UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA

CAROLINE AMÉLIA GONÇALVES

**Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de
pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao
Papilomavírus humano (HPV): revisão sistemática**

RIBEIRÃO PRETO

2019

CAROLINE AMÉLIA GONÇALVES

Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao Papilomavírus humano (HPV): revisão sistemática

Versão Corrigida

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em Saúde Pública.

Linha de Pesquisa: Genômica e Imunobiologia aplicadas à Saúde Pública

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Silva Bisson

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Gonçalves, Caroline Amélia

Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao Papilomavírus humano (HPV): revisão sistemática. Ribeirão Preto, 2019.

306 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem em Saúde Pública.

Orientador: Gabriela Silva Bisson

1. HPV. 2. Vacinas. 3. Neoplasias. 4. Imunogenicidade da vacina. 5. Eficácia da vacina.]].

FOLHA DE APROVAÇÃO

Caroline Amélia Gonçalves

“Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao Papilomavírus humano (HPV): revisão sistemática”

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em Saúde Pública.

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Silva Bisson.

APROVADA EM: ____/____/____

Banca Examinadora

Profa Dra Gabriela Silva Bisson

Instituição: EERP/USP Ribeirão Preto **Assinatura:** _____

Prof. Dr.

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr.

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr.

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

DEDICATÓRIA

Para Paulo César Morales Mayer por todo apoio, compreensão, carinho e paciência durante todo esse processo, para toda minha família por todo suporte durante todo esse período e para todas as mulheres com neoplasia intraepitelial cervical.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus pela oportunidade que me foi dada de realizar um doutorado que favoreceu imensamente meu crescimento profissional e pessoal. Mesmo diante de várias adversidades no caminho, Ele me fez superar todas elas através de pessoas que colocou em meu caminho durante toda essa jornada, das quais serei eternamente grata. Essas pessoas me deram forças para que chegasse até o fim, não me deixaram desistir e me mostraram um lado humano e admirável que muitas vezes são contrastantes com o que vivemos na pós-graduação ou no nosso ambiente de trabalho.

Luís Carlos Lopes Júnior, se eu cheguei até aqui, você foi um dos maiores responsáveis por isso. Você deu toda a base para tornar esse estudo possível e me deu forças para continuar mesmo quando eu havia desistido. Você é uma pessoa admirável que mesmo com toda sua grandeza, nunca perdeu a humildade e a gentileza, mesmo com todas as suas forças esgotadas e sobrecargas de trabalhos, você esteve presente. Qualquer conquista que você tiver ainda será pequena pela grandiosidade do ser humano que você é.

À minha orientadora, Gabriela Silva Bisson, meu eterno agradecimento por ter possibilitado que eu realizasse esse processo. Você me acolheu e me ensinou com ternura, compreendeu todas as minhas dificuldades, me auxiliou sempre que eu precisei da maneira mais Gabi de ser, doce e iluminada, e serviu de inspiração não só pelo lado profissional, mas, também como pessoa.

Ao meu companheiro de jornada desde o início do processo, Paulo César Morales Mayer, obrigada por todo apoio, pela paciência, pelo incentivo constante quando eu não acreditei em mim e por todo amor depositado mesmo quando eu menos merecia. Você me deu suporte e auxílio em todos os momentos, de todas as formas, foi uma pessoa ímpar nesse processo que sempre buscou me proporcionar o melhor para amenizar todas as dificuldades.

À minha grande amiga que sempre esteve comigo na mesma jornada, Ivanéliza Simionato de Assis, que compartilhou vários momentos de alegria, de surtos, de ansiedade e conseguimos transformar em sorrisos e sushis.

Ao Marcos Arcoverde por ter me acolhido durante um período do estágio e por todo auxílio que me deu durante o depósito do projeto de qualificação, apesar de todo estresse do período, me permitiu momentos que renderam risadas.

À minha amiga/ex-professora/ex-orientadora/ex-co-orientadora Adriana Zilly, que me incentivou a participar desse processo mesmo quando eu perdi o interesse de participar da seleção.

À professora Susana Segura Muñoz por todo apoio durante todo o doutorado, por toda palavra de apoio e pelos poucos (infelizmente), porém, bons momentos de conversas e risadas.

A toda minha família, meu porto seguro, que mesmo distantes sempre me apoiaram e me deram forças para continuar, amo todos vocês imensamente. E se tratando de família, não poderia deixar de agradecer meus felinos Bacon e Cheetos por toda alegria que me proporcionaram nessa fase, amenizando diversos momentos de tristeza e por toda parceria principalmente durante às madrugadas.

À minha mãe, que mesmo não estando mais presente nesse plano espiritual, sei que me amparou e me auxiliou em diversos momentos de dificuldades, obrigada pela sua presença constante em minha vida.

Aos meus amigos Bianca e Diego por todo carinho que tiveram comigo durante essa fase e por todos os doces que amenizaram a minha extrema ansiedade, vocês são muito importantes para mim.

À minha querida amiga Manu pelo auxílio na elaboração da tese através da sua sabedoria nativa do espanhol.

Pelas minhas amigas Juliana e Débora que entenderam minha ausência e estavam sempre prontas para me ouvir nos momentos de dificuldade, obrigada pela amizade sincera.

À fundação parque tecnológico de Itaipu (FPTI), pela concessão da bolsa que auxiliou significativamente a realização do doutorado.

E à Universidade de São Paulo (USP), Universidade do Oeste do Paraná (UNIOESTE) e todos os envolvidos na realização do Doutorado Interinstitucional (DINTER) por tornar tudo isso possível.

RESUMO

GONÇALVES, Caroline Amélia. **Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao Papilomavírus humano (HPV): revisão sistemática.** 2019. 306 f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Estima-se que 80% da população sexualmente ativa será acometida por pelo menos um subtipo de papilomavírus humano (HPV) em algum momento da vida, o que representa uma alta prevalência e incidência dessa infecção sexualmente transmissível (IST), principalmente em países subdesenvolvidos. O HPV é responsável pelas Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC) de alto grau e do câncer cervical, que constituem um problema relevante para a saúde pública global, cursando com elevado ônus psicossocial e econômico aos pacientes, familiares e aos sistemas de saúde. Entretanto, a progressão ao câncer cervical pode ser evitada pela administração de vacinas terapêuticas que utilizam as principais oncoproteínas responsáveis pelo seu desenvolvimento, na tentativa de desencadear uma resposta imunológica mais específica e eficaz contra essa patologia. Atualmente, os tratamentos disponíveis para as neoplasias estão associados a morbidades para a paciente, relacionadas principalmente com o perfil reprodutivo e a recorrência da lesão, demonstrando a necessidade de terapias seguras e efetivas. O objetivo desse estudo foi sintetizar e avaliar criticamente as evidências científicas oriundas de estudos experimentais sobre a segurança, eficácia, e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com NIC de alto grau associadas ao HPV. Realizou-se uma revisão sistemática de ensaios clínicos guiada pelas recomendações da Cochrane Collaboration. A estratégia de busca foi realizada nas bases de dados eletrônicas MEDLINE, Embase, CENTRAL Cochrane, Web of Science, LILACS e Scopus, sem restrição de data e de idioma. Obteve-se a aprovação/publicação do registro do protocolo desta revisão na International Prospective Register of Systematic Reviews-PROSPERO/NHS sob o número CRD42017077428. Os desfechos primários incluíram a segurança, eficácia e imunogenicidade das vacinas terapêuticas testadas em pacientes com NIC 2/3. Para a avaliação metodológica dos estudos, utilizamos a ferramenta de Risco-de-Viés da Cochrane para ensaios clínicos randomizados (ECR) e a ferramenta ROBINS-I (Risk-of-Bias In Non- Randomized Studies) para avaliação dos ensaios clínicos não randomizados. Foram identificados 1.184 estudos, sendo 15 selecionados e analisados. Verificou-se que, a confiabilidade dos resultados pode ser questionada, principalmente, pelo alto risco de viés observado em 80% dos estudos avaliados pela ferramenta da Cochrane e em 90,9% dos ensaios avaliados pela ROBINS-I, evidenciado principalmente pelos vieses de seleção e de performance presentes nos estudos. De modo geral, as vacinas terapêuticas mostraram-se heterogêneas quanto à sua formulação, dose, protocolo de intervenção e vias de administração. Na maioria dos estudos (93,3%) as vacinas apresentaram-se seguras e bem toleradas, com eficácia clínica observada em 93,3% à partir da regressão das lesões, regressão histopatológica e/ou depuração viral. Adicionalmente, 73,3% dos estudos apresentaram respostas imunológicas favoráveis contra o HPV e 54,5% apresentaram correlação positiva entre imunogenicidade e resposta clínica, indicando resultados promissores que merecem maior investigação. Vacinas terapêuticas, apesar de urgentes, ainda apresentam barreiras a serem superadas antes de estarem disponíveis para a população, necessitando de maiores investimentos em ECR de fase III bem delineados de modo a beneficiar pacientes com NICs de alto grau, evitando assim sua progressão para o câncer cervical, de modo a melhorar os desfechos em saúde com impacto positivo nas taxas de sobrevida e na qualidade de vida dessas pacientes.

Palavras-chave: 1. HPV. 2. Vacinas. 3. Neoplasias. 4. Imunogenicidade da Vacina.

ABSTRACT

Gonçalves, Caroline Amélia. **Safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV): systematic review.** 2019. 306 f. Ph.D. Thesis (Ph.D. in Science). Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

It is estimated that 80% of the sexually active population will be affected by at least one human papillomavirus (HPV) subtype at some moment in their lives, representing a high prevalence and incidence of this sexually transmitted infection (STI), especially in underdeveloped countries. HPV is responsible for high-grade Cervical Intraepithelial Neoplasms (CIN) and cervical cancer, which are a relevant problem for global public health, with a high psychosocial and economic burden in patients, families and health systems. However, progression to cervical cancer can be avoided by the administration of therapeutic vaccines that use the major oncoproteins responsible for its development, in attempts to trigger a more specific and effective immune response against this disorder. Currently, the available treatments for neoplasias are associated with morbidities for the patient, which are mainly related to the reproductive profile and the recurrence of the lesion, demonstrating the need for safe and effective therapies. The purpose of this study was to synthesize and critically evaluate the scientific evidence from experimental studies on the safety, efficacy, and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade CIN associated with HPV. A systematic review of clinical trials guided by Cochrane Collaboration recommendations was carried out. The search strategy was performed in the electronic databases MEDLINE, Embase, Cochrane CENTRAL, Web of Science, LILACS and Scopus, with neither date nor language restriction. Approval for this review protocol was obtained from the International Prospective Register of Systematic Reviews-PROSPERO/NHS under the number CRD42017077428. Primary outcomes such as safety, efficacy, and immunogenicity of therapeutic vaccines tested in patients with CIN 2/3 were included. For the critical appraisal of the studies, we have used the Cochrane Risk-of-Bias tool for randomized clinical trials (RCTs) and the Risk-of-Bias In Non-Randomized Studies tool for assessment of non-randomized clinical trials. A total of 1,184 studies were identified, 15 of which were selected and analyzed. It was verified that the reliability of the results can be questioned mainly by the high risk-of-bias observed in 80% of the studies evaluated by the Cochrane tool, and in 90.9% of the trials assessed by ROBINS-I, as evidenced mainly by the selection bias as well as performance bias present within the studies. Overall, the therapeutic vaccines were heterogeneous with regards to their formulation, dose, intervention protocol and routes of administration. In most of studies (93.3%), the vaccines were safe and well tolerated, with clinical efficacy observed in 93.3% with regards to lesion regression, histopathological regression, and or viral clearance. In addition, 73.3% of the studies showed favorable immunological responses against HPV and 54.5% showed a positive correlation between immunogenicity and clinical response, indicating promising results that might be further investigated. Therapeutic vaccines, although urgent, still present barriers to be overcome before they are available to the population, requiring greater investments in well-designed phase III RCTs to benefit patients with high-grade CIN, preventing their progression to cervical cancer disease in order to improve health outcomes with a positive impact on patients' survival rates and quality of life.

Keywords: 1. HPV. 2. Vaccines. 3. Neoplasms. 4. Immunogenicity of the Vaccine.

RESUMEN

Gonçalves, Caroline Amélia. **Seguridad, eficacia e inmunogenicidad de las vacunas terapéuticas en el tratamiento de pacientes con neoplasia intraepitelial cervical de alto grado (NIC 2/3) asociada con el virus del papiloma humano (VPH): una revisión sistemática.** 2019. 306 f. Tesis (Doctorado en salud pública). Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Se estima que el 80% de la población sexualmente activa será acometida por al menos un subtipo de papilomavirus humano (VPH) en algún momento de la vida, lo que representa una alta prevalencia e incidencia de esta infección de transmisión sexual (IST), principalmente en países subdesarrollados. El VPH es responsable por las neoplasias intraepiteliales cervicales de alto grado y cáncer cervical, que constituyen un problema pertinente para la salud pública global, cursando con una alta carga psicosocial y económica a los pacientes, familiares y sistemas de salud. Sin embargo, la progresión al cáncer cervical se puede prevenir mediante la administración de vacunas terapéuticas que utilizan las principales oncoproteínas responsables de su desarrollo, en el intento de desencadenar una respuesta inmunológica más específica y eficaz contra esa patología. Actualmente, los tratamientos disponibles para las neoplasias están asociados a morbilidades significativas para la paciente, relacionadas principalmente en el perfil reproductivo y en la recurrencia de la lesión, demostrando la necesidad de terapias seguras y efectivas. El propósito de este estudio fue sintetizar y evaluar críticamente la evidencia científica de los estudios experimentales sobre la seguridad, la eficacia y la inmunogenicidad de las vacunas terapéuticas en el tratamiento de pacientes con CIN de alto grado asociado con el VPH. Se realizó una revisión sistemática de los ensayos clínicos guiados por las recomendaciones de la Colaboración Cochrane. La estrategia de búsqueda se realizó en las bases de datos electrónicas MEDLINE, Embase, Cochrane CENTRAL, Web of Science, LILACS y Scopus, sin restricción de idioma ni de fecha. La aprobación de este protocolo de revisión se obtuvo del Registro internacional prospectivo de revisiones sistemáticas-PROSPERO/NHS con el número CRD42017077428. Se incluyeron los resultados primarios, como la seguridad, la eficacia y la inmunogenicidad de las vacunas terapéuticas probadas en pacientes con CIN 2/3. Para la evaluación crítica de los estudios, utilizamos la herramienta Cochrane de Riesgo de sesgo para los ensayos clínicos aleatorios (ECA) y la herramienta de Riesgo de sesgo en los estudios no aleatorizados para la evaluación de los ensayos clínicos no aleatorios. Se identificaron un total de 1.184 estudios, 15 de los cuales fueron seleccionados y analizados. Se verificó que la confiabilidad de los resultados puede cuestionarse principalmente por el alto riesgo de sesgo observado en el 80% de los estudios evaluados por la herramienta Cochrane y en el 90.9% de los ensayos evaluados por ROBINS-I, evidenciado por los vicios de selección presentes en los estudios. En general, las vacunas terapéuticas fueron heterogéneas en cuanto a su formulación, dosis, protocolo de intervención y vías de administración. La mayoría de los estudios (93,3%), las vacunas fueron seguras y bien toleradas, con una eficacia clínica observada en el 93,3% de la regresión de la lesión, la regresión histopatológica y el aclaramiento viral. Además, en 73,3% de los estudios presentaron respuestas inmunológicas favorables contra el VPH y una correlación positiva entre la inmunogenicidad y la respuesta clínica en el 54,5% de los estudios analizados, lo que indica resultados prometedores que podrían ser más investigados. Las vacunas terapéuticas, aunque urgentes, aún presentan barreras que deben superarse antes de que estén disponibles para la población, lo que requiere mayores inversiones en los ECA de fase III, bien diseñados para beneficiar a los pacientes con

CIN de alto grado, lo que evita su progresión a cáncer de cuello uterino para poder mejorar los resultados de salud con un impacto positivo en las tasas de supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes.

Palabras clave: 1. HPV. 2. Vacunas. 3. Neoplasias. 4. Inmunogenicidad de la Vacuna.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma dos estudos selecionados de acordo com as diretrizes dos Itens de Relatórios Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises.....	75
Figura 2.	Porcentagem de risco de viés entre os ensaios clínicos por Domínio.....	87

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Conceitos e itens de pesquisa.....	67
Quadro 2-	Critérios de inclusão e exclusão.....	69
Quadro 3-	Característica dos estudos experimentais incluídos na análise qualitativa.....	76
Quadro 4-	Critérios de inclusão e exclusão utilizados na seleção de pacientes para os estudos.....	79
Quadro 5-	Características e protocolos das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos incluídos na análise qualitativa.....	82
Quadro 6-	Avaliação da validade interna e do risco de viés dos ensaios incluídos no estudo segundo o <i>Handbook</i> da Cochrane para Revisões Sistemáticas de Intervenções 5.1.0.....	86
Quadro 7-	Avaliação pelo consenso de ROBINS-I entre dois revisores pelo domínio de viés.....	89
Quadro 8-	Segurança e tolerabilidade das vacinas incluídas na análise qualitativa.....	90
Quadro 9-	Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa.....	95
Quadro 10-	Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa.....	110
Quadro 11-	Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2B4	Receptor celular de NK
AEs	Efeitos adversos
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AINEs	Antiinflamatórios não esteroidais
APCs	Células apresentadoras de antígenos
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
BAK	Proteína pró-apoptótica
BCR	Receptor de células B
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
CAF	Cirurgia de alta frequência
CCL20	Ligante de quimiocina 20
CCL7	Ligante 7 de CC quimiocinas
CCR7	Receptor de quimiocinas 7
CD	<i>Cluster</i> de diferenciação
CD4	Linfócitos T auxiliares
CD40L	CD40 ligante
CD8	Linfócitos T citotóxicos
CENTRAL	<i>Cochrane Central Register of Controlled Trials</i>
CKC	Conização com bisturi a frio
CMI	Resposta imunológica mediada por células
CTC	Critérios comuns de toxicidade
CTL	Linfócitos T citotóxicos
CTLA-4	Antígeno 4 do linfócito T citotóxico
CVLP	Vacina de partículas quiméricas similares ao vírus
CXCL9	Ligante 9 de quimiocina CXC
CxIs	Linfócitos cervicais
DAMP	Padrões moleculares associados ao dano
DC	Células dendríticas
DeCS	Descritores de Ciência da Saúde
DINTER	Doutorado Interinstitucional

DLT	Dose limite de toxicidade
DTH	Teste de hipersensibilidade do tipo tardio
E	Região <i>early</i>
E2F	Fator de transcrição de genes essenciais à síntese de DNA
E6AP	Proteína associada à E6
ECGs	Eletrocardiograma
ECR	Ensaio clínico randomizado
EERP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
ELISpot	Ensaio imunoabsorvente ligado a enzima
Embase	<i>Excerpta Medica Database</i>
Emtree	<i>Embase subject headings</i>
EP	Electroporação
EPIs	Equipamentos de proteção individual
EV	Epidermodisplasia verruciforme
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
Foxp3	Forkhead box P3
FUTURE I	<i>Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease</i>
G1	Gap -Fase pós mitótica do ciclo celular
G2	Gap -Fase pré-mitótica do ciclo celular
GAVI	Aliança Global para Vacinas e Imunização
G-CSF	Fator estimulador de colônias granulocitárias
GITR	Receptor do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticóide
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos
GMT	Média Geométrica dos Títulos de anticorpos
HD5	α -defensiva 5 humana
HGF	Fator de crescimento do hepatócito
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário de histocompatibilidade

HLA-DR	Antígeno leucocitário humano
HPV	Papilomavírus humano
HrHPV	<i>High risk HPV</i>
HSIL	Lesão intraepitelial cervical de alto grau
HSPG	Heparam sulfato
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular
IFN	Interferons
IgA	Imunoglobulina A
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
IL-1Ra	Antagonista do receptor da IL-1
IL-2R	Receptor da Interleucina-2
IM	Injeção intramusculares
ISTs	Infecções sexualmente transmissíveis
JCR	<i>Journal Citation Reports</i>
L	Região late
LB	Linfócitos B
LC	Células de Langerhans
LCR	Long control region
LEEP	Excisão eletrocirúrgica com alça
LIF	Fator inibidor de leucemia
LILACS	<i>Latin American and Caribbean Health Sciences Literature</i>
LLETZ	Excisão ampla com alça da zona de transformação
LMP2	Proteínas de membrana de fase latente-2
LT	Linfócitos T
M1 e M2	Linhagens de macrófagos
MATs	Macrófagos associados a tumores
MBE	Medicina baseada em evidências
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monocitos

MDSCs	Células supressoras derivadas da linhagem mieloide
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MIF	Fator inibitório de migração dos macrófagos
MVA	Vaccinia Ankara modificado
MVA	Vacina Ankara modificada
MYC	<i>MyeloCytomatosis</i>
NAT	Titulação de anticorpos neutralizantes
NCI-CTC	<i>National Cancer Institute–Common Toxicity Criteria</i>
NCT	<i>Clinical trial number</i>
NFκB	Fator nuclear kappa B
NIC	<i>Neoplasia intraepitelial cervical</i>
NK	<i>Natural killer</i>
NKp	Receptor Natural de citotoxicidade
NKG2D	<i>Natural-killer group 2, member D</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORFs	<i>Open reading frames</i>
Ori	Origem de replicação
PAMPs	Padrões moleculares associados ao patógeno
PATRICIA	Papilloma Trial Against Cancer in Young Adults
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDGF-BB	Fator de crescimento derivado de plaquetas na isoforma BB
PDL-1	Ligante da morte programada 1
PFU	Unidade formadora de placa
pRb	Proteína do retinoblastoma
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyzes</i>
PROSPERO	Registro Prospectivo Internacional de Revisão Sistemática
RANTES	Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais
ReBEC	Registro brasileiro de ensaios clínicos
RNA	Ácido ribonucleico

ROBINS-I	<i>Risk-of-Bias in Non-randomized Studies of Interventions</i>
RS	Revisão sistemática
S	Fase de síntese do DNA
SAE	Evento adverso grave
SCF	Fator de células tronco
SCJ	Junção escamo-colunar
SGOT	Transaminase glutâmico oxalacética (TGO)
SGPT	Alanina aminotransferase (ALT)
SRC	Sarampo, rubéola e caxumba
TAP	Transportador associado ao processamento de antígeno
TCR	Receptor de células T
TGF	Fator de crescimento transformador
Th	Linfócitos T auxiliares ou helper
TLRs	Receptor de células T
TLRs	Receptores do tipo-Toll
TNF	Fator de necrose tumoral
TNFR-2	Receptor do fator de necrose tumoral-2
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
Treg	Células T reguladoras
UBS	Unidade básica de saúde
UNIOESTE	Universidade do Oeste do Paraná
USP	Universidade de São Paulo
VCAM-1	Molécula celular de adesão vascular
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
WHO	<i>World Health Organization</i>
β -NGF	Fator de crescimento neuronal β

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
1. Introdução	22
DESENVOLVIMENTO	24
2.1 Revisão Sistemática com enfoque para a saúde	25
2.2 Papilomavirus humano (HPV)	27
2.2.1. Biologia do HPV	27
2.2.2. Epidemiologia e fatores de risco associados ao HPV	29
2.2.3. Transmissão do HPV	32
2.2.4. Mecanismo de patogenicidade do HPV	33
2.2.5. Resposta imunológica contra o HPV	36
2.2.6. Mecanismos de escape do sistema imunológico	42
2.2.7. Tratamento do HPV	45
2.2.8. Neoplasia Intraepitelial Cervical associada ao HPV	47
2.2.9. Vacinas profiláticas para prevenção do HPV	51
2.2.10. Vacinas terapêuticas para HPV	54
OBJETIVOS	63
3. Objetivo Geral	64
3.1. Objetivos específicos	64
MATERIAL E MÉTODOS	65
4. Material e métodos	66
4.1. Tipo de estudo	66
4.2. Estratégia de busca	66
4.3. Critérios de inclusão e critérios de exclusão	68
4.4. Seleção dos estudos	68
4.5. Extração dos artigos	70
4.6. Validade interna e risco de viés dos estudos incluídos	70
4.7. Análise dos dados	71
RESULTADOS	73
5. Resultados	74

5.1. Seleção dos estudos.....	74
5.2. Características dos estudos.....	76
5.1. Risco de viés em cada estudo.....	85
5.3. Desfechos.....	90
5.3.1. Segurança e tolerabilidade.....	90
5.3.2. Eficácia: Regressão histológica e depuração da carga viral.....	93
5.3.3. Imunogenicidade: respostas imunológicas detectadas no soro e no tecido.....	107
5.4. Estudos em andamento.....	127
DISCUSSÃO.....	150
6. Discussão.....	151
CONCLUSÃO.....	162
7. Conclusão.....	163
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	164
8.Considerações finais.....	165
REFERÊNCIAS.....	166
ANEXOS.....	196
ANEXO 1 – Protocolo PROSPERO.....	197
ANEXO 2 – Protocolo submetido ao periódico BMJ Open com parecer.....	200
APÊNDICES.....	218
APÊNDICE 1 – Estratégia de busca final unificada nas bases de dados eletrônicas após atingido o consenso entre os dois revisores.....	219
APÊNDICE 2. Quadros de extração de dados final dos ensaios clínicos incluídos na análise qualitativa após atingido o consenso entre os dois revisores.....	241
Summary of the study 01.....	241
Summary of the study 02.....	245
Summary of the study 03.....	250
Summary of the study 04.....	254
Summary of the study 05.....	258
Summary of the study 06.....	262
Summary of the study 07.....	266

Summary of the study 08.....	270
Summary of the study 09.....	274
Summary of the study 10.....	278
Summary of the study 11.....	282
Summary of the study 12.....	286
Summary of the study 13.....	291
Summary of the study 14.....	296
Summary of the study 15.....	301

1. Introdução

Nas últimas décadas, as mudanças socioculturais influenciaram o comportamento humano promovendo o surgimento de diversas infecções sexualmente transmissíveis (ISTs). Dentre elas podemos citar a Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) associada ao Papilomavírus Humano (HPV). Estima-se que 80% das pessoas sexualmente ativas serão acometidas por pelo menos um subtipo de HPV em algum momento da vida (BOSCH et al., 1995; CDC, 2018), o que representa uma alta prevalência do vírus principalmente em países subdesenvolvidos. O vírus HPV é um dos maiores responsáveis pelas neoplasias intraepiteliais cervicais de alto grau e do câncer cervical, que constituem um problema relevante para a saúde pública global (BRAY et al., 2018; SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2019), cursando com elevado ônus psicossocial e econômico aos pacientes e familiares, bem como aos sistemas de saúde (MEDEIROS et al., 2005; ABRAHÃO et al., 2019).

Existem mais de 200 tipos de HPV, entretanto, nem todos são carcinogênicos, muitas vezes estão relacionados com lesões de baixo grau que são efetivamente eliminadas em até dois anos via sistema imunológico. Os subtipos mais agressivos expressam proteínas como E6 e E7 que se integram ao ácido desoxirribonucleico (DNA) do hospedeiro, desregulando o ciclo celular, inibindo processos de apoptose podendo originar diversas lesões celulares como a NIC ou a malignização das células (DOORBAR et al., 2015; NARISAWA-SAITO; KIYONO, 2007).

O HPV de alto risco, principalmente os subtipos 16 e 18, está presente em aproximadamente 100% dos casos de NIC 2 e 3, podendo evoluir para diversos tipos de cânceres, principalmente o cervical (VINTERMYR et al., 2014). Os tratamentos atualmente utilizados para NIC geram altos custos para o sistema de saúde, além de poderem resultar em infecções recorrentes ou persistentes do vírus que não foram completamente eliminadas. As terapias convencionais estão associadas com prejuízos reprodutivos e psicológicos, com impacto significativo na qualidade de vida das pacientes (MORTANSEN; LARSEN, 2010; NOVAES et al., 2012).

Os produtos de vírus oncogênicos provocam respostas específicas de células T, além de outras células tanto da imunidade inata quanto adquirida, que podem atuar na sua erradicação. Os tumores induzidos por vírus são considerados como os mais imunogênicos, visto que são provenientes de estruturas estranhas ao nosso organismo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). Os mecanismos de defesa do sistema imunológico muitas vezes são prejudicados pelos mecanismos de escape do vírus. Os conhecimentos atuais sobre a História Natural da Doença

bem como da ação do sistema imune formam a base para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas (BAGARAZZI et al., 2012), as quais buscam eliminar a patologia já estabelecida ou evitar que a paciente seja reinfetada, neutralizando infecções subsequentes pelo mesmo vírus. As vacinas terapêuticas diferem das vacinas profiláticas - que são utilizadas para a prevenção de lesões associadas ao HPV, disponíveis nas Unidades Básicas de Saúde. Essas vacinas preventivas apresentam a desvantagem de não serem eficazes no tratamento de lesões já instaladas e por estarem associadas com uma baixa adesão do público alvo, não representando um impacto significativo na diminuição da mortalidade e morbidade de lesões associadas ao HPV. Além disso, não abrangem todos os oncogenes de alto risco e podem trazer prejuízos econômicos por se degradarem facilmente, necessitando de um armazenamento específico (BRUNI et al., 2016; DELIGEOROGLOU et al., 2013; MA et al., 2010).

Sendo assim, essas vacinas profiláticas ainda levarão muito tempo para impactar nas incidências do câncer cervical e das neoplasias intraepiteliais, demonstrando a necessidade premente do desenvolvimento de vacinas terapêuticas para NIC 2/3, que beneficiem tanto as pacientes como o sistema de saúde através da redução das taxas de morbimortalidade das patologias associadas ao HPV de alto risco (DELIGEOROGLOU et al., 2013; SNIJDERS et al., 2006). Nesse sentido, justifica-se a relevância e pertinência em conduzir uma revisão sistemática da literatura com o intuito de sintetizar e avaliar criticamente as evidências científicas disponíveis de estudos experimentais sobre a segurança, eficácia, e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com NIC de alto grau (NIC 2/3) associadas ao HPV.

2. Revisão de literatura

2.1 Revisão sistemática com enfoque para a saúde

A revisão sistemática (RS) é elaborada a partir de uma questão previamente formulada de maneira clara e específica, e tem como objetivo compilar evidências relevantes e semelhantes que respondam a essa questão. Para isso, tal metodologia utiliza critérios rigorosos e planejados de busca e seleção de artigos que posteriormente serão avaliados a fim de reduzir vieses que ocorreriam em uma revisão não-sistemática (COLLINS et al., 2014; GALVÃO; PEREIRA, 2014; HALLIGAN, 2005; MEERPOHL et al., 2012). Ademais, essa metodologia é considerada o melhor nível de evidência para tomada de decisões na prática clínica (MEERPOHL et al., 2012).

As revisões sistemáticas sintetizam estudos primários por critérios previamente estabelecidos de inclusão e exclusão associadas a descritores controlados e palavras chave, através de uma metodologia transparente e reprodutível com resultados que são considerados de mais alto nível científico (GALVÃO; PEREIRA, 2014; MEERPOHL et al., 2012). Uma RS não necessariamente precisa apresentar uma metanálise. Ao contrário, em alguns casos não é apropriado que seja realizada, podendo até mesmo gerar conclusões errôneas (COOK; MULROW; HAYNES, 1997; O'ROUKE; DETSKY, 1989). Um exemplo desta situação é quando apenas dois estudos reportaram dados de um desfecho com estimativas de efeitos opostas, ou seja, um estudo aponta benefício da intervenção e o outro aponta benefício do controle. Tais achados não devem ser combinados. A metanálise é uma análise estatística de dois ou mais estudos independentes, que geram uma única estimativa de efeito. (BRASIL, 2012).

As primeiras revisões sistemáticas relevantes para a área da saúde se consolidaram no final da década de 1980, marcadas pelas publicações do livro *Effective care during pregnancy and childbirth* e, na década seguinte, com a criação da Colaboração Cochrane (CHALMERS; ENKIN; KEIRSE, 1989). A colaboração Cochrane foi criada em 1993 por Iain Chalmers baseada na necessidade que já havia sido observada na época de organizar um sumário crítico por áreas, atualizadas periodicamente, de ensaios clínicos relevantes. Até hoje, ela funciona como uma ferramenta de auxílio a pesquisadores para elaboração e pesquisa de revisões sistemáticas relevantes para a área da saúde (CARDOSO, 2010).

Esse método é relevante para o conhecimento dos profissionais da saúde, visto que atualmente existe um excesso de publicações diárias que faz com que o profissional muitas

vezes não consiga se atualizar na sua área. Além disso, é importante que o profissional de saúde saiba realizar uma busca qualificada nas diversas bases de dados eletrônicas e analise criticamente os estudos que de fato apresentem qualidade metodológica (em termos de validade interna e validade externa) e relevância para a prática clínica. Sendo assim, a revisão sistemática se transpõe como potente alternativa por compilar os resultados de estudos sobre uma determinada temática, buscando responder uma questão clínica específica e permitindo a atualização adequada dos profissionais de saúde (CARDOSO, 2010; SWINGLER; VOLMINK; IOANNIDIS, 2003). Além da RS possibilitar tomada de decisões na prática clínica baseada em evidências, também auxilia na justificativa da necessidade de uma pesquisa clínica para uma agência de fomento, bem como para apontar a necessidade de áreas a serem pesquisadas, informar sobre a efetividade de uma intervenção, guiar políticas e recomendações de saúde. Ademais, RS são eficientes para avaliar tecnologias em saúde e avaliações econômicas de procedimentos, informar sobre a utilização de medicamentos, estimar com maior precisão o efeito do tratamento, e permitir a generalização dos achados para contextos mais amplos (BRASIL, 2012; GLANVILLE, 2009; SHAMSEER et al., 2015).

Através da combinação dos resultados de estudos primários menores, a RS pode demonstrar inconsistência ou falta de evidência desses estudos, indicando a necessidade de novas pesquisas sobre a temática ou com melhor qualidade metodológica (CHALMER; GLASZIOU, 2009). Também permite uma análise mais consistente de subgrupos, identifica a necessidade de planejamento de estudos maiores e responde perguntas não abordadas pelos estudos primários, auxiliando o clínico na Medicina Baseada em Evidências (MBE) (BRASIL, 2012).

Isso pôde ser demonstrado em um estudo realizado em 1998 com a vacina tríplice viral. O estudo primário foi realizado com apenas 12 crianças dando um enfoque negativo sobre a segurança dessa vacina, associando sua administração com o possível desenvolvimento da doença de *Crohn* e autismo, resultando em uma diminuição significativa na adesão a essa vacina (WAKEFIELD et al., 1998). Outro estudo publicado em 2002 por Rimland e McGinnis também associou a vacina tríplice com o desenvolvimento de autismo e infecções crônicas no intestino. Entretanto, em 2005, uma revisão sistemática permitiu desmistificar essa informação, demonstrando segurança quanto ao uso da vacina para sarampo, rubéola e caxumba (SRC) (DEMICHELI et al., 2005).

A MBE busca integrar a experiência do clínico com a evidência científica produzida pela revisão sistemática (SACKETT et al., 1996). A metodologia utilizada pela revisão sistemática a fim de sintetizar resultados relevantes e de embasar a produção de evidências é

apoiada pela *Global Forum for Health Research* em conjunto com a Organização Mundial da Saúde (OMS) visando a produção de políticas de saúde baseadas em evidências de qualidade, fortalecendo a comunicação entre pesquisadores e gestores. Portanto, a RS é também uma ferramenta importante para justificar a implantação de programas e políticas públicas (JANSEN et al., 2010; SWEET; MOYNIHAN, 2007).

Até 2007 as recomendações da OMS eram predominantemente elaboradas baseadas na opinião de grupos de especialistas. Este critério muitas vezes era prejudicado pelo fato de que cada grupo apresentava ideias divergentes e raramente produzidas por métodos sistemáticos (OXMAN; LAVIS; FRETHERM, 2007). Mesmo com as fortes recomendações da OMS em 2003 quanto ao uso de revisões sistemáticas para elaboração das recomendações, preferencialmente guiadas pela Colaboração Cochrane, as mesmas ainda seguiam a ideia anterior de utilização de opinião de grupos de especialistas (WHO, 2003). No Brasil como em toda parte do globo, também existe uma preocupação em instituir decisões e políticas de saúde baseadas em evidências enfatizando o uso da pesquisa e de revisões sistemáticas (BRASIL, 2012).

Pelas características apresentadas, as revisões sistemáticas geram evidências científicas de alto nível, configurando-se na melhor evidência para tomadas de decisão, especialmente em questões sobre terapêutica. Além disso, ela fornece respostas seguras e confiáveis para guiar a tomada de decisões na prática clínica e no desenvolvimento de programas de saúde pública (ARMSTRONG et al., 2008; MELNYK et al., 2010; MELNYK; FINEOUT-OVERHOLT, 2011).

