesis and diagnosis." *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology* 78.3 (2012): 263.
7. Elewski, Boni E., et al. "Onychomycosis: an overview." *Journal of drugs in dermatology: JDD* 12.7 (2013): s96-103.
8. Blake, Nell, et al. "A Retrospective Review of Diagnostic Testing for Onychomycosis of the Foot." *Journal of the American Podiatric Medical Association* 105.6 (2015): 503-508.
9. Ribeiro, Clarissa Santos de Carvalho, et al. "Descriptive study of onychomycosis in a hospital in São Paulo." *Brazilian Journal of Microbiology* 46.2 (2015): 485-492.
10. Pajaziti, Laura, and Ermira Vasili. "Treatment of Onychomycosis—a Clinical Study." *Medical Archives* 69.3 (2015): 173.
11. Piraccini, B. M., and C. Gianni. "Update on the management of onychomycosis." *G Ital Dermatol Venereol* 148.6 (2013): 633-638.
12. Amichai, Boaz, and Marcelo H. Grunwald. "Adverse drug reactions of the new oral antifungal agents—terbinafine, fluconazole, and itraconazole." *International journal of dermatology* 37.6 (1998): 410-415.
13. Gupta, Aditya K., Maryse Paquet, and Fiona C. Simpson. "Therapies for the treatment of onychomycosis." *Clinics in dermatology* 31.5 (2013): 544-554.
14. Kao, Wei-Yu, et al. "Risk of oral antifungal agent-induced liver injury in Taiwanese." *British journal of clinical pharmacology* 77.1 (2014): 180-189.
15. Donnelly, Ryan F., Paul A. McCarron, and Michael M. Tunney. "Antifungal photodynamic therapy." *Microbiological research* 163.1 (2008): 1-12.

16. Robres, P., et al. "Usefulness of Photodynamic Therapy in the Management of Onychomycosis." *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)* 106.10 (2015): 795-805.
17. Plaetzer, K., et al. "Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects." *Lasers in medical science* 24.2 (2009): 259-268.
18. Allison, Ron R., and Claudio H. Sibata. "Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review." *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 7.2 (2010): 61-75.
19. Simmons, B. J., et al. "An update on photodynamic therapies in the treatment of onychomycosis." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 29.7 (2015): 1275-1279.
20. Becker, Caitlin, and Andrea Bershow. "Lasers and photodynamic therapy in the treatment of onychomycosis: a review of the literature." *Dermatology online journal* 19.9 (2013): 1-5
21. Aspiroz, Carmen, et al. "Terapia fotodinámica aplicada al tratamiento de las onicomicosis. Presentación de un caso y revisión de la literatura." *Revista Iberoamericana de Micología* 28.4 (2011): 191-193.
22. Longo, João Paulo F., et al. "Photodynamic therapy disinfection of carious tissue mediated by aluminum-chloride-phthalocyanine entrapped in cationic liposomes: an in vitro and clinical study." *Lasers in medical science* 27.3 (2012): 575-584.
23. Junqueira, Juliana Campos, et al. "Photodynamic inactivation of biofilms formed by *Candida* spp., *Trichosporon mucoides*, and *Kodamaea ohmeri* by cationic nanoemulsion of zinc 2, 9, 16, 23-tetrakis (phenylthio)-29H, 31H-phthalocyanine (ZnPc)." *Lasers in medical science* 27.6 (2012): 1205-1212.
24. Amorim, José Cláudio Faria, et al. "Phototoxic action of light emitting diode in the in vitro viability of *Trichophyton rubrum*." *Anais brasileiros de dermatologia* 87.2 (2012): 250-255.
25. Mattiello, Fabiano Dalla Lana, et al. "In vitro effect of photodynamic therapy on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Streptococcus sanguinis*." *Brazilian dental journal* 22.5 (2011): 398-403.
26. Smijs, Threes GM, and Stan Pavel. "The susceptibility of dermatophytes to photodynamic treatment with special focus on *Trichophyton rubrum*." *Photochemistry and photobiology* 87.1 (2011): 2-13.
27. Galvão, Luiz Eduardo Garcia, et al. "Experiência na terapia fotodinâmica com cloridrato de aminolevulinato de metila para queratose actínica e neoplasia cutânea não melanocítica." *Surg. cosmet. dermatol.(Impr.)* 2.4 (2010): 285-290
28. Longo, João Paulo Figueiró, et al. "Photodynamic therapy with aluminum-chlorophthalocyanine induces necrosis and vascular damage in mice tongue tumors." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 94.2 (2009): 143-146.