2.2 Papilomavirus humano (HPV)

2.2.1. Biologia do HPV

O HPV é um vírus constituído de ácido desoxirribonucleico de fita dupla, circular com aproximadamente 8000 pares de bases, formado por um capsídeo icosaédrico não envelopado pertencente à família *Papillomaviridae* e ao gênero *Papillomavirus* (RYU, 2016).

Foram identificados aproximadamente 200 genótipos de HPV e estes podem estar relacionados com lesões de baixo ou de alto grau. Cada um desses diferentes subtipos é espécie-específico e apresenta tropismo pelo epitélio escamoso ou pela mucosa, se instalando em regiões específicas e diversificadas do organismo (DOORBAR et al., 2015; EGAWA et al., 2015).

O material genético desse vírus é dividido em região reguladora LCR (*Long control region*) e região ORF (*Open reading frame*). A LCR contém a região de origem de replicação (Ori) e sequências responsivas aos fatores de transcrição. Já as ORFs contêm as regiões precoce ou *early* (E) e tardia ou *late* (L) (HEBNER; LAIMINS, 2006). O vírus codifica 7 proteínas precoces (E1, E2, E4, E5, E6, E7 e E8) e duas proteínas tardias (L1 e L2) (DOORBAR et al., 2015). Os genes precoces estão relacionados com processos de replicação e os tardios com componentes estruturais necessários para a formação de novos vírions (EGAWA et al., 2015). Existem várias espécies de HPV divididas em diferentes gêneros. Isso se deve basicamente às diferenças nas sequências de nucleotídeos do capsídeo da proteína L1, sendo que diferentes espécies dentro do mesmo gênero compartilham entre 60 a 70% de similaridade nessas sequências e gêneros diferentes compartilham menos de 60% de similaridade (DE VILLIERS et al., 2004).

Os HPVs podem ser categorizados como sendo de alto ou de baixo grau. Os de baixo grau (6, 11, 30, 40, 42, 43, 44, 54, 61 e 72) são encontrados preferencialmente em verrugas genitais e em NIC de baixo grau (NIC I), e não apresentam potencial oncogênico. Os HPVs classificados como alto grau (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 46, 51, 52, 56, 58, 66 e 68) estão intimamente relacionados com NIC de alto grau (NIC 2 e NIC 3) e com câncer cervical. A prevalência dos subtipos que apresentam maior relação com NIC 2/3 ou com câncer cervical são muito variáveis, dependendo de vários fatores como, por exemplo, a distribuição geográfica das mulheres acometidas por essas infecções. Entretanto, de maneira geral, pode-se inferir que os subtipos 16 e 18 apresentam maior relação com essas lesões, sendo responsáveis por mais de 70% dos casos de câncer cervical, além de promoverem o agravamento do quadro com menor chance de regressão da lesão e de depuração do vírus (MUÑOZ et al., 2003).

Com relação ao seu tropismo, o HPV pode ser dividido em 5 grupos, *Alfapapilomavírus*, *Betapapilomavírus*, *Gamapapilomavírus* (HPV 4, 48, 50, 60, 65, 88, e 95), *Mupapilomavírus* (HPV 1 e 63) e *Nupapilomavírus* (HPV 41). Esses grupos diferem quanto as doenças às quais estão associados, assim como pelo seu tropismo e relação filogenética. O grupo alfapapilomavírus (HPV 1, 2, 6, 7, 10, 16, 18, 26, 32, 34, 53, 54, 61, 71 e 90) apresenta relevância clínica pela sua relação com Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) devido à sua afinidade pelo epitélio genital e pelas mucosas. Este grupo engloba HPV de alto risco e de baixo risco, que podem ser encontrados tanto em câncer de colo de útero quanto em verrugas cutâneas, respectivamente (DOORBAR et al., 2012; LETO et al., 2011; VILLIERS et al., 2004). O grupo dos *betapapilomavirus* pode ser dividido basicamente em 5 grupos (*Beta-1*, contendo o HPV 5, 8, 12, 14, 19, 20, 21, 24, 25, 36, 47 e 93, *Beta-2*, contendo o HPV 9, 15, 17,

22, 23, 37, 38 e 80, *Beta-3*, contendo o HPV 49, 75 e 76, *Beta-4*, que contem o HPV 92 e o *Beta-5*, que contem o HPV 96), os quais apresentam tropismo pela pele, sendo os subtipos mais associados a essa classe o HPV5 e HPV8 que podem desenvolver epidermodisplasia verruciforme (EV). Assim como nesse grupo, os outros também apresentam tropismo pela pele e não estão associados a doenças graves. Entretanto, algumas espécies de *betapapillomavírus* 1 e 2 como HPV 5, 8, 17, 20 e 38 podem estar associadas com carcinoma celular de células escamosas (CHAHOUUD et al., 2016; DE VILLIERS et al., 2004; FORSLUND et al., 2007).

Além da sua relação com NIC e câncer cervical, o HPV também está relacionado com casos de câncer vaginal, de cabeça e pescoço, de pênis, anal, vulvar, orofaríngeo, oral, de tonsilas (BOSCH et al., 2013; PARKIN, 2006), de mama e colorretal (LORENZON et al., 2011; SIMÕES et al., 2012), além de casos de papilomatose respiratória (MAJOR et al., 2005). Por se tratar do agente causador de uma das ISTs mais incidentes no mundo e pela sua relação com diversos tipos de câncer, o HPV vem sendo considerado um grave problema para a saúde pública global (REIS et al., 2010).

2.2.2. Epidemiologia e fatores de risco associados ao HPV

Estima-se que 80% das pessoas sexualmente ativas entrarão em contato com pelo menos um subtipo de HPV em algum momento da vida (BOSCH et al., 1995; CDC, 2018). De modo geral, a infecção pelo HPV pode se manifestar através de alterações histológicas e clínicas, ser assintomática ou evoluir para o câncer. Seu comprometimento depende de vários fatores, dentre eles o subtipo de HPV que causou a infecção (WALBOOMERS et al., 1999). A maioria das lesões, principalmente as de baixo grau, regredem espontaneamente em até 24 meses sem qualquer tipo de tratamento, somente pela ação efetiva do sistema imunológico. Entretanto, de 5 a 31% das infecções NIC 2/3 persistentes podem evoluir para câncer cervical (ANDERSON et al., 2018; SEHNAL; CIBULA; SLAMA, 2014).

O principal fator de risco para o desenvolvimento de NIC de alto grau ou câncer cervical é a persistência ou recidiva do HPV, principalmente dos subtipos 16 e 18. A maioria dos cânceres invasivos demoram de 2 a 3 décadas para ocorrer após a infecção inicial com o HPV oncogênico, demonstrando a importância de um tratamento efetivo para NIC 2/3 ou adenocarcinoma *in situ* (AIS) (PAGLIUSI; AGUADO, 2004; SNIJDERS et al., 2006). O pico de prevalência da infecção pelo HPV ocorre em mulheres por volta dos 20 anos. Após essa idade, se inicia um declínio da infecção, com um segundo pico subsequente no período pós-

menopausa. Isso pode estar relacionado com a persistência viral ou a aquisição de novos vírus (BOSCH et al., 2008).

Para que o câncer cervical se desenvolva é necessário que a NIC 2/3 esteja associada a outras variáveis, como o tipo de vírus envolvido na infecção, infecção única ou múltipla, fatores genéticos, imunocompetência reduzida ao vírus, assim como o comportamento sexual (KYRGIU et al., 2016; LEE et al., 2016; MUÑOZ et al., 2003).

Com relação ao comportamento sexual, foi observado que quanto maior o número de parceiros, maior a exposição a diferentes tipos de HPV. O início precoce das atividades sexuais também está relacionado com o aumento de infecções associadas ao HPV e câncer cervical pelo maior tempo de exposição ao vírus (*INTERNATIONAL COLLABORATION OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CERVICAL CANCER*, 2009), assim como o número de parceiro sexual que o cônjuge teve durante sua vida (BURK et al., 1996). Coinfecções com outras ISTs, como a *Chlamydia trachomatis*, aumenta em até 4 vezes a chance de desenvolver câncer cervical, possivelmente por aumentar a resistência do HPV (ZHU et al., 2016). Infecções prévias com o HPV parecem diminuir a chance de depuração do vírus. Entretanto, a coinfecção com outro tipo de HPV parece aumentar essa capacidade. É paradoxal pensar que a coinfecção de HPV aumenta o risco de progressão para NIC, mas também aumenta a chance de depuração (JAISAMRARN et al., 2013).

Além dessas variáveis, o hábito de fumar também apresenta relação com a persistência do vírus. Mulheres que fumam mais de 20 cigarros por dia tem maior probabilidade de desenvolver infecções persistentes por HPV comparado às que fumam menos de 10 cigarros por dia (MAUCORT-BOULCH et al., 2010). Mulheres acometidas por neoplasia intraepitelial vulvar de grau 3 que continuam a fumar após o tratamento apresentam 30 vezes mais chance de desenvolverem infecções persistentes (KHAN et al., 2009). Ademais, o uso de contraceptivos orais por tempo prolongado atua como fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical associado ao HPV (ROURA et al., 2016).

Pacientes imunossuprimidos como os que estão recebendo tratamentos imunossupressores, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), pacientes com lúpus eritematoso sistêmico ou que realizaram transplantes, são mais propensos a desenvolverem câncer associado ao HPV além de maior dificuldade na eliminação do vírus (GRULICH et al., 2007).

A aquisição do HPV é mais comum em mulheres jovens com múltiplos parceiros (RAMANAKUMAR et al., 2016). Baseando-se no tempo prolongado necessário para a progressão ao câncer cervical, na persistência do vírus, multiparidade, comportamento sexual e

diversos fatores que levam à exposição do HPV, é compreensível o fato da incidência do câncer cervical ser muito menor do que a prevalência do vírus (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Estima-se que 78% dos cânceres vaginais, 25% do vulvar, 90% do anal, 50% do câncer de pênis e 30% do câncer de orofaringe estão relacionados com o HPV (DE MARTEL et al., 2017). O HPV 16 é mais frequente em carcinoma de células escamosas (59.3%) do que em adenocarcinomas, sendo este último mais associado ao HPV 18 (36.8%) (LI et al., 2011). O HPV também foi encontrado em subgrupos de malignidades colorretais e da mama, sendo positivo em 42% e 23% destes cânceres, respectivamente (LORENZON et al., 2011; SIMÕES et al., 2012).

Existem cerca de 290 milhões de mulheres infectadas pelo HPV em todo o mundo (BRUNI et al., 2017; DE SANJOSÉ et al., 2007). O vírus está presente em 99,7% das neoplasias cervicais (D'SOUZA; DEMPSEY, 2011; SIDDIQI et al., 2019). Infecções com HPV de alto risco (hrHPV) são estimadas como sendo a causa de 5% de todos os cânceres do mundo (DE MARTEL et al., 2017), totalizando aproximadamente 640.000 casos de câncer relacionados a este vírus, sendo a maioria em mulheres (PLUMMER et al., 2016). O câncer que apresenta maior relação com o vírus é o câncer cervical, correspondendo ao quarto câncer mais comum em mulheres, e apresenta uma estimativa de 569.847 novos casos no ano de 2018 com 266.000 mortes registradas em 2012 no mundo (BRAY et al., 2018; FERLAY et al., 2015). No Brasil, estimou-se cerca de 16.370 novos casos de câncer de colo de útero em 2018 com 5.727 mortes no ano de 2015 (BRASIL, 2018). Em contraste com a maioria das outras neoplasias malignas, quase metade dos casos novos desse câncer são observados em mulheres com menos de 50 anos (DE MARTEL et al. 2017). A distribuição mundial do câncer do colo do útero varia muito, com 84% de todos os casos e 87% das mortes ocorrendo em regiões menos desenvolvidas (VISCONDI et al., 2018).

Jaisamrarn e colaboradores (2013) demonstraram em um estudo com 4825 mulheres, que os HPVs dos subtipos HPV-16, HPV-31, HPV-18, HPV-33 e HPV-45 são os mais prevalentes, sendo o 16 e o 33 com risco 10 vezes maior para desenvolver NIC 2 e 25 vezes maior para o desenvolvimento de NIC 3 quando comparados aos tipos não oncogênicos, seguidos dos tipos 31, 45 e 18. Todos esses subtipos apresentam elevada relação com o desenvolvimento de NIC de alto grau que podem progredir inclusive para o câncer cervical e sua prevenção só pode ser alcançada através da administração da vacina nonavalente, por contemplar todos esses diferentes subtipos, o que não ocorre com as vacinas bivalentes e quadrivalentes que contemplam apenas os subtipos 16 e 18 (JOURA et al., 2015).

A introdução das vacinas profiláticas em países desenvolvidos diminuiu significativamente a morbidade e mortalidade de infecções associadas ao HPV, assim como a incidência de câncer cervical. Entretanto, em países em desenvolvimento esse processo ainda será lento, com um tempo aproximado de duas décadas para que o mesmo quadro seja observado (KYRGIU; MITRA; MOSCICKI, 2017). Esse fato demonstra uma urgência na introdução de novas terapias efetivas e seguras para o tratamento de NIC 2/3, com o intuito de se evitar a progressão para o câncer cervical que necessita de tratamentos mais agressivos por apresentar respostas menos efetivas, com altas taxas de morbidade e de mortalidade, além de todo ônus psicossocial e econômico gerado aos pacientes, familiares e para o sistema de saúde (CHABEDA et al. 2018; NOVAES et al., 2015; STERN et al., 2012).

2.2.3. Transmissão do HPV

A transmissão do HPV é preferencialmente sexual, através da penetração do vírus em microlesões da pele. Ela também foi observada através do contato genital-oral em pacientes com câncer de língua, tonsilas e orofaringe (HECK et al., 2009). O uso de preservativo apresenta uma efetividade de 70% de prevenção da transmissão do HPV, pois, mesmo com seu uso, ainda existe contato com a pele das genitálias (WINER et al., 2006).

A transmissão vertical do HPV também é uma possibilidade demonstrada por alguns estudos, a qual pode ocorrer em diferentes fases, durante o período periconcepcional, pré-natal ou durante o período perinatal (FREITAS et al., 2013). O DNA do HPV foi detectado em células germinativas, no sangue, no líquido amniótico, na placenta, no cordão umbilical, em trofoblastos e em crianças que não tiveram relações sexuais, algumas delas cujas mães eram negativas para o HPV (GAROLLA; PIZZOL; FORESTA, 2011; SYRJANEN, 2010; GOMES et al., 2008; ROMBALDI et al., 2009). O nascimento de crianças com infecções associadas ao HPV levantou a possibilidade de transmissão intrauterina (MARCOUX et al., 2006) ou mesmo durante o parto, que pôde ser observada pelo aumento na detecção do HPV em bebês nascidos de parto vaginal (51,4%) em comparação com parto cesariano (27,3%) (TSENG et al., 1998). Ensaios *in vitro* demonstraram o risco de disseminação transplacentária do HPV e distúrbios subsequentes como mola hidatiforme (BOULENOUA et al., 2010), além de anormalidades genéticas do feto, abortos espontâneos e nascimentos prematuros (GOMES et al., 2008).

A presença de DNA do HPV no sêmen tem sido associada a casos de infertilidade e astenozoospermia. Espermatozoides que possuem DNA do HPV podem funcionar como vetores na transmissão desses vírus e podem explicar os casos do nascimento de bebês positivos

para HPV de mães negativas (SYRJANEN, 2010; KADZE et al., 2002). Perino e colaboradores (2011), realizaram um estudo com 199 casais que se submeteram a tratamentos de fertilização *in vitro*. Neste estudo, foi possível associar a presença de HPV com um aumento significativo na perda da gestação quando o teste de DNA do HPV foi positivo para o homem infectado (66,7%) quando comparado aos não infectados (15%).

Alguns estudos ainda associaram a transmissão do HPV durante a realização de procedimentos ambulatoriais ou hospitalar. A remoção cirúrgica de verrugas genitais pode expor os profissionais de saúde ali presentes ao vírus, como demonstrado em um estudo com 19 cirurgiãs onde foi possível identificar a presença do HPV nas suas narinas e na região nasolabial após remoção eletrocirúrgica das verrugas mesmo com a utilização de óculos de proteção, máscara cirúrgica e exaustor (BERGBRANT et al., 1994). Além disso, dois casos de papiloma de laringe foram encontrados, em uma médica e em uma enfermeira, após o tratamento de verrugas anogenitais mesmo com o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs), porém, com um sistema de exaustão ineficiente para o procedimento (HALLMO; NAEISS, 1991; CALERO; BRUSIS, 2003).

2.2.4. Mecanismo de patogenicidade do HPV

O HPV é um vírus epiteliotrópico que penetra no epitélio escamoso estratificado da cérvix através de microabrasões até atingir os queratinócitos localizados na camada basal. Após esse processo, ele se liga à matriz extracelular ou diretamente nas células do hospedeiro para iniciar o processo de infecção. Essa ligação se inicia por receptores para L1 como laminina-5 ou através de proteoglicanos de heparan sulfato (HSPG) encontrados tanto na membrana basal quanto nas células basais. Posteriormente a essa ligação o vírion entra na célula por endocitose mediada por receptores (CULP et al., 2006; SCHILLER; DAY; KINES, 2010). Já no interior da célula, ele permanece no endossomo e a sua proteína L2 do capsídeo promove a lise da membrana endossomal para que o vírus possa passar pelos poros da membrana nuclear e se instalar no núcleo da célula (RYU, 2016).

Enquanto o vírus permanece nas células basais, seu material genético se encontra na forma episomal no núcleo, porém, sem se integrar ao DNA do hospedeiro. Sua replicação (replicação extracromossomal) gera de 50 a 100 cópias sem causar lise da célula do hospedeiro e sem promover reação inflamatória (LEPIQUE; RABACHINI; VILLA, 2009). Cogita-se a existência de uma proteína formada pela associação de E8 e E2, a E8^{E2C}, que atua como

controladora da replicação viral, regulando negativamente a sua atividade, mantendo um baixo número de cópias do vírus na forma episomal (STRAUB et al., 2015).

O epitélio escamoso estratificado sofre constantes divisões e as células migram da porção basal para a porção apical sofrendo processos de diferenciação. Durante esse processo, novas células filhas infectadas de origem basal são originadas e ocorre mudança na expressão gênica do vírus, permitindo a amplificação do seu material genético e posterior formação do vírion (STANLEY; PETT; COLEMAN, 2007).

O início da infecção é caracterizado por baixas concentrações de E6 e E7 que aumentam conforme o vírus se integra ao DNA do hospedeiro (NARISAWA-SAITO; KIYONO, 2007). Com o processo de diferenciação dos queratinócitos, o DNA viral se integra ao DNA do hospedeiro na forma linear, suprimindo basicamente a função dos genes E2, L1 e L2, promovendo um aumento na expressão de E6 e E7. As proteínas E2 são responsáveis por controlar a expressão dos oncogenes E6 e E7, impedindo a replicação descontrolada do vírus. Seu bloqueio leva a uma desregulação do ciclo celular (EGAWA et al., 2015). No momento em que as células atingem a camada apical, o vírus aumenta a sua replicação produzindo mais de 1000 cópias por célula. Nesse momento os genes tardios (L1 e L2) são ativados a fim de encapsular o vírus tornando-os capazes de infectar novas células (ZHANG; SPANDAU; ROMAN, 2002). Essa integração também pode promover o aumento de proto-oncogenes como o MYC (*MYeloCytomatosis*) que favorecem o crescimento tumoral (DURST et al., 1987).

O HPV de alto risco codifica oncoproteínas relacionadas com a proliferação, diferenciação e a sobrevivência das células do hospedeiro. Essas propriedades estão relacionadas principalmente com E5, E6 e E7 e são necessárias para o processo de imortalização das células e conseqüentemente de sobrevivência e replicação viral (MOODY; LAIMINS, 2010).

As proteínas E1 e E2 atuam como reguladoras dos processos de transcrição e replicação do DNA viral. A E1 reconhece o local da replicação e se integra a ele. Ela se liga ao elemento Ori, recruta proteínas e apresenta funções bioquímicas como a de DNA helicase e ATPase, permitindo a abertura das fitas de DNA (TYRING, 2000; RYU, 2016). Além das propriedades já apresentadas, E2 também é capaz de inibir a expressão de genes da região L através de interações com a proteínas CPFS30 (JOHANSSON et al., 2012). As proteínas E1^{E4} se ligam às redes de citoqueratinas e impedem as células de entrarem em mitose, fazendo com que permaneçam na fase G2 do ciclo celular. Também se associam às mitocôndrias, permitindo a saída dos vírions recém-sintetizados para ciclos subsequentes de infecções (RAJ et al., 2004).

A oncoproteína E5 é importante para o surgimento do câncer cervical, entretanto, não parece ter relação com sua progressão e persistência. Sua função no início da lesão está relacionada com a progressão do ciclo celular associada ao aumento da ativação do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (WASSON et al., 2017). Além disso, também parece desregular a expressão do antígeno leucocitário de histocompatibilidade (HLA) das células infectadas permitindo o escape do vírus (CAMPO et al., 2010).

A E7 promove processos como a angiogênese além de se ligar à proteína do retinoblastoma (pRb) que é responsável por regular a progressão da fase G1 para a fase S do ciclo celular, permitindo uma multiplicação desordenada das células (CHEN et al., 2007; MONSONEGO et al., 2012). Essa entrada descontrolada na fase S promove a ativação do gene supressor tumoral p53 responsável pelo processo de apoptose. Para evitar que isso aconteça, a oncoproteína E6 se liga a E6AP e forma o complexo E6-E6AP que facilita a ubiquitinação de p53 e promove sua degradação por proteossomos (MCLAUGHLIN-DRUBIN; MEYERS; MUNGER, 2012). Essa ligação libera o fator de transcrição E2F que participa da replicação dos cromossomos, levando à proliferação excessiva dos queratinócitos infectados (YUGAWA; KIYONO, 2009). Além disso, a E6 degrada a proteína pró-apoptótica BAK além de ativar a telomerase (LETO et al., 2011; VELDMAN et al., 2010). A ligação de E6 e E7 às proteínas que controlam o ciclo celular não é observada em HPV de baixo grau (BURD, 2003).

As proteínas estruturais (L1 e L2) passam a ter sua expressão aumentada conforme as células do hospedeiro se dividem e atingem a porção apical. A proteína L2 também interfere no controle de proteínas do ciclo celular, desorganizando o domínio 10 que promove processos de transcrição, supressão do crescimento e apoptose (PYEON et al., 2009). Nas etapas finais do processo de replicação, o gene E4 favorece a saída do vírion da célula através de mecanismos que rompem o citoesqueleto da célula do hospedeiro (ZHANG; SPANDAU; ROMAN, 2002).

Em síntese, os oncogenes E5, E6 e E7 são responsáveis pelo mecanismo de escape do HPV do sistema imunológico do hospedeiro, desregulam o ciclo celular, promovem instabilidade cromossômica, inibem a apoptose e geram células imortalizadas. O HPV tem a capacidade de escapar da imunovigilância do hospedeiro de diversas maneiras, dentre elas encontra-se o fato do vírus não causar lise celular e não originar processos inflamatórios. Consequentemente, existe uma grande barreira para o sistema imunológico em identificar seus antígenos, pelos mesmos não se encontrarem, ou se apresentarem em pequenas quantidades, no sistema linfático ou sanguíneo, não gerando resposta imunológica inata ou adquirida efetiva contra o vírus podendo evoluir para o câncer cervical (DE LIMA CAMARA et al., 2003).

A progressão da lesão papilomatosa para o câncer foi observada pela primeira vez em 1933 por Shope e Hurst através de experimentos com coelhos (SHOPE; HURST, 1933). Em 1996, Muñoz e Bosh estabeleceram, através de uma revisão abrangente do assunto, uma relação epidemiológica do HPV com o aparecimento do câncer cervical. Além disso, os autores observaram que o subtipo mais frequente no câncer era o 16, seguido pelo 18, 45 e 31, o que condiz com alguns estudos que avaliam esses critérios atualmente. O estudo já discutia outros fatores que estariam associados ao desenvolvimento da doença como deficiência no sistema imunológico e a relevância do desenvolvimento de vacinas profiláticas (MUÑOZ; BOSH, 1996). Em 1977, Harald zur Hausen demonstrou a associação do HPV com câncer cervical, o que o levou a ganhar o Prêmio Nobel de Medicina em 2008 (ZUR HAUSEN, 1977).

2.2.5. Resposta imunológica contra o HPV

O sistema imunológico conta com células e moléculas efetivas que fazem parte da imunidade inata e a adquirida. Elas atuam em sinergia promovendo a homeostasia do organismo e a eliminação de agentes estranhos. A imunidade inata compreende a primeira linha de defesa e não apresenta especificidade, como no caso das respostas adaptativas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Basicamente, as células imunológicas que fazem parte da defesa contra o HPV de alto risco (hrHPV - *high risk* HPV) são as células de Langerhans (LC), queratinócitos, Natural Killer (NK), macrófagos, Linfócitos T (LT) e linfócitos B (LB) (STANLEY; STERLING, 2014).

Os macrófagos são células derivadas dos monócitos que fazem parte da imunidade inata do organismo. Eles realizam fagocitose, funcionam como células apresentadoras de antígenos (APCs) e são os primeiros a responderem frente uma agressão às células. Quando os macrófagos reconhecem uma célula infectada, iniciam a produção de quimiocinas e citocinas a fim de atrair outras células de defesa até o local da infecção. Elas se dividem em duas linhagens, os macrófagos M1 e M2. O M1 apresenta propriedades pró-inflamatórias e produz citocinas como fator de necrose tumoral (TNF- α), a interleucina 6 (IL-6) e a IL-12, favorecendo a eliminação do microrganismo. O M2 apresenta propriedades imunomoduladoras, sintetizam IL-10, fator de crescimento transformante- β (TGF- β) e o antagonista do receptor da IL-1 (IL-1Ra). M2 é capaz de aumentar o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a metaloproteinase de matriz (MMP), que favorecem o reparo tecidual após uma lesão. Entretanto, quando são ativados por tumores, eles permitem a sua progressão por promoverem ruptura na membrana basal, crescimento tumoral e metástase (MANTOVANI et al., 2004;

ZHANG et al., 2014). A progressão da lesão cervical está associada a um aumento na concentração de macrófagos M2, que além de favorecerem um agravamento da lesão pelas características supracitadas ainda podem induzir um fenótipo regulatório em células T (LEPIQUE et al., 2009).

Os queratinócitos também fazem parte da imunidade inata e são o alvo da infecção pelo HPV. Essas células expressam receptores do tipo-*Toll* (TLRs) que reconhecem os padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs) e padrões moleculares associados ao dano (DAMP). O HPV é reconhecido especificamente pelo receptor TLR9 e esse contato entre a célula e o patógeno dá início à síntese de IFN-1, defensinas, interleucinas e citocinas pró-inflamatórias (KARIM et al., 2011). Os interferons (IFN) são proteínas sinalizadoras importantes com propriedades antivirais e imunoestimulatórias. Elas atraem outras células da imunidade inata como macrófagos e células dendríticas, a fim de potencializar a resposta imune. Os IFN-I compreendem os IFN- α e IFN- β e os do tipo II, IFN- γ (MALMGAARD, 2004). Além disso, os queratinócitos também sintetizam a quimiocina CCL20 e E-caderina, que são responsáveis pela migração de células LCs imaturas e pela adesão dessas células aos queratinócitos, respectivamente (D'COSTA et al., 2012; LE BORGNE et al., 2006). As LCs encontram dificuldade de acesso e identificação das células infectadas pelo HPV por estarem localizadas na porção basal. Neste sentido, é essencial a participação das moléculas de adesão E-caderina, que permitem a conexão entre as LCs e os queratinócitos infectados (MATTHEWS et al., 2003). As moléculas de adesão como, ICAM-1 (molécula de adesão intercelular - CD54), VCAM-1 (molécula celular de adesão vascular - CD 106) e E-selectina (CD62E), promovem o recrutamento de células imunocompetentes da circulação até o local da infecção. Em neoplasia cervical de baixo grau (NIC I) essas moléculas não apresentam alterações quanto ao seu nível de expressão pelos queratinócitos, entretanto, em lesões de alto grau (NIC 2/3) essa expressão encontra-se significativamente aumentada, favorecendo a atividade antineoplásica nessas células (COLEMAN; STANLEY, 1994).

As LCs são células dendríticas (DCs) encontradas no tecido epitelial que possuem receptores do tipo *Toll*. Elas são importantes APCs desse tecido e são capazes de ativar os linfócitos através do processamento e apresentação de antígenos associados ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC - *Major Histocompatibility Complex*). Durante a sua maturação, ocorre o aumento da expressão de moléculas co-estimulatórias CD40, CD80 e CD86, do MHCII e do receptor de citocinas CCR7, necessárias para uma resposta efetiva (CONTI; SANTIAGO; SFORCIN, 2014). O CCR7 responde às quimiocinas CCL19 e CCL21

que são responsáveis pelo tráfego das DCs até os linfonodos para apresentação dos antígenos para os linfócitos (MATTHEWS et al., 2003).

A IL-18 é produzida pelas LCs e pelos queratinócitos e também participa do processo de eliminação de infecções virais, prevenindo a formação de câncer proveniente desses vírus, além de aumentar a atividade de NK, induzir a produção de IFN- γ e favorecer a migração de LCs e células dendríticas para os linfonodos (CHO et al., 2001; CUMBERBATCH et al., 2001).

O número de LCs na epiderme e nas mucosas é inversamente proporcional ao grau de severidade da lesão. Sendo assim, em lesões intraepiteliais de alto grau observa-se uma diminuição significativa no número dessas células dendríticas tornando a resposta imunológica menos eficaz (DUGGAN-KEEN et al., 1998). O aumento na concentração de LCs em uma infecção cervical por HPV está relacionado com a depuração da infecção cervical (BASHAW et al., 2017).

Outras células importantes contra vírus são as NK, as quais fazem parte da linhagem de células T da imunidade adquirida e possuem função citolítica contra células infectadas por vírus ou células tumorais sem a necessidade de uma apresentação prévia do antígeno. Elas são estimuladas pela IL-2, IL12p70, IL-18 e sintetizam importantes citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF). A ativação dessas células ocorre mediante ativação de seus receptores NKp30, NKp44, NKp46 e NKG2D e co-receptores NKp80 e 2B4 (WELTE et al., 2006; GARCIA-IGLESIAS et al., 2009).

Em adição, os linfócitos T são importantes células da imunidade adquirida responsáveis pela eliminação de células infectadas pelo HPV ou tumores induzidos por esse vírus. A maturação dessas células só ocorre através da expressão do receptor de células T (TCR) associado ao complexo CD3 e de seus co-receptores CD4 ou CD8. Essas células também expressam em sua superfície moléculas CD40L e CD28. Para que elas possam ser ativadas, é necessário a identificação dos antígenos - pelo TCR - através de sua apresentação pelo MHC seguido de sinalização celular desencadeada por CD3. Esses linfócitos se dividem basicamente em linfócitos T citotóxicos (CTL) que possuem moléculas co-receptoras CD8, linfócitos T auxiliares ou helper (Th) que possuem moléculas co-receptoras CD4 e células T reguladoras (Treg) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os linfócitos T CD4+ ou linfócitos T auxiliares se subdividem em 3 grupos, Th1, Th2 e Th17, sendo que cada um deles desempenha funções específicas e respostas direcionadas para diferentes microrganismos. Os Th1 são relevantes para as respostas contra patógenos intracelulares e responsáveis pela síntese de IL-2 e IFN- γ . A síntese dessas citocinas favorece a imunidade mediada por células, ativando macrófagos e CTL (MALOY; POWRIE, 2005). A

IL-2 mantém a homeostasia do sistema imune e é responsável pelo processo de tolerância imunológica. Essa interleucina expressa os receptores IL-2Ra (CD25) ou IL-2Rb (CD122), relevantes para potencializar a resposta dos Linfócitos T CD8 e promover a expansão clonal de Foxp3 T-regs, permitindo a auto-tolerância (FONTENOT et al., 2005). O Th2 é responsável pela síntese de citocinas como IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 e auxilia os linfócitos B a se diferenciarem em plasmócitos e secretarem anticorpos, além de participarem de reações alérgicas e infecções por helmintos por induzirem a troca de classe de imunoglobinas para IgE e induzir a ativação de eosinófilos. Th1 e Th2 apresentam propriedades distintas e inibitórias para a diferenciação e função efetora do outro subgrupo (KANODIA; FAHEY; KAST, 2007; ROMAGNANI, 1994).

As citocinas sintetizadas por Th1, como as interleucinas 2 (IL-2), estão associadas a quadros de regressão da lesão; o aumento na síntese dessas citocinas induz a formação de infiltrado de células mononucleares, regulação positiva de moléculas de adesão e apoptose de queratinócitos infectados (GRASSEGER et al., 1997).

Os linfócitos Th17 são importantes na proteção contra microrganismos extracelulares, não sendo efetivos contra o HPV. Eles basicamente sintetizam as citocinas IL-22, IL-26 e IL-17 e são potentes indutores de processos inflamatórios (MESQUITA et al., 2009).

As células T reguladoras (T-regs) compreendem uma terceira categoria de células T caracterizadas pela expressão da molécula CD25+ e do fator nuclear Foxp3, além de outros receptores como CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*), GITR (*Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*), TNFR-2 (*Tumor Necrosis Factor Receptor-2*) e HLA-DR (*Human Leucocyte Antigen*), CD27, Fas, CD62L; e os receptores de quimiocina CCR6, CCR7, CCR8 e CD103 (GUPTA; SHANG; SUN, 2008). Elas são importantes para o processo de tolerância imunológica e regulam a maturação das DCs e a ativação dos linfócitos T por meio do CTLA-4 através da competição pelo sítio de ligação de CD28+ dos linfócitos com os receptores CD80 e CD86 das DCs, limitando a habilidade das DCs de estimular os linfócitos T CD8+ (PARDOLL, 2012).

Pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) apresentam uma depleção de células TCD4+, tornando-os significativamente mais susceptíveis a infecções pelo HPV e desenvolvimento de tumores associados a ele (VAN DER BURG; PALEFSKY, 2009).

Os linfócitos TCD8+ são responsáveis pela eliminação das células infectadas por vírus e promovem resposta antitumoral. Eles são capazes de reconhecer células que expõem antígenos na sua superfície associadas ao MHC de classe I e expressam receptores como o CD28+. Após a sua ativação, eles sintetizam e secretam mediadores celulares com propriedades

antitumorais como interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), eliminando a célula por citotoxicidade (LAMIKANRA et al., 2001).

Os linfócitos B possuem receptores denominados BCR, que compreendem basicamente, as imunoglobulinas IgM e IgD. Expressam TLRs como TLR-2, TLR-3, TLR-5 TLR-7 e TLR-9 e moléculas de superfície como CD40, CD80 e CD86. O reconhecimento de antígenos proteicos ocorre por uma via dependente de LT auxiliares enquanto que os não proteicos, como os polissacarídeos bacterianos, podem ser identificados diretamente pelos linfócitos B (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). São células que fazem parte da imunidade adquirida com função de neutralizar ou destruir antígenos. Se diferenciam em células de memória ou plasmócitos secretores de imunoglobulinas específicas para o antígeno que os estimulou. Eles também funcionam como APCs e protegem os indivíduos de serem re-infectados, porém, são menos relevantes do que os linfócitos T para eliminar infecções já instaladas (SCOTT; NAKAWAGA; MOSCICKI, 2001). A produção de anticorpos contra o HPV é direcionada contra a proteína do capsídeo (L1), e quando ocorre de maneira natural, os anticorpos contra o HPV estão presentes em baixos títulos no soro pelo fato das proteínas do capsídeo não ficarem expostas ao sistema imunológico (VILLA et al., 2006). A maioria dos anticorpos produzidos pelos plasmócitos contra o HPV são da classe IgG1 (VISCIDI et al., 2004). A imunidade humoral e celular é prejudicada pelo hábito de fumar, que reduz as citocinas pró-inflamatórias, as células NK e imunoglobulinas, aumentando o risco de infecções subsequentes e interferindo na eliminação adequada do vírus (SOPORI, 2002).

O ambiente mucoso também tem um papel na resposta do hospedeiro ao vírus. A resposta de hormônios e a microbiota são diferentes na cérvix, na vagina, vulva, pênis, ânus e na orofaringe influenciando na maneira como o vírus é eliminado ou como ele consegue resistir às defesas do hospedeiro (BROTMAN et al., 2014). A α -defensiva 5 humana (HD5), apresenta propriedades antivirais e é pouco expressada na junção escamo-colunar (SCJ) da cérvix, mas, é proeminente no epitélio ectocervical, vagina e na vulva. Essa proteína é quimiotática para ativação das células T e de macrófagos imaturos além de estimular as células dendríticas (HUBERT et al., 2014). Os hormônios sexuais também modulam as respostas da imunidade inata e adquirida no trato genital feminino e a imunoproteção varia conforme a fase do ciclo menstrual. A junção escamo-colunar e a zona de transformação da cérvix podem expressar uma grande quantidade de receptores para estrógeno e progesterona. O estradiol promove a produção de IFNs e citocinas pró-inflamatórias (KOVATS, 2015).

A associação significativa entre o número de células imunocompetentes e o grau da neoplasia intraepitelial cervical foi demonstrada por alguns estudos, indicando que a resposta

imune é um fator crucial para a regressão da lesão ou sua progressão para o câncer cervical, sendo a estimulação dessas células o enfoque para o desenvolvimento de vacinas profiláticas e terapêuticas contra o HPV (GONÇALVES; DONADI, 2004). No ambiente de infiltrados tumorais existe um predomínio de linfócitos T reguladores e macrófagos M2 (BOLPETTI et al., 2014; STONE et al., 2014).

Os linfócitos T apresentam diferentes distribuições nas NIC e no carcinoma do colo uterino. As pacientes com regressão de NIC grau I demonstraram predomínio de células T auxiliares no estroma e no epitélio, o que sugere que tais células representem um marcador de regressão tumoral, além de estarem associadas ao controle da replicação viral e supressão da transformação maligna. Sendo assim, sua deficiência está associada a maior prevalência de HPV, presença de lesões pré-invasivas e maior risco de progressão da lesão (MONNIER-BENOIT et al., 2006). Entretanto, em lesões NIC I que progrediram para NIC II ou NIC III, foi observado um aumento de linfócitos T citotóxicos (CD8+) e de células T de memória associado à diminuição das células T CD4+. Nas NIC III com recidiva após conização, observou-se uma forte expressão do marcador para linfócitos T CD3, sugerindo assim que a positividade ao CD3 pode estar relacionada a pior evolução da doença (MONNIER-BENOIT et al., 2006).

As infecções crônicas são mediadas principalmente pela imunidade celular, com grande quantidade de infiltrado de linfócitos T CD8+ e CD4+ (HARARI et al., 2006). Nas lesões de alto grau são encontrados linfócitos TCD8+ com especificidade para as oncoproteínas E6 e E7, além de baixa produção de IL-2, IFN γ e TNF- α (LEE et al., 2001; PEGHINI et al., 2012). Em lesões que regredem espontaneamente foram encontrados em maior quantidade macrófagos M1, linfócitos T CD4+ com perfil Th-1 e linfócitos T CD8+ citotóxicos infiltrados (VAN DER BURG; MELIEF, 2011). E nas lesões de baixo grau foram encontradas grandes quantidades de IL-4 sintetizadas por Th2, entretanto, sua concentração diminui significativamente conforme a lesão avança (DELIGEOROGLOU et al., 2013). O número de células dendríticas na epiderme e nas mucosas é inversamente proporcional ao grau de severidade da lesão. Sendo assim, em lesões intraepiteliais de alto grau há uma diminuição significativa no número de células dendríticas tornando a resposta imunológica menos eficaz (DUGGAN-KEEN et al., 1998).

De modo geral, as duas subclasses de células T auxiliares são suprimidas durante uma infecção por HPV, presumivelmente por atividade das células Treg (DELIGEOROGLOU et al., 2013).

Pacientes imunodeprimidos ou que fazem uso de medicamentos ou terapias imunossupressoras, apresentam uma diminuição significativa de células da imunidade contra

os vírus e consequentemente, são mais susceptíveis a infecções pelo HPV, verrugas genitais, câncer cervical e lesão intraepitelial (CHIRGWIN et al., 1995).

Muitas infecções regredem espontaneamente, porém, podem ser novamente detectadas pelo fato de que a maioria delas são eliminadas pela imunidade inata e esta não forma anticorpos para prevenir outras infecções. É possível que esse quadro possa ocorrer em 5 a 20% dos casos, mesmo que a paciente não tenha mais sido diagnosticada com o vírus. Essa detecção pode estar relacionada com uma nova infecção adquirida por uma reexposição ao vírus (MOSCICKI et al., 2012).

2.2.6. Mecanismos de escape do sistema imunológico

O HPV utiliza diversos mecanismos para se evadir da resposta imunológica do hospedeiro evitando a sua destruição. Sua oncogenicidade está diretamente relacionada com essa capacidade de se evadir do sistema imunológico. Um desses mecanismos está associado ao fato da infecção pelo HPV ser exclusivamente intraepitelial, ou seja, não apresenta viremia. Sendo assim, os vírions raramente são encontrados na circulação sanguínea ou no sistema linfático. Esse quadro pôde ser revertido através de um processo que promoveu a ruptura das células através de uma biópsia, expondo os vírus e gerando uma resposta imunológica efetiva mediada pelas APCs, destruição das células infectadas pelo HPV e regressão da neoplasia cervical (KAST et al., 1996). Eles também se evadem de uma resposta do sistema imunológico por não induzirem citólise ou processos inflamatórios associados à sua replicação. Portanto, na maior parte do ciclo de infecção do HPV, ou existe em pequena quantidade, ou não ocorre a liberação de citocinas pró-inflamatórias para recrutar e ativar as células imunológicas (MARIANI; VENUTI, 2010; SCHIFFMAN et al., 2016).

A interferência do vírus nos mecanismos de defesa utilizados pelo hospedeiro ainda não foi totalmente elucidada, entretanto, já existe um vasto conhecimento sobre como ele interfere nas respostas inatas e adquiridas que foi identificado tanto em estudo *in vivo* como *in vitro*, principalmente com os oncogenes E6 e E7 do hrHPV16 e 18. Pelo fato de o HPV apresentar um ciclo não lítico, as células de defesa negligenciam as células infectadas por muito tempo, resultando em uma infecção persistente (KAST et al., 1996). Essas células infectadas recrutam células supressoras como os macrófagos associados a tumores (MATs), células supressoras derivadas da linhagem mieloide (MDSCs) e células T reguladoras (Treg) que induzem a diferenciação de DCs tolerogênicas promovendo a progressão da lesão (PRATA et al., 2015).

A persistência do HPV promove uma supressão das células dendríticas, além de diminuir os níveis de IFN- α e IL-2 (OVESTAD et al., 2010; STANLEY, 2009). A persistência da lesão pode relacionar-se também com a ineficiência do sistema imunológico em eliminar infecções virais pré-existentes (LIMBERGER et al., 2012).

Em infecções de alto risco o HPV desregula a expressão de CCL20 e de E-caderinas, que são necessárias para o recrutamento e ligação das LCs com os queratinócitos, reduzindo o número de LCs disponíveis no local da infecção (D’COSTA et al., 2012; LE BORGNE et al., 2006; SCHIFFMAN et al., 2016; SPERLING et al., 2012). Ele também interfere na expressão dos receptores CCR7, diminuindo o tráfego de DCs para os linfonodos, assim como na expressão de co-estimuladores como CD80 e CD86, fazendo com que as células que consigam chegar até lá sejam imunologicamente inativas (XIN et al. 2017; YANG et al. 2013). Além disso, o HPV também desregula a expressão dos receptores TLR9 limitando a expressão de genes pró-inflamatórios que são necessários para ativar uma resposta imune (AKIRA; TAKEDA, 2004; HASAN et al., 2007).

E6 e E7 promovem a regulação negativa da expressão do complexo MHC resultando em falha de reconhecimento e eliminação do antígeno pelo sistema imunológico (KANODIA; FAHEY; KAST, 2007). No HPV 18 esse processo está associado com a diminuição na expressão dos genes TAP1 (*Transporter Associated with Antigen Protein 1*) e LMP2 (*Latent Membrane Protein 2*) que são essenciais para transportar o MHC para a membrana da célula (GEORGOPOULOS; PROFFITT; BLAIR, 2000).

A proteína E6 do HPV16 possui atividade mitogênica agindo em sinergia com o fator de crescimento epidérmico (EGF) nos queratinócitos, inibindo a degradação do EGFR no endossomo. Ele também altera o pH necessário para a homeostase do complexo de golgi. Essa mudança de pH interfere diretamente na estabilidade de ligação dos peptídeos ao MHC, além de trazer prejuízos nos processos de endocitose e exocitose do complexo MHC (ASHRAFI et al., 2005).

Em alguns casos, os queratinócitos infectados podem apresentar os antígenos de HPV sem a expressão de co-receptores, promovendo uma falha na resposta das células T por anergia (JUNE et al., 1994).

O HPV também se relaciona com uma diminuição na expressão de receptores das células NK. Os níveis de receptores NKp30, NKp46, NKG2D das células NK diminuem significativamente em lesões de alto grau associado ao HPV16, principalmente devido à baixa atividade citotóxica dessas células, facilitando a progressão da lesão e a carcinogênese (GARCIA-IGLESIAS et al., 2009).

Estudos *in vitro* demonstraram que o HPV é capaz de interromper a expressão de genes de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (KARIM et al., 2011) como TNF- α , que são sintetizadas por MI e CD8+ além de promover a síntese de IL-10, que possui funções anti-inflamatórias e inibe a ação de citocinas envolvidas na imunorregulação de Th1/Th2, como IL-2, IL-12 e TNF. Esse quadro promove a diminuição da expressão de moléculas MHC de classe I, além de favorecer a evolução das NIC (EINSTEIN et al., 2007). Em lesões de alto grau observa-se um predomínio de citocinas do tipo Th2. Essa hipótese pode ser considerada pela resposta padrão com grande quantidade de IL-10 encontrada no plasma de pacientes portadoras de neoplasia intraepitelial, sendo esse perfil relacionado com uma diminuição da ação das células de defesa que podem favorecer a progressão para o câncer cervical (BAIS et al., 2005; KANODIA; FAHEY; KAST, 2007).

Os oncogenes do HPV também inibem a ativação de NF κ B (fator nuclear *kappa* B), esse fator de transcrição exerce diversas funções relevantes para o funcionamento do sistema imunológico, entre elas a de promover a expressão de genes pró-inflamatórios e de regular a sobrevivência, ativação e diferenciação de células da imunidade inata e de linfócitos T. O HPV de alto risco bloqueia a translocação desse fator de transcrição até o núcleo resultando em prejuízos para a resposta imune contra o vírus (RICHARDS et al., 2015). O oncogene E5 do HPV16 demonstrou ter a capacidade de diminuir a expressão de moléculas do MHC-I (CORTESE; ASHRAFI; CAMPO, 2010).

Outro mecanismo de evasão utilizado pelo HPV relaciona-se com a sua capacidade de evitar a resposta dos linfócitos TCD8+, através da baixa expressão do transportador associado ao processamento de antígenos (TAP), molécula essencial para a apresentação de antígenos no contexto do MHC I para os linfócitos T citotóxicos (VAMBUTAS; BONAGURA; STEINBERG, 2000). Ele também pode competir com receptores das citocinas produzidas pelas células de defesa como a IL-18. A IL-18 age nos linfócitos T promovendo a síntese de IFN- γ , apresentando propriedades antitumorais relevantes e proteção contra patógenos intracelulares como o HPV. Os oncogenes E6 e E7 se ligam ao receptor IL-18R α da IL-18, impedindo a ação da IL-18 e levando à diminuição na síntese de IFN- γ (LEE et al., 2001). Além disso, queratinócitos infectados, podem escapar da imunovigilância por apresentarem expressão diminuída de IL-18, o que favorece a progressão do vírus e a formação de lesões mais graves (CHO et al., 2001).

O vírus também pode ser capaz de promover o mimetismo molecular. Nesse processo, o HPV pode simular moléculas do hospedeiro fazendo com que as células de defesa não o ataquem pelos princípios básicos da tolerância imunológica (NATALE et al., 2000).

O E6 e E7 também inibem a transcrição de MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) e IL-8, reduzindo significativamente o recrutamento de células como neutrófilos, monócitos/macrófagos, células T (HUANG; MCCANCE, 2002; KLEINE-LOWINSKI et al., 2003).

A modulação do sistema imunológico pelo HPV pode ser contornada através da administração de vacinas terapêuticas que promovem uma resposta imunológica mais específica e efetiva quanto à eliminação da lesão instalada (VAN DER BURG; PALEFSKY, 2009).

2.2.7. Tratamento do HPV

O termo lesão precursora do câncer foi introduzido em 1900 por Cullen, e durante esse período as histerectomias radicais eram o tratamento de escolha para as pacientes que apresentassem esse quadro, a fim de se evitar a progressão para o câncer (CULLEN, 1900). Apenas em 1932, foi introduzido o termo “carcinoma *in situ*” caracterizado pela presença de células neoplásicas em toda a extensão do epitélio cervical, sem romper, no entanto, a camada basal. A partir de novos critérios estabelecidos, foi possível avaliar a evolução natural da doença e, conseqüentemente, qual conduta seria mais adequada para cada caso (BONFIGLIO, 2003). Em 1963 Crawford e Crawford conseguiram desvendar a estrutura do genoma viral, permitindo maior compreensão da história natural desse vírus (CRAWFORD; CRAWFORD, 1963).

Do ponto de vista histológico, a NIC é classificada como NIC 1, NIC 2 ou NIC 3 e as duas últimas são NIC de alto grau. Os tratamentos para NIC são classificados como excisional ou ablativo, e o primeiro é usado principalmente para tratar NIC 2/3 (JIANG et al., 2016). Quando o HPV é detectado, a terapêutica atualmente utilizada é a remoção física total da lesão. Essas medidas são eficientes em lesões iniciais com eliminação superior a 80%. Entretanto, muitas vezes não ocorre a eliminação do DNA viral (LACEY et al., 2013; KYRGIU et al., 2016).

Os três principais procedimentos de excisão para o tratamento da NIC são conização a laser, conização a frio (CKC) e procedimento de excisão eletrocirúrgica de alça (CAF), também conhecida como excisão de alça da zona de transformação (LLETZ, do inglês, *Large Loop Excision of the Transformation Zone*). Essas estratégias promovem a remoção das células alteradas da zona de transformação, preservando as funções cervicais (SCHWARZ et al., 2015).

Os tratamentos são priorizados levando-se em conta a idade da paciente, planejamento familiar, local e grau da lesão, além de associação com outras doenças ginecológicas.

Adicionalmente, outros fatores relevantes são considerados, como a preferência da paciente, custos, disponibilidade de recursos, efeitos adversos e experiência do profissional de saúde (PASSOS et al., 2008).

Em muitos países, a histerectomia não é mais aceitável como opção de tratamento primário para lesões pré-cancerígenas; e tratamentos que poupam a fertilidade, como a crioterapia, são as primeiras opções para essas lesões. O procedimento de excisão eletrocirúrgica com alça (LEEP) ou a exérese ampla da zona de transformação (LLETZ) tornaram-se procedimentos mais populares, pois, podem ser feitos em regime ambulatorial com anestesia local e removem apenas uma pequena quantidade de estroma cervical. Embora a quantidade mínima de tecido seja o objetivo, relatos recentes mostram que mulheres submetidas a LEEP/LLETZ apresentam risco aumentado de partos prematuros (KYRGIU et al., 2017). Um estudo realizado com 610 mulheres que se submeteram a LEEP demonstrou que 36.9% delas ainda permaneciam positivas para o HPV carcinogênico em cinco meses após o tratamento, especialmente as associadas ao HPV 16 (KREIMER et al., 2006). A conização com bisturi a frio ainda é usada quando é necessária uma remoção tecidual mais extensa (SCHIFFMAN et al., 2007). Zhuang e colaboradores (2018), demonstraram através de uma meta-análise que essa técnica assim como LLETZ, estão associadas com um maior risco de parto prematuro e menor peso ao nascer.

Independente do tratamento de escolha, as pacientes que apresentam lesões de alto grau ou as que contraem esse tipo de lesão após o tratamento apresentam maiores chances de adquirí-las novamente, ou de desenvolver câncer cervical quando comparadas às pacientes que não apresentam lesões agressivas (SOUTTER; SASIENI; PANOSKALTSIS, 2006). Mulheres com HPV de alto risco apresentam 17% de chance de desenvolverem NIC de alto grau residual ou recorrente após o tratamento. A recorrência de lesões pré-neoplásicas está relacionada com tratamento inadequado de NIC ou falha no tratamento, reinfecção do vírus, excisão incompleta da lesão ou persistência do HPV associado ou não à lesão (GHITTONI et al., 2015; KOCKEN et al., 2011; TACHEZY et al., 2006).

As estimativas de incidência de HPV seguidas de tratamento apareceram mais baixas entre as populações de mulheres mais jovens tratadas com conização a laser em comparação com outros tratamentos convencionais (ROSITCH et al., 2014).

Ressalta-se que os efeitos psicológicos de pacientes com lesões associadas ao HPV são variados, tais como: o sentimento de vulnerabilidade psicosssexual, depressão, ansiedade e raiva, estigma do diagnóstico de uma doença venérea, angústia com relação ao tempo e quanto ao sucesso de tratamento incertos, preocupações com transmissão a outros, medo de malignidades

relacionadas ao HPV, auto-aversão e preocupações com o futuro (GRAZIOTTIN; SERAFINI, 2009; MORTANSEN; LARSEN, 2010). O impacto emocional deve ser levado em consideração pelos profissionais da equipe interdisciplinar desde o diagnóstico, tratamento e seguimento dessas pacientes, fornecendo explicações sobre a doença, sua evolução e melhores opções de tratamento, de forma empática, sensível e integral e que abarque questões sócio-culturais do paciente e da família, utilizando preferencialmente uma linguagem não científica (STEBEN; LABELLE, 2012).

O tratamento não cirúrgico por meio do uso de vacinas terapêuticas pode ser uma estratégia para contornar os prejuízos relacionados aos procedimentos utilizados no tratamento das pacientes com NIC, preservando a saúde reprodutiva bem como evitando a persistência e a recorrência do HPV (BRUN et al., 2018).

2.2.8. Neoplasia Intraepitelial Cervical associada ao HPV

No final do século XIX, o conceito de lesões precursoras da neoplasia do colo uterino surgiu a partir da observação de alterações epiteliais atípicas não invasivas em amostras teciduais adjacentes às neoplasias invasivas (WILLIAM, 1888). Em 1968, o termo NIC foi introduzido para caracterizar a atipia celular limitada ao epitélio, dividindo-a em 3 graus (NIC 1, 2 e 3) (RICHART, 1967). Em 1982, Buckley, Butler e Fox descreveram a NIC 1 como uma displasia leve, a NIC 2 como moderada e a NIC 3 como uma displasia severa com células atípicas por todo o epitélio, equivalente ao carcinoma *in situ*. Definiu-se o câncer cervical invasivo como a penetração das células anormais através da membrana basal do epitélio. Em 1988, o sistema Bethesda foi introduzido baseado na citologia, sendo classificada como lesão intraepitelial cervical de baixo grau o equivalente a NIC 1 e lesão intraepitelial cervical de alto grau a NIC 2/3, adicionando à classificação a nomenclatura para células escamosas atípicas de significância indeterminada (ASC-US) e lesão intraepitelial escamosa de alto grau (ASC-H), além da posterior nomenclatura para lesão intraepitelial escamosa (SIL) que compreende dois grupos: lesões de baixo grau (LSIL) e de alto grau (HSIL) (SOLOMON et al., 2002).

A NIC pode ser classificada em NIC grau 1, grau 2 ou grau 3, sendo as duas últimas consideradas como lesões pré-cancerígenas ou lesões de alto grau. As lesões de alto grau se devolvem em um período de dois a três anos após a infecção pelo vírus HPV e levam de 10 a 20 anos para se tornarem lesões invasivas (SNIJDERS et al., 2006). A NIC é identificada mediante o exame microscópico das células do epitélio cervical em um esfregaço citológico corado pelo exame de colpocitologia oncótica (*papanicolaou*). Essa identificação é baseada em

alterações nucleares e citoplasmáticas que podem estar presentes nas células epiteliais (SMITH et al., 2018).

A NIC 1 normalmente apresenta-se assintomática, não é considerada uma lesão pré-cancerígena e desaparece pela ação efetiva do sistema imunológico. Elas estão relacionadas com alterações celulares que acometem o terço inferior do epitélio cervical, sendo que somente 20% destas evoluem para NIC 2 e 10% evoluem para NIC 3 (ÖSTÖR, 1993). As figuras de mitose quando presentes, estão em pequenas quantidades (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

Na NIC 2 observa-se alterações celulares displásicas, principalmente restritas à metade inferior ou aos dois terços inferiores do epitélio, com anomalias nucleares mais acentuadas que na NIC 1. Figuras de mitose são vistas em toda a metade inferior do epitélio (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003) e cerca de 30% dessas alterações evoluem para NIC 3 (COX, 2009; PETO et al., 2004). Trata-se de uma lesão heterogênea, podendo estar relacionada com HPV carcinogênico ou não, sendo ainda não elucidada sua evolução para o câncer (CASTLE et al., 2007).

Na NIC 3, a diferenciação e a estratificação podem estar totalmente ausentes ou estar presentes somente no quarto superficial do epitélio com numerosas figuras de mitose. Anomalias nucleares estendem-se em toda a espessura do epitélio e aproximadamente 40% dessas alterações evoluem para câncer cervical (COX, 2009; PETO et al., 2004). Castle e colaboradores (2010), demonstraram através de um estudo com 608 mulheres com NIC 3, a presença de HPV em 98.8% das amostras, sendo que destas, 96.5% possuíam HPV carcinogênico. Os cinco tipos mais encontrados foram HPV 16 (59.9%), HPV 31 (18.1%), HPV 52 (14.8%), HPV 51 (14.0%), e HPV 18 (13.2%). Além disso, houve uma correlação da presença de pacientes NIC 3 positivas para HPV 16, o que foi mais comum em mulheres jovens do que em mulheres mais velhas e em fumantes quando comparadas às não fumantes. A relação entre NIC 3 positivas para HPV 16 se mostrou menos incidente em mulheres multíparas. NIC 2/3 associadas ao HPV 16 apresentam menor chance de regredirem espontaneamente do que quando associadas a outros tipos de HPV (TRIMBLE et al., 2005).

A porcentagem cumulativa de progressão de NIC 1 para NIC 3 foi de 2% em dois anos, 6% em cinco anos e 10% em 10 anos. Os números correspondentes de NIC 2 para NIC 3 ou pior foram 16% em dois anos, 25% em cinco anos e 32% em 10 anos (HOLOWATY; MILLER; ROHAN, 1999).

O diagnóstico das neoplasias pode ser feito através do exame de *Papanicolaou* (colpocitologia oncológica) onde é possível identificar alterações morfológicas citoplasmáticas e

nucleares patognomônicas dessa infecção. Este exame é extremamente importante, pois permite uma redução significativa nas taxas de morbidade e mortalidade associadas às lesões relacionadas ao HPV. Entretanto, ele ainda apresenta limitações, como a ocorrência de resultados falso negativos que podem ser influenciados por variáveis como a presteza da detecção nos esfregaços, preparação, fixação, coloração do material e método de coleta que podem prejudicar a detecção de lesões. Além disso, ainda possui a limitação de não predizer qual é o tipo de HPV responsável pela infecção (BEHTASH; MEHRDAD, 2006).

Apesar da sua relevância, cerca de um quarto dos cânceres de colo do útero ocorre em mulheres que são regularmente examinadas e que foram perdidas devido à sensibilidade subótima do teste *de papanicolaou*. Esta falha na detecção de lesões pré-malignas faz com que a doença possa progredir havendo a necessidade de tratamentos mais agressivos. Isso implica muitas vezes em recorrência ou persistência do agente patológico e câncer (HUTCHINSON; BERGER; FARBER, 2000).

O procedimento trouxe muitos benefícios que impactaram positivamente na prevenção e na cura de lesões associadas ao HPV, entretanto, é importante levar em consideração suas limitações como a questão da sensibilidade da citologia cervical. Embora muitos programas de rastreamento do colo do útero afirmem uma boa sensibilidade para a citologia cervical, os resultados podem variar consideravelmente. Uma revisão sistemática com metanálise sugeriu que em alguns países a sensibilidade da citologia cervical era tão baixa quanto 51% para NIC 1, embora a especificidade média fosse de 98% (NANDA et al., 2000). A sensibilidade limitada da citologia cervical pode explicar em parte porque 66% das mulheres com câncer cervical foram previamente examinadas sem diagnóstico de lesão precursora do câncer (SASIENI; ADAMS; CUZICK, 2003). A alta taxa de falsos negativos para um esfregaço cervical tem sido outra limitação muito importante do teste, pois, diagnósticos falso-negativos podem ter implicações médicas e médico-legais maiores (ADAMS; JASANI; FIANDER, 2007).

Além das limitações relacionadas à técnica e à sensibilidade, ainda existem problemas relacionados à adesão das pacientes ao procedimento e ao retorno após a realização do exame. Apesar de disponível no sistema de saúde brasileiro, e das diversas campanhas e programas de saúde destinados a incentivar essa prática, muitas mulheres ainda não buscam esse serviço ou não retornam para um acompanhamento dos resultados para avaliar a situação de forma adequada. Esse quadro poderia ser revertido ou mesmo amenizado com a utilização, por exemplo, de lembretes e de estratégias mais dinâmicas com o cuidado com a paciente, as quais podem ser melhor planejadas a partir do conhecimento das principais causas de evasão das pacientes que são divergentes no território adscrito, além de um aperfeiçoamento com relação

às orientações de educação em saúde realizadas pelos profissionais que promovam conscientização sobre o câncer cervical, relevância da periodicidade dos exames, e autonomia e coresponsabilização do cuidado das pacientes (SCHIFFMAN et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2014).

Muitas pacientes, apesar de realizarem os exames de *papanicolaou*, não retornam para o acompanhamento dos seus resultados e esse fato está relacionado principalmente com a idade, representada predominantemente pelas mais jovens, com baixo grau de escolaridade, início precoce de relações sexuais, bem como com o desconhecimento sobre o exame (VASCONCELOS et al., 2014). Essa falha no retorno da paciente também pode ser atribuída em parte a alguns profissionais da saúde, e está diretamente associada à baixa qualidade no atendimento prestado, dificuldade de agendamento de consulta, falta de comunicação entre o usuário e o prestador de serviço (GOMES MARTINS et al., 2010).

Além disso, a baixa adesão ao exame está relacionada com vergonha, medo do diagnóstico, baixa renda, sobrecarga de trabalho, superposição de tarefas, falta de atenção e cuidado com o próprio corpo, e falta de prevenção em diferentes fases da vida, falta de profissionais para atender a demanda de pacientes, desconhecimento da importância do exame, medo de disseminação de informação entre os profissionais e falta de acesso ao exame. É premente que os profissionais de saúde mudem essa realidade de forma responsável e comprometida com o cuidado, a fim de favorecer a prevenção da NIC e do câncer cervical que são tão preocupantes para a saúde pública (SETTE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2005; RODRIGUES; BARBOSA; MATOS, 2013; LEITE et al., 2018).

Campos e colaboradores (2016) realizaram um levantamento de estimativas de custos relacionados à prevenção e ao tratamento de NIC baseado em US\$ (dólares americanos) em 2013. Essas estimativas foram realizadas para os anos de 2015 a 2024, referentes a duas doses de vacinas profiláticas, testes preventivos com ácido acético, teste de HPV ou citologia em 102 países de baixa e média renda. O estudo permitiu estimar que o custo total da vacinação profilática apresenta variações de US\$ 8,6 bilhões a US\$ 24,2 bilhões (baseado no preço por dose da vacina, que varia de US\$ 4,55 a US\$70, e no tempo de implantação do programa), esses valores diminuem significativamente em países elegíveis para a GAVI (Aliança Global para Vacinas e Imunização) como o caso do Brasil, compreendendo um custo da vacinação que varia entre US\$ 2,1 bilhões e US\$ 3,8 bilhões, com valor aproximado de US\$ 4,55 por dose da vacina. Os custos de triagem e tratamento variaram de US\$ 5,1 bilhões para US\$ 42,3 bilhões. Esses valores dependem do cenário de triagem e da velocidade de implantação, variando de US\$ 5,1 bilhões a US\$ 29,4 bilhões (se os países que utilizam o *papanicolaou* mudaram para triagem

baseada em HPV) ou US\$ 42,3 bilhões (se os países que utilizam *papanicolaou* como triagem continuarem a utilizá-lo). Teste de HPV e inspeção visual com ácido acético são efetivos e apresentam melhor custo benefício quando comparadas ao exame de *papanicolaou*, sendo uma alternativa para países de baixa e média renda que ainda não estabeleceram um programa de triagem efetivo e de alta cobertura aliado ao menor custo (CAMPOS et al., 2016).

Além dos gastos significativos para a saúde pública, ainda existem os gastos secundários ou indiretos que estão relacionados com a perda de produtividade, não somente pela ausência no trabalho, como também pela redução de rendimento no mesmo, de mulheres que se submetem a tratamentos para NIC ou para câncer cervical, perdas financeiras para as pacientes e seus familiares durante o tratamento e morte, implicando redução da parcela dedicada ao trabalho e lazer e traduzido em valores monetários. Além disso, a alta mortalidade e morbidade associada ao câncer cervical afeta principalmente mulheres jovens que contribuem para a estabilidade sócio-econômica (População Economicamente Ativa) (BROUWER et al., 2002; NOVAES et al., 2012).

Apesar da disponibilidade de vacinas profiláticas, de programas de incentivo à realização de testes preventivos e a oferta desses serviços pelo sistema de saúde, o câncer cervical e a sua lesão precursora continuam sendo um grande problema para a saúde pública por sua alta prevalência, morbidades e altas taxas de mortalidade associadas. Esse fator pode estar relacionado com a dificuldade de implementação de programas de triagem em países em desenvolvimento que está associada principalmente à falta de infraestrutura e de profissionais capacitados para mudarem essa realidade (CATARINO et al., 2015).

2.2.9. Vacinas profiláticas para prevenção do HPV

Atualmente estão disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS) vacinas profiláticas para a prevenção de patologias associadas ao HPV. Essas vacinas são sintetizadas a partir da proteína do capsídeo L1 não contendo DNA viral, e, portanto, não podem ser consideradas como oncogênicas. Basicamente, elas estimulam o organismo a produzir anticorpos contra o HPV, evitando futuras infecções relacionadas a esse vírus (BOGANI et al., 2018).

Em infecções naturais, a resposta humoral ao vírus é lenta e fraca, originando baixas concentrações de anticorpos que muitas vezes não são efetivos para controlar uma infecção subsequente. Entretanto, a imunização sistêmica com essa vacina profilática produz altas concentrações de anticorpos de pelo menos 10 a 1000 vezes mais do que aquelas mensuradas na imunidade natural (LEHTINEN; DILLNER, 2013).

Atualmente três vacinas profiláticas encontram-se disponíveis no mercado, a vacina bivalente Cervarix® (prevenindo o HPV 16 e 18), a quadrivalente Gardasil® (HPV 6, 11, 16 e 18) e a Gardasil9® que protege contra os subtipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58 (JOURA et al., 2015; KASH et al., 2015).

Diversos estudos demonstraram a eficácia e a segurança dessas vacinas profiláticas (ARBYN et al., 2016; BOGANI et al., 2017; GEE et al., 2011; MARKOWITZ et al., 2014; PETROSKY et al., 2015). O grupo FUTURE I (*Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease*) avaliou a efetividade da vacina quadrivalente na prevenção de doenças genitais associadas ao HPV, demonstrando uma efetividade de aproximadamente 100% na prevenção de lesões pré-cancerígenas e verrugas genitais (GARLAND et al., 2007). Outro estudo, o ensaio PATRICIA (*Papilloma Trial Against Cancer in Young Adults*) demonstrou uma efetividade de 98% da vacina bivalente na prevenção de NIC 2/3 causada pelo HPV 16 e 18, podendo ainda promover uma proteção cruzada contra os subtipos 31, 33 e 45 (PAAVONEN et al., 2009). Recentemente, Joura e colaboradores (2015) investigaram a eficácia e imunogenicidade da vacina nonavalente em mulheres de 16 a 26 anos de idade. Os autores realizaram um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, de fase 2b-3, coletando amostras de tecido labial, vulvar, perineal, perianal, endocervical e ectocervical para identificar a presença do DNA do HPV em pacientes que receberam a vacina quadrivalente Gardasil® e Gardasil9®, e demonstraram que ambas as vacinas promoveram uma resposta de anticorpos efetivas ao subtipos HPV 6, 11, 16 e 18, com efeitos adversos sistêmicos similares entre as duas vacinas que variaram de leves a moderados, sendo que os eventos adversos locais foram mais associados à vacina nonavalente.

No Brasil, a partir de 2014, a vacina quadrivalente passou a ser distribuída em Unidades Básicas de Saúde para meninas de 11 a 13 anos. Sua introdução foi feita de maneira gradativa associada a programas de incentivo, visando aumentar a adesão a essas vacinas (BRASIL, 2014). Essas vacinas promovem a prevenção do câncer do colo do útero, vulva, vagina, região anal, pênis e orofaringe. Em 2015 ela passou a ser oferecida para meninas de 9 a 13 anos e para mulheres na faixa de 9 a 26 anos que convivem com o HIV (BOGAZ; AMORIM, 2016). A partir de 2017 a vacina passou a ser administrada também para meninos de 12 a 13 anos, com ampliação gradativa da idade até o ano de 2020. Desde 2018, a vacina quadrivalente encontra-se disponível para a população do sexo feminino de 9 a 14 anos de idade e para a população do sexo masculino de 11 a 14 anos de idade com esquema vacinal de duas doses (zero e seis meses). A vacina HPV quadrivalente também está disponível para homens e mulheres de 9 a 26 anos de idade vivendo com HIV/AIDS e para os indivíduos submetidos a transplantes de órgãos

sólidos, de medula óssea e pacientes oncológicos, os quais deverão receber o esquema de três doses (zero, dois e seis meses). A vacina HPV quadrivalente está disponível em aproximadamente 36 mil salas de vacinação do SUS (BRASIL, 2018).

Até 2014, foram implementados programas de imunização do HPV em aproximadamente 80 territórios em todo o mundo. Entretanto, apenas 1% das 118 milhões mulheres em países de renda baixa e média são cobertas por esses programas, sendo esses os locais que apresentam maior prevalência da infecção, associada a altas taxas de morbidade e mortalidade (BRUNI et al., 2016). Entre os desafios para a vacinação universal do HPV estão os altos custos de vacinação, produção, transporte e armazenamento de vacinas adequadamente refrigeradas, logística de implementação de vacinas contra HPV e adesão ao regime de duas ou três doses (SANKARANARAYANAN, 2009).

No Brasil, apesar dos esforços para atrair o público alvo da campanha e promover sua imunização, sua adesão foi inferior à esperada pelo Ministério da Saúde, que seria vacinar 80% dessa população. Logo que foi introduzida nas Unidades Básicas de Saúde (UBS), a cobertura dessas vacinas foi de 100%, entretanto, já na segunda dose houve uma queda significativa dessa cobertura que girou em torno de 30 a 40%, alcançando 60,4% das meninas de 11 a 13 anos em 2015. Após a ampliação da faixa etária em 2015, esperava-se uma boa adesão, porém a mesma se manteve semelhante à obtida para vacinações iniciadas em 2014, com taxa de adesão de 61% na primeira dose e 30% na segunda (BOGAZ; AMORIM, 2016). Em 2017, a cobertura vacinal acumulada da vacina HPV, nas meninas entre 9 a 14 anos de idade, foi de 82,6% para a primeira dose (D1) e de 52,8% para a segunda dose (D2). Para os meninos de 12 e 13 anos, a cobertura vacinal com a primeira dose (D1) foi de 43,8%, continuando muito abaixo do esperado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2018). Essa baixa adesão está relacionada a diversos fatores, dentre os quais, a falta de informação dos pais sobre os prejuízos que podem ser causados pela doença, resistência de falar com os filhos sobre sexualidade, acreditando que estão estimulando as adolescentes a iniciarem uma vida sexual precocemente, despreparo de profissionais de saúde e desconhecimento das adolescentes sobre a doença e sobre os benefícios da vacina, o que evidencia a importância de práticas educativas para pais e adolescentes que desmistifiquem informações distorcidas. Essa baixa adesão é um fator preocupante, visto que a população de risco continua se expondo ao vírus sem ter um fator protetor associado, o que não muda significativamente o quadro de infecções pelo HPV que podem progredir para patologias agressivas (BRASIL, 2014).

Casos de reações psicogênicas pós vacinais foram registrados no Brasil e em outros países como na Austrália, onde as adolescentes relataram apresentar sintomas como tonturas,

síncope e queixas neurológicas. Exames laboratoriais e de imagem demonstraram não haver evidência de uma etiologia orgânica concluindo-se que se tratava de uma resposta psicogênica em massa decorrente da vacinação. Esses eventos são prejudiciais para a adesão desse público, visto que, são amplamente divulgados em redes sociais e em meios de comunicação, fazendo com que os pais e as adolescentes desenvolvam sentimentos de medo e ansiedade, questionando a segurança da vacina (BRASIL, 2018).

A introdução e aceitação dessas vacinas em países em desenvolvimento está ocorrendo de forma gradual e por isso seu impacto significativo na população deve ocorrer dentro de aproximadamente duas décadas (KYRGIU et al., 2016).