- 29.Rocha, Martha ST, et al. "Aluminum-chloride-phthalocyanine encapsulated in liposomes: activity against naturally occurring dog breast cancer cells." *Journal of biomedical nanotechnology* 8.2 (2012): 251-257.
- 30.Longo, João Paulo Figueiró, et al. "Photodynamic therapy mediated by liposomal chloroaluminum-phthalocyanine induces necrosis in oral cancer cells." *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering* 3.1 (2013): 148-156.
- 31.Tapajós, E. C. C., et al. "In vitro photodynamic therapy on human oral keratinocytes using chloroaluminum-phthalocyanine." *Oral oncology* 44.11 (2008): 1073-1079.32.
- 32.Figueiró Longo, J. P., et al. "Effects of photodynamic therapy mediated by liposomal aluminum-phthalocyanine chloride on chemically induced tongue tumors." *Chemotherapy* 1.103 (2012): 2.
- 33.Bicalho, Leandro Santos, et al. "Photodynamic therapy leads to complete remission of tongue tumors and inhibits metastases to regional lymph nodes." *Journal of biomedical nanotechnology* 9.5 (2013): 811-818.
- 34.Ortiz, Arisa E., Mathew M. Avram, and Molly A. Wanner. "A review of lasers and light for the treatment of onychomycosis." *Lasers in surgery and medicine* 46.2 (2014): 117-124.
- 35.Sotiriou, Eleni, et al. "Photodynamic therapy for distal and lateral subungual toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: Preliminary results of a single-centre open trial." *Acta dermato-venereologica* 90.2 (2010): 216-217.
- 36.Figueiredo Souza, L. W., S. V. T. Souza, and A. C. C. Botelho. "Randomized controlled trial comparing photodynamic therapy based on methylene blue dye and fluconazole for toenail onychomycosis." *Dermatologic therapy* 27.1 (2014): 43-47.
- 37.Souza, Linton Wallis Figueiredo, Simone Vilas Trancoso Souza, and Ana Cristina de Carvalho Botelho. "Distal and lateral toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye." *Anais brasileiros de dermatologia* 89.1 (2014): 184-186.
- 38.Smijs, Threes GM, and Hans J. Schuitmaker. "Photodynamic inactivation of the dermatophyte *Trichophyton rubrum*." *Photochemistry and photobiology* 77.5 (2003): 556-560.
- 39.Bhuptani, Ronak S., Ketaki M. Deshpande, and Vandana B. Patravale. "Transungual permeation: current insights." *Drug delivery and translational research* (2015): 1-14.
- 40.Oliveira, Guilherme Bueno de, et al. "The association of fractional CO2 laser 10.600 nm and photodynamic therapy in the treatment of onychomycosis." *Anais brasileiros de dermatologia* 90.4 (2015): 468-471.
- 41.Gupta, Aditya K., H. Irving Katz, and Neil H. Shear. "Drug interactions with itraconazole, fluconazole, and terbinafine and their management." *Journal of the American Academy of Dermatology* 41.2 (1999): 237-249.
- 42.http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4085. Acesso em maio 2016.

43.<http://www.micologia.com.br/onicomiose.shtml>. Acesso em maio 2016.

44.da Silva, Ana Paula, et al. "Fast elimination of onychomycosis by hematoporphyrin derivative-photodynamic therapy." *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 10.3 (2013): 328-330.