Salienta-se que, as vacinas profiláticas não isentam a paciente de continuar realizando seus exames preventivos de rotina, pois elas não previnem todos os tipos de HPV de alto risco além de não protegerem contra outros tipos de ISTs (CUTTS et al., 2007).

Em adição, a administração dessas vacinas deve ser feita antes do estabelecimento da infecção, visando estimular o sistema imunológico a sintetizar anticorpos específicos para determinados subgrupos de HPV. Não obstante, essas vacinas não apresentam propriedades terapêuticas e são ineficientes quando a patologia já está instalada (CUTTS et al., 2007). Além disso, ela também pode relacionar-se com um possível efeito prejudicial que pode estar associado ao aumento da prevalência de outros tipos de HPV de alto risco não cobertos pelas vacinas atualmente disponíveis (BOGANI et al., 2018).

2.2.10. Vacinas terapêuticas para HPV

Apesar das vacinas profiláticas terem se mostrado seguras e efetivas, elas ainda apresentam desvantagens significativas em países subdesenvolvidos, que são os mais afetados com lesões associadas ao HPV e diversos tipos de câncer relacionados a ele. Apenas 19% das mulheres latino-americanas com idades entre 10 e 20 anos receberam as duas doses da vacina e 22% receberam pelo menos uma dose, demonstrando que uma parcela significativa dessa população ainda permanece exposta ao vírus (BRUNI et al., 2016).

Conforme exposto anteriormente, as vacinas profiláticas induzem a formação de anticorpos específicos contra HPV para prevenir as infecções de alto risco mais prevalentes, entretanto, não engloba todos subtipos oncogênicos, deixando a população coberta pela vacinação exposta aos outros subtipos, podendo inclusive aumentar a sua prevalência (BOGANI et al., 2018).

Sendo assim, existe uma necessidade urgente do desenvolvimento de vacinas terapêuticas eficazes, seguras e que promovam uma resposta imunológica efetiva e duradoura a fim de reduzir a morbidade e mortalidade das malignidades associadas ao HPV, além dos custos com tratamentos prolongados que as NICs e os cânceres associados ao vírus podem gerar (DELIGEOROGLOU et al., 2013; MA et al., 2010; MEYER; FUGLSANG; BLAAKAER, 2014). As vacinas terapêuticas têm como objetivo estimular respostas imunológicas mediadas por células contra antígenos específicos e promover a morte de células infectadas. Elas são utilizadas em casos onde a doença já está instalada, originadas de lesões persistentes ou recorrentes, com o objetivo de promoverem a regressão de lesões pré-cancerígenas e a remissão do câncer invasivo (BAGARAZZI et al., 2012; CUTTS et al., 2007; GHITTONI et al., 2015).

Atualmente, existem várias vacinas terapêuticas candidatas em estudos pré-clínicos bem como em ensaios clínicos, mas, ainda, nenhuma delas está sendo comercializada para o tratamento do HPV. Contudo, as estratégias terapêuticas atuais permanecem caras devido aos sistemas de fabricação, o que significa que mesmo se estivessem disponíveis no mercado farmacêutico, seu custo a tornaria menos acessível para as populações dos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, onde a prevalência do câncer do colo do útero e de lesões pré-neoplásicas é maior (KAUFMANN et al., 2007).

Essas vacinas devem ser seguras e eficazes além de estarem associadas ao desenvolvimento de uma resposta imunológica efetiva. A segurança é avaliada basicamente pela frequência e severidade dos eventos adversos e tolerabilidade, alterações nos parâmetros laboratoriais, sinais vitais e exames físicos. Sua efetividade pode ser mensurada através dos níveis de cargas virais e também pela regressão histopatológica da lesão (NIC 3 para NIC 2 ou menos), além de uma regressão de pelo menos 50% do tamanho da lesão e eliminação do DNA viral (KAUFMANN et al., 2007). Já a imunogenicidade da vacina refere-se à capacidade de uma vacina induzir uma resposta imunitária em um indivíduo vacinado, por meio da resposta de anticorpos ou pela imunidade mediada por células. De modo geral, pode-se dizer que a imunogenicidade relaciona-se com a capacidade que o antígeno tem de orquestrar uma resposta imunológica inata e adquirida de maneira efetiva controlando o agente agressor. Quanto maior a imunogenicidade de um antígeno, menor a sua quantidade para induzir uma resposta imune, exigindo uma resposta imune mais potente, mais específica e que gere células de memória (BANASZKIEWICZ; RADZIKOWSKI, 2013; MAHANTY; PRIGENT; GARRAUD, 2015).

A maioria dos ensaios clínicos de vacinas terapêuticas contra o HPV tem como alvo neoplasias de alto grau (NIC 2/3), o que é justificável em partes pelo fato dessas lesões regredirem com pouca frequência, diferente das NIC 1 que apresentam alta taxa de regressão,

e quando identificadas, requerem tratamento com terapias ablativas que podem levar a prejuízos reprodutivos significativos, recorrências e persistência do vírus que podem levar ao desenvolvimento do câncer (CUBURU; SCHILLER, 2016; STERN et al., 2012). Outro ponto relevante para a saúde pública com o desenvolvimento dessas vacinas está associado ao fato de que ela pode favorecer os programas de prevenção do câncer cervical em locais de poucos recursos, os quais poderiam envolver a detecção do HPV seguida imediatamente pela vacinação terapêutica das mulheres positivas para HPV oncogênicos (CUBURU; SCHILLER, 2016).

As oncoproteínas E6, E7 e E2 são os principais alvos para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas para HPV por serem expressas em múltiplos estágios da infecção pelo vírus (MCBRIDE, 2013; HUNG et al., 2007; LIN et al., 2010; TINDLE et al., 2002). Muitas destas vacinas têm apresentado alguns resultados preliminares favoráveis à sua utilização, como diminuição da carga viral, redução da lesão, estimulação de células do sistema inato e adquirido, incluindo a geração de células de memória, apresentando também segurança considerável para o seu uso. Entretanto, os resultados desses estudos ainda se mostraram heterogêneos. Por exemplo, enquanto alguns estudos demonstraram que a histologia foi bem correlacionada com a virologia, em outros estudos a imunologia muitas vezes não esteve relacionada com uma boa eficácia clínica como regressão histológica da lesão. No entanto, a maioria desses estudos apresentam resultados promissores com relação especialmente à segurança e tolerabilidade (BAGARAZZI et al., 2012; VAN STEENWIJK et al., 2012; FRAZER et al., 2004; GUTIERREZ et al., 2004; KIM et al., 2008; LASARO et al., 2005; PADILLA-PAZ, 2005; ROSALES et al., 2014; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2015; WELTERS et al., 2008).

Para a síntese de uma vacina terapêutica é necessário levar em conta diversas variáveis que podem interferir na sua eficácia, como as possíveis barreiras encontradas para estimular o sistema imunológico e os mecanismos de escape dos vírus (MAHDAVI; MONK, 2005).

As vacinas terapêuticas elaboradas para o tratamento de NICs e cânceres associados ao HPV são elaboradas a partir de vacinas de vetores vivos (vírus ou bactérias), baseadas em peptídeos sintéticos, proteínas purificadas, ácidos nucleicos (DNA ou RNA), vacinas baseadas em células dendríticas, inibidores de *checkpoint*, terapias celulares adotivas e recentemente vacinas sintetizadas a partir de plantas (CHABEDA et al., 2018; YANG et al., 2016).

As vacinas de vetores vivos podem ser sintetizadas com vetores bacterianos ou virais recombinantes que tem a capacidade de se replicar na célula do hospedeiro disseminando o antígeno de interesse. São consideradas altamente imunogênicas e promovem uma forte resposta humoral e celular. Entretanto, podem apresentar riscos quanto à sua segurança (BRUN et al., 2018; LIN et al., 2010; YANG et al., 2016).

As de vetores bacterianos utilizam microrganismos como *Listeria monocytogenes* que têm a capacidade de infectar macrófagos, liberar toxinas como a listeriolisina O (LLO), se evadindo da lise pelos fagossomos e se disseminando no citoplasma de forma a permitir a apresentação do antígeno para o MHC I e II para as células CD8+ ou CD4+, respectivamente (CHEN et al., 2014; GUNN et al., 2001; SCHNUPF; PORTNOY, 2007). As vacinas de vetores virais para o tratamento de lesões associadas ao HPV foram elaboradas a partir da utilização de adenovírus, vírus vaccínia, vírus vaccinia Ankara modificado (MVA) e alfavírus (como vírus Sindbis, vírus da floresta de Semliki e o vírus da encefalite equina venezuelana) (SKEATE et al., 2016). Os vetores virais de tais vacinas apresentam dificuldade em se disseminar efetivamente no organismo, necessitando do auxílio de proteínas como a VP22 do herpes vírus. Cheng e colaboradores (2001) demonstraram que a vacina de RNA do vírus Sindbis codificada com VP22 e associada ao E7 aumentou significativamente a ativação de linfócitos T CD8+ específicos para antígenos E7, resultando em atividade imunológica antitumoral eficiente.

A vacina mais promissora dessa categoria para lesões associadas ao HPV foi sintetizada a partir de vetor bacteriano atenuado associado a oncoproteína E7 do HPV-16 (ADXS11-001) e demonstrou resultados favoráveis para terapia de câncer cervical recorrente, por meio do desenvolvimento de resposta imunológica eficiente com regressão tumoral e segurança em ensaios pré-clínicos (MILES; MONK; SAFRAN, 2017) e em ensaios de fase II (BASU et al., 2018). Atualmente, essa vacina encontra-se na fase III dos estudos para pacientes com câncer cervical avançado, com estimativa de dados completos para outubro de 2024 (NCT02853604). Além dessa vacina, outros estudos já realizados e em andamento também estão utilizando diversas estratégias baseadas em vetores bacterianos e virais que podem ser relevantes para a cura de lesões associadas ao HPV (ADACHI et al., 2010; ALBARRAN et al., 2007; ARIAS-PULIDO et al., 2006; BALDWIN et al., 2003; BERMUDEZ-HUMARAN et al., 2004; BORYSIEWICZ et al., 1996; BRUN et al., 2011; GARCIA-HERNANDEZ et al., 2006; GUNN et al., 2001; KAUFMANN et al., 2002; MACIAG; RADULOVIC; REMY-ZILLER et al., 2014; ROSALES et al., 2000; ROSALES et al. 2014; SEWELL; PAN; PATERSON, 2008; TG 4001/R3484; NCT02399813; NCT02002182; NCT02291055; NCT00002916; NCT01266460). A principal desvantagem do uso dessas vacinas está relacionada à produção de anticorpos neutralizantes no hospedeiro durante a vacinação com vetores vivos que pode diminuir a eficácia de imunizações repetidas, além disso, tais vacinas podem estar associadas a um risco de toxicidade (HUNG et al., 2008; KUMAR; BISWAS; JOSE, 2015).

As vacinas de peptídeos geralmente são seguras, estáveis e fáceis de produzir, porém, apresentam pouca imunogenicidade. São MHC específicas, e necessitam do antígeno

leucocitário humano (HLA) do paciente para uma apresentação efetiva, dificultando o processo de vacinação em massa, além de necessitar do auxílio de adjuvantes durante a sua administração, como citocinas e receptores do tipo *Toll* (TLR), a fim de estimular o sistema imunológico (BRUN et al., 2018; LIN et al., 2010; SU et al., 2010; YANG, 2016). Diversos estudos já foram desenvolvidos ou estão em andamento abordando essa estratégia de vacinação contra o HPV tanto em lesões pré cancerígenas quanto em diversos tipos de tumores associados a ele (COLEMAN et al., 2016; DAAYANA et al., 2010; DAVIDSON et al., 2004; DE JONG et al., 2002; VAN STEENWIJK et al., 2012; EINSTEIN et al., 2007; HALLEZ et al., 2004; KAUFMANN et al., 2007; KENTER, 2009; PALEFSKY et al., 2006; ROMAN et al., 2007; VAN DAMME et al., 2016; VAN DOORSLAER et al., 2010; VAN POELGEEST et al., 2013; VAN STEENWIJK et al., 2014; ZANDBERG et al., 2015; NCT02426892; NCT02481414; NCT02821494; NCT02865135; NCT00054041; NCT00091130; NCT00493545).

Diferentemente das vacinas de peptídeos, as vacinas de proteínas contêm todos os epítomos do HLA, não limitando a restrição ao MHC, o que permite uma vacinação em massa. De modo geral, são seguras, estáveis e fáceis de produzir. Entretanto, elas promovem preferencialmente respostas de anticorpos em relação às respostas de células T, sendo necessário a administração com adjuvante para permitir a apresentação pelo MHC I e não somente pelo MHC II que é a via de apresentação que gera a produção de anticorpos (LEE et al., 2016; LIN et al., 2010). Para isso, alguns estudos estão sendo desenvolvidos para aumentar a imunogenicidade e a apresentação à via do MHC I e ativação de células T CD8 +, os quais incluem o uso de proteínas de fusão para direcionar o antígeno para as células dendríticas (DCs) e o uso de adjuvantes (DAVIDSON et al., 2004; EINSTEIN et al., 2007; FRAZER et al., 2004; HALLEZ et al., 2004; ROMAN et al., 2007; VAN DOORSLAER et al., 2010; NCT02405221; NCT02576561; NCT00054041; NCT02576561).

As vacinas de nucleotídeos utilizadas em terapias contra o HPV compreendem basicamente as vacinas de DNA. As vacinas que utilizam RNA são seguras, possuem a capacidade de auto-replicação, mantendo a expressão dos antígenos e aumentando a imunogenicidade. Além disso, não geram anticorpos neutralizantes, o que garante a repetição de sua administração. Uma outra vantagem é a não integração com o genoma do hospedeiro, entretanto, apresentam baixa estabilidade e não possuem a capacidade de disseminação para as células vizinhas (HSU et al., 2001; VARNAVSKI, YOUNG, KHROMYKH, 2000; YANG et al., 2016). Elas já foram testadas em ensaios pré-clínicos e clínicos para outros cânceres como o de pulmão e de pele, contudo, ainda há muito trabalho a ser feito no desenvolvimento de

vacinas de RNA do HPV (HERD et al., 2004; SEBASTIAN et al., 2014; VARNAVSKI et al., 2000).

As vacinas de DNA promovem a inserção do antígeno de interesse na célula do hospedeiro. Elas são seguras, efetivas, estáveis, fáceis de sintetizar e suportam a expressão de antígenos por um período superior ao das vacinas de RNA ou de proteínas. Entretanto, apresentam a desvantagem de apresentarem baixa imunogenicidade (BRUN et al., 2018; LEE et al., 2016; YANG et al., 2016). Essas vacinas têm sido extensivamente estudadas e comprovadas como seguras em estudos clínicos (VICI et al., 2016; YANG et al., 2016). O risco potencial de integração do DNA ao genoma do hospedeiro para vacinas contra o HPV tem sido evitado com o uso de genes E6 e E7 modificados que não codificam proteínas com propriedades de transformação oncogênica. Sua baixa imunogenicidade pode ser contornada mediante a utilização de estratégias que favoreçam a apresentação e processamento de antígeno além de favorecerem a interação de células T e DC (BRUN et al., 2018; HUNG; WU, 2003; TSEN, 2007). Essas vacinas estão sendo extensivamente utilizadas em ensaios pré-clínicos e clínicos, alguns ainda em desenvolvimento, e já apresentam resultados que foram muito significativos para diversos tipos de neoplasias e cânceres associados ao HPV (AGGARWAL et al., 2015; AGGARWAL et al., 2017; ALVAREZ et al., 2016; BAGARAZZI, et al., 2012; GARCIA et al., 2004; KIM et al., 2014; MALDONADO et al., 2014; MAO et al., 2010; MATIJEVIC et al., 2011; MORROW et al., 2016; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; YAN et al., 2009; NCT02139267; NCT02596243; NCT02172911; NCT03185013; NCT02529930; NCT02800369; NCT03057912; NCT00264732; NCT01634503; NCT00788164).

As vacinas baseadas em células dendríticas, utilizam essas potentes APCs carregadas com antígenos HPV, transferindo-as ao hospedeiro, visando estimular uma resposta imune inata e adaptativa efetiva (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; LEE et al., 2016). Elas apresentam a vantagem de atuarem como adjuvantes naturais e aumentar a potência do antígeno específico (SANTIN et al., 2005). Diversos estudos *in vitro*, pré-clínicos e experimentais já foram realizados e ainda estão em teste por meio do uso dessas células para o tratamento de lesões associadas ao HPV como o câncer cervical, neoplasia intraepitelial vulvar e neoplasia anogenital, demonstrando de maneira geral, uma boa resposta imunológica, embora, os estudos clínicos associados a essa vacina nem sempre associaram essa resposta imunológica a uma resposta clínica efetiva, o que reforça a necessidade de mais estudos para comprovarem seu custo benefício. De modo geral, pode-se dizer que essa vacina se mostrou segura (AHN et al.,

2015; FERRARA et al., 2003; KIM et al., 2009; MACKOVA et al., 2004; RAMANATHAN et al., 2014; PENG et al., 2005; SANTIN et al., 2005; YIN; DULUC; JOO, 2016; NCT02866006).

A terapia celular adotiva envolve a produção autóloga de CTLs antígeno específicos *ex vivo* em grandes quantidades, que serão posteriormente administrados no paciente a fim de aumentar a imunogenicidade contra o HPV, além de permitir a eliminação de células Treg (SKEATE et al., 2016). Em adição, as terapias adotivas de células T também envolvem a utilização de linfócitos infiltrados nos tumores e células isoladas de tumores metastáticos, e já foi demonstrada regressão histológica em pacientes com câncer cervical metastáticos (STEVANOVIĆ et al., 2015). Poucos estudos clínicos abordaram essa técnica e alguns estudos ainda estão em andamento (NCT02858310; NCT03197025; NCT02379520; NCT03356795). Um estudo mostrou resultados favoráveis com relação à regressão tumoral e desenvolvimento de células T com a sua utilização em pacientes com câncer cervical e de orofaringe (RAMOS et al., 2013) e também, em pacientes com melanoma metastático (ROSENBERG et al., 2011). Apesar dos estudos demonstrarem resultados positivos e promissores, ainda existe a necessidade de apresentar resultados clínicos associados à imunogenicidade e segurança mais conclusivos, com foco principalmente em estratégias que viabilizem potencializar a ação dos CTLs diante de fatores que dificultam a sua ação efetiva como a heterogeneidade tumoral, mecanismos de escape do vírus e presença de microambiente imunossupressor (HINRICHS et al., 2017).

As vacinas inibidoras de *checkpoint* evitam a evasão da lise das células tumorais pelos linfócitos T por meio da inibição de *checkpoints* como proteína de morte celular programada 1 (PD-1) e o antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico T CTLA-4, encontrados na superfície de CTLs. Esses receptores se ligam a PD-L1 das APCs e atenuam a ativação, além de diminuírem a proliferação dos CTLs. Células tumorais originadas pelo HPV aumentam a expressão dos receptores PD-L1 diminuindo o número de CTLs no ambiente tumoral (FREEMAN et al., 2000; LYFORD-PIKE et al., 2013). Para essas terapias são utilizados anticorpos contra CTLA-4, PD-1, PDL-1 prevenindo a supressão das células T e favorecendo a sua ativação e destruição de células tumorais. Está em andamento um ensaio de fase I no qual está sendo testado um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 denominado Ipilimumab® associado à quimiorradiação em pacientes com câncer cervical (NCT01711515) e com câncer cervical recorrente ou metastático (NCT01693783), ambos ainda sem resultados. A droga Avelumab® em combinação com TG4001 também está em fase de teste para pacientes com câncer de cabeça e pescoço com resultados previstos para dezembro de 2021 (NCT03260023). Johnston e

colaboradores (2014) também utilizaram a estratégia de bloqueio do receptor tumoral PD-L1 obtendo resultados satisfatórios através da depuração viral.

As vacinas que estão sendo testadas em ensaios pré-clínicos e ensaios clínicos de fase I, II ou III raramente utilizam plantas para sua produção. As outras opções de vacinas, que não as de plantas, muitas vezes oferecem resultados promissores para o tratamento de lesões e tumores associados ao HPV, porém, com custo elevado, o que não é viável para a realidade do Brasil e de países subdesenvolvidos, que são locais que mais necessitam dessas estratégias terapêuticas. O uso dessas vacinas poderia promover uma redução de mais de 50% no custo do produto (NANDI et al., 2016; SACK et al., 2015; WAHEED et al., 2016). As plantas representam uma alternativa promissora para a produção de vacinas terapêuticas por apresentarem escalabilidade, rápida produção e baixa contaminação. Além disso, essas vacinas possuem toda a estrutura celular eucariótica necessária para a modificação de proteínas e processos de glicosilação (CHAN; DANIELL, 2015; FISCHER et al., 2004; HEFFERON, 2017; LAM; STEINMETZ, 2018; LAMPRECHT et al., 2016; PERUZZI; CHIOCCA, 2016; YANEZ et al., 2018). Ademais, ensaios pré-clínicos demonstraram respostas imunes humorais e mediadas por células, boa resposta na regressão e na inibição do crescimento de tumores e propriedades adjuvantes (FRANCONI, 2006; MASSA et al., 2007). Embora nenhuma vacina terapêutica baseada em plantas para NIC associada ao HPV tenha sido testada em algum ensaio clínico, elas representam um candidato promissor para esse fim, uma vez que induziram respostas de CTL específicas para HPV e resultaram em regressão tumoral em estudos com animais (RYBICKI, 2014), maior segurança, além de não apresentar risco de mutagênese insercional. Este é um campo relativamente novo que se mostra promissor, especialmente no que tange às pesquisas clínicas com vacinação terapêutica em países subdesenvolvidos (LAM; STEINMETZ, 2018).

Muitas dessas vacinas terapêuticas necessitam do auxílio de adjuvantes para alcançar a plena eficácia. Eles promovem a potencialização da resposta imune ao antígeno favorecendo o desenvolvimento de um ambiente pró-inflamatório, promovendo processos de sinalização, migração, maturação e sobrevivência adequadas das células e moléculas do sistema imunológico (COBAN et al., 2011). Alguns exemplos de adjuvantes utilizados em vacinas incluem o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), proteínas semelhantes à ubiquitina e interleucinas (NEWTON; DIXIT, 2012).

A maioria das vacinas investigadas provocou respostas de células T específicas para E6 ou E7, mas não mostrou uma correlação positiva entre resposta histológica ou virológica e resposta imunológica (células T imunes) (BRUN et al., 2018). Até o momento, os estudos

mostraram resultados variáveis para a maioria dos desfechos analisados (especialmente no que concerne a eficácia e imunogenicidade). Contudo, as vacinas terapêuticas que utilizam vírus recombinantes demonstraram ser muito eficazes em situações clínicas, sendo fortes candidatos para o sucesso do tratamento de câncer induzido pelo HPV (ROSALES; ROSALES, 2017).

Múltiplas razões poderiam explicar esse sucesso limitado das vacinas terapêuticas contra a neoplasia induzida pelo HPV. Dentre essas razões, encontra-se o fato de que a maioria dos estudos observaram a indução de respostas de células T contra E6 e E7, porém, a magnitude dessas respostas pode ter sido insuficiente para a depuração viral de células infectadas, bem como para a diminuição do tamanho ou regressão histológica da lesão. Outros fatores podem estar relacionados com o equilíbrio das respostas de células CTL, Th1, Th2 ou Treg induzidas contra antígenos de HPV que pode ter sido inadequado para desencadear uma resposta clínica (DISIS; WATT; CECIL, 2014), os diversos mecanismos de escape relacionados ao HPV (SIKORSKI et al., 2004), inibição da resposta inflamatória de citocinas por queratinócitos (NIEBLER et al., 2013) e aumento da expressão de moléculas inibitórias como PDL1 ou IL-10, (MEZACHE et al., 2015). Adicionalmente, pode ocorrer uma falha das células T em infiltrar o epitélio cervicovaginal infectado, cuja causa pode ser um dos mecanismos de escape do HPV (TRIMBLE et al., 2010). Ressalta-se que os poucos ensaios clínicos conduzidos demonstraram a indução de células T de memória no epitélio genital após a administração das vacinas terapêuticas, sendo esse dado relevante para o desenvolvimento de vacinas efetivas (CUBURU; SCHILLER, 2016).

Salienta-se que mesmo embora existam poucas revisões da literatura sobre a segurança e eficácia, particularmente, de vacinas profiláticas (REFERÊNCIAS), até o presente momento, e para o melhor de nosso conhecimento, inexistente revisão sistemática atual de estudos experimentais que abarquem a segurança e eficácia das vacinas terapêuticas, sobretudo, incluindo a imunogenicidade como variável desfecho, o que portanto, ratifica a pertinência e a justificativa em conduzir o presente estudo.

3. Objetivo Geral

Sintetizar e avaliar criticamente as evidências científicas oriundas de estudos experimentais sobre a segurança, eficácia, e imunogenicidade de vacinas terapêuticas no tratamento de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau associada ao HPV.

3.1. Objetivos Específicos

- (1) Avaliar a segurança das vacinas terapêuticas à partir dos estudos primários incluídos na revisão sistemática, em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau, por meio da análise das reações adversas e tóxicas associadas à sua administração;
- (2) Avaliar a eficácia das vacinas terapêuticas à partir dos estudos primários incluídos na revisão sistemática, em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau, por meio da regressão histopatológica da lesão e/ou do tamanho da lesão além da depuração viral
- (3) Avaliar a imunogenicidade das vacinas terapêuticas à partir dos estudos primários incluídos na revisão sistemática, em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau, por meio da resposta imunológica de indivíduos que receberam o tratamento em comparação com os que não receberam.

4. Material e métodos

4.1. Tipo de estudo

Trata-se de uma revisão sistemática de estudos experimentais (ensaios clínicos randomizados de fase I, II ou III, e estudos quase-experimentais) seguindo as recomendações do *guideline* do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* – PRISMA (MOHER et al., 2009; HIGGINS; GREEN, 2011).

4.2. Estratégia de busca

A estratégia de busca foi realizada a fim de aumentar a transparência metodológica e permitir a reprodutibilidade dos resultados e síntese das evidências. Essa etapa se deu previamente à seleção dos estudos, de acordo com a *checklist* do *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols* (PRISMA-P) (MOHER et al., 2015). Para tanto, utilizou-se o acrônimo PICOS (*P – Population or Pacientes; I – Intervention; C – Comparison; O – outcomes; S – Study design*) (METHLEY et al., 2014) para elaborar a pergunta norteadora da presente revisão, a fim de assegurar a busca sistemática da literatura disponível. Assim, após aplicarmos o acrônimo PICOS, elaboramos a seguinte questão norteadora: “*Quais as evidências científicas oriundas de ensaios clínicos sobre segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas administradas em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau associada ao HPV?*”. De modo a garantir a fidedignidade dos dados e transparência metodológica dessa revisão, protocolamos seu registro no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO/NHS), sob o número: CRD42017077428 (http://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=77428).

Os estudos foram selecionados por meio da busca sistematizada em seis bases de dados eletrônicas, quais sejam, MEDLINE - *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (via PubMed), Embase (*Excerpta Medica Database*), *Cochrane Central Register of Controlled Trials* (CENTRAL Cochrane), *Web of Science*, LILACS e Scopus. Não houve restrição de data ou idioma na estratégia de busca realizada. Além das bases acima citadas, foram realizadas buscas secundárias em outras fontes diversas tais como: *Google Scholar*, sites de Registros de Ensaios Clínicos, como por exemplo, o *ClinicalTrials.gov* (*National Institutes of Health-NIH, USA*), *The Brazilian Clinical Trials Registry* (via Plataforma ReBEC) e na *British Library*.

Além disso, a lista de referências finais que constavam nos estudos incluídos foram analisadas manualmente a fim de encontrar estudos relevantes adicionais. As buscas foram realizadas por dois pesquisadores (CAG e LCLJ) de modo independente. O gerenciador de referências *EndNote* (<https://www.myendnoteweb.com/>) foi utilizado para armazenar, organizar, excluir duplicatas, a fim de assegurar uma busca sistemática, compreensiva e manejável. As buscas para inclusão de artigos foram realizadas em novembro de 2018 e atualizadas em fevereiro de 2019.

Inicialmente, a existência de descritores controlados (como os termos *MeSH*, termos *Emtree* e descritores DeCS-Descritores de Ciência da Saúde) e seus sinônimos (palavras-chave) foram verificados em cada base de dados. Os termos de busca foram combinados utilizando-se operadores booleanos “AND” e “OR”. A seleção dos descritores foi orientada pela questão norteadora por meio do acrônimo PICOS (METHLEY et al., 2014)

Após essa etapa, combinou-se os termos MeSH com palavras-chave relevantes ao tema proposto que foram utilizadas na base de dados MEDLINE e adaptada para outras bases eletrônicas assim como segue no **Quadro 1**, e detalhadas no **Apêndice 1**.

Quadro 1 – Conceitos e itens de pesquisa	
Base de dados	Itens pesquisados
MEDLINE Embase CENTRAL Cochrane Web of Science Scopus LILACS	#1 (<i>cervical intraepithelial neoplasia</i>) OR <i>neoplasia, cervical intraepithelial</i> OR <i>cervical intraepithelial neoplasms</i> OR <i>intraepithelial neoplasm, cervical</i> OR <i>intraepithelial neoplasms, cervical</i> OR <i>neoplasms, cervical intraepithelial</i> OR <i>intraepithelial neoplasia, cervical</i> OR <i>cervical intraepithelial neoplasia, grade III</i> OR <i>Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II</i> OR <i>High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia</i> OR <i>Precancerous Conditions</i> OR <i>Preneoplastic Condition</i> OR <i>Premalignant</i> OR <i>Preneoplastic</i> OR <i>CIN</i>) #2 (<i>papillomaviridae</i> OR <i>Human papillomavirus</i> OR <i>Human papilloma viruses</i> OR <i>Papilloma virus, human</i> OR <i>Papilloma viruses, human</i> OR <i>Virus, Human Papilloma</i> OR <i>Viruses, Human Papilloma</i> OR <i>HPV</i> OR <i>HPV, Human Papillomavirus</i> OR <i>Human Papillomavirus Viruses</i> OR <i>Papillomavirus Viruses, Human</i> OR <i>Virus, Human Papillomavirus</i> OR <i>Viruses, Human Papillomavirus</i>) #3 #1 AND #2 #4 (<i>Vaccine</i> OR <i>immunomodulatory therapy</i> OR <i>therapy, immunomodulatory</i> OR <i>vaccines, neoplasm</i> OR <i>Injection, Therapeutic Vaccine</i> OR <i>Vaccinotherapy</i> OR <i>Therapeutic vaccine</i> OR <i>Vaccine Immunogenicity</i> OR <i>Antigenicity, vaccine</i> OR <i>Adjuvant</i> OR <i>Vaccination</i> OR <i>vaccine immunogenicity</i>)

	#5 #3 AND #4 #6 (<i>randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective</i>) #7 #5 AND #6

Abreviações: MEDLINE, *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*; Embase, *Excerpta Medica Database*; CENTRAL, *Cochrane Central Register of Controlled Trials*; LILACS, *Latin American and Caribbean Health Sciences Literature*.

4.3 Critérios de inclusão e critérios de exclusão

Incluiu-se estudos primários (ensaios clínicos randomizados de fase I, II ou III sendo esses randomizados ou estudos quase-experimentais) conduzidos com pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao HPV e que não apresentavam alguma imunodeficiência associada, como lúpus eritematoso sistêmico ou síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Além disso, foram incluídos ensaios clínicos nos quais as pacientes receberam vacinas terapêuticas, independente da via de administração, para avaliar a segurança, eficácia, e a imunogenicidade a fim de comparar com um grupo controle (placebo ou tratamento padrão) ou com parâmetros da própria paciente antes e após a administração da vacina.

Foram excluídos estudos que abarcaram o uso da vacina terapêutica contra HPV para o tratamento de homens e de mulheres com NIC 2/3 simultaneamente. Também, excluíram-se estudos que contemplavam na amostra, pacientes portadoras de NIC de baixo grau (NIC 1). Ressalta-se que os estudos que avaliaram apenas um ou dois dos três parâmetros propostos no objetivo da revisão sistemática (segurança, eficácia e imunogenicidade) também foram excluídos.

4.4. Seleção dos estudos

O **Quadro 2** apresenta em detalhes o acrônimo PICOS utilizado para a elaboração da questão norteadora bem como para a seleção dos estudos primários que foram incluídos nesta revisão sistemática.

Quadro 2 – Critérios de inclusão e exclusão		
Acrônimo PICOS	Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
P – População	Pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associada ao HPV	Pacientes com alguma imunossupressão associada
I - Intervenção	Uso de vacinas terapêuticas para o tratamento de neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associada ao HPV	Vacinas profiláticas para o tratamento de neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associada ao HPV
C - Controle	Pacientes que receberam placebo ou pacientes como próprio controle	Estudos comparando vacinas profiláticas com vacinas terapêuticas
O - Desfecho	Segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas utilizadas em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2/3) associadas ao HPV	Estudos que não reportam segurança e/ou eficácia e/ou imunogenicidade
S – Tipo de estudo	Ensaio clínico randomizado e estudos quase-experimentos	Revisões, teses, dissertações, opiniões de especialistas, editoriais, protocolos, diretrizes clínicas, anais e resumos de congressos

Fonte: próprio autor

Ressalta-se que os *endpoints* avaliados nessa revisão sistemática foram: segurança, eficácia e imunogenicidade. O desfecho segurança das vacinas terapêuticas em pacientes com NIC de alto grau (NIC 2/3), foi avaliado por meio da análise das reações adversas e tóxicas associadas à sua administração. Já a eficácia das vacinas terapêuticas em pacientes com NIC 2/3, foi avaliada por meio da regressão histopatológica da lesão e/ou regressão do tamanho da lesão. O desfecho imunogenicidade das vacinas terapêuticas em pacientes com NIC 2/3, foi avaliado por meio da resposta imunológica de indivíduos que receberam o tratamento comparado aos que não receberam. Assim, a imunogenicidade foi avaliada dentre os estudos incluídos, principalmente, através de análise exploratória no soro e no tecido alvo (incluindo resposta imune à avaliação do antígeno vacinal da resposta imune CD8 e CD4 específica para HPV; ou também, via indução sistêmica de HPV E6- e E7- respostas imunes específicas de células T e alterações de lesões envolvidas e *status* de infecção pelo HPV no colo uterino), entre outros parâmetros (por exemplo, geração de anticorpos e liberação de citocinas).

Inicialmente a seleção dos artigos baseou-se em informações contidas no título e no resumo de cada estudo e foi realizada por dois pesquisadores (CAG e LCLJ) de modo

independente. A leitura completa dos artigos foi realizada pelos pesquisadores da seleção inicial, também de maneira independente. O coeficiente *Kappa de Cohen's* foi utilizado para avaliar o índice de concordância entre os avaliadores em cada uma das fases da seleção, extração e avaliação metodológica dos estudos incluídos.

4.5. Extração dos artigos

Os dados foram extraídos baseados em ferramentas pré-estabelecidas (CARLOS LOPES-JUNIOR et al. 2018; LOPES-JÚNIOR et al. 2019) e incluíram quatro domínios: I) identificação do estudo (título do artigo, fator de impacto do periódico, país dos autores do estudo, ano de publicação, instituição anfitriã do estudo (hospital; universidade; centro de pesquisa; estudo multicêntrico ou estudo em uma única instituição); conflitos de interesse; financiamento; II) características metodológicas (delineamento do estudo; objetivo do estudo ou questão de pesquisa ou hipóteses; características da amostra, por exemplo, tamanho da amostra, idade, características do *baseline* dos grupos experimentais e controle, método de recrutamento, perdas, duração do acompanhamento, análises estatísticas; III) principais achados e implicação para a prática clínica; e IV) conclusões.

Para a extração dos dados, foram elaboradas duas planilhas do *Microsoft Excel™* por dois pesquisadores (CAG e LCLJ) de modo independente para sintetizar os dados dos estudos incluídos. Após essa fase, as planilhas foram compiladas em uma única planilha para prosseguir com as análises qualitativas e quantitativas (**Apêndice 2**).

4.6. Validade interna e risco de viés dos estudos incluídos

A validade interna e o risco de viés dos ensaios clínicos foram avaliados pela ferramenta do *Handbook* da Colaboração Cochrane para Revisões Sistemáticas de Intervenções, versão 5.1.0 (HIGGINS; GREEN, 2011), a qual avalia sete domínios: I) Alocação da sequência de randomização (viés de seleção); II) Sigilo da alocação (viés de seleção); III) Cegamento dos participantes e equipe envolvida (viés de performance); IV) Cegamento de avaliadores de desfecho (viés de detecção). V) Desfechos incompletos (viés de atrito); VI) Relato de desfecho seletivo (viés de publicação) e VII) Outras fontes de viés. Baseados nesses domínios avaliados, classifica-se os estudos em risco de viés baixo, alto ou incerto.