45.da Silva, Ana Paula, et al. "A Promising Strategy for the Treatment of Onychomycosis with Curcumin and Photodynamic Therapy." *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3 (2015): 434-437.

46.Silva, Ana Paula da. *Inativação dos micro-organismos causadores da onicomiose por terapia fotodinâmica-estudo in vitro e clínico*. Diss. Universidade de São Paulo (2013): 1-121.

47.Berhardt, Leon V. "Advances in Medicine and Biology." *Nova Biomedical* 91 (2015): 61-81

48.da Silva, Ana Paula, et al. "Development and comparison of two devices for treatment of onychomycosis by photodynamic therapy." *Journal of biomedical optics* 20.6 (2015): 061109-061109-6.

Anexo 1 – Comprovante de Aprovação pelo CEP da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA -
UNB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ensaio Clínico para Avaliação da Segurança e Eficácia da Terapia Fotodinâmica no Tratamento de Pacientes com Onicomicose

Pesquisador: João Paulo Figueiró Longo

Área Temática:

Versão:

CAAE: 32301214.9.0000.5558

Instituição Proponente: Instituto de Biologia da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: Instituto de Biologia da Universidade de Brasília

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 735.734

Data da Relatoria: 25/08/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de estudo clínico Fase I - elaborado no âmbito do Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Nanobiotecnologia do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília -, aberto, não randomizado, escalonado, de não-inferioridade, com o objetivo de apurar se a aplicação da Terapia Fotodinâmica mediada pela Alumínio-Cloro-Ftalocianina (AlClFt) ou pela Nanoemulsão de Açai "não é menos eficaz que o tratamento considerado padrão" (Uso de antifúngico oral e tópico por um período de 3 a 6 meses) para cura das onicomicoses. O estudo será realizado com três grupos experimentais: (A) grupo controle (30 pacientes), que receberá tratamento padrão: Terbinafina 250 mg/dia (via oral), associada ao uso de Amorolfina ou Ciclopirox Olamina esmalte, uma vez por semana, por um período de 3 a 6 meses; (B) grupo tratado com TFD (30 pacientes) mediada pela AlClFt; (C) grupo tratado com TFD (30 pacientes) mediada pela Nanoemulsão de Açai. Serão selecionados 90 indivíduos que procurarem o ambulatório de Dermatologia do Centro Dermatológico de Brasília e do Centro Dermatológico de Ceilândia (Clínicas privadas) sem distinção de sexo, distribuídos igualmente nos três grupos de tratamento, todos maiores de 18 anos, com diagnóstico clínico e micológico de onicomicose (exame micológico direto e cultura realizados em parceria com o Laboratório Sabin).

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** fmd@unb.br

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA -
UNB



Continuação do Parecer: 725.734

Recomendações:

Nihil.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Parecer conclusivo pela aprovação do projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto corresponde ao estudo clínico, tem objetivos bem estabelecidos apresenta risco mínimo para os pacientes, com benefícios superiores a esses. Os documentos apresentados estão de acordo da Resolução 466/2012 do CNS. Apresenta TCLE adequado o que assegura a autonomia do paciente. O comitê após apreciar o parecer do relator, teve parecer favorável a apreciação.

BRASILIA, 01 de Agosto de 2014

Assinado por:
Florêncio Figueiredo Cavalcanti Neto
(Coordenador)

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900
UF: DF Município: BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 E-mail: fmd@unb.br

Página 04 de 04

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Você está convidado (a) a participar como voluntário (a) da pesquisa “Avaliação da eficácia e segurança da Terapia Fotodinâmica mediada por nanoemulsão de AlumínioCloroFtalocianina em comparação ao tratamento padrão da onicomicose”.

Os motivos que nos levam a estudar novas alternativas ao tratamento da onicomicose é o fato da mesma ser uma patologia bastante frequente, comprometendo a qualidade de vida das pessoas (impedindo a entrada em ambientes de piscina coletivos, além de predispor ao encravamento da unha e infecções bacterianas secundárias no local), constituindo-se por essa razão em importante problema de saúde pública no país. Além disso, o seu tratamento padrão é baseado no uso de antifúngicos orais e tópicos por meses; sendo tais medicações potencialmente hepatotóxicas e com diversas interações medicamentosas, o que torna difícil o seu uso em pacientes já com alguma morbidade (hepatopatia, cardiopatia, neuropatia) e que fazem uso de outras medicações orais.

A pesquisa se justifica também porque estudos científicos sobre o uso da Terapia Fotodinâmica no tratamento de doenças da pele têm demonstrado bons resultados e na medida em que medicações de uso local e ativadas por laser são desenvolvidas especialmente para essa modalidade de tratamento.

O objetivo da pesquisa acima nomeada é avaliar os efeitos clínicos da associação da nanoemulsão de AlumínioCloroFtalocianina, comparando seus resultados com aqueles obtidos no tratamento padrão da onicomicose com antifúngicos orais e tópicos.

Para comprovação do diagnóstico e a confirmação da cura clínica da doença, no início e no final do tratamento serão realizados exames micológicos que serão examinados em laboratório. Durante o tratamento também serão realizados exames de sangue como forma de comprovar a segurança do mesmo.

O tratamento com a Terapia Fotodinâmica associada a nanoemulsão de AlumínioCloroFtalocianina consiste das seguintes etapas: a) limpeza e

abrasão superficial das unhas diagnosticadas; b) administração local da nanoemulsão; c) exposição da lesão ao laser; d) curativo e prescrição de analgésico por via oral em caso de dor local. Após o tratamento serão marcadas consultas para acompanhamento clínico da evolução até a alta do tratamento.

Existe a possibilidade de você sentir desconforto no local tratado, caracterizado por um ou mais dos seguintes sintomas: ferimento, dor, vermelhidão, inchaço, queimadura ou formigamento.

Você será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper sua participação a qualquer momento. Sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer prejuízo aos seus direitos.

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Todos os resultados dos seus exames permanecerão confidenciais, mas acessíveis para você, e serão utilizados apenas nesta pesquisa. Seu nome ou o material que indique a sua participação nunca será liberado sem a sua permissão por escrito. Você não será identificado (a) em nenhuma publicação ou apresentação científica que possa resultar deste estudo.

A participação no estudo não acarretará custos para você, e não lhe será disponibilizado qualquer compensação financeira adicional. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), você terá garantido tratamento no Centro Dermatológico de Brasília, ou em outra unidade da rede hospitalar do Sistema Único de Saúde que for indicada, assim como às compensações legalmente asseguradas.

Uma cópia deste consentimento informado, assinada por você, pelo pesquisador e testemunha, será arquivada no Centro Dermatológico de Brasília e outra lhe será fornecida.

Eu, _____ fui informada (o) dos objetivos desta pesquisa de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e rever minha decisão se assim o desejar. Ficaram claros para mim quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos e as garantias de confidencialidade das informações.

Anexo 3 – Critérios de Inclusão e Exclusão e Check List (consulta inicial).

CONSULTA 1 - DIA 0

CHECKLIST

- CRITÉRIOS DE INCLUSÃO
- CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
- ANAMNESE E EXAME FÍSICO
- MEDICAMENTOS E DOENÇAS CONCOMITANTES.
- TCLE
- SOLICITAÇÃO DE EXAMES
 - SANGUE: HEMOGRAMA
 - BIOQUÍMICA: TGO, TGP, GAMA GT, BILIRRUBINAS, UREIA, CREATININA, BETA HCG
 - EXAME MICOLÓGICO DIRETO E CULTURA.

Critérios de Elegibilidade

O paciente preencheu os critérios de elegibilidade previstos no protocolo?

Por favor assinale  as respostas no quadro especificado.