Para a avaliação do risco de viés dos ensaios clínicos não randomizados (estudos quase-experimentais) utilizou-se a ferramenta ROBINS-I (*Risk-of-Bias In Non- Randomized Studies*) (STERNE et al., 2016).

A ROBINS-I, é uma ferramenta recentemente desenvolvida, orientada através de sete domínios organizados em: a) Pré-intervenção (1. viés de confundimento; 2. viés de seleção de participantes dentro do estudo; b) Intervenção (3. viés na classificação das intervenções); c) Pós-intervenção (4. viés devido a desvios dos protocolos de intervenções; 5. viés devido aos dados faltantes (*missing*); 6. viés devido a aferição dos desfechos; e 7. viés de relato seletivo dos desfechos) (STERNE et al., 2016). As interpretações do nível de cada domínio e do risco global de julgamento de viés na ROBINS-I são classificados em baixo, moderado, sério, crítico ou nenhuma informação (STERNE et al., 2016).

A qualidade metodológica e a pontuação dos artigos selecionados também foram realizadas pelos mesmos autores (CAG e LCLJ) de modo independente. O risco de viés para cada um dos estudos individuais foi apresentado por meio de síntese qualitativa.

4.7. Análise dos dados

Foram realizadas sínteses narrativas qualitativas sobre o risco de viés para os estudos incluídos e analisados. Os estudos foram classificados como sendo de alto risco de viés, quando a maioria dos domínios (ou seja, em mais de 50% dentre os sete domínios avaliados pela ferramenta de Risco-de-viés da Cochrane) fosse atribuída a definição de risco de viés incerto ou alto risco de viés.

O julgamento global de ROBINS-I foi sistematizado e atribuído da seguinte forma: a) Baixo risco de viés, no qual o estudo é comparável a um ensaio randomizado bem delineado com relação à esse domínio (o estudo é considerado de baixo risco de viés para todos os domínios); b) Risco moderado de viés - o estudo é sólido para um ensaio não randomizado com relação a este domínio, mas não pode ser considerado comparável a um estudo randomizado bem delineado (o estudo é considerado com risco baixo ou moderado de viés para todos os domínios); c) Risco sério de viés - o estudo tem alguns problemas importantes neste domínio (o estudo é considerado de baixo ou moderado risco de viés para a maioria dos domínios, mas com risco sério de viés em pelo menos um domínio); d) Risco crítico de viés - o estudo é problemático demais neste domínio para fornecer qualquer evidência útil (o estudo é considerado em risco crítico de viés em pelo menos um domínio); e) Nenhuma informação - nenhuma informação sobre a qual basear um julgamento sobre o risco de viés para este domínio

(há uma falta de informação em um ou mais domínios-chave de parcialidade para o resultado) (STERNE et al., 2016).

Uma vez que a maioria dos estudos avaliados apresentaram diferenças metodológicas significativas, optou-se por realizar uma síntese qualitativa dos dados na presente revisão sistemática.

5. Resultados

5.1. Seleção dos estudos

As buscas nas bases de dados eletrônicas e em outras fontes, resultaram em 1.184 estudos, sendo 960 nas bases de dados e 224 em outras fontes. Após a remoção de 270 duplicatas pelo gerenciador de referências *EndNote*, 914 possíveis estudos seguiram para o processo de seleção por título. Nesta etapa, a maioria dos estudos foram excluídos (804) baseando-se em critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos durante a elaboração do protocolo da revisão sistemática. A exclusão por título resultou na seleção de 110 estudos que seguiram a avaliação pelo resumo. Destes, 87 foram excluídos resultando em 23 artigos para serem lidos na íntegra para uma análise criteriosa. Dentre os 23 estudos elegíveis, oito foram excluídos pelo tipo de estudo não condizente aos critérios de inclusão do estudo. Desse modo, foram selecionados e analisados 15 estudos para leitura exaustiva, extração dos dados e síntese qualitativa (**Figura 1**). A ficha de extração com os dados completos dos artigos selecionados encontra-se no **Apêndice 2**, assim como a estratégia de busca de cada uma das bases (**Apêndice 1**).

Figura 1. Fluxograma dos estudos selecionados de acordo com as diretrizes dos Itens de Relatórios Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises - PRISMA (METHLEY et al., 2014). MEDLINE: *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (via *Pubmed*); EMBASE: *Excerpta Medica Database*; LILACS: *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde*; BIREME: *Biblioteca Regional de Medicina*; CENTRAL: *Cochrane Central Register of Controlled Trials*; ReBEC: *Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos*.

5.2. Características dos estudos

O **Quadro 3** resume cronologicamente as características dos estudos incluídos para análise qualitativa. Os estudos foram publicados entre 2003 e 2016 (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al., 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012). A maioria dos estudos foram conduzidos nos Estados Unidos da América (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GREENFIELD et al., 2015; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015) e tratavam-se de ensaios clínicos não controlados de fase 1 (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009). Nenhum dos estudos incluídos encontrava-se na fase 3. O número total de participantes de pesquisa entre os estudos incluídos foi de 608 pacientes, sendo que as amostras variaram de no mínimo 7 e no máximo a 167 pacientes. A idade das pacientes incluídas nos estudos variou de 19 a 50 anos. A maioria dos estudos não utilizaram grupo controle (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SOLARES et al., 2011; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009). Em adição, naqueles ensaios que utilizaram o grupo controle (GARCIA et al., 2004; KAUFMANN et al., 2007; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012), observou-se o predomínio da administração de placebo em pacientes com NIC 2 ou 3, com exceção de Garcia-Hernández et al. (2006) que utilizaram o procedimento de conização como controle.

QUADRO 3. (continua) - Característica dos estudos experimentais incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte/Delineamento/País	Objetivo	Amostra
Sheets et al. 2003 /Ensaio clínico de fase 1/Estados Unidos	Avaliar a segurança da administração da vacina ZYC101 em mulheres com NIC 2/3 associada ao HPV16	N = 15 Idade: 19-44 Grupos : Vacina: 15 Placebo: 0
Garcia et al. 2004 /Ensaio clínico randomizado/ Estado Unidos	Avaliar segurança e eficácia da vacina terapêutica ZYC101a em pacientes com NIC 2/3	N = 161 Idade: não reportado

		Grupos: Vacina: 111 Placebo: 50
Garcia-Hernández et al., 2006/ Ensaio clínico de fase 2/ México	Avaliar o potencial uso da vacina recombinante MVA E2 no tratamento de lesões de alto grau NIC 2/3 associada ao papilomavírus oncogênico	N = 54 Idade: média de 35 anos Grupos: Vacina: 34 Conização: 20
Kaufmann et al. 2007/ Estudo clínico randomizado duplo-cego/Alemanha	Avaliar a segurança e a eficácia de 4 administrações da vacina quiméricas de partículas virais do HPV16 L1E7	N = 39 Idade: 20-38 Grupos Vacina: 26 Placebo: 13

QUADRO 3 (continuação) - Característica dos estudos experimentais incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte/Delineamento/País	Objetivo	Amostra
Roman et al. 2007/ Ensaio Clínico de fase II/Estados Unidos	Determinar os efeitos da vacinação com Hsp-7 SGN-00101	N = 21 Idade: média de 26 anos Grupos Vacina: 21 Placebo: 0
Trimble et al. 2009/ Ensaio Clínico de fase 1/Estados Unidos	Avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina terapêutica de DNA HPV 16 em mulheres com NIC 2/3 positivas para HPV 16	N = 15 Idade: 18-50 Grupos Vacina: 15 Placebo: 0
Brun et al. 2011/ Ensaio clínico multicêntrico de um braço/França	Avaliar a segurança e a eficácia da vacina TG4001 em pacientes com HPV 16 associado com NIC 2/3	N = 10 Idade: 25-44 Grupos Vacina: 10 Placebo: 0
Solares et al. 2011/ Estudo clínico não controlado de um braço/ Cuba	Avaliar a toxicidade, segurança, imunogenicidade, depuração do HPV e regressão da lesão	N = 7 Idade: 24-43 Grupos Vacina: 7 Placebo: 0
Van Steenwijk et al. 2012/ Ensaio clínico randomizado de fase 2/ Holanda	Investigar a capacidade da vacina de peptídeo HPV 16 E6/7 de estimular a resposta de células T específicas para HPV 16, para melhorar a infiltração de células T tipo 1 específicas para HPV 16 nas lesões intraepiteliais escamosas de alto em grau pacientes positivas para HPV 16 e depuração do HPV	N = 10 Idade: não relatado Grupos: Vacina: 5 Placebo: 5

Kawana et al. 2014 /Ensaio clínico de fase I/IIa/Japão	Avaliar a segurança, a imunogenicidade e a eficácia clínica da vacina GLBL101c e, pacientes com NIC 3 positivas para o HPV 16	N = 10 Idade: não reportado Grupos: Vacina: 10 Placebo: 0
Kim et al. 2014 /Ensaio clínico de fase I/Coréia	Demonstrar a efetividade da vacinação com a vacina de DNA (GX-188E) na erradicação de infecção persistente pelo HPV associado com correlações imunológicas para controlar essas infecções	N = 9 Idade: 23-44 Grupos: Vacina: 9 Placebo: 0
Greenfield et al. 2015 /estudo clínico de um braço de fase I/ Estados Unidos	Demonstrar a segurança de uma vacina terapêutica para HPV denominada PepCan	N = 24 Idade: 22-42 Grupos: Vacina: 24 Placebo: 0
Trimble et al. 2015 / Estudo Clínico randomizado, multicêntrico, duplo-cego controlado de fase 2/ Estados Unidos	Avaliar a eficácia, segurança e imunogenicidade da vacina VGX-3100 em pacientes com lesões NIC 2/3 associados ao HPV 16 ou 18	N = 167 Idade: 24-41 Grupos: Vacina: 125 Placebo: 42
Alvarez et al. 2016 /Ensaio piloto/Estados Unidos	Avaliar segurança, eficácia e imunogenicidade da vacina de plasmídeo Pngvl4A-crt-e7 (DETOX) em pacientes com HPV 16 associada a NIC 2/3	N = 32 Idade: 20-44 Grupos: Vacina: 32 Placebo: 0

QUADRO 3 (conclusão) - Característica dos estudos experimentais incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte/Delineamento/País	Objetivo	Amostra
Coleman et al. 2016 / estudo clínico não controlado de um braço de fase I/Estados Unidos	Estabelecer a viabilidade da vacina PepCan para seguir para a fase 2	N = 34 Idade: Não relatada Grupos: Vacina: 34 Placebo: 0

A **Quadro 4** resume os principais critérios de seleção de pacientes utilizados pelos diferentes estudos. Os critérios de inclusão mais utilizados nos estudos foram idade mínima de 18 anos (n=9 estudos, 60%) e presença de NIC 2/3 associadas ao HPV 16 ou 18 (n= 10 estudos; 66%). Os critérios de exclusão mais utilizados entre os estudos se basearam em fatores como a presença de pacientes doença invasiva e doenças infecciosas ou imunossupressoras associadas a NIC 2/3 (n= 12 estudos; 80%), gestação ou amamentação, uso de drogas ou tratamentos

imunossupressores (n= 11 estudos; 73%), além de alergia a algum componente da vacina (n= 6; 40%).

QUADRO 4. (continua) – Critérios de inclusão e exclusão utilizados na seleção de pacientes para os estudos. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Estudo	Inclusão	Exclusão
Sheets et al. 2003	≥18 anos de idade, não gestante, usando método aprovado de controle de natalidade, sem evidência de imunossupressão por avaliação hematológica por contagem de leucócitos, avaliação negativa para hepatite B ou C, >1 ano desde tratamento anterior de NIC 2/3, e um teste de colposcopia revelando doença residual pelo menos 1 mês após a biópsia diagnóstica.	Não reportado
Garcia et al. 2004	18 anos ou mais, biópsia confirmando presença de NIC 2/3, positiva para HPV e fazendo uso de contraceptivo.	Pacientes que apresentavam evidência de doença em mais de dois quadrantes cervicais; realizaram tratamento para displasia cervical no último ano; ou que apresente algum distúrbio imunológico.

QUADRO 4. (continuação) – Critérios de inclusão e exclusão utilizados na seleção de pacientes para os estudos. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Estudo	Inclusão	Exclusão
Garcia-Hernández et al., 2006	Presença do HPV 16 ou 18, idade entre 25 e 49 anos, não estar gestante e que não pretendiam engravidar durante o estudo, apresentar lesão de alto grau (NIC 2/3) associadas ao HPV que não ultrapassassem a camada basal, capacidade de fornecer consentimento informado, função renal normal, parâmetros bioquímicos normais e função medular normal.	Pacientes com menos de 25 anos e mais de 50, gestantes ou amamentando; pacientes sem métodos contraceptivos confiáveis, teste positivo para HIV, febre de causa desconhecida, infecções crônicas como tuberculose, pielonefrite e pneumonia, pacientes com outras doenças diferentes do câncer do colo do útero, mulheres que participaram de outro protocolo clínico até três meses antes do início deste protocolo, mulheres que estejam recebendo qualquer tipo de droga que possa interferir com os objetivos deste protocolo clínico, mulheres que tenham recebido qualquer tipo de esteroide ou modulador imunológico até quatro semanas antes de se inscreverem neste protocolo, pacientes cuja biópsia mostra que a lesão ultrapassa a membrana basal
Kaufmann et al. 2007	Pacientes com lesão NIC 2/3 mono infectadas com HPV16, idade entre 18–50, lesão com pelo menos 1 cm de diâmetro ou cobrindo 2 quadrantes cervicais, não gestantes, fazendo o uso de anticoncepcional, assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.	Sinal de doença invasiva, envolvimento endocervical, infecções concomitantes, terapia prévia para NIC, gestante, lactante ou pós-menopausa, HIV positivas ou condições com outras condições médicas relevantes

Roman et al. 2007	Idade igual ou superior a 18 anos, NIC 2/3 e presença documentada de qualquer tipo de HPV, contagem adequada de plaquetas ($100.000/\text{mm}^3$ ou superior), nível de hemoglobina (superior a 8,5 g/dl), creatinina (menos de 1,4 mg/dl), nível de bilirrubina (menos de 2 mg/dl) e SGOT/SGPT (menos de 2,5 vezes a norma institucional)	Gestantes, positivas para HIV, pacientes que tinham câncer invasivo menos de cinco anos a partir da data de entrada no protocolo, histórico de exposição ao dietilestilbestrol no útero, ou que tinha uma história de anafilaxia por picada de abelha
Trimble et al. 2009	Capacidade de fornecer consentimento informado, competência imunológica, soronegatividade para o HIV, não gestante e presença de lesão residual visível após um diagnóstico confirmado por biópsia de NIC 2/3 associadas ao HPV 16	Não reportado
Brun et al. 2011	Idade ≥ 25 anos, NIC 2/3 e positivas para HPV 16	História de tratamento de NIC 2/3, coinfeção com HPV 18, 31, 33, doença infecciosa sistêmica ativa (HIV, hepatite B, hepatite C), terapia com esteroides ou qualquer outro tratamento concomitante imunomodulador, gravidez ou amamentando, alergia a ovos ou outros derivados da vacina TG4001.

QUADRO 4. (continuação) – Critérios de inclusão e exclusão utilizados na seleção de pacientes para os estudos. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Estudo	Inclusão	Exclusão
Solares et al. 2011	Pacientes HLA-A2 positivas, com idades entre 18 e 65 anos, com histologia confirmada por NIC 2/3 positiva para HPV16 com diâmetro $\geq 3\text{mm}$, leucócitos $> 3 \times 10^9/\text{L}$, linfócitos $> 1 \times 10^9/\text{L}$, trombócitos $> 100 \times 10^9/\text{L}$ e hematócrito $> 30\%$	Receber qualquer tratamento imunomodulador até 3 meses antes da inclusão, disfunções psiquiátricas, gravidez e amamentação, doenças crônicas descompensadas, como asma, epilepsia, doenças autoimunes ou de imunodeficiência, hipertensão, anemia, infecções agudas do trato sistêmico ou genital, e distúrbios renais, hepáticos e cardiovasculares.
Van Steenwijk et al. 2012	Pacientes com HPV16 + HSIL histologicamente comprovada, leucócitos $> 3 \times 10^9/\text{L}$, linfócitos $> 1 \times 10^9/\text{L}$, trombócitos $> 100 \times 10^9/\text{L}$ e hematócrito $> 30\%$, e sem radioterapia, quimioterapia ou outra terapia potencialmente imunossupressora administrada dentro de 4 semanas antes da imunoterapia	Não reportado
Kawana t al. 2014	NIC 3 monoinfectadas com HPV16, idade entre 18-45 anos, evidência colposcópica de uma lesão persistente de alto grau 4 semanas após a biópsia, valores sanguíneos de laboratório normais antes do tratamento e assinatura do consentimento informado	Outros tipos de HPV de alto risco além do HPV16, sinais de doença invasiva, envolvimento da endocervical, gravidez/amamentação, HIV positivas, doença imunossupressora ou uso de medicamentos imunossupressores.
Kim et al. 2014	Mulheres com idade entre 20 e 50 anos com NIC3 associada a HPV16 ou 18	Indivíduos com hepatite B, com vírus da hepatite C ou infecções por vírus da imunodeficiência humana, eletrocardiograma anormal incluindo arritmia, histórico de eventos adversos graves a medicamentos ou doenças alérgicas graves além de

		gestantes ou mulheres que planejavam engravidar
Greenfield et al. 2015	Pacientes diagnosticadas com NIC2/3, idade de 18 a 50 anos, pressão arterial $\leq 200/120$ mm Hg, frequência cardíaca de 50 a 120 batimentos por minuto, respiração ≤ 25 respirações por minuto, temperatura $\leq 100,4^{\circ}\text{F}$, contagem de leucócitos $\geq 3 \times 10^9$, L, hemoglobina ≥ 8 g/dL e contagem de plaquetas $\geq 50 \times 10^9/\text{L}$	Histórico de doença ou tratamento que causa imunossupressão, gravidez, amamentação, alergia a <i>Candida</i> , história de asma grave, uso atual de betabloqueador e história de carcinoma invasivo de células escamosas do colo do útero.
Trimble et al. 2015	Mulheres com idade entre 18 e 55 anos Positivas para HPV16 ou 18 positivas para Lesão intraepitelial cervical escamosa de alto grau (NIC 2/3)	Gestantes, lactantes, co-infectadas com hepatite B, hepatite C ou HIV, ou com outros estados de deficiência imunológica
Alvarez et al. 2016	Pacientes com idade igual ou superior a 19 anos com NIC 2/3 positivas para HPV16+, hemoglobina de 9 g/dl ou maior e serem soronegativos para HIV e para hepatite B	Pacientes com evidências citológicas ou histológicas de displasia glandular, gestantes, com doença autoimune ativa, fazendo uso de medicação imunossupressora, histórico de trombose arterial ou venosa, alergia ao ouro ou que já tenha se submetido a quimioterapia

QUADRO 4. (conclusão) – Critérios de inclusão e exclusão utilizados na seleção de pacientes para os estudos. Ribeirão Preto, SP, Brasil.2019.

Estudo	Inclusão	Exclusão
Coleman et al. 2016	Pacientes com HSIL confirmada por biópsia (lesão intraepitelial escamosa de alto grau), independente dos tipos de HPV associado; idade de 18 a 50 anos, pressão arterial $\leq 200/120$ mm Hg, frequência cardíaca de 50 a 120 batimentos por minuto, respiração ≤ 25 respirações por minuto, temperatura $\leq 100,4^{\circ}\text{F}$, contagem de leucócitos $\geq 3 \times 10^9$, L, hemoglobina ≥ 8 g/dL e contagem de plaquetas $\geq 50 \times 10^9/\text{L}$.	Histórico de doença ou tratamento que causa imunossupressão, gravidez, amamentação, alergia a <i>Candida</i> , história de asma grave, uso atual de betabloqueador e história de carcinoma invasivo de células escamosas do colo do útero.

Com relação ao tempo de seguimento, a maioria dos estudos variaram de 9 a 36 semanas (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al., 2007; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012) e 4 estudos realizaram um período de seguimento de 1 ano ou mais (BRUN et al., 2011; KAWANA et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SOLARES et al., 2011) (Dados não apresentados na Quadro).

O **quadro 5** apresenta dados relacionados às principais características das vacinas e seus respectivos protocolos, utilizados em cada um dos estudos incluídos na análise qualitativa. O tipo de vacina mais utilizada nos estudos foram as vacinas de DNA (n = 6 estudos; 40%) (ALVAREZ et al., 2016; GARCIA et al., 2004; SHEETS et al., 2003; KIM et al., 2014; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015) seguido das vacinas de peptídeos (n = 4 estudos;

26,6%) (COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; SOLARES et al., 2011; VAN STEENWIJK et al., 2012), de vetores virais recombinantes (n = 3 estudos; 20%) (BRUN et al., 2011; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAUFMANN et al. 2007) e de vetores bacterianos (n = 2 estudos; 13,3%) recombinantes (KAWANA et al., 2014; ROMAN et al., 2007).

A via de administração mais utilizada entre os estudos foi a intramuscular (n = 6 estudos; 40%) (ALVAREZ et al., 2016; GARCIA et al., 2004; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015). O antígeno mais utilizado para a síntese das vacinas foram a oncoproteínas E7 do HPV 16 (n = 12 estudos; 80%) (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; GARCIA et al., 2004; KAUFMANN et al., 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012).

Os ensaios de vacinas de DNA apresentaram características bastante heterogêneas, principalmente na composição da vacina como as proteínas imunoestimuladoras e os antígenos utilizados na sua síntese, diferenças na dose e na concentração das vacinas, além do delineamento da intervenção e da presença ou ausência de grupos controles. Dentre os estudos que utilizaram vacinas de peptídeos, apenas os de Coleman et al. (2016) e Greenfield et al. (2015), ambos de autores do mesmo grupo, poderiam ser comparados por apresentarem delineamentos semelhantes, utilizarem as mesmas concentrações, a mesma vacina, a mesma via de administração e apresentarem resultados condizentes. Entretanto, outros estudos que utilizaram vacinas de peptídeos (SOLARES et al., 2011; VAN STEENWIJK et al., 2012) apresentaram diferenças quanto ao protocolo de intervenção, peptídeos utilizados para a síntese da vacina, proteínas imunoestimulatórias associadas à vacina e resultados discrepantes. As vacinas virais também demonstram heterogeneidade entre os protocolos de intervenção, via de administração, concentração e doses administradas além de diferenças significativas entre os antígenos utilizados para a composição das vacinas. O mesmo foi observado para as vacinas de vetores bacterianos, entretanto, o tipo de antígeno utilizado na síntese das vacinas foi o mesmo.

QUADRO 5. (continua) - Características e protocolos das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Tipo de vacina	Via de administração	Antígeno	Protocolo de intervenção
Sheets et al., 2003	Vacina de DNA (ZYC101)	Subcutânea ou intramuscular	HPV 16 E7	15 pacientes receberam a vacina a cada 3 semanas nas seguintes doses: Grupo de 50 µg, n=6 Grupo de 100 µg, n=6 Grupo de 200 µg, n=3

Garcia et al., 2004	Vacina de DNA (ZYC101a)	Intramuscular	HPV 16 e 18 – E6 e E7	Semana 0: 100 µg de ZYC101a, n=53 200 µg de ZYC101a, n=58 Placebo (solução salina), n=50 Semana 3: 100 µg de ZYC101a, n=53 200 µg de ZYC101a, n=58 Placebo (solução salina), n=50 Semana 6: 100 µg de ZYC101a, n=51 200 µg de ZYC101a, n=54 Placebo (solução salina), n=48

QUADRO 5. (continuação) - Características e protocolos das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Tipo de vacina	Via de administração	Antígeno	Protocolo de intervenção
Garcia-Hernández et al., 2006	Vacina de vetor viral recombinante (MVA E2)	Injeção direta no útero	Oncoproteína E2	54 pacientes foram distribuídas em grupo controle e que receberam vacina terapêutica. O protocolo durou seis semanas e as injeções eram administradas uma vez por semana Grupo MVA E2 (10^7 partículas virais por dose), n=34 Grupo Controle, n=20
Kaufmann et al. 2007	Vacina de vetor viral recombinante (HPV 16 L1E7 CVLP)	Injeção – não especificou a via	HPV 16 L1 e E7	36 pacientes foram randomizadas em três grupos e receberam duas doses da vacina em diferentes concentrações: Grupo alta dose que recebeu 250 µg da vacina, n=12 Grupo de baixa dose de 75 µg da vacinas, n=12 Grupo placebo que receberam 500 µg de albumina, n=12
Roman et al., 2007	Vacina de vetor bacteriano recombinante (SGN-00101)	Subcutânea	HPV 16 E7	21 pacientes receberam 500 µg da vacina, por 4 vezes com intervalos de 3 semanas entre cada uma das doses
Trimble et al., 2009	Vacina de DNA (pNGV14A-Sig/E7(detox)/HSP70	Intramuscular	HPV 16 E7	15 pacientes receberam a vacina nos dias 0, 28 e 56 em diferentes concentrações:

				Grupo 0.5 mg, n=3 Grupo 1 mg, n= 3 Grupo de 3mg, n= 3
Brun et al., 2011	Vacina de vetor viral recombinante (TG4001)	Subcutânea	HPV 16 E6 e E7	Vacina dia 1: 21 pacientes receberam 5×10^7 pfu de TG4001 Vacina dia 8: 21 pacientes receberam 5×10^7 pfu de TG4001 Vacina dia 15: 21 pacientes receberam 5×10^7 pfu de TG4001
Solares et al., 2011	Vacina de peptídeo (CIGB-228)	Subcutânea	HPV16 E7	Vacina CIGB-22: 7 pacientes receberam 4 vezes a vacina com intervalo de uma semana entre cada uma delas

QUADRO 5. (continuação) - Características e protocolos das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos incluídos na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Tipo de vacina	Via de administração	Antígeno	Protocolo de intervenção
Van Steenwijk et al., 2012	Vacina de peptídeo (HPV16-SLP)	Não especificado	HPV 16 E6/E7	Vacina HPV16-SLP: 5 pacientes receberam 300 µg da vacina, duas vezes, com intervalo de três semanas entre uma administração e outra Grupo placebo: 4 pacientes receberam tampão fosfato salino (PBS), duas vezes, com intervalo de três semanas entre uma administração e outra
Kawana et al., 2014	Vacina de vetor bacteriano recombinante (GLBL101c)	Oral	HPV 16 E7	10 pacientes receberam a vacinas semanas 1, 2, 4 e 8 nas seguintes concentrações: 1 cápsula por dia (250 mg), n=1 2 cápsulas por dia, n=3 4 cápsulas por dia, n=10 (3 da primeira fase + 7 adicionados posteriormente) 6 cápsulas por dia, n=3
Kim et al., 2014	Vacina de DNA (pGX-188E)	Intramuscular	HPV 16/18 - E6/E7	9 pacientes receberam 3 vacinas nas semanas 0, 4 e 12 nas seguintes doses: Dose 1 mg, n=3 Dose 2 mg, n=3 Dose 4 mg, n=3
Greenfield et al., 2015	Vacina de peptídeo (Pepcan)	Intradérmica	HPV16 E6	24 pacientes receberam 4 vacinas a cada três semanas nos seguintes grupos: Dose 50 µg, n=6

				Dose 100 µg, n=6 Dose 250 µg, n=6 Dose 500 µg, n=6
Trimble et al., 2015	Vacina de DNA (VGX-3100)	Intramuscular com eletroporação	HPV 16/18 – E6 e E7	Grupo VXG-3100: 114 pacientes receberam 6 mg de VGX-3100 seguida de eletroporação Grupo placebo: 40 pacientes receberam água esterilizada seguida de eletroporação

QUADRO 5. (conclusão) - Características e protocolos das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos incluídos na análise qualitativa

Fonte	Tipo de vacina	Via de administração	Antígeno	Protocolo de intervenção
Alvarez et al., 2016	Vacina de DNA (pNGVL4a-CRT/E7(detox))	Intradérmica, Intramuscular ou injeção na lesão cervical	HPV 16 E7	27 pacientes receberam a vacina nas semanas 0, 4 e 8 por 3 vias diferentes Intradérmica: 8 µg, n= 3 16 µg: n=6 Intramuscular: 1 mg, n=3 3 mg, n=6 Intralesional: 1 mg, n=3 3 mg, n=6
Coleman et al., 2016	Vacina de peptídeo (Pepcan)	Intradérmica	HPV 16 E6	Grupo de 50 µg: 6 pacientes receberam a vacina PepCan + 10 adicionados ao final da pesquisa Grupo de 100 µg: 6 pacientes receberam a vacina PepCan nessa concentração Grupo de 250 µg: 6 pacientes receberam a vacina PepCan nessa concentração Grupo de 500µg: 6 pacientes receberam a vacina PepCan nessa concentração

5.3 Risco de viés em cada estudo

O risco de viés (**Quadro 6**) dos ensaios clínicos foi avaliado pelo instrumento do *Handbook* da Cochrane para Revisões Sistemáticas de Intervenções, versão 5.1.0 (HIGGINS; GREEN, 2011), onde foi possível observar que a maioria dos estudos incluídos na análise qualitativa apresentam alto risco de viés, com exceção de dois estudos que apresentaram baixo risco de viés (GARCIA et al., 2004; TRIMBLE et al., 2015) e um outro ensaio (KAUFMANN

et al., 2007) que apresentou risco de viés incerto. Apenas os estudos de Trimble et al. (2015) e Garcia et al. (2004) descreveram de modo apropriado o método para gerar a sequência de randomização, o sigilo de alocação e o cegamento dos participantes e equipe envolvida. A maioria dos estudos que apresentaram alto risco de viés, foram assim classificados por não se tratar de ensaios clínicos randomizados, não descreveram ou não utilizaram sigilo de alocação além do cegamento dos participantes e dos participantes e da equipe envolvida. Desses estudos, apenas quatro (GARCIA et al., 2004; KAWANA et al., 2014; TRIMBLE et al., 2009, TRIMBLE et al., 2015) relataram o cegamento dos avaliados do desfecho (viés de detecção). Os estudos que apresentaram alto risco de viés de atrito (COLEMAN et al., 2016; GARCIA-HERNÁNDEZ et al. 2006; GREENFIELD et al. 2015;) ou risco incerto (GARCIA et al. 2004; KIM et al. 2014) foram assim classificados principalmente por não reportarem as perdas ou as razões das perdas e não realizarem cálculo amostral. A **Figura 2**, representa a porcentagem de risco de viés entre os ensaios clínicos por domínio avaliado.

QUADRO 6 - Avaliação da validade interna e do risco de viés dos ensaios incluídos no estudo segundo o *Handbook* da Cochrane para Revisões Sistemáticas de Intervenções 5.1.0. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

	Geração de sequência aleatória (viés de seleção)	Sigilo de alocação (viés de seleção)	Cegamento dos participantes e equipe envolvida (viés de performance)	Cegamento de avaliadores de desfecho (viés de detecção)	Desfechos incompletos (viés de atrito)	Relato de desfecho seletivo (viés de publicação)	Outras fontes de viés	Classificação do Risco de viés
Estudos	Domínio do Risco de Viés							
Sheets et al. 2003								Alto
Garcia et al. 2004								Baixo
Garcia-Hernández et al. 2006								Alto
Kaufmann et al. 2007								Incerto
Roman et al. 2007								Alto
Trimble et al. 2009								Alto

Brun et al. 2011	-	-	-	-	+	+	?	Alto
Solares et al. 2011	-	-	-	-	+	+	?	Alto
Van Steenwijk et al. 2012	-	-	?	?	+	-	?	Alto
Kawana et al. 2014	-	-	-	+	+	+	?	Alto
Kim et al. 2014	-	-	-	-	?	+	?	Alto
Greenfield et al. 2015	-	-	-	-	-	+	?	Alto
Trimble et al. 2015	+	+	+	+	+	+	+	Baixo
Alvarez et al. 2016	-	-	-	?	+	+	?	Alto
Coleman et al. 2016	-	-	-	-	-	+	?	Alto

Subtítulos: símbolo de adição (+) indica baixo risco de viés; símbolo negativo (-) indica alto risco de viés; ponto de interrogação (?) indica risco incerto de viés.

Figura 2. Porcentagem de risco de viés entre os ensaios clínicos por Domínio; Fonte: próprio autor

A análise do risco de viés dos estudos não randomizados pela ferramenta ROBINS-I (STERNE et al., 2016) (**Quadro 7**), demonstrou que 10 dos 11 estudos apresentaram risco sério de viés e apenas um estudo (ALVAREZ et al., 2016) apresentou risco moderado. Os estudos foram assim classificados principalmente devido ao viés de seleção dos participantes. Além disso, todos os 11 ensaios apresentaram risco moderado de viés por não serem randomizados e 5 ensaios apresentaram viés por não reportarem adequadamente a perda de dados e/ou *missings*

(ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; KIM et al. 2014; ROMAN et al. 2007).

Quadro 7 - Avaliação pelo consenso de ROBINS-I entre dois revisores pelo domínio de viés. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Estudo	*Domínios ROBINS-I							Julgamento geral de ROBINS-I
	Viés por confundimento	Viés de seleção de participantes	Viés de aferição da intervenção	Viés de não recebimento da intervenção atribuída	Viés por perda de dados	Viés de aferição dos desfechos	Viés de relato seletivo dos desfechos	
Sheets et al. 2003	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Moderado	Sério
Garcia-Hernández et al. 2006	Moderado	Sério	Baixo	Sério	Baixo	Baixo	Baixo	Sério
Roman et al. 2007	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Baixo	Sério
Trimble et al. 2009	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Sério
Brun et al. 2011	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Baixo	Sério
Solares et al. 2011	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Sério
Kawana t al. 2014	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Baixo	Moderado	Moderado	Sério
Kim et al. 2014	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Baixo	Sério
Greenfield et al. 2015	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Moderado	Sério
Alvarez et al. 2016	Moderado	Moderado	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Moderado	Moderado
Coleman et al. 2016	Moderado	Sério	Baixo	Baixo	Moderado	Baixo	Moderado	Sério

*ROBINS-I, risco de viés de estudos não-randomizados;

Julgamento geral de ROBINS-I: Baixo risco de viés - O estudo é comparável a um ensaio randomizado bem realizado com relação à esse domínio (o estudo é considerado de baixo risco de viés para todos os domínios); Risco moderado de viés - O estudo é sólido para um ensaio não randomizado com relação a este domínio, mas não pode ser considerado comparável a um estudo randomizado bem realizado (o estudo é considerado com risco baixo ou moderado de viés para todos os domínios) ; Risco sério de viés - O estudo tem alguns problemas importantes neste domínio (o estudo é considerado de baixo ou moderado risco de viés para a maioria dos domínios, mas com risco grave de viés em pelo menos um domínio); Risco crítico de viés - O estudo é problemático demais neste domínio para fornecer qualquer evidência útil (o estudo é considerado em risco crítico de viés em pelo menos um domínio); Nenhuma informação - Nenhuma informação sobre a qual basear um julgamento sobre o risco de viés para este domínio (há uma falta de informação em um ou mais domínios-chave de parcialidade para o resultado).

5.3. Desfechos

5.3.1. Segurança e tolerabilidade

A **Quadro 8** apresenta os resultados relacionados à segurança e tolerabilidade das vacinas utilizadas nos ensaios clínicos incluídos na análise qualitativa. De modo geral, pode-se inferir que a maioria das pacientes apresentaram eventos adversos relacionados ao uso das vacinas, entretanto, todos os eventos foram leves ou moderados sem apresentar relação com eventos mais graves como os de grau 3 ou superior. Ademais, não ocorreram mortes associadas à administração da vacina. Os eventos adversos melhoraram espontaneamente até o final do ensaio e na maioria dos estudos não houve perdas associadas aos eventos adversos, com exceção dos ensaios clínicos de Trimble et al. (2015) e Van Steenwijk et al. (2012), sendo este último estudo interrompido prematuramente. Os sintomas foram mais associados a eventos locais aos da administração da injeção como por exemplo: prurido, edema, eritema e dor e alguns sinais sistêmicos como sintomas de gripe, cefaléia, fadiga e náuseas. A maioria dos autores concluíram que as vacinas foram seguras e bem toleradas, com exceção de Van Steenwijk et al. (2012) que sugeriu o desenvolvimento de futuros estudos focados no desenvolvimento de uma formulação mais bem tolerada.