Critérios de Inclusão

Se qualquer das perguntas forem respondidas com NÃO, o paciente

NÃO É APTO a ser incluído em qualquer grupo deste estudo.

SIM/NÃO

1. Maior de 18 anos		
2. Diagnóstico clínico e micológico de onicomicose.		
3. Sem uso de antimicóticos tópicos ou sistêmicos nos últimos 6 meses.		
4. Consentimento Livre e Esclarecido assinado.		
5. Paciente pós menopausa ou cirurgicamente estéril.		
6. Teste de Gravidez negativo		
7. Paciente feminina utiliza 2 tipos de controle de natalidade		

Número do Protocolo	Número de Registro CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxxxx/xx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				DIA M E S ANO



() **PACIENTE EXCLUÍDO**

Critérios de Elegibilidade

O paciente preencheu os critérios de elegibilidade previstos no protocolo?

Por favor assinale as respostas no quadro especificado.

Critérios de Exclusão

Não disponibilidade para participar do ensaio clínico		
Diagnóstico de gravidez, vigência de período de amamentação e desejo de engravidar no período do ensaio clínico e em até 30 dias após o recebimento da última dose do fármaco;		
Presença de significativa neuropatia/vasculopatia periférica ou lesões cutâneas periungueais que possam dificultar a cicatrização pós Terapia Fotodinâmica		
História de doença psiquiátrica ou neurológica que possam prejudicar a capacidade do paciente de compreender ou de cumprir os requisitos do estudo, ou		

Número do Protocolo	Número de Registro Cacon	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
Xxxx/xx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

para fornecer o consentimento informado;		
Uso de medicamento fotossensibilizante por até 4 semanas anteriores à seleção;		
Participação em pesquisa clínica ou uso de terapêutica experimental nos 30 dias anteriores à fase de seleção do presente estudo.		
Uso de medicamentos que alterem a cicatrização da pele, ou que possam alterar a coagulação. História clínica de Distúrbio de coagulação.		
Participação em pesquisa clínica ou uso de outra terapêutica experimental .		
História de Lúpus Eritematoso ou de qualquer quadro de Fotossensibilidade que possa levar a reação exacerbada com o uso de Terapia Fotodinâmica		

Se qualquer das perguntas forem respondidas com SIM, o paciente

NÃO É APTO a ser incluído em qualquer grupo deste estudo.



() **PACIENTE EXCLUÍDO**

Data do Consentimento

Informado:

Dia mês Ano

Declaro que avaliei o paciente e chequei os critérios de inclusão e exclusão. Foi lido e obtida a assinatura do paciente no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O paciente é clinicamente elegível para ser incluído neste estudo.

Assinatura e carimbo do investigador clínico (médico), data e hora.

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Day Month Year			Day Month Year

Demografia e Avaliação de Sintomas Gerais

Data de Nascimento	<input type="text"/>	Sexo	<input type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Femenino
	Day Month Year			
Naturalidade	Estado:	Procedência		
	Cidade:	Cidade:		
O paciente refere alguma queixa relevante, além da onicomiose?				
<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Assinalar somente se frequentes		
<i>SE SIM, por favor enumerar e registre em termos diagnósticos:</i>				
Cefaléia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Zumbido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Náusea	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Vômitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Diarréia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Dor Abdominal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Palpitação	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Calafrios/ tremor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Dispnéia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/> Day Month Year

Others Especifique: _____

Exame Físico e Avaliação de Relacionados à Lesão

Temperatura °C Método Axilar Oral Retal (assinalar um)

Usar o mesmo método durante todo o estudo

Peso kg.

Localização anatômica(unhas afetadas):

Extensão do acometimento ungueal em milímetros (Comp. x Larg.) :

Fotografia de lesão anexada ao prontuário() sim

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

Uso de Medicções

Obter resposta a partir da pergunta: "Você está tomando alguma medicaçõa?"