QUADRO 8 (continua) - Segurança e tolerabilidade das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Eventos adversos	Conclusão
Sheets et al., 2003	Efeitos adversos (AEs) presente em 53% dos pacientes, tratadas com analgésicos, sendo a reação mais comum eritema e desconforto. A maioria dos efeitos foram resolvidos dentro de até 72 horas. Foram relatados alguns eventos adversos como fadiga, dor nas costas, sintomas de gripe, dor nas pernas, dor, síndrome de abstinência, dor de cabeça, náuseas, vômitos, artrite, dor nos ossos, sangramento e desordem de coagulação, ansiedade, insônia, displasia cervical, leucorreia, infecção, alopecia, insensibilidade, erupção eritematosa, conjuntivite e distúrbio de visão. Não houve perdas no estudo;	A vacina não apresentou eventos adversos graves, a incidência de eventos adversos não mudou com o escalonamento da dose ou com a repetição das doses.
Garcia et al., 2004	Os eventos adversos mais comuns foram relacionados ao local da injeção, foram leves a moderados e não pioraram em tratamentos posteriores. A droga do estudo foi bem tolerada em ambos os níveis de dose de 100 µg e 200 µg, sem maiores efeitos colaterais sistêmicos relatados. As reações locais no local da injeção, incluindo dor leve a moderada, eritema e endurecimento, foram relatadas com mais frequência por mulheres que receberam ZYC101a, independentemente da dose, em comparação com o placebo. Outras reações relatadas incluem dor de cabeça, nasofaringite, tosse, diarreia fadiga, dor nas costas, vômitos, dor abdominal, vaginose fúngica, congestão sinusal, corrimento vaginal, dor nos membros e infecções no trato urinário. Em cada caso, esses sintomas se resolveram espontaneamente ou com o uso de analgésicos.	A vacina ZYC101a se mostrou segura e bem tolerada em todos os pacientes

	Comparado ao placebo, mais indivíduos no grupo ZYC101a (embora não houve associação estatisticamente significativa) relataram outros eventos, como dor de garganta e dor nas costas; no entanto, não houve tendência de efeito dose para esses eventos. Um total de seis gravidezes ocorreram como consequência de falhas contraceptivas durante o decorrer do estudo; sendo que quatro dessas ocorreram nos braços do estudo ZYC101a, resultando em nascidos vivos.	
Garcia-Hernández et al., 2006	Foram observados apenas alguns eventos moderados sendo os mais frequentes dor de cabeça, sintomas de gripe, temperatura de 39°C com duração de 1 dia, calafrios, dor abdominal moderada e dor nas articulações. Não houve perdas no estudo;	Baseado nos eventos encontrados a vacina pode ser considerada segura.

QUADRO 8. (continuação) - Segurança e tolerabilidade das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Eventos adversos	Conclusão
Kaufmann et al. 2007	A vacina foi geralmente bem tolerada em ambas as dosagens. Não foram detectadas diferenças significativas em pacientes que relataram efeitos colaterais entre as duas concentrações de vacina ou placebo. Os pacientes relataram eventos adversos leves a moderados no local da injeção, como dor, induração e prurido. Reações sistêmicas relatadas foram sintomas de gripe e fadiga. A maioria de todos os EAs foi recuperado completamente no final do estudo. O segundo EA mais associado ao tratamento foi a cefaléia. Não houve registro de morte. Não houve alterações clinicamente significativas na frequência cardíaca, na pressão arterial ou no peso durante o estudo em nenhum dos grupos. Também não existiu nenhuma alteração clinicamente significativa para os parâmetros bioquímicos do sangue, perfil lipídico, hematologia e urinálise. Nenhum paciente interrompeu a participação no estudo devido a reação adversa.	A vacina apresentou um perfil de segurança muito bom, com apenas eventos adversos menores atribuíveis à imunização, sendo assim, a vacinação parece ser segura e bem tolerada.
Roman et al., 2007	A toxicidade geral foi mínima. Não foram observadas toxicidades Grau III ou IV. Havia quatro mulheres que tiveram reações no local da injeção de grau 2, todos os quais foram de curta duração (com duração inferior a uma semana). Nenhuma paciente deixou o estudo pelos eventos adversos.	A vacina Hsp E7 foi considerada segura e bem tolerada, com efeitos colaterais locais e sistêmicos mínimos.
Trimble et al., 2009	A vacina foi bem tolerada: a maioria dos eventos adversos foi leve com desconforto transitório no local da injeção; não foram observadas toxicidades limitantes da dose. Sintomas sistêmicos (mal-estar, mialgia, dor de cabeça, sintomas de gripe, fadiga e corrimento vaginal) após a vacinação também foram relatados por 5 dos 15 indivíduos. Dois pacientes na coorte de dose mais alta relataram sintomas sistêmicos leves e transitórios após uma ou mais vacinações, sugestivos de um efeito da dose.	A vacina foi segura e bem tolerada
Brun et al., 2011	90% das pacientes relataram algum evento adverso, sendo a maioria relacionado a vacina. Os eventos locais, incluem inflamação, prurido, edema e outros eventos não especificados e os sistêmicos incluem linfadenopatia, febre, dor de cabeça, astenia, dor nos ossos e corrimento vaginal. A intensidade variou de leve a moderado, sem episódios de reação local de grau 3. A maioria dos eventos foram melhoraram espontaneamente dentro de alguns dias e não pioraram com injeções subsequentes. Além disso, a frequência, a intensidade e a duração das reações no local da injeção diminuíram com as administrações subsequentes do	A vacina foi segura e bem tolerada

	medicamento do estudo. Todos os parâmetros bioquímicos e hematológicos foram normais durante todo o estudo. Nenhuma paciente desistiu do estudo pelos eventos adversos.	
Solares et al., 2011	Nenhuma toxicidade além do grau 1 foi observada durante e após as quatro vacinações. Todos os pacientes relataram dor local no local de vacinação e 6 pacientes relataram sensação de queimação. Outros eventos foram relatados com baixas frequências como vermelhidão e inchaço local. Eventos adversos sistêmicos, incluindo febre, tremores e câibras. Todos os eventos melhoraram espontaneamente. Não houve eventos adversos tardios. Nenhuma paciente descontinuou o estudo pelos eventos adversos.	Vacinação CIGB-228 é segura e bem tolerada

QUADRO 8. (continuação) - Segurança e tolerabilidade das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Eventos adversos	Conclusão
Van Steenwijk et al., 2012	Os efeitos colaterais foram principalmente sintomas semelhantes aos da gripe e reações no local da injeção. Os pacientes do grupo placebo não apresentaram reações adversas. Todos os cinco pacientes no grupo de vacinação apresentaram reações adversas que não excederam o grau 2 e incluíram reações no local da injeção como prurido, vermelhidão, inchaço e dor. Todos os pacientes apresentaram inchaços de mais de 8 cm que duraram vários dias. As reações sistêmicas consistiam em cefaleia, diarreia, fadiga e/ou tontura e náusea, calafrios, mialgia, erupção cutânea, febre, urticária, edema dos membros ou uma reação alérgica necessitando do uso de anti-histamínicos. Dois pacientes apresentaram efeitos colaterais mais fortes após a segunda vacinação. Em quatro casos, houve uma reação renovada à vacina 5 a 14 dias após a vacinação, consistindo em reações aumentadas no local da injeção, com ou sem reações sistêmicas. O teste cutâneo causou principalmente prurido no local do teste. Houve desistências associadas aos efeitos colaterais. Estudo terminou prematuramente.	O estudo foi interrompido prematuramente pela desistência dos participantes e os autores sugeriram o desenvolvimento de futuros estudos focados no desenvolvimento de uma formulação mais bem tolerada
Kawana et al., 2014	Nenhum paciente apresentou efeitos colaterais graves induzidos pelo GLBL101c. Nenhum paciente foi retirado do estudo devido a eventos adversos.	A administração oral com GLBL101c pode ser considerada segura e bem tolerada.
Kim et al., 2014	Durante as visitas foram registrados casos de eczema, equimose, prurido vaginal, sonolência, anorexia e tontura dos quais não apresentavam relação com a vacina. Os EAs associadas com a vacina incluíam calafrios, dor no local da injeção, inchaço e hipoestesia. Além de outros possíveis sintomas como cefaléia, rinite e fadiga. Todos esses EAs foram considerados leves (grau 1) e todos os pacientes se recuperaram completamente dentro de três dias após a vacinação. Também não foram encontradas anormalidades nos exames laboratoriais e nem geração de anticorpos anti-DNA. Não houve perdas no estudo;	A administração de GX-188E não provoca eventos adversos graves associados a vacinas em todas as doses administradas, sendo considerada uma vacina segura e bem tolerada.
Greenfield et al., 2015	EAs mais comuns relatados foram respostas imediatas relacionados ao local da injeção, com raras reações tardias, sem sinais de toxicidade. EAs relacionados à vacina ou possivelmente relacionados à vacina, por ordem decrescente de ocorrências, foram mialgia, cefaléia, náusea, fadiga, hipocalemia, sintomas semelhantes aos da gripe, sensação febril, dor no corpo, agitação, vômitos, ondas de calor,	A vacina PepCan é segura, não foram identificados sinais de toxicidade relacionados a vacina.

	espasmo muscular, fotofobia, vertigem, tontura, neutropenia, trombocitopenia e aumento de γ -glutamyl transpeptidase. Nenhum destes EAs foi superior ao grau 2. Nenhum paciente interrompeu a participação no estudo devido a reação adversa.	

QUADRO 8. (conclusão) - Segurança e tolerabilidade das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Eventos adversos	Conclusão
Trimble et al., 2015	Reações no local da injeção ocorreram na maioria dos pacientes, porém, somente eritema apresentou diferença estatisticamente significativa entre o grupo que recebeu a vacina e o grupo placebo. Outros eventos adversos comuns incluíram fadiga, cefaleia, mialgia, mal-estar, náusea e artralgia. Nenhuma anormalidade foi observada nas concentrações de creatina fosfoquinase ou ECGs nos primeiros 40 pacientes inscritos. Quatro pacientes interromperam a dosagem devido a um evento adverso (Três do grupo VGX3100, sendo dois pacientes devido a dor no local da injeção e um por erupção maculopapular além de outra paciente do grupo controle por reação alérgica). Não foram relatados eventos adversos sérios relacionados.	Tratamento com VGX-3100 foi bem tolerado
Alvarez et al., 2016	69% dos pacientes apresentaram eventos adversos relacionados a vacina. Os eventos estavam mais relacionados com o local da injeção e não foram superiores a eventos de grau 1. Nenhum evento adverso clínico de grau 3/4 limitante de dose foi relatado. Pacientes do grupo que receberam injeção intramuscular apresentaram menos eventos adversos quando comparados aos grupos que receberam diretamente na lesão ou injeção epidérmica. Não foram observados eventos adversos graves relacionados com a vacina (SAE). Os resultados destes ensaios demonstraram, em geral, toxicidade mínima (sintomas predominantemente constitucionais e locais no local da injeção). Os eventos adversos locais relatados foram hematoma, descoloração, dor, reação e dormência. Os eventos adversos sistêmicos relatados foram: desconforto abdominal, fadiga, sintomas de gripe, dor de cabeça, náuseas, dor, prurido, cólicas e dores musculares e nas articulações. Além disso, também foram relatados outros sintomas como depressão, dormência do membro, erupção cutânea, manchas e corrimento vaginal. Nenhuma paciente descontinuou o estudo por causa dos eventos adversos	A vacina Pngvl4A foi bem tolerada demonstrando segurança quanto ao seu uso
Coleman et al., 2016	Não foram observadas toxicidades limitantes da dose. O evento adverso mais comum (EA) foram reações de leve a moderada no local da injeção. Os EAs relatadas foram principalmente vermelhidão, prurido, mialgia, náusea, dor de cabeça e fadiga	A vacina Pepcan se mostrou segura.

5.3.2. Eficácia: regressão histológica e depuração da carga viral

O **Quadro 9** apresenta os dados relacionados a eficácia das vacinas terapêuticas utilizadas nos ensaios clínicos selecionados para análise qualitativa. A maioria dos estudos incluíram pacientes com NIC 2/3 para avaliar a eficácia das vacinas terapêuticas, com exceção

de dois estudos (KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014) que incluíram somente pacientes com NIC 3.

De modo geral, os autores utilizaram padrões como regressão histológica da lesão, redução do tamanho da lesão e depuração ou diminuição da carga viral para avaliar a eficácia das vacinas terapêuticas. Todos os estudos incluídos avaliaram a regressão histológica das pacientes que receberam a vacina em diferentes momentos de cada um dos protocolos. Entretanto, a regressão do tamanho da lesão não foi avaliada em sete estudos (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; TRIMBLE et al., 2009; VAN STEENWIJK et al., 2012). A depuração viral foi avaliada pela maioria dos estudos com exceção de dois ensaios (TRIMBLE et al., 2009; KAWANA et al., 2014).

Outros fatores relevantes que podem interferir nos desfechos relacionados à eficácia dizem respeito ao hábito de fumar, uso de contraceptivos orais, número de partos e idade. Dos 15 estudos selecionados, três fizeram correlação com a idade das pacientes (COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; TRIMBLE et al., 2015) e apenas os ensaios de Garcia et al. (2004) e de Sheets et al. (2003) correlacionaram os resultados com o hábito de fumar e uso de contraceptivos orais. Além dessas características, Garcia et al. (2004) ainda fizeram a correlação com o número de partos. Brun et al. (2011) apenas quantificaram as características de linha de base das pacientes que eram fumantes e que faziam uso de contraceptivos orais, entretanto, não correlacionaram esses dados com os resultados de segurança, eficácia ou de imunogenicidade. A análise de recidiva das neoplasias assim como da carga viral de pelo menos um ano foi realizada por cinco estudos (BRUN et al., 2011; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAWANA et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SOLARES et al., 2011). Ressalta-se que, a maioria dos estudos que não foram randomizados, tanto os ensaios clínicos de fase 1 quanto os de fase 2, associaram as suas pesquisas a resultados preliminares favoráveis, sugerindo que sejam utilizados como base para a elaboração de ensaios maiores, randomizados e controlados.

QUADRO 9. (continua) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Parâmetros para avaliar eficácia	Conclusão
Sheets et al., 2003	NIC 2/3	Amostras de excisão das pacientes respondedoras foram testadas para HPV por análise por reação em cadeia da polimerase (PCR). Todas foram negativas para HPV após a análise de PCR.	Todos as 15 pacientes avaliadas foram positivas para o antígeno HLA-A2 com NIC 2/3 induzido por HPV 16 documentado por PCR. Uma paciente teve uma infecção mista do HPV 16/31. Cinco mulheres tiveram respostas histológicas completas na excisão final por conização por cirurgia de alta frequência (CAF). Três dessas cinco usavam contraceptivos orais e eram fumantes e uma delas havia sido submetida a tratamento prévio para NIC. Não houve diferenças nas características dos respondedores e não respondedores. Salienta-se a preponderância da resposta dentro do intervalo de dose de 100 µg. Outros desfechos clínicos secundários que foram avaliados foram o diâmetro da lesão, que foram observados na colposcopia e exames citológicos obtidos durante o tratamento e no momento da excisão definitiva da CAF. A colposcopia não revelou mudanças significativas no tamanho aparente da lesão para as não respondedoras. Entre as respondedoras completas, nenhuma lesão foi identificada no momento da excisão por LEEP. No geral, houve uma resposta completa de 33% à ZYC101. Essa resposta correu dentro de 10 semanas de exposição da droga. A maioria das respostas foi observada na dose de 100µg. Nenhuma regressão completa da lesão foi observada na dose de 200 µg e uma paciente apresentou regressão completa na dose de 50 µg.	Foi realizada uma colposcopia em cada visita para garantir que as pacientes não apresentassem uma progressão significativa de sua lesão. Os achados citológicos na visita 3 foram utilizados para avaliar a progressão da doença em potencial. Todos os espécimes de biópsia e os achados finais da LEEP foram revisados por um dos autores sem conhecimento do diagnóstico inicial. Uma resposta completa foi definida como ausência de evidência citológica ou histológica de doença pré-invasiva residual e ausência de DNA do HPV presente pela análise da reação em cadeia da polimerase (PCR). Para respostas parciais, uma revisão dos achados histológicos e citológicos finais da LEEP revelou pelo menos uma NIC menos grave.	A ZYC101 justifica uma investigação adicional pela identificação de resposta histológica completa observada em 33% das pacientes. Versões futuras desta abordagem terapêutica incluirão múltiplos antígenos de HPV de vários tipos de HPV, e os peptídeos se ligarão a muitos tipos de antígenos HLA, aumentando assim a potencial estimulação e a resposta terapêutica. Os dados atuais da fase I, juntamente com a reformulação aprimorada dessa abordagem imunoterapêutica, nos permitem apoiar o movimento para um estudo de fase II.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Garcia et al., 2004	NIC 2/3	Dada a intenção e o <i>design</i> da formulação ZYC101a, atividade antiviral foi antecipada e os resultados deste estudo confirmam que a depuração induzida por ZYC101a não se limita a tipos específicos de HPV. Sujeitos mais jovens que 25 anos com HPV-16 ou HPV-18 no início do estudo, bem como sujeitos com outros subtipos de HPV, apresentaram maiores taxas de depuração do que as pacientes correspondentes que receberam placebo (64% <i>versus</i> 22% e 73% <i>versus</i> 25%, respectivamente).	A proporção de indivíduos do grupo de intenção de tratar que apresentaram resolução para NIC 2/3 foi maior nos grupos ZYC101a em comparação com placebo (43% <i>versus</i> 27%), mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Quando esses dados foram correlacionados com a idade das pacientes, as mulheres com menos de 25 anos, apresentaram uma resolução mais significativa nos grupos ZYC101a em comparação ao placebo (70% <i>versus</i> 23%). A proporção de indivíduos dentro de cada grupo de tratamento sem lesões colposcopicamente visíveis aumentou lenta mas consistentemente, de 0% no início do estudo para entre 35-40% no momento da CAF. Embora os pacientes com menos de 25 anos tendessem a ter lesões menores, o tamanho da lesão na entrada não foi um preditor de desfecho clínico quando toda a população do estudo foi considerada. O número de partos e o uso de contraceptivo oral não influenciou significativamente nos resultados do estudo.	Os dados do estudo apoiam o desenvolvimento clínico continuado de ZYC101a para o tratamento da NIC 2/3 em mulheres com menos de 25 anos. Em estudos futuros, a resolução da lesão pode ser medida por uma combinação de colposcopia e biópsia, permitindo a durabilidade da resposta a ser estudada.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Garcia-Hernández et al., 2006	NIC 2/3	A carga viral de DNA foi significativamente reduzida nos pacientes tratados com MVA E2. A conização eliminou as lesões em 80% dos pacientes, mas as pacientes não desenvolveram atividade citotóxica específica contra células cancerosas e não eliminaram o papilomavírus. Utilizando o método <i>Hybrid Capture</i>, foi avaliada a presença de HPV em pacientes com lesões NIC 3, tanto antes quanto após o tratamento com a vacina terapêutica MVA E2. Doze dos 34 pacientes eliminaram eficientemente todo o DNA do papilomavírus. Em cinco pacientes, a carga viral diminuiu em 95%. Nos demais pacientes, a carga viral foi reduzida entre 15 e 50%. Estes resultados evidenciaram que a vacina terapêutica MVA E2 reduziu significativamente a presença de papilomavírus no colo do útero. Em contraste, nenhum dos 20 pacientes de controle tratados por conização eliminou o HPV.	Na visita 9 (primeira avaliação), três semanas após o término do tratamento, 56,25% das pacientes com NIC 3 e duas com NIC 2 estavam livres de lesões, diagnosticados por análise histológica e colposcópica. Essas pacientes apresentavam lesões que cobriam de 20 a 40% da zona de transformação. Em 11 pacientes, a lesão foi reduzida para 50% do tamanho original. Nesses pacientes, a lesão cobria toda a zona de transformação. Em outras duas pacientes, a lesão NIC 3 foi reduzida para NIC 2 e em outra a lesão NIC 3 foi reduzida para NIC 1. Estes resultados mostram que o tratamento com MVA E2 estimula eficientemente a regressão de lesões de alto grau no útero. Além disso, por meio da colposcopia, 55,8% dos pacientes não mostraram a presença de infecção por papilomavírus e a lesão foi diagnosticada como tendo sido reduzida em 100%. Em 32,44% dos pacientes, a lesão foi reduzida em até 60%. Em mais quatro pacientes (11,76%), a lesão foi reduzida apenas 25% em relação ao tamanho original. No grupo controle, 16 (80%) das 20 pacientes tratadas com conização estavam livres de lesões diagnosticadas por colposcopia e análise citológica. Quatro outros pacientes permaneceram com a lesão NIC 3, diagnosticada por meio de colposcopia e análise histológica. Estes resultados mostram que a conização pode eliminar as lesões de alto grau induzidas pelo HPV. No entanto, a análise histológica demonstrou que nenhuma paciente que recebeu a vacina apresentou recidiva após 1 ano de tratamento. Já no grupo controle (conização) três pacientes tiveram recidiva das lesões após 1 ano.	O estudo mostra que a vacina MVA E2 é um candidato muito promissor para o tratamento de lesões cervicais induzidas por NIC 3 HPV de alto grau. O tratamento leva à eliminação da lesão e também à eliminação do DNA viral, deixando os pacientes com melhor proteção contra recorrências futuras devido à reinfeção do HPV. Desse modo pode-se inferir que as principais conclusões do estudo são: (1) a vacina MVA E2 induziu a regressão das lesões em todos os pacientes tratados, (2) DNA de papilomavírus foi quase completamente eliminado em 50% dos pacientes tratados com MVA E2.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Kaufmann et al. 2007	NIC 2/3	Por definição dos critérios de inclusão, todas as pacientes eram positivas para o HPV 16 DNA no momento da inclusão. Após 24 semanas, três pacientes do grupo da vacina (3/24 = 12%), mas, 0/12 dos pacientes do grupo placebo foram negativos para o DNA do HPV16. Após 48 semanas, seis pacientes do grupo de vacina HPV 16 L1E7 CVLP foram HPV16 DNA negativo (37%), enquanto que, apenas um dos pacientes placebo (14%) tornou-se DNA negativo para HPV 16 (diferença entre grupos de vacina agrupados e placebo não foi estatisticamente significante); Seis dos sete pacientes (85%) que eram negativos ao DNA do HPV 16 no final do estudo também foram respondedores histológicos, mas apenas cinco dos nove pacientes vacinados com CVLP (56%) que foram histológicos responderam negativos para o DNA do HPV 16 DNA na semana 48.	Uma tendência para regressão histológica para NIC 1 ou normal foi observada em 39% (9/23) das pacientes que receberam a vacina e em apenas 25% (3/12) das pacientes do grupo placebo. Os grupos que receberam a vacina apresentaram uma redução de tamanho de lesão maior que 50% na semana 24 de 43%, e na semana 48 de 59%. As pacientes do grupo controle apresentaram uma redução de tamanho de lesão maior que 50% na semana 24 de 33% e na semana 48 de 60%. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de tratamento e controle com redução do tamanho da lesão maior ou igual a 50%	Embora as diferenças entre o grupo experimental e o grupo controle não foram estatisticamente significativas, os dados clínicos sugerem uma tendência para melhora clínica após a vacina contra HPV 16 L1E7 CVLP.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Roman et al., 2007	NIC 2/3	Apenas cinco das 21 mulheres tinham HPV-16 ou HPV-18. A depuração do HPV não foi associada à regressão da lesão. A depuração viral ocorreu em apenas uma mulher. Enquanto as outras tiveram testes de PCR negativos para o HPV antes do LLETZ. Não houve mulheres que tiveram testes negativos do HPV baseados na tecnologia de genotipagem.	Sete das 20 mulheres (35%) avaliadas para resposta apresentaram regressão completa de sua neoplasia intraepitelial no momento do LLETZ, uma (5%) apresentou regressão para NIC I, 11 (55%) apresentaram doença estável e uma (5%) apresentou progressão devido ao aumento de sua lesão. Esta paciente foi retirada do estudo e passou por LLETZ imediato e permaneceu livre de doenças desde um período de três anos. Das sete mulheres que tiveram uma resposta completa (amostra LLETZ negativa), cinco permaneceram livres de neoplasia intraepitelial em um ano, uma se perdeu durante o acompanhamento e uma desenvolveu NIC I quatro meses após a LLETZ. Das 17 mulheres que completaram um ano de acompanhamento após o LLETZ, 13 (77%) permaneceram sem evidência de NIC recorrente, em seu último seguimento e quatro dessas 13 mulheres (31%) tiveram PCR negativo HPV durante todo o período de acompanhamento. Das quatro mulheres que desenvolveram NIC recorrente, todas tiveram PCR positivo para HPV durante o período de acompanhamento. A taxa de regressão clínica observada neste estudo (35%) foi significativa, embora na ausência de dados randomizados, é possível que a regressão de NIC de alto grau possa ser devida a regressão espontânea	Hsp-7 (SGN-00101), nesta dose e cronograma induziu regressão da lesão em mulheres com NIC de alto grau. Em conclusão, o estudo demonstrou que a depuração do HPV pareceu ser limitada. O pequeno número de pacientes incluídas no estudo e a conhecida taxa de regressão espontânea de NIC impede qualquer conclusão definitiva quanto à utilidade da vacina que testamos. Apenas um estudo randomizado multicêntrico maior com um braço controle com placebo permitirá conclusões definitivas a serem tiradas sobre a eficácia de uma proteína de fusão Hsp E7 no tratamento de NIC de alto grau.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Trimble et al., 2009	NIC 2/3	Não se aplica	Regressão histológica completa ocorreu em 3/9 (33%) pacientes na coorte de dose mais alta (3 mg), na semana 15. Embora a diferença não seja significativa, é ligeiramente maior do que seria esperado em uma coorte controle (25%). A regressão colposcópica correlacionou-se com a histologia na semana 15.	Embora pareça possível provocar respostas de células T específicas para o HPV em pacientes com lesões displásicas estabelecidas, outros fatores provavelmente desempenharão um papel na regressão da lesão.
Brun et al., 2011	NIC 2/3	Nove das 21 pacientes apresentaram melhora na sua infecção associada ao HPV 16; - Depuração do mRNA do HPV 16 foi associada com regressão citológica e colposcópica em sete das 10 respondedoras clínicas; Das 10 respondedoras oito não apresentaram DNA do HPV 16. Uma paciente com resposta clínica e virológica completa (sem detecção de HPV-HR no sexto mês) foi perdido no seguimento após seis meses.	48% (10 dos 21) das pacientes responderam ao tratamento clínico no sexto mês. Elas demonstraram nenhuma ou pequenas alterações na colposcopia e no diagnóstico citológico apresentaram lesão de baixo grau ou menos, sendo que oito delas não realizaram cirurgia; - 11 pacientes foram submetidas a conização pela presença de lesões remanescentes e/ou suspeita de HPV de alto risco. Duas pacientes apresentavam NIC 2, oito NIC 3 e uma apresentava carcinoma microinvasivo sem invasão vascular linfática. No mês 12, sete de oito pacientes sem conização não relataram suspeita de recidiva de NIC 2/3 nem infecção por HPV 16. No sexto mês, cinco pacientes atingiram os dois critérios relacionados a respostas clínicas (erradicação do HPV de alto risco e da lesão escamosa cervical de alto grau). A taxa de eficácia (conforme o protocolo) foi de 24%. - Os tempos médios para o desaparecimento das da lesão de alto grau, para a depuração de E6 e E7 do HPV 16 e para a depuração do DNA do HR-HPV foram de 13,5 semanas, 13,3 semanas e 26 semanas, respectivamente. -Lesões associadas ao HPV de alto grau que acometeram quatro quadrantes não apresentaram diferenças significativas nas respostas quando comparadas as pacientes com dois quadrantes ou menos.	Os dados promissores da pesquisa garantem um maior desenvolvimento da vacina TG4001 no tratamento NIC 2/3. Um estudo de fase II randomizado com placebo está em andamento e inclui pacientes acima de 18 anos, o que difere do presente estudo onde nos critérios de inclusão as pacientes deveriam ter mais de 25 anos, além da inclusão de infecções associadas a múltiplos HPVs de alto risco nos critérios de inclusão, não só do HPV16.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Solares et al., 2011	NIC 2/3	O HPV foi eliminado em três das cinco pacientes com resposta completa. Nenhuma das pacientes apresentou recidiva confirmada da lesão durante os 12 meses de seguimento.	A área total da lesão (TLA) diminuiu em todas as pacientes na colposcopia aos três meses de seguimento após a vacinação CIGB-228. A resposta colposcópica foi evidenciada em seis das sete pacientes (85,7%), quatro delas (57,1%) completas e duas (28,6%) parciais. Análises histológicas indicaram que 57,1% das pacientes (4/7) apresentaram regressão completa, enquanto 14,3% (1/7) apresentaram diminuição do grau histológico. A estabilidade da neoplasia foi observada em duas pacientes (28,6%). A taxa de resposta colposcópica clínica observada (85,7%) e a taxa de resposta histológica (71,4%) em três meses foi superior à taxa de regressão espontânea estimada de NIC de alto grau isolada. Estima-se que seja no máximo 10% em seis meses.	Esta vacina gerou resultados promissores baseados na resposta clínica. A vacinação com CIGB-228 resultou em atividade clínica, evidenciada regressão da lesão e depuração do HPV. O pequeno número de pacientes estudados e a conhecida taxa de regressão espontânea da NIC impede qualquer conclusão definitiva quanto à utilidade da vacina testada. Somente em futuros, estudos randomizados controlados e multicêntricos maiores permitirão conclusões definitivas sobre a eficácia da vacina CIGB-228 no tratamento de NIC de alto grau.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Van Steenwijk et al., 2012	NIC 2/3	Na maioria das pacientes não houve uma mudança no estado viral encontrado no momento da CAF.	Na maioria das pacientes não houve uma mudança no estado histopatológico no momento da CAF.	Não houve depuração do HPV no momento da excisão. Ademais, o estudo foi interrompido prematuramente interferindo na validade dos dados finais.
Kawana t al., 2014	NIC 3	Não se aplica	No Passo 1, as quatro pacientes que tomaram 1-2 cápsulas/dia não tiveram resposta histopatológica. Duas das três pacientes que utilizaram quatro cápsulas/dia regrediram para o grau NIC 2. Uma de três pacientes que receberam seis cápsulas/dia apresentou regressão para NIC 2, enquanto duas não tiveram alterações histopatológicas observadas. Combinando as pacientes do Passo 1 e 2- que receberam quatro cápsulas/dia, sete de 10 pacientes (70%) tiveram uma regressão histopatológica à NIC 2 na nona semana e outra paciente apresentou um grau de patologia negativo para NIC 2 na semana 12. Das 13 pacientes que receberam quatro-seis cápsulas/dia, nove pacientes (69%) com grau patológico inferior ao NIC 2 não necessitaram de tratamento cirúrgico adicional e foram acompanhados citologicamente. Entre as pacientes sem tratamento adicional, cinco pacientes (56%) mostraram regressão citológica adicional à lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou citologia normal até 12 meses após a administração. Todos as nove pacientes continuaram sem evidência de NIC 3 quando acompanhados sem intervenção entre 14 e 33 meses. Neste ensaio, a regressão histopatológica para NIC 2 em resposta a um regime GLBL101c de quatro cápsulas / dia foi de 80%. Embora a melhor resposta clínica durante as nove semanas deste estudo tenha sido um declínio para NIC 2, a taxa de resposta clínica observada foi significativamente maior do que a taxa estimada ou descrita de regressão espontânea para NIC 2. Notavelmente, nove de 13 (69%) pacientes com respostas patológicas a quatro-seis cápsula/dia permaneceram livres de NIC 3 por 14 a 33 meses após a administração. Neste estudo, uma das três pacientes em uso de seis cápsulas/dia apresentou resposta clínica, enquanto todas as pacientes	Neste estudo, nove pacientes que apresentaram um declínio no nível de NIC 2 foram acompanhados sem cirurgia e permaneceram livres de NIC 3. Esses pacientes podem se beneficiar da administração oral de GLBL101c. Futuro ensaio clínico randomizado controlado por placebo para avaliar a eficácia clínica da vacinação oral com o GLBL101c deve, portanto, incluir pontos de tempo de seguimento de pelo menos quatro a seis meses após a conclusão do regime.

			que utilizaram quatro cápsulas/dia tiveram um declínio para a NIC 2 na semana 12.	

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Kim et al., 2014	NIC 3	O HPV 16 foi identificado nas lesões de todas as nove pacientes no início do estudo, e uma delas também estava co-infectada com o HPV 18. Na semana 12 (VT4), quatro pacientes apresentaram depuração do HPV 16 e a paciente co-infectada apresentou depuração do HPV 16 e do HPV 18. Na semana 20 (VF1), os DNAs de HPV nas lesões cervicais foram eliminados em seis das nove pacientes. E na semana 36 (VF2) mais uma paciente eliminou o vírus. As 7 pacientes que apresentaram regressão da lesão também demonstraram depuração do HPV, resultando em perfeita correlação entre as respostas clínicas e virológicas. Além de HPV 16 e HPV 18, duas outras pacientes foram co-infectadas com outros tipos comuns de HPV de alto risco no início do estudo (VS) e outra foi infectada no meio do estudo (VT4). Elas apresentaram depuração desses vírus presumivelmente pela eliminação de células neoplásicas	No início do estudo, todas as nove pacientes tinham NIC 3. Oito semanas após a última vacinação (VF1), seis das nove pacientes estavam livres de lesões, independente da dose recebida. Três dessas pacientes respondedoras foram negativas para a lesão intraepitelial com base na análise citológica após a segunda imunização na semana 12 (VT4), enquanto outras três pacientes apresentaram tais respostas após a terceira vacinação na semana 20 (VF1) e a última responsiva eliminou a lesão no final do ensaio de 36 semanas (VF2). Nos casos de duas não respondedoras, a paciente A04 foi tratada por conização cervical na semana 24, enquanto a outra foi monitorada sem cirurgia até o final do estudo por solicitação própria e permaneceu estável na NIC 3 sem progredir para carcinoma invasivo. No geral, a vacinação GX-188E levou à taxa de resposta completa clinicamente e virologicamente significativa de 78% (sete de nove pacientes). Neste estudo, a depuração viral (quatro de nove pacientes) e a regressão citológica (três de nove pacientes) já eram aparentes na semana 12 e a maioria das respondedoras completas (seis de sete pacientes) eliminaram as lesões cervicais na semana 20 após vacinação, isto é, sem qualquer recorrência de displasia cervical ou reinfecção por HPV durante o período restante de 16 semanas do ensaio clínico. Tem sido relatado que a regressão da NIC 2/3 pode ocorrer espontaneamente em algumas pacientes com uma taxa que varia de 11 a 30% no período de um ano a 38% entre nove e 20 semanas após a colposcopia. Os achados do presente estudo, de regressão completa em seis de nove pacientes (67%) em 20 semanas e em sete de nove pacientes (78%) em 36 semanas após a vacinação com GX-188E	A vacina do estudo apresenta resultados promissores para a síntese de vacinas terapêuticas para o tratamento eficaz de infecções persistentes e cânceres em humanos. Embora o número de pacientes (n=9) seja pequeno demais para chegar a uma conclusão definitiva, os achados podem fornecer uma visão importante sobre os principais requisitos para que uma vacina terapêutica seja eficaz contra várias infecções persistentes e doenças crônicas. A vacina apresenta excelente eficácia clínica dentro de 12 a 36 semanas e pode ser considerada um importante marco para o tratamento de pacientes com NIC 3 com displasia grave ou carcinoma <i>in situ</i> .

		intraepiteliais infectadas pelo HPV 16.	indica que a imunidade induzida é consideravelmente mais eficaz que a imunidade natural.	

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Greenfield et al., 2015	NIC 2/3	Pelo menos um tipo de HPV presente na entrada tornou-se indetectável em 13 das 23 (57%) pacientes. Por dose, as taxas foram de 83%, 50%, 50% e 40%, com a maior indetectabilidade na dose mais baixa.	A melhor resposta histológica foi observada na dose de 50 µg com uma taxa de regressão de 83% (n = 6), e a taxa global foi de 52% (n = 23). NIC 2/3 não estava mais presente na saída em nove de 23 (39%) pacientes que completaram o estudo (respondedoras completas), e as lesões NIC 2/3 mediram $\leq 0,2$ mm² em três (13%) pacientes (respondedoras parciais). As taxas de resposta histológica por dose foram de 83%, 50%, 33% e 40% (67%, 50%, 17% e 20% de resposta completa). Nenhuma progrediu para carcinoma de células escamosas do colo do útero. As taxas de regressão foram semelhantes para NIC 2 (50%) e NIC 3 (54%) e em NIC 2/3 associadas e não associadas ao HPV 16 (44% <i>versus</i> 57%). O número médio de quadrantes cervicais com lesões visíveis diminuiu significativamente de quadrantes de 2.1 ± 1.1 (intervalo de 0 a 4) antes da vacinação para quadrantes de $0,8 \pm 1,0$ (0 a 3) após a vacinação. No entanto, cinco das 12 pacientes sem lesões visíveis após a vacinação foram não respondedores histológicos com NIC persistente 2/3. A melhor taxa de regressão histológica foi registrada com o grupo de 50 mg (83%, 67% de resposta completa) enquanto a taxa de regressão global foi de 52% (39% de resposta completa).	As respostas clínicas foram superiores na dose mais baixa. O foco desse grupo de pesquisa será em para estudos com a mesma vacina de fase II, com um maior número de pacientes e tempo mais prolongado para demonstrar resultados mais significativos.