Sim

Nãa

Se a resposta for sim, por favor detalhe a base farmacol3gica, forma, dosagem, posologia, tempo de uso e indicaçãa.

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

Registro dos Resultados do Hemograma, Bioquímica e Exame Micológico

1. Hemograma e Bioquímica:

2. Exame Micológico

Anexo 4– Escala visual de dor e avaliação de efeitos adversos na aplicação da terapia fotodinâmica.

CONSULTA 2 – DIA 1

CHECKLIST

- EXAME MICOLÓGICO POSITIVO
- TERAPIA FOTODINÂMICA*
- EFEITOS ADVERSOS

* Procedimento que será repetido com intervalo de 15 dias, por três vezes.

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Day Month Year

Procedimento Terapêutico: Terapia Fotodinâmica + Nanoemulsão de Alumínio-Cloro-Ftalocianina.

Hora de **início** do procedimento :

Temperatura °C Método Axilar Oral Retal (assinalar um)

Usar o mesmo método durante todo o estudo

Hora de **término** do procedimento :

Temperatura °C Método Axilar Oral Retal (assinalar um)

Usar o mesmo método durante todo o estudo

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA TOXICIDADE LOCAL

Paciente referiu queixa **durante** o procedimento Não Sim

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

Se **Sim**, favor identificar

Sensação de calor local

Eritema

Dor tipo () ardor () queimação () formigamento () ferroada () pulsátil

Paciente deverá idencicara intensidade dolorosa

com base na escala visual-analógica – EVA: _____

Edema

Ulceração

Prurido local

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA TOXICIDADE SISTÊMICA

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

Sintomatologia **durante** o procedimento Não Sim

Sintomatologia **em até 1 hora após** o procedimento Não Sim

Náuseas

Vômitos

Dispneia

Palpitação

Artralgia

Mialgia

Cefaléia

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
				Day Month Year

Tontei^{ras}

Zumbido auditivo

Febre (temperatura acima de 37,5° C)

Outro a descrever:

Houve adoção de medida terapêutica para tratamento do sintoma referido

Não Sim

Em caso de **Sim**, favor descrever as Medidas adotadas:

Número do Protocolo	Número de Registro no CDB	Número de Registro do Paciente (Protocolo)	Iniciais do Paciente	
xxxx/xxx	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Day Month Year

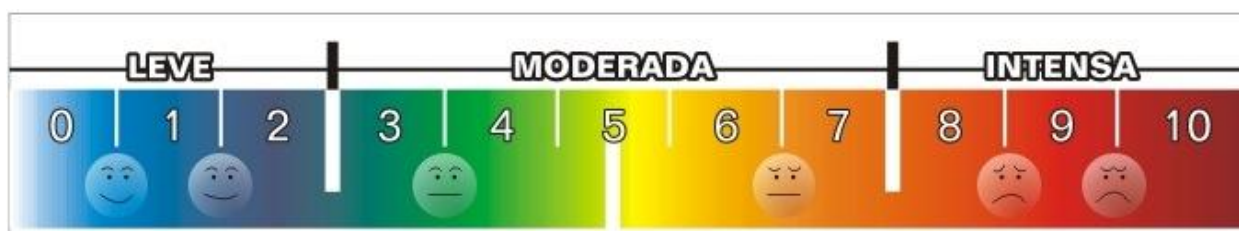
Houve melhora dos sintomas após 1 hora do procedimento? Não Sim

Prescrição de medicação sintomática para uso em casa? Não Sim

Se **Sim**, favor descrever:

Protocolo	Número CDB	Paciente Numero	Paciente Iniciais	EFEITOS ADVERSOS SEVEROS
xxxx/xx	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	

ESCALA VISUAL – ANALÓGICA (EVA)



ATENÇÃO: em caso de evento adverso grave fazer o registro em formulário identificado.

Protocolo	Número CBD	Número Paciente	Paciente Iniciais	EFEITO ADVERSO SÉRIO										
xxxx/xx	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				