QUADRO 9. (continuação) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Trimble et al., 2015	NIC 2/3	<i>Análise concomitante de regressão histopatológica com depuração viral</i> <i>Conforme o protocolo:</i> 40.2% (grupo VGX-3100) e 14.3% (placebo) <i>Intenção de tratar modificada:</i> 39.5% (grupo VGX-3100) e 15.4% (placebo) Depuração viral foi mais associada as pacientes que receberam VGX-3100 (80%) do que no grupo placebo (50%) <i>Análise de pós-hoc – depuração viral</i> <i>Conforme o protocolo:</i> 52.3% (VGX-3100) e 25.7% (placebo) - Regressão histopatológica associada a depuração viral em pacientes monoinfectadas pelo HPV 16 ocorreu em 39.0% das pacientes vacinadas e em 7.1% do grupo placebo. - Pacientes com infecções mistas, a regressão histológica associada a depuração viral ocorreu em 40.3% das pacientes vacinadas comparada com 12.5% do grupo placebo.	Regressão histopatológica <i>Conforme o protocolo:</i> 49.5% (grupo VGX-3100) e 30.6% (placebo); <i>Intenção de tratar modificada:</i> 48.2% (grupo VGX-3100) e 30.0% (placebo) <i>Análise de pós-hoc – regressão para histologia normal:</i> <i>Conforme o protocolo:</i> 40.2% (VGX-3100) e 16.7% (placebo) Pacientes vacinadas com VGX-3100 com regressão histopatológica foram mais susceptíveis a regredir para normal (81.1%) do que no grupo placebo (54.5%) - Regressão foi mais evidente em paciente NIC 3 - Regressão histopatológica nas pacientes que receberam a vacina foi similar em lesões causadas somente pelo HPV 16 do que aquelas causadas por infecções variadas	Primeira vacina terapêutica a mostrar eficácia contra NIC 2/3 associada com HPV 16 e HPV 18, podendo representar uma opção terapêutica não cirúrgica para NIC 2/3

QUADRO 9. (conclusão) - Eficácia das vacinas incluídas na análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	NIC incluídos no estudo	Resposta virológica	Regressão histopatológica/Tamanho da lesão	Conclusão
Alvarez et al., 2016	NIC 2/3	As cargas virais do HPV do colo do útero foram medidas antes e após a vacinação em todos as pacientes vacinadas. Não foram encontradas diferenças entre as cargas virais pré e pós-vacinação, em nenhuma das coortes de tratamento.	A regressão histológica para NIC 1 ou menos ocorreu em oito de 27 (30%) pacientes que receberam todas as vacinações e foram submetidas à CAF. NIC persistente 2/3 foi observada em 19 (70%) pacientes. Das oito pacientes com resposta histológica, uma apresentava NIC 1 e sete não apresentavam NIC residual. Neste estudo piloto, não houve diferença clara na taxa de regressão histológica entre as três diferentes vias de vacinação. Nenhuma paciente teve câncer invasivo na semana 15 na amostra da LEEP. Uma paciente recebeu as três vacinas, mas engravidou antes da CAF planejada e perdeu o acompanhamento. Quatro outras pacientes receberam 1-2 vacinas; uma foi perdida para acompanhamento após a vacinação e três tiveram a LEEP realizada fora do estudo. Essas pacientes não foram incluídas na análise de eficácia clínica.	A vacina demonstrou evidências preliminares de potencial eficácia clínica. Estudos adicionais de fase II avaliando a vacinação pNGVL4a-CRT/E7 (detox) no nível mais alto de dose serão necessários para avaliar melhor o benefício clínico dessa vacina.
Coleman et al., 2016	NIC 2/3	Três das 13 mulheres nas quais o HPV 16 foi detectado no início, tornaram-se indetectáveis após a vacinação e foi persistente em nove pacientes. Uma paciente positiva para HPV 16 não completou o estudo. E nas pacientes que apresentaram persistência, as cargas virais diminuíram significativamente (média de 840 cópias por células para 76.6 cópias por célula). A taxa de pelo menos um tipo de HPV se tornando indetectável na saída foi a mais alta 85% na dose de 50µg, 50% das doses de 100 e 250 µg e 40% na dose de 500 µg. Resposta virológica mais alta na dose de 50 µg. Embora nove indivíduos tivessem uma infecção persistente por HPV 16, as cargas virais foram significativamente reduzidas, sugerindo que uma observação mais longa pode levar a uma carga viral de HPV 16 ainda menor ou até mesmo atingir níveis abaixo do limiar de detecção.	As taxas de regressão histológica foram de 50% nas doses de 50 µg (sete de 14) e 100 µg (três de seis), 33% na dose de 250 µg e 40% na dose de 500 µg, 45% no total (14 de 31). Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas quando comparadas as taxas de resposta histológica entre mulheres com diagnóstico de NIC 2 versus NIC 3, entre sujeitos ≤ 25 anos <i>versus</i> > 25 anos e nem entre indivíduos que eram positivos para HPV 16 <i>versus</i> aqueles que não eram. A detectabilidade do HPV 16 após a vacinação em pacientes com HPV 16 na entrada pode correlacionar-se bem com a regressão histológica, pois as três mulheres cuja infecção por HPV 16 se tornou indetectável não apresentaram evidências de displasia em amostras de procedimentos de excisão elétrica em alça.	O ensaio de fase I demonstrou uma diminuição da carga viral do HPV 16 assim como regressão histológica. Esses dados foram relevantes para o desenvolvimento do estudo de fase II com a mesma vacina.

5.3.3. Imunogenicidade: respostas imunológicas detectadas no soro e no tecido

O **Quadro 10** apresenta os resultados qualitativos relacionado à imunogenicidade dos estudos incluídos. De modo geral, os ensaios avaliaram a resposta das células T, geração de anticorpos, síntese de citocinas e/ou quimiocinas e testes de hipersensibilidade tardia. Verificou-se que a maioria das respostas dos linfócitos T contra o HPV (13 estudos) foi obtida a partir de células mononucleares do sangue periférico e/ou no plasma (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014, KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012) sendo que destes, cinco estudos associaram a análise a amostras obtidas no tecido ou em secreção cervical (ALVAREZ et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; KAWANA et al., 2014; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012), e um dos ensaios foi exclusivamente nas células infectadas pelo HPV (GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006). A análise da geração de anticorpos contra o HPV foi realizada por sete dos 15 estudos (BRUN et al., 2011; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAUFMANN et al. 2007; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015). Vale ressaltar que, de todos os ensaios clínicos, apenas o de Brun et al. (2011) não realizou a análise de células T após a administração da vacina por problemas técnicos relacionados ao protocolo de congelamento das células, apresentando apenas os dados relacionados a esses parâmetros antes da vacinação, incluindo análise de subgrupos de células T. Para a análise de subgrupos de células T, os autores utilizaram com maior frequência as células CD4, CD8 e também Th1, Th2, Treg (ALVAREZ et al., 2016; COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015, KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; TRIMBLE et al., 2015). Apenas dois estudos realizam os testes de hipersensibilidade tardia (KAUFMANN et al. 2007; VAN STEENWIJK et al., 2012). A síntese de citocinas e/ou quimiocinas foi avaliada por quatro dos 15 ensaios selecionados (COLEMAN et al., 2016; KIM et al., 2014; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012).

A maioria dos ensaios de imunogenicidade (n = 14 estudos; 93,3%) foi direcionada para o HPV 16 (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012) e associados ao HPV 18 (GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; TRIMBLE et al., 2015), mais especificamente à oncoproteína E6 (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN

et al., 2016; KAUFMANN et al. 2007; KIM et al., 2014; TRIMBLE et al., 2009, TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012) e/ou E7 (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; GARCIA et al., 2004; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012). Apenas três estudos (20%) avaliaram a oncoproteína E2 (GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAUFMANN et al., 2007; SHEETS et al., 2003), e um ensaio avaliou a L1 e E1 (KAUFMANN et al., 2007).

A maioria dos ensaios clínicos (n = 11; 73,3%) incluídos na análise qualitativa apontou resultados favoráveis e significativos para as respostas de células T específicas para o HPV após a vacinação (COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012). Dentre os sete estudos que avaliaram a produção de anticorpos contra o HPV, três apresentaram resultados positivos quanto à geração de resposta humoral (GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAUFMANN et al., 2007; TRIMBLE et al., 2015) e outros quatro estudos demonstraram resultados não significativos (BRUN et al., 2011; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2009). Esses resultados foram correlacionados com a resposta clínica proporcionada pela vacina, mediada pela regressão do tamanho da lesão, depuração viral e/ou redução histopatológica da lesão. Essa correlação positiva entre imunogenicidade e resposta clínica foi significativa em seis dos 11 estudos que demonstraram relevância na análise imunológica (COLEMAN et al., 2016; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2015).

De modo geral, os autores concluíram que o desenvolvimento de uma resposta celular mediada pelos linfócitos T foi favorável. Entretanto, os estudos de fase I e II não randomizados associaram esses resultados como não conclusivos, e sim promissores para a continuidade de estudos com essas vacinas, de modo que sejam mais abrangentes, randomizados e controlados (COLEMAN et al., 2016; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011), assim como estudos randomizados que sugeriram ensaios de fase III a partir dos resultados benéficos da vacina terapêutica de escolha (GARCIA et al., 2004; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012). Esses dados foram relevantes para demonstrar a viabilidade das vacinas para estudos maiores nos quais será possível aprimorar os protocolos com outras

variáveis clínicas, bem como com maior período de seguimento, inclusão de outras análises associadas e síntese de vacinas associadas com outros tipos de HPV de alto risco ou oncoproteínas.

QUADRO 10. (continua) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Sheets et al., 2003	Resposta de células T obtidas de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) contra a oncoproteína E7 do HPV 16 através de ensaio ELISpot de IFN- γ . Avaliação da concentração de imunoglobulina A anti HPV 16 E2 nas secreções cervicais por ELISA.	O teste <i>post-hoc</i> demonstrou que a atividade dos linfócitos T foi significativamente maior nas semanas 3 e 6 em comparação com a semana 0. Onze das 15 pacientes apresentaram resposta significativa de células T específicas para o HPV após a vacinação. Quatro pacientes apresentaram resposta de células T contra o HPV na primeira visita, outras quatro desenvolveram a resposta na segunda visita e outras três desenvolveram na terceira visita. Apenas quatro pacientes tiveram atividade de células T específicas para o HPV na visita de seguimento de 4 meses. O aumento da atividade das células T específicas para o HPV no sangue periférico foi detectado em 73% das pacientes tratadas, o que demonstra a eficácia da droga em induzir uma resposta imune e em 87%, quando considerado o período de acompanhamento. Coletivamente, esses dados sugerem que a dose e a via de administração são eficazes na indução de uma resposta imune. Quatro dos cinco pacientes com uma resposta completa exibiram uma proporção aumentada de anticorpo IgA específico para o peptídeo E2 do HPV 16 nas secreções cervicais após a administração de ZYC101 durante pelo menos uma visita de pós-dosagem. Embora os níveis cervicais tenham sido maiores após a administração da vacina, na maioria das pacientes que responderam clinicamente, a relação peptídeo E2 do HPV 16/IgA total não atingiu um nível significativo acima da proporção pré-imune. No entanto, nenhum aumento no anticorpo específico foi demonstrado no grupo não respondente. A proporção de anticorpos específicos nas secreções cervicais demonstrou uma tendência crescente com as visitas subsequentes após a primeira dose, no entanto, não foram observadas alterações nos soros das pacientes que responderam.	Quatro de cinco respostas histológicas completas desenvolveram anticorpos específicos para anti-E2. Entretanto, houve uma fraca correlação entre a atividade das células T e a resposta da lesão.	A vacina ZYC101 justifica uma investigação adicional por estar associada a resposta histológica completa de 33% das pacientes, resposta imunológica de 73% e nenhum evento adverso grave.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Garcia et al., 2004	Resposta de células T (PBMCs) contra a oncoproteína E7 do HPV16 através de ensaio ELISpot de IFN- γ .	A prevalência de mais de um tipo de HPV ou nova exposição durante o estudo detectadas no início da pesquisa, foi maior em pacientes com menos de 25 anos do que em pacientes com 25 ou mais. Esses dados podem explicar por quê 30% a mais de pacientes com menos de 25 anos apresentaram respostas imunes elevadas ao HPV no início do estudo. Esses grupos etários foram comparáveis no estado imunológico geral no início do estudo (conforme determinado por estímulos mitogênicos). No grupo com menos de 25 anos foram encontradas 272 respostas mitogênicas e no grupo com 25 anos ou mais essa resposta correspondeu a 554. No início do estudo, 76% das pacientes com menos de 25 anos apresentaram respostas elevadas de células T específicas para o HPV. Para o grupo de 25 anos ou mais, as respostas elevadas foram encontradas em 50% das pacientes antes da administração da vacina. Durante o estudo, o aumento da resposta de células T específicas para o HPV em pacientes com menos de 25 anos foi encontrado em 12 pacientes (37%) e nas pacientes com idade igual ou superior a 25 anos essa porcentagem foi de 45%. Mulheres mais velhas que apresentam NIC 2/3 podem ter apresentado a doença por mais tempo, e uma resposta imune mais robusta pode ser necessária para sua eliminação. Mulheres com menos de 25 anos têm maior probabilidade de terem sido expostas ao vírus por um período mais curto. Assim, é provável que as suas células transformadas tenham sofrido menos alterações induzidas por vírus. Além disso, a doença em mulheres mais velhas representa provavelmente uma infecção por HPV que persistiu por mais tempo e perturbou o ambiente local de citocinas do colo do útero. A persistência está associada a um perfil de citocinas imunossupressoras que pode controlar a atividade das células imunes efectoras.	Embora as respostas imunológicas ao HPV tenham aumentado em muitos indivíduos, não houve correlação entre essas respostas e a resposta clínica.	Os dados encontrados no estudo apoiam o desenvolvimento clínico continuado de ZYC101a para o tratamento da NIC 2/3 em mulheres com menos de 25 anos.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Garcia-Hernández et al., 2006	Respostas de anticorpos contra proteína E2 e contra o vírus MVA E2 através de ELISA e análise quantitativa da atividade citotóxica dos linfócitos T (CTL) contra células infectadas pelo HPV.	Todas as pacientes desenvolveram anticorpos contra a vacina MVA E2 e desenvolveram uma resposta citotóxica específica contra células transformadas por papiloma. A conização eliminou as lesões em 80% dos pacientes, mas, as pacientes não desenvolveram atividade citotóxica específica contra células cancerosas e não eliminaram o papilomavírus. Além disso, três pacientes tratados com conização tiveram recidiva das lesões um ano depois. Os títulos de anticorpos contra o vírus MVA E2 variaram de 1:300 a 1:1600. O alto título de anticorpo permaneceu inalterado na nona semana. Em contraste, nenhum anticorpo específico foi detectado em pacientes não tratados ou no grupo controle tratado por conização. Os títulos de anticorpos contra a proteína E2 foram de 1:128 a 1:500. Todas as pacientes tratadas com MVA E2 desenvolveram linfócitos T citotóxicos (CTL) dirigido contra células tumorais e a presença de CLT foi correlacionada com a eliminação da lesão.	Uma correlação positiva foi observada entre os anticorpos anti-MVA E2 e a regressão das lesões. Todas as pacientes com anticorpos contra a vacina MVA E2 mostraram redução das lesões. Em pacientes com lesões de alto grau que cobrem 25% ou menos de sua zona de transformação, o tratamento MVA E2 eliminou completamente as lesões. Outras pacientes com lesões que cobrem 35% a 40% da zona de transformação eliminaram 90% da lesão. Em contraste, em pacientes com lesões cobrindo 100% da zona de transformação, o tratamento MVA E2 mostrou apenas uma redução parcial das lesões, aproximadamente 25% de toda a lesão. Em outras pacientes com lesões que cobrem 50% da zona de transformação, a redução foi de até 60-70%. Esses resultados indicam que a geração de anticorpos contra o MVA E2 se correlaciona com a redução das lesões. A resposta imunitária celular (linfócitos citotóxicos) gerada contra a vacina MVA E2 é provavelmente responsável pela eliminação e redução de células	Os resultados mostram que a vacinação terapêutica com MVA E2 provou ser eficaz na estimulação do sistema imunológico contra o papilomavírus e na geração de regressão de lesão de alto grau, sendo uma boa opção para terapêutica de NIC de alto grau. A conização, embora seja um bom procedimento para eliminar lesões, não é o melhor procedimento para erradicar o HPV. Sendo assim, o tratamento com a vacina terapêutica utilizada no estudo leva à eliminação da lesão e também à eliminação do DNA viral, deixando os pacientes com melhor proteção contra recorrências futuras devido à reinfecção do HPV.

transformadas por HPV em pacientes.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Kaufmann et al. 2007	Geração de anticorpos (IgG, IgM, IgA e IgE) específicos para HPV 16 (E1, E2, E6 e E7) por ELISA, resposta de células T e testes de hipersensibilidade tardia (DTH) avaliados no plasma e em linfócitos do sangue periférico.	Anticorpos com altos títulos contra HPV 16 L1 e baixos títulos contra HPV 16 E7, bem como respostas imunes celulares contra ambas as proteínas, foram induzidos. As respostas foram equivalentes para ambas as concentrações de vacina (75 e 250 µg). Todas as pacientes eram positivas para HPV 16 no início do estudo e, portanto, a maioria desenvolveu anticorpos contra HPV 16 L1 (36/36 tinham IgM, 27/36 IgG e 11/36 tinham anticorpos IgA anti-HPV 16L1). Para avaliar a indução de anticorpos pela vacina, os títulos de anticorpos encontrados na pré-vacinação foram estabelecidos como padrão para cada paciente. Apenas quando o título de anticorpo aumentou após a vacinação, a resposta foi classificada como positiva. Enquanto nenhuma das pacientes do grupo placebo apresentaram títulos de anticorpos aumentados, no grupo de vacina foi observado um aumento significativo de anticorpos específicos para L1 com um aumento de até 100 vezes de Média Geométrica dos Títulos de anticorpos (GMTs). A vacina induziu anticorpos específicos de HPV 16 L1 de título elevado entre 2,7 a 485 vezes mais títulos do que em soros de pacientes pré-vacinadas naturalmente infectados e pacientes que receberam placebo. A medição dos isótipos mostrou indução de IgG (todas as pacientes), IgM (dose baixa 7/12, dose alta 12/12) e IgA (dose baixa 11/12, dose alta 10/12). Todas as respostas de anticorpos foram estatisticamente significativas quando comparadas com o grupo placebo. As diferenças entre o grupo que recebeu a vacina na dose alta e na dose baixa foram significativas para IgM, mas não para IgG e IgA. Não foram encontradas respostas de IgE nas pacientes em nenhum momento. Os anticorpos IgG específicos para HPV 16 E7 foram encontrados em uma paciente no início do estudo. As soroconversões foram observadas em quatro pacientes de baixa dose, em seis pacientes do grupo de alta dose de vacina e em nenhum dos receptores de placebo. Os títulos atingidos eram muito baixos e de curta duração. Não foram observadas reações contra as proteínas E1, E2 ou E6 de HPV 16. A mensuração da resposta de células T depois da vacinação demonstraram que as respostas de células T helper e linfócitos T	As respostas imunológicas não se correlacionaram com a resposta clínica.	A vacinação com HPV16 L1E7 CVLP resultou em um aumento nas concentrações de anticorpos que são até 100 vezes maiores do que os títulos naturais na coorte placebo correspondente. Foram observadas respostas imunes celulares, e uma tendência de eficácia clínica destacando a característica potencialmente terapêutica dessa estratégia testada.

citotóxicos (CTL) contra o antígeno E7 (cinco de 23 pacientes) apenas nas mulheres que receberam a vacina HPV 16 L1E7 CVLP.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Roman et al., 2007	Resposta imune de células CD8 e CD4 obtidas de PBMCs ao E7 do HPV16 através de ensaio ELISpot de IFN- γ . Uma resposta imune a qualquer peptídeo por ELISpot foi definida como um aumento no espécime pós-vacina pelo menos duas vezes acima do valor pré-vacina, de uma magnitude de pelo menos 10 pontos e pelo menos três vezes o desvio padrão da pré-vacina. Se o valor da amostra pré-vacina era indetectável ou zero, então a amostra pós-vacina tinha que ter pelo menos 10 pontos por cem mil células de entrada.	Dezesseis pacientes tinham amostras de PBMC pré e pós vacina disponíveis para análise da resposta imune. Não foi detectada nenhuma reatividade específica de CD8 classe I significativa em relação ao <i>background</i> em ensaios repetidos. Os dados indicam que 9/17 ou 52% das pacientes tinham evidência de uma resposta imune a pelo menos um peptídeo, sugerindo que a vacina Hsp E7 era imunogênica em mulheres com NIC de alto grau e infecção por HPV. Três pacientes responderam a apenas um peptídeo, três pacientes responderam a dois, duas a três e uma a todos os quatro peptídeos. O peptídeo que teve mais respostas foi E7 72-97 (7/17), e a menor proporção de respostas foi observada com o peptídeo E7 62-80 (3/17).	Cinco das 7 respondedoras completas apresentaram resposta imunológica. Em contraste, a resolução da infecção pelo HPV não foi associada à resposta clínica ou imunológica. O fato de a regressão estar correlacionada com a resposta imune sugere que o aumento da imunogenicidade dessa vacina pode levar a uma melhora na taxa de erradicação da lesão.	A vacina gerou níveis modestos de imunidade e resposta clínica em pacientes com NIC de alto grau. A depuração do vírus pareceu ser limitado e não estava claramente associado a respostas imunes. Embora possa ter havido uma associação encorajadora entre a resposta imune à vacina por ELISpot e regressão completa de NIC de alto grau neste estudo, o pequeno número de pacientes avaliadas e a conhecida taxa de regressão espontânea de NIC impediu qualquer conclusão definitiva quanto à utilidade da vacina que foi testada. Apenas um estudo randomizado multicêntrico maior com um braço controle com placebo permitirá conclusões definitivas sobre a eficácia de uma proteína de fusão Hsp E7 no tratamento de NIC de alto grau.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Trimble et al., 2009	Resposta de anticorpos para HPV 16 E6 e E7 através de ELISA e resposta das células T em células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC) ao antígeno vacinal E7 através de ensaio ELISpot de IFN- γ .	Embora as respostas de células T específicas para o HPV E7 ao E7 fossem de baixa frequência e magnitude, aumentos detectáveis nas respostas subsequentes à vacinação foram identificados em indivíduos na segunda e terceira doses. A vacinação não provocou respostas de anticorpos. Foram identificados títulos mensuráveis na entrada do estudo do anticorpo IgG anti-E6 em 3/15 (20%) e anticorpo anti-E7 IgG em 2/15 (13,3%). Os títulos de anticorpos para E7 não foram aumentados após a vacinação com a síntese de DNA de E7 em qualquer coorte de dose. Os títulos de anticorpos mensuráveis para E7 no início do estudo não se correlacionaram com a resposta imunológica de IFN-γ medida em PBMC. Através do ensaio ELISpot de IFN-γ <i>ex vivo</i>, as respostas de células T específicas para HPV16 E7 foram identificadas no início do estudo em 3/15 indivíduos. Essa resposta aumentou em uma dessas três pacientes após a vacinação na semana 15, e permaneceu estável em outra paciente. Na terceira paciente, a resposta ao E7 diminuiu. Quatro pacientes nas quais não foi detectada resposta E7 pré-vacinação tiveram respostas mensuráveis após a vacinação. Cinco pacientes tiveram respostas mensuráveis ao E6 no início do estudo. Nenhuma delas demonstrou um aumento nas respostas E6 ou E7 após a vacinação. Duas pacientes da coorte de dose mais alta, ambas com regressão da lesão, tiveram respostas mensuráveis ao E6. No geral, as respostas ao E6 não foram de maior magnitude absoluta nas que apresentaram regressão em comparação com as que não apresentaram em qualquer um dos dois momentos. No entanto, deve-se notar que uma das pacientes que apresentaram regressão, foi a única a manter uma alta resposta E6 antes e depois da vacina. Foi mensurada as respostas a E7 aos seis meses e, inesperadamente, detectu-se respostas a E7 em 5/9 (55,6%) pacientes na coorte mais alta. Nenhuma nova resposta ao E7 foi detectada em indivíduos nas coortes de menor dose. Como as respostas imunes detectáveis a E7 eram baixas em frequência, foi realizado um único ciclo de estimulação <i>in vitro</i> e seguido de ensaios ELISpot, através desse método foi possível observar que, globalmente, 5/15 pacientes tiveram respostas detectáveis pré-vacinação, e 8/12 (53%) pacientes demonstraram um aumento na frequência de respostas pós-vacinação na segunda e terceira coortes de dose. As respostas imunitárias, apesar de detectáveis e sugestivas de uma resposta à dose, não foram sustentadas. Nesta coorte, foram identificadas respostas endógenas a E6 com mais frequência do que respostas a E7, e foram, em geral, de maior magnitude. Várias linhas de evidência sugerem que a oncoproteína E6 pode ser mais imunogênica que a E7.	A vacinação não foi associada a alterações nos títulos de anticorpos IgG no soro do antígeno vacinal, dentro da janela do estudo. As respostas imunes específicas de HPV medidos no sangue periférico não se correlacionam completamente com a regressão de NIC 2/3.	Embora pareça possível provocar respostas de células T específicas para o HPV em pacientes com lesões displásicas estabelecidas relacionadas a dose, outros fatores parecem estar associados a regressão da lesão.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Brun et al., 2011	Contagem de células TCD4+ e TCD8+, análise qualitativa de anticorpos contra oncoproteínas E6 e E7 do HPV 16 por ELISA e <i>Western Blotting</i> e titulação de anticorpos neutralizantes (NAT ₅₀) através do cálculo da inibição de 50% da atividade viral. Análise da resposta de células T não pôde ser avaliada por problemas técnicos relacionados ao protocolo de congelamento das células	As características da linha de base relacionadas com a imunogenicidade das pacientes incluídas no estudo foram os seguintes: contagem mediana de CD4 de 995/mm ³ (variação de 590 a 1736), contagem mediana de CD8 de 509/mm ³ (variação de 299 a 753) e razão mediana de CD4/CD8 de 2,2 (1,2-4,0). As faixas normais de CD4 e CD8 foram 400-1700 e 200-1000/mm ³ , respectivamente. Amostras do soro de 17 pacientes estavam disponíveis para análise da resposta de anticorpos neutralizantes ao MVA no sexto mês. Nenhuma paciente apresentou nível significativo de anticorpos neutralizantes de MVA no início do estudo: mediana 47 (variação, 35-78). A mediana de NAT ₅₀ do soro das pacientes avaliadas dois meses após a primeira injeção foi de 204 (variação, 70-411). Este aumento permanece por pelo menos seis meses após a primeira injeção: mediana de 146 (variação, 76 - 275). O MVA NAT ₅₀ aumentou significativamente após as injeções de TG4001 em 10 das 17 pacientes. Amostras de soro de 16 pacientes estavam disponíveis para análise da resposta total de anticorpos IgG a E6 e E7 do HPV 16 com teste de ELISA. No início do estudo, todas as pacientes apresentaram respostas de anticorpos para E7 e 3 (19%) tinham respostas de anticorpos para E6. Após o tratamento com TG4001, nenhuma paciente desenvolveu ou melhorou uma resposta de anticorpos para E6 ou E7 conforme avaliado por este método.	Nenhuma diferença significativa foi observada com relação a NAT ₅₀ entre pacientes respondedoras e não respondedoras.	Os resultados obtidos nos ensaios desse estudo forneceram resultados promissores para o desenvolvimento da vacina TG4001 para o tratamento de neoplasia intraepitelial cervical (NIC 2/3)

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Solares et al., 2011	Resposta específica células T para oncoproteína E7 (peptídeos 86-93, 82-90 e 11-20) do HPV 16 através de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) por ensaio ELISpot de IFN- γ . Também foi calculado a intensidade da resposta imunológica. Uma resposta positiva após a vacinação foi registrada se a frequência de células produtoras de IFN- γ pós-vacinação fosse maior que o dobro da resposta pré-vacinal a um antígeno.	A resposta imune celular foi observada em todas as pacientes. Imunidade celular preexistente de células T específicas para HPV 16 foi detectada em todas as pacientes. Essa imunidade foi aumentada pela vacinação e coincidiu com o aumento na produção de IFN- γ para todas as pacientes. Após a vacinação, todas as sete pacientes responderam aos peptídeos 86-93 e 82-90. Seis das sete pacientes foram positivas para o peptídeo 11-20. As frequências variaram entre uma célula T específica para HPV entre 100.000 PBMCs até 7 de 10.000. O pico de resposta para cada paciente alcançou após duas ou três vacinações, e a resposta máxima ao HPV 16 E7 86-93 foi mais vigorosa do que contra o HPV16 E7 82-90 e HPV16 E7 11-20 na intensidade da resposta e, em geral, foram correlacionadas com o desfecho clínico.	A resposta máxima ao HPV 16 E7 86-93 foi mais vigorosa do que contra o HPV 16 E7 82-90 e HPV 16 E7 11-20 na intensidade da resposta e, em geral, estão foram correlacionadas positivamente com o desfecho clínico. Estes resultados sugerem que a eficácia clínica de uma vacina terapêutica com HPV 16 pode ser determinada pela sua capacidade de induzir respostas imunitárias fortes e amplas à oncoproteína E7 do HPV 16. No presente estudo, as respostas imunes foram observadas em epítomos restritos a classe I da proteína HPV 16 E7 e a regressão da NIC, bem como a diminuição do grau de NIC, foram associadas à detecção da reatividade das células T CD8 à proteína E7 do HPV16. Não houve correlação clara entre a depuração do HPV16 e a resposta clínica.	A vacinação com CIGB-228 é capaz de induzir resposta de células T associada a IFN- γ em mulheres com NIC de alto grau. Esta vacina gera resultados promissores baseados nos níveis de imunidade e resposta clínica.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Van Steenwijk et al., 2012	Avaliou-se a resposta das células T específicas para HPV 16, visando favorecer o aumento da infiltração de células T específicas para HPV 16 nas lesões de pacientes com HPV 16+ associada a NIC de alto grau (HSIL) por ensaio ELISpot de IFN- γ , ensaio de proliferação dos linfócitos e resposta de citocinas em linfócitos infiltrantes de PBMC e HSIL e testes cutâneos de hipersensibilidade de tipo tardia. Teste realizado em células mononucleares periféricas	Uma forte resposta específica de células T associada a IFN para HPV foi detectada em todas as pacientes vacinadas. O perfil de citocinas associado à proliferação específica de HPV 16 variou de respostas robustas tipo 1 a domínio de resposta do tipo 2. A vacinação de pacientes com HSIL resultou em aumento da imunidade para células T específicas para HPV 16. Apenas duas das nove pacientes apresentaram fraca imunidade preexistente específica para HPV 16, uma contra E6 e outra contra E7. Todas as pacientes vacinadas apresentaram respostas fortes aos peptídeos (5/5 pacientes contra peptídeos E6 e 4/5 contra E7) sete semanas após a primeira vacinação. Das pacientes que receberam placebo, duas apresentaram uma fraca resposta específica ao HPV associada a IFN- γ . Nenhuma das pacientes testadas apresentou uma resposta proliferativa específica para HPV 16 no início do estudo. Três das quatro que receberam placebo permaneceram sem resposta ao HPV 16 E6 e E7 durante todo o estudo. Uma paciente recebeu placebo, mas desenvolveu uma ampla resposta proliferativa após a colposcopia com biópsia (semana 7), que diminuiu após a excisão da LEEP (semana 9–11). Todas as cinco pacientes vacinadas desenvolveram resposta proliferativa específica para HPV 16 após a vacinação. Antes da vacinação, nenhuma produção de citocinas específicas para HPV 16 foi encontrada. No momento do tratamento com CAF, a produção de IFN- γ específica para HPV 16 foi encontrada em 3/5 pacientes vacinados. Somente em uma paciente verificou-se uma resposta robusta de células Th1. Duas pacientes apresentaram uma resposta Th2 com produção de IL-5 e IL-10. Uma paciente teve uma polarização fraca (Th-0) com quantidades muito baixas de produção de IL-5, e outra paciente teve uma resposta mista fraca de Th1 e Th2 produzindo pequenas quantidades de IFN- γ , TNF- α , IL-5 e IL-10. Uma paciente que não foi vacinada apresentou uma resposta Th0 com quantidades muito baixas de IFN- γ e de IL-5, apesar de uma ampla resposta proliferativa. Após a vacinação, foram analisadas as biópsias de três pacientes tratados com placebo e três pacientes vacinados. Apenas na cultura de uma paciente que recebeu a vacina houve uma resposta proliferativa detectada contra monócitos pulsados com peptídeos de E6, bem como contra monócitos pulsados com proteína. Após a vacinação, foram analisadas seis biópsias para cultura (3 pacientes vacinadas e 3 pacientes do placebo). Nenhuma apresentou evidências de especificidade para o HPV 16. As pacientes que receberam placebo não apresentaram reações na pele. Três pacientes pararam após uma vacinação e não receberam o teste cutâneo. Duas Pacientes mostraram forte reatividade ao teste após duas vacinações.	Estudo terminou prematuramente, não correlacionou resposta imunológica com eficácia clínica.	Nenhuma conclusão pode ser tirada sobre a infiltração de células T aumentada pela vacina na lesão. No geral, o estudo mostra que a vacina HPV 16-SLP é capaz de aumentar o número de células T específicas para o HPV 16 produtoras de IFN- γ circulantes em pacientes com lesões de alto grau. Essas respostas podem ser detectadas de forma confiável usando um teste cutâneo DTH. Esforços futuros devem focar no desenvolvimento de uma formulação capaz de induzir fortes respostas imunológicas em pacientes com doença pré-maligna induzida por HPV.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Kawana et al., 2014	Avaliação da resposta imune de células produtoras de IFN- γ para a oncoproteína E7 (E7-CMI) em células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) e de linfócitos cervical (CxIs) através do ensaio ELISpot de IFN- γ .	E7-CMI em CxIs e PBMCs não foi significativo na linha de base. Todas as pacientes que utilizaram 4-6 cápsulas/dia apresentaram aumento de E7-CMI nos CxIs, enquanto que as pacientes que usaram 1-2 cápsulas/dia não o fizeram. Nenhuma paciente demonstrou aumento no E7-CMI em seus PBMCs. A comparação baseada na coorte de cada paciente demonstrou que E7-CMI na semana 9 em pacientes em 4 cápsulas/dia foi significativamente maior do que aqueles em pacientes em 1, 2 ou 6 cápsulas/dia. Apenas duas das 13 pacientes que receberam doses de 4 ou 6 cápsulas tiveram aumentos significativos no E7 CMI em PBMCs. Estes dados indicam que a administração oral de GLBL101c induz predominantemente o E7-CMI da mucosa em direção ao epitélio cervical.	A E7-CMI em CxIs correlacionou-se diretamente com a regressão patológica. A E7-CMI nos CxIs de pacientes com um grau patológico foi claramente maior do que aquela entre pacientes sem alteração patológica (teste U de Mann-Whitney: $p=0.000004$).	A administração oral da vacina baseada em <i>Lactobacillus</i> que expressa E7 pode induzir imunidade mucosa específica para E7 nas lesões cervicais uterinas. A vacina conseguiu induzir a E7-CMI da mucosa, mas não obteve resposta sistêmico. O estudo foi o primeiro a relatar uma correlação entre E7-IMC na mucosa no colo do útero e resposta clínica após imunoterapia em neoplasia da mucosa humana.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Kim et al., 2014	Resposta imune celular induzida por GX-188E através do ensaio ELISpot de IFN- γ utilizando PBMCs. Análise do subconjunto de células T pelo ensaio de coloração de citocinas intracelulares (ICS) utilizando PBMCs. Análise da expressão de citocinas IFN- γ , IL-2 e TNF- α , da quimiocina MIP-1b e a atividade citotóxica determinada pela expressão de CD107a/b através de citometria de fluxo de PBMCs. Também foi avaliado o potencial proliferativo de células T CD8 específicas de HPV através de ensaio <i>in vitro</i> da proliferação de linfócitos em PBMCs, seguido por coloração para a expressão de Ki67 e CD38, que servem como um marcador de proliferação e ativação,	A vacina induziu uma resposta significativa de células T produtoras de IFN- γ específica para E6/E7 em todas as nove pacientes com neoplasia intraepitelial cervical 3 (NIC 3). Duas de nove pacientes desenvolveram uma resposta significativa de IFN- γ logo após uma única imunização (VT2), e cinco pacientes adicionais exibiram essa resposta elevada após duas vacinações (VT4). As duas pacientes restantes no grupo da dose de 1 mg apresentaram uma resposta aumentada de IFN- γ após três doses da vacina GX-188E (VF1). A resposta contra o antígeno E6 foi mais vigorosa do que contra E7, conforme determinado pela magnitude da resposta (69-89% contra E6 <i>versus</i> 11-31% contra E7 em VF1). Um nível relativamente alto de resposta de IFN- γ foi observado em oito dos nove pacientes com 24 semanas (VF2) após a última vacinação. A análise de subconjunto de células T produtoras de IFN- γ contra E6/E6 resultou em um aumento nas respostas de células T CD4 IFN- γ + específicas para HPV 16 em todas as nove pacientes, enquanto a resposta das células T CD8 IFN- γ foi aumentada em oito das nove pacientes. Assim, com exceção de uma paciente, a vacina GX-188E provocou a ativação de ambas as células T (CD4 e CD8) específicas para HPV16. Como esperado, antes da vacinação, a produção de citocinas efetivas Th1, tais como IFN- γ , IL-2 e TNF- α , foi notavelmente baixa para estimulação de peptídeos E6 / E7. No entanto, as quantidades dessas citocinas aumentaram acentuadamente após a vacinação na maioria das pacientes (aumentos médios de 49,9, 13 e 22,9 vezes para IFN- γ , IL-2 e TNF- α , respectivamente). Por outro lado, as citocinas Th2 (IL-4 e IL-10) e Th17 (IL-17A) não foram significativamente aumentadas pela vacinação, embora uma paciente tenha apresentado um nível ligeiramente aumentado na produção da citocina imunossupressora, IL-10. Estes resultados sugerem que a vacinação com GX-188E leva a indução de uma forte resposta imune celular específica para HPV polarizada com Th1. Quando as células T foram examinadas para duas funções efectoras (IFN- γ juntamente com IL-2, TNF- α , MIP-1b ou CD107a/b), observaram-se resultados semelhantes aos obtidos por ICS para apenas IFN- γ . Assim, oito das nove pacientes apresentaram um aumento nas proporções de células T CD8 específicas para o HPV após a vacinação (VF1) em comparação com antes da vacinação (VS). O exame de todas as cinco funções efectoras simultaneamente, revelou resultados ainda mais impressionantes. Dados sobre	Três pacientes que removeram suas lesões e infecção por HPV após duas vacinações (VT4) apresentaram uma magnitude relativamente alta de resposta de células T CD8 polifuncional específica para HPV. Além disso, outras quatro pacientes com resposta significativa de células T CD8 polifuncionais exibiram as resoluções completas de suas lesões e infecções por HPV após a terceira vacinação, na semana 20 (VF1) ou no final do ensaio (VF2). Em contraste, duas pacientes não respondedores quase não	Esses achados indicam que a magnitude da resposta das células T CD8 polifuncionais sistêmicas é o principal fator contribuinte para respostas histológicas, citológicas e virológicas, fornecendo informações valiosas sobre o desenho de vacinas terapêuticas para o tratamento efetivo de infecções persistentes e cânceres em humanos. Embora o número de pacientes (n = 9) seja muito pequeno para chegar a uma conclusão definitiva, A descobertas do estudo podem fornecer uma visão importante sobre os

	respectivamente. Resposta de anticorpos para E6 e E7 através de ELISA no plasma das pacientes.	células T pós-vacinação da paciente mais responsiva mostram que 15% delas tinham todas as cinco funções. Análise semelhante nas outras seis pacientes revelou que 7,8-46,3% das células T CD8 específicas para HPV tinham três ou mais funções. No geral, esses resultados indicam que a vacinação GX-188E induziu, de maneira eficiente, a geração de células T CD8 polifuncionais específicas para HPV na maioria das pacientes (sete de nove pacientes). As PBMC estimuladas apenas com meio serviram como controlo negativo para avaliar a especificidade para o antígeno de células T CD38 + Ki67 + CD8 <i>in vitro</i>. Embora uma paciente tenha apresentado um nível de prevalência pré-existente relativamente elevada (VS), o restante das pacientes demonstrou baixos níveis de células T CD8 Ki67+ CD38+. Após a vacinação, todas as pacientes apresentaram melhora significativa na atividade proliferativa de células T CD8 específicas para o HPV. De acordo com o padrão de resposta das células T CD8 funcionais, duas pacientes apresentaram apenas um pequeno aumento na população de células TCD8 proliferativas, enquanto as outras sete apresentaram um aumento muito maior da população de células T CD8 ki67+ CD38+, dentro de um intervalo de aumento de 3,2 a 21,3 vezes. Coletivamente, esses resultados indicam que a vacinação com GX-188E em pacientes com NIC 3 aumentou substancialmente tanto a expansão quanto a polifuncionalidade das células T CD8 específicas para o HPV. A resposta de anticorpos IgG para E6 e E7 demonstraram que todas as pacientes tinham títulos de IgG pouco detectável ou indetectável para as proteínas E6 e E7 no início do estudo. Curiosamente, os títulos de anticorpos para E6 não foram induzidos em nenhum dos grupos, independente da dose, após a vacinação. Três de nove pacientes geraram respostas fracas de anticorpo anti-E7 após a vacinação com títulos de anticorpos variando de 1:8 a 1:256. Vale ressaltar que as respostas das células T aos antígenos E7 foram geralmente inferiores às dos antígenos E6 e que os títulos mensuráveis de anticorpos para as proteínas E7 não estão associados às respostas das células T CD8 aos antígenos E7.	apresentaram resposta de células T CD8 polifuncionais. A correlação entre a indução da resposta polifuncional das células T e o desfecho clínico foi aparente quando os dados individuais dos pacientes foram agrupados em não-respondedores e respondedores para gerar o perfil polifuncional. Portanto, os resultados indicam que a eficácia clínica da vacina GX-188E correlaciona-se fortemente com a extensão da resposta de célula T CD8 polifuncional específica do HPV.	principais requisitos para que uma vacina terapêutica seja eficaz contra várias infecções persistentes e doenças crônicas. Considerando que a atual opção de tratamento primário para NIC 3 é a excisão cirúrgica, que é frequentemente acompanhada por vários efeitos colaterais, a presente abordagem imunológica não invasiva, com boa segurança e com excelente eficácia clínica dentro de 12 a 36 semanas poderia representar um dos marcos importantes para o tratamento de pacientes com NIC 3 com displasia grave ou carcinoma <i>in situ</i>.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Greenfield et al., 2015	Resposta de células T periféricas (PBMCs) específicas para HPV 16 e TCD3 por ensaio ELISpot. Resposta de Th1, Th2 e Treg de PBMCs por citometria de fluxo e resposta de células T estroma, epitélio cervical através de imuno-histoquímica.	Células T auxiliares do tipo 1 (Th1) foram significativamente aumentadas após quatro vacinações. Novas respostas de células TCD3 a pelo menos uma região da proteína E6 foram detectadas em 15 dos 23 pacientes (65%), com o aumento das respostas após a vacinação sendo estatisticamente significativo em 10 pacientes (43%). As taxas de resposta das células T CD3 a E6 por dose foram de 83%, 67%, 83% e 20% 9 (doses de 50, 100, 250 e 500µg, respectivamente), com as melhores respostas nas doses de 50 e 250 µg. As percentagens de aumento estatisticamente significativo nas respostas de E6 foram de 50%, 50%, 50% e 20% por dose. Duas pacientes demonstraram aumentos estatisticamente significativos em uma das regiões de E7 provavelmente representando disseminação de epitopos. As respostas imunes de células T ao HPV que ocorrem naturalmente à E6, antes da vacinação, foram detectadas em 10 pacientes (43%; quatro pacientes tiveram respostas a uma região, uma paciente teve respostas a duas regiões, quatro pacientes responderam a três regiões e uma paciente teve respostas para sete regiões). Três pacientes (13%) também tiveram respostas pré-vacinais ao E7 (duas pacientes tiveram resposta a uma região e a outra paciente respondeu a duas regiões). As percentagens de células T reguladoras (Tregs) não foram alteradas após as vacinações, enquanto as das células Th1 foram significativamente aumentadas. As percentagens de células Th2 aumentaram significativamente após duas vacinações, mas diminuíram abaixo da linha de base após quatro vacinações. As diferenças entre as respondedoras e as que não responderam aproximaram-se da significância para Tregs no início e no pós-vacinação.	O número de Tregs infiltradas no epitélio cervical da lesão e no estroma subjacente foi menor nas respondedoras histológicas em comparação as não respondedoras, e aproximou-se da significância estatística para o epitélio. Não foi encontrada nenhuma associação significativa entre as respostas de células T CD3 e a regressão histológica, pois cinco respondedores não tiveram novas respostas contra E6. A regressão histológica, a indetectabilidade de pelo menos um tipo de HPV presente na entrada e as respostas imunitárias foram todas superiores à dose mais baixa em comparação com a dose mais elevada.	Como o número de indivíduos em cada grupo de dose foi pequeno (n = 6), este estudo não foi delineado para mostrar diferenças significativas. O nível sistêmico de células Th1 aumentou significativamente, sugerindo que Candida, que induz interleucina-12 (IL-12) <i>in vitro</i>, pode ter um efeito na promoção de Th1.

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Trimble et al., 2015	Resposta de anticorpos às oncoproteínas E6 e E7 do HPV 16 e HPV 18 e resposta de células T as oncoproteínas E6 e E7 do HPV 16 e 18 através do ensaio ELISpot de IFN- γ , da coloração intracelular de citocinas e ELISA. Amostras do soro e do tecido (imunohistoquímica da p16 e CD8+)	Em análises imunológicas <i>post-hoc</i> , as respostas das células T as oncoproteínas E6 e E7 do HPV 16 e 18 atingiram o pico na semana 14 para pacientes do grupo VGX-3100, com uma resposta mediana 9,5 vezes maior do que no placebo. O VGX-3100 induziu frequências significativamente aumentadas de células T CD8+ ativadas, específicas para o antígeno, identificadas pela expressão da superfície celular de CD137, que também expressou perforinas em comparação ao placebo. As respostas humorais também foram maiores nas pacientes do grupo VGX-3100 em comparação com as do grupo placebo. As respostas máximas a E7 ocorreram na semana 14 do estudo e persistiram até a semana 36. As concentrações de anticorpos anti-HPV 16 E7 e anti-HPV 18 E7 nos grupos VGX-3100 e placebo foram significativamente diferentes nas semanas de estudo 6, 14, 24 e 36. Embora os títulos médios de anticorpos específicos para E6 do HPV 16 e 18 no grupo VGX-3100 fossem maiores em comparação com os receptores placebo após o dia 0, as diferenças nas distribuições foram apenas significativas para HPV-18 na semana 14. Amostras de tecido das pacientes obtido a partir da biópsia de diagnóstico e de ressecção na semana 36 estavam disponíveis para análise de imagens digitais em 76 pacientes, proporcionando a oportunidade de fazer várias análises <i>post-hoc</i> . Foi realizada imunohistoquímica para p16 e CD8 na amostra de biópsia diagnóstica (NIC 3), comparada com a amostra de ressecção pós-tratamento na semana 36, em paciente sem doença residual. Na amostra de pré-tratamento, o p16 foi superexpresso no epitélio NIC 3 e os infiltrados CD8+ foram escassos. Em contraste, na amostra de ressecção pós-tratamento, o p16 estava ausente, consistente com o epitélio normal, e os infiltrados de CD8 + ainda estavam presentes seis meses após o término do tratamento. Em pacientes tratadas com VGX-3100 com regressão histopatológica, os infiltrados CD8+ na	Em pacientes com regressão histopatológica concomitante a depuração viral, a resposta de células T combinadas para E6 e E7 foi maior do que em pacientes que não obtiveram regressão histopatológica concomitante a depuração viral. A magnitude das respostas das células T ao E6 foi associada ao desfecho clínico; as respostas ao E6 diferiram significativamente entre as pacientes que tiveram regressão histopatológica concomitante com depuração viral e aqueles que não tiveram, enquanto as respostas ao E7 não foram associadas ao desfecho clínico. Pacientes com regressão histopatológica apresentaram maiores frequências de células T CD8+ CD137+ específicas para HPV expressando perforina do que aquelas sem regressão histopatológica. A diferença nas frequências de células T CD8+ CD137+ específicas para HPV que expressaram perforina foi maior em pacientes que	O ensaio mostrou pela primeira vez que a administração da vacina de DNA manipulado com proteínas virais pode desencadear respostas imunes adaptativas que têm efeito terapêutico em lesões cervicais. Esses achados sugerem que o VGX-3100 oferece uma opção não cirúrgica para o tratamento de NIC 2/3 que poderia mudar a abordagem para o tratamento dessa doença tão comum.

		mucosa não lesionada (não NIC 2/3) aumentaram na camada epitelial e estromal entre o início e a semana 36.	tiveram regressão histopatológica concomitante a depuração viral em comparação com pacientes que não tiveram. Pacientes do grupo VGX-3100 com regressão histopatológica e depuração viral desenvolveram respostas de anticorpos para E7 tanto Do HPV 16 quanto para o HPV 18 que foram significativamente maiores do que aqueles que não obtiveram regressão histopatológica e depuração viral no momento do pico de resposta (pós-dose 3), mas também desenvolveram logo no início após a segunda dose e até a 24ª semana. O aumento dos infiltrados CD8+ estromais foi maior nas pacientes com regressão histopatológica em comparação as sem regressão. Este resultado também foi registrado para pacientes com regressão histopatológica e depuração viral concomitante.	

QUADRO 10. (continuação) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Alvarez et al., 2016	Resposta imune de células T obtidas de PBMCs as oncoproteínas E6 e E7 do HPV16 por ELISpot; análise de CD8 por imuno-histoquímica e quantificação de células imunes teciduais (epitélio e estroma) obtidas de secções histológicas.	As respostas das células T do sangue periférico ao antígeno da vacina, HPV 16 E7, foram medidas em todos os pacientes vacinados. As respostas imunes ao E7 foram mínimas, e não foram significativamente diferentes das respostas ao HPV 16 E6, que não foi incluído no pNGVL4a-CRT-E7. Respostas sistêmicas para E6 e E7 aumentaram ligeiramente na semana 19 em todas as três coortes, um aumento que pode estar relacionado a exposição ao antígeno provocada pelo procedimento da LEEP realizado na semana 15. Entretanto, nas comparações por indivíduos, os infiltrados de células T CD8 + intraepitelial aumentaram após a vacinação na coorte de administração intralesional. A intensidade de infiltrados CD8+ no epitélio de NIC em indivíduos que receberam vacinação intradérmica ou intramuscular não se alterou. Os infiltrados de células T CD8+ no estroma subjacente ao epitélio de NIC residual aumentaram com as três vias de vacinação. Em contraste, na mucosa normal adjacente, a intensidade dos infiltrados de células T CD8+ não se alterou nem no epitélio nem no estroma.	A intensidade de infiltrados de células T CD8+ intraepiteliais na mucosa lesional antes da vacinação foi maior tanto no epitélio quanto no estroma subjacente nas pacientes que apresentaram regressão em comparação com as que não apresentaram.	Os resultados demonstraram um aumento na resposta imune específica ao HPV. Embora uma resposta local de células T CD8+ parecesse ser mais robusta com a vacinação intralesional, nenhuma das vias de vacinação foram imunogênicas e o efeito clínico observado foi modesto. Para obter sucesso adicional com vacinas de DNA dessa natureza, os pesquisadores precisarão incorporar inovações adicionais nessas vacinas (provenientes de estudos <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> , bem como em ensaios controlados randomizados bem delineados), identificar ligações mais úteis entre a resposta imune e o efeito clínico desejado.

QUADRO 10. (conclusão) - Imunogenicidade das vacinas terapêuticas utilizadas nos estudos selecionados para análise qualitativa. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Fonte	Padrões imunológicos avaliados	Resposta imunológica	Correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica	Conclusão
Coleman et al., 2016	Análise <i>multiplex</i> quantitativa de citocinas e quimiocinas (IL-1 β , IL-1, receptor antagonista de interleucina 1 (IL-1RA), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, eotaxina, fator de crescimento de fibroblastos básico (FGF), G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , Proteína 10 induzida por IFN- γ (IP-10) (IP-10), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), MIP-1 α , MIP-1 β , fator de crescimento derivado de plaquetas na isoforma BB (PDGF-BB), RANTES (Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais), TNF- α , fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), receptor α da interleucina 2 (IL-2R α), C-X-C motif, CXCL1, fator de crescimento do hepatócito (HGF), IFN- α 2, LIF, quimiocina (C-C motif) ligante 7 (CCL7), fator inibitório de migração dos macrófagos (MIF), quimiocina (C-X-C motif) ligante 9 (CXCL9), fator de crescimento nervoso β (β -NGF), fator de células tronco (SCF), fator de células tronco β (SCGF- β), TRAIL, IL-16, IL-18, TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3 do plasma. Resposta imunológica ao E6 do HPV16 realizada por ensaio ELISpot de IFN- γ , T herper, Th1 Th2.	O perfil imunológico revelou aumento de células T auxiliares tipo 1 após as vacinações. As respostas imunológicas ao HPV 16 E6, foram semelhantes entre as 3 primeiras doses (50, 100, 250 μ g) em termos de detecção de resposta positiva em pelo menos uma nova região E6, sendo estatisticamente significativo. A menor taxa de resposta foi observada para o nível de dose de 500 μ g. Em 3/8 indivíduos que completaram a fase final da dose, o aumento na resposta das células TCD3 em pelo menos uma região E6 do HPV 16 foi estatisticamente significativo. Nenhum aumento significativo nas regiões do HPV 16 E7 foi medido. O perfil imunológico mostrou aumentos estatisticamente significativos nas células Th1 circulantes após 2 e 4 vacinações. As células T auxiliares tipo 2 (Th2) inicialmente apresentaram um aumento significativo, mas diminuíram abaixo do nível basal após 4 vacinações, embora não significativamente. Os níveis regulatórios de células T (Treg) foram minimamente alterados. As diferenças nos níveis de Treg na pré-vacinação e pós foram estatisticamente significativas. As comparações nas concentrações plasmáticas de citocinas/quimiocinas entre o plasma, separados em 1 e 2 horas após as coletas de sangue, revelaram diferenças estatisticamente significativas em 15 dos 44 analitos (IL-13, IL-17A, FGFbasic, GSCF, MIP1a, RANTES, HGF, LIF, MIF, SCGF, TRAIL, IL-16, PDGFBB, TGF- β 1 e TGF- β 2). A maioria diminuiu com o tempo, mas, alguns aumentaram. As comparações dos níveis de citocinas / quimiocinas entre a pré-vacinação e a vacinação pós, revelaram uma diminuição estatisticamente significativa apenas na RANTES.	As células T-helper tipo 2 inicialmente aumentaram após 2 vacinações, mas diminuíram abaixo do nível basal após 4 vacinações, embora não significativamente. Os níveis de células T reguladoras antes da vacina foram significativamente menores nas pacientes que apresentaram regressão histológica do que nas que não apresentaram. A comparação dos níveis de citocina pré-vacinação entre as respondedoras histológicas e as não respondedoras mostrou níveis significativamente mais altos entre os que responderam, em comparação com os que não responderam, em 8 dos 44 analitos examinados.	O ensaio clínico de fase I da PepCan revelou que seria viável realizar análises de citocinas/quimiocinas multiplexadas de amostras de plasma e análise proteômica de amostras de PBMCs.

5.4. Estudos em andamento

Para obter o registro de possíveis estudos em andamento sobre eficácia, segurança e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas em pacientes com NIC 2 e/ou 3, realizou-se uma busca sistematizada no *Clinical trial.gov* (**Quadro 11**). A busca resultou em 15 registros relacionados ao tema que foram analisados quanto às informações presentes no registro clínico, principalmente, quanto ao tipo de vacina investigada, tipo de neoplasia e HPV associados à pesquisa, fase do estudo, randomização, estado atual em que se encontra a pesquisa e parâmetros relacionados à segurança, eficácia e imunogenicidade. Os tipos de vacinas que mais estão sendo investigados são as vacinas de DNA ($n = 6$ estudos; 40%) (NCT02139267, NCT02596243, NCT02529930, NCT03206138, NCT03185013 e NCT00264732), seguidos de pesquisas com vacinas de peptídeos (NCT02481414, NCT00060099 e NCT00054041), de células dendríticas (NCT03870113), vetores atenuados (NCT01116245), vacina profilática para fins terapêuticos (NCT02864147). Outros três ensaios não especificaram o tipo de vacina (NCT02195089, NCT02576561 e NCT01022346). Dez dos 15 estudos incluíram pacientes com NIC 2 e/ou 3 (NCT02596243, NCT02529930, NCT02864147, NCT01116245, NCT02576561, NCT01022346, NCT02481414, NCT03185013, NCT00264732 e NCT00060099) associados unicamente ao HPV 16 (NCT02529930, NCT02864147, NCT02195089, NCT01116245, NCT02481414, NCT00060099 e NCT00054041) ou ao HPV 16 e/ou 18 (NCT02139267, NCT02596243, NCT03870113, NCT03206138, NCT02576561, NCT01022346 e NCT03185013), sendo que um dos estudos não relatou o HPV associado à neoplasia (NCT00264732).

A maioria dos estudos encontram-se na fase II (NCT02139267, NCT02596243, NCT02864147, NCT01116245, NCT02576561, NCT01022346, NCT02481414, NCT00060099 e NCT00054041), contando com apenas dois estudos de fase III (NCT03206138, NCT03185013) e um estudo de fase II/III (NCT00264732). Os outros 3 estudos encontram-se na fase I ou fase I/II (NCT03870113, NCT02529930 e NCT02195089). A maioria dos estudos foi descrito como randomizado (NCT02139267, NCT02596243, NCT02864147, NCT03206138, NCT01116245, NCT02576561, NCT01022346, NCT02481414, NCT03185013, NCT00264732, NCT00060099 e NCT00054041) com apenas três estudos não randomizados (NCT02529930, NCT03870113 e NCT02195089). Contudo, 10 dos 15 ensaios apresentavam uma data estimada para conclusão anterior ao período da busca, sem apresentar seus resultados no *ClinicalTrial.gov* ou em algum periódico e sem justificativa ou atualização do *status* do ensaio (NCT02596243, NCT02139267, NCT02529930,

NCT02195089, NCT03206138, NCT02576561, NCT01022346, NCT00264732, NCT00060099 e NCT00054041). Apenas um ensaio atualizou seu *status* para finalizado, justificando a interrupção do estudo por falta de inscritos (NCT01116245). Desses 10 estudos, seis estavam como concluídos, porém, sem resultados disponíveis (NCT02139267, NCT02529930, NCT02195089, NCT01022346, NCT00264732 e NCT00054041), dois estavam como ativos, não recrutando (NCT02596243 e NCT02576561), um estava como desconhecido (NCT00060099) e um apresentava-se como recrutando (NCT03206138), porém com estimativa de conclusão para outubro de 2018 com última atualização realizada em 2 de julho de 2017. Dos 15 estudos, dois ainda não haviam iniciado o recrutamento (NCT03870113 e NCT02481414) e dois encontravam-se na fase de recrutamento (NCT02864147 e NCT03185013).

A princípio, a maioria dos ensaios (nove de 15) relataram como desfecho apenas segurança e eficácia (NCT02596243, NCT02864147, NCT03206138, NCT01116245, NCT02576561, NCT01022346, NCT02481414, NCT00264732 e NCT00054041). Um ensaio não relatou os desfechos do estudo (NCT00060099) e cinco (NCT02139267, NCT02529930, NCT03870113, NCT02195089 e NCT03185013) relataram segurança, eficácia e imunogenicidade.

Associando-se todas as variáveis relacionadas ao delineamento do estudo, *status*, atualizações, tipo de neoplasia e HPV associados ao estudo, assim como os desfechos, o ensaio mais promissor para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas para pacientes com NIC de alto grau associadas ao HPV em andamento foi o NCT03185013.

QUADRO 11. (continua) - Ensaio clínico em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02139267	Park Jong-Sup; Kim Tae-Jin; Lee Jae-kwan; Cho Chi-heum	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, de fase 2, ensaio aberto (não mascarado) com 72 participantes. <i>A Randomized, Open-label, Multi-center, Phase 2 Clinical Trial to Determine the Optimal Dose and Evaluate the Safety of GX-188E, a DNA-based Therapeutic Vaccine, Administered Intramuscularly by Electroporation (EP) in HPV Type 16 and/or 18 Positive Patients With Cervical Intraepithelial</i>	NIC 3/HPV 16 e/ou 18/ E6 e E7	GX-188E – Vacina de DNA/ As pacientes elegíveis para o estudo foram alocadas em um dos dois grupos de tratamento da GX-188E (1 mg ou 4 mg). Todas receberam a GX-188E via intramuscular seguida de eletroporação em três momentos durante o estudo (Semanas 0, 4 e 12)	Estudo completo com resultados não divulgados. Data estimada para a conclusão do estudo: março de 2016. Última atualização postada em 11 de julho de 2017.	Primário: Regressão histopatológica da Lesões Cervicais à NIC 1 ou menos; Secundários: 1. Depuração do vírus do HPV; 2. A taxa de resposta ELISpot específica para HPV E6, E7 definida no protocolo; 3. Alterações citológicas das Lesões Cervicais; 5. A taxa de Eventos Adversos e as características relacionadas após a administração da vacina; 6. Dados do exame físico, sinais vitais, eletrocardiograma, resultados de testes laboratoriais clínicos relacionados a vacina; 7. Valor médio da Escala Visual Analógica na intensidade da dor; 8. concentração sérica de Flt-3L.

		Neoplasia 3 (CIN 3).				

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02596243	Terje Raud; Kersti Kukk; Aira Peri; Tetiana Tatarchuk; Nataliya Lutsenko; Sergiy Kartashov; Natalia Rozhkovska	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de fase II, com 134 participantes. <i>A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Multi-center, Phase 2 Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and the Safety of GX-188E, a DNA-based Therapeutic Vaccine</i>	NIC 2, 2/3 ou 3/ HPV 16 e/ou 18/ Oncoproteína não relatada.	GX-188E - Vacina de DNA As pacientes elegíveis para o estudo foram alocadas em dois grupos (1 mg de GX-188E ou 0,5 ml de placebo). Todas administradas por via intramuscular seguida de eletroporação em três momentos durante o estudo (Semanas 0, 4 e 12).	Ensaio ativo, não recrutando com resultados não divulgados. Data estimada para a conclusão do estudo: agosto de 2018. Última atualização postada em 12 de julho de 2017.	Primário: regressão histopatológica da lesão cervical para NIC 1 ou menos na visita na 36ª semana; Secundário: depuração do HPV 16 e/ou 18 em combinação com regressão histopatológica da lesão cervical para NIC 1 ou menos na visita na 36ª semana.

QUADRO 11. (continuação) - Ensaio clínico em andamento sobre segurança e eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/br aços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02529930	Irene Skjørestad	Ensaio clínico de fase 1/fase2, não randomizado, aberto (não mascarado) com 34 participantes. <i>An Exploratory Safety and Immunogenicity Study of Human Papillomavirus (HPV16+) Immunotherapy VB10.16 in Women With High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (HSIL; CIN 2/3)</i>	NIC 2/3 HPV 16/E6/E7	VB10.16 – Vacina de DNA. O estudo será dividido em duas fases, uma fase de dosagem e outra de expansão. Durante a fase de dosagem, a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade serão avaliadas por meio de três administrações intramusculares (Semanas 0, 3 e 6) de 3 mg da vacina VB10.16 com um mínimo de 12 pacientes com NIC 2 confirmada histologicamente. Durante a fase de expansão, a segurança, a tolerabilidade e a imunogenicidade serão avaliadas	Recrutamento completo, com resultados não divulgados. Data estimada para a conclusão do estudo: janeiro de 2019. Última atualização postada em 04 de março de 2019.	Primário: Segurança e tolerabilidade Secundário: Eficácia e imunogenicidade

				por meio de três administrações intramusculares (Semanas 0, 4 e 8) de 3 mg da vacina VB10.16 em aproximadamente 15 a 20 pacientes com HPV 16 + NIC 2/3 confirmado histologicamente.		
NCT03870113	Hui Qi	Ensaio clínico de fase 1, não randomizado, aberto (não mascarado) com estimativa de inclusão de 80 pacientes no estudo. <i>Clinical Study on the Regress of Cervical Intraepithelial Neoplastic (CIN) 1/CIN2 by Highly Effective DC Vaccines Targeting HPV E6/ E7 Protein.</i>	NIC 1/2, HPV 16 e 18/E6 e E7	Vacina de células dendríticas. As pacientes serão vacinadas com células dendríticas maduras autólogas carregadas com HPV 16/18 E6/ E7. A vacina DC será injetada no linfonodo adjacente seis vezes, uma vez por semana.	Recrutamento ainda não foi iniciado. Data estimada para a conclusão do estudo: 30 de dezembro de 2022. Última atualização postada em 14 de março de 2019.	Primário: Segurança e imunogenicidade Secundário: Detecção da expressão proteica do HPV E6 / E7 e avaliação da fase NIC.

QUADRO 11. (continuação) - Ensaio clínico em andamento sobre segurança e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02864147	Alessandro D Santin; Sangini S Sheth	Ensaio clínico randomizado, único cego, placebo-controlado de fase II, com estimativa de recrutar 138 participantes. <i>Treatment of High-Grade Pre-Neoplastic Cervical Lesions (CIN 2/3) Using a Novel "Prime and Pull" Strategy</i>	NIC 2/3, HPV 16/E7	Vacina para HPV 9-valente e imiquimode – Vacina profilática associada ou não a creme vaginal. O ensaio será realizado com três braços de estudo composto por imiquimode associado a vacina 9-valente, apenas imiquimode e grupo controle das pacientes sem intervenção. No primeiro grupo, as pacientes receberão uma dose da vacina no início do estudo e as que não foram previamente vacinadas com essa vacina,	Recrutando pacientes. Data estimada para a conclusão do estudo: outubro de 2021. Última atualização postada em 4 de janeiro de 2019.	Primário: Eficácia do tratamento via regressão histológica da displasia cervical para NIC 1 ou menos após o término do tratamento com imiquimode, e tolerância ao tratamento. Secundários: Depuração do HPV e genotipagem de HPV 16/18.

				receberão um reforço adicional na 8ª semana. Associado a esse protocolo, as pacientes desse grupo também receberão instruções para realizar a auto-aplicação de imiquimode 6,25 mg via vaginal por um período de 16 semanas. No segundo grupo, as pacientes receberão apenas o creme imiquimode seguindo o mesmo protocolo do primeiro grupo. E o terceiro grupo serão somente observadas sem receber intervenção.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaio clínico em andamento sobre segurança e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02195089	Jae-Kwan Lee; Tae Jin Kim; Jong Sup Park; Chi-Heum Cho; Jong Hyeok Kim.	Ensaio clínico de fase 1/2, não randomizado, aberto (não mascarado) com 19 participantes. <i>A Phase 1/2a Trial to Evaluate the Efficacy and the Safety of BLS_ILB_E710c for the Fertile Women With Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN3).</i>	NIC 3/ HPV 16/ E7	BLS_ILS_E710c – Tipo de vacina não relatado. O primeiro grupo de tratamento será administrado com 500 mg (2 cápsulas por dia por 20 dias, semanas 1, 2, 4 e 8) de BLS-ILB-E710c por 8 semanas, seguido de observação de 1 semana. O segundo grupo de tratamento será administrado com BLS-ILB-E710c 1000 mg (4 cápsulas por dia por 20 dias, semanas 1, 2, 4 e 8) por 8 semanas seguido de 1 semana de	Completo sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: abril de 2016. Última atualização postada em 19 de abril de 2016.	Primário: Fase 1: Segurança Fase 2a: taxa de regressão A taxa de regressão da lesão. Secundário: Índice colposcópico de Reid [Prazo: Fase 1: até 9 semanas] Índice Colposcópico de Reid [Prazo: Fase 2a: até 16 semanas] Anticorpo anti-E7 sérico [Prazo: 1 semana, 9 semanas, 16 semanas]

				observação. O terceiro grupo de tratamento será administrado com 1500 mg (6 cápsulas por dia por 20 dias, semanas 1, 2, 4 e 8) de BLS-ILB-E710c por 8 semanas, seguido por observação de 1 semana. O quarto grupo de tratamento será administrado com BLS-ILB-E710c. Na dose ótima por 8 semanas seguida de 8 semanas de observação.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT03206138	Jong-Sup Park; Tae-Jin Kim; Jae-Kwan Lee;	Ensaio clínico de fase 3, randomizado,	NIC 3, HPV 16 ou 18/	GX-188E associada a administração	Recrutando, Data estimada para a conclusão do	Primário: Regressão histopatológica de lesões cervicais para NIC 1 ou menos em

	Young Tae Kim; Chi-Heum Cho.	aberto (não mascarado) com 50 participantes. <i>A Randomized, Open-label Study to Evaluate the Safety and Efficacy of GX- 188E, a DNA Therapeutic Vaccine Administered Intramuscularly by Electroporation, With GX-I7 Intravaginal Application or Imiquimod Topical Application in HPV16 and/or 18 Positive Patients With CIN3.</i>	oncoproteínas não relatada	local de GX-I7 ou imiquidone – Vacina de DNA. O ensaio foi composto por dois grupos. O primeiro recebeu a vacina GX-188E (1 mg) intramuscular seguida de eletroporação por três vezes associada com GX-17 (3 mg) administrada na cérvice por quatro vezes. O segundo grupo recebeu a vacina GX-188E (1 mg) intramuscular seguida de eletroporação por três vezes associada com imiquidone (12.5 mg) na cérvice por oito vezes.	estudo: outubro de 2018. Última atualização postada em 2 de julho de 2017.	indivíduos NIC 3 associados a HPV 16 ou 18. Secundário: Depuração do vírus HPV 16 ou 18

QUADRO 11. (continuação) - Ensaio clínico em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT01116245	Advaxis, Inc.	Ensaio clínico randomizado, único cego, placebo-controlado de fase II, com um número estimado de 81 participantes. <i>A Randomized, Single Blind, Placebo Controlled Phase 2 Study to Assess the Safety of ADXS11-001 for the Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2/3</i>	NIC 2/3, HPV 16/ E7	ADXS11-001 (Lm-LLO-E7) – Vacina de vetores atenuados. O estudo foi delineado para contemplar 4 braços, sendo 3 com diferentes doses e um grupo controle (placebo). O primeiro grupo iria receber 5×10^7 cfu x 3 infusões intravenosas em intervalos de 28 dias. Todas as infusões seriam precedidas por AINEs e anti-histamínicos profiláticos seguidas 3 dias mais tarde com antibiótico. O segundo grupo receberia	Finalizado. O estudo foi interrompido por falta de inscritos. Data estimada para a conclusão do estudo: abril de 2016. Última atualização postada em 27 de julho de 2016.	Primário: regressão histológica de NIC 2/3 identificada no início do estudo; Secundário: Redução ou depuração do DNA viral e uma comparação de seus controles de tecido cervical extirpado para avaliar a extensão da doença em pacientes tratados <i>versus</i> não tratados.

				3.3x10 ⁸ cfu e o terceiro 1x10 ⁹ cfu seguindo o mesmo protocolo utilizado para o primeiro grupo. O grupo placebo receberia solução salina e seguiria o mesmo protocolo dos 3 outros grupos.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02576561	Frank L Douglas	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de fase II, com 10 participantes. <i>Phase 2a Double-Blind, Randomized, Parallel Group, Dose-Ranging Study to Assess</i>	NIC 2/3, HPV 16 e/ou 18/ oncoproteínas não relatada.	TVGV-1 – tipo de vacina não relatado. O ensaio foi dividido em 3 coortes. Sendo cada uma delas composta por 3 grupos: grupo experimental TVGV que recebeu os antígenos associado ao	Ativo, não recrutando, sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: setembro de 2018. Última atualização postada em 25 de outubro de 2017.	Primário: Ausência de HSIL histológica (NIC 2/3) e avaliação de toxicidades cutâneas. Secundário: Depuração do vírus HPV 16. Avaliação de achados clínicos ou laboratoriais e outras variáveis de segurança.

		<i>the Safety and Efficacy of Three Doses of TVGV-1 Vaccine Compared to Its Adjuvant, GPI-0100, in Subjects With Histologically Confirmed HPV Induced Cervical HSIL.</i>		adjuvante. O grupo que recebeu apenas o adjuvante (comparador ativo) e o grupo placebo. Na coorte 1 o grupo experimental recebeu 0.6 mg da proteína fusão PEK liofilizada + 0,6 ml do adjuvante GPI-0100. O grupo comparador ativo recebeu 0 mg de proteína de fusão PEK liofilizada. 0,6 mg de placebo liofilizado + 0,6 ml GPI-0100 e o grupo placebo recebeu 0 mg de proteína de fusão PEK liofilizada, 0,6 mg de placebo liofilizado + 0,6 ml de placebo-diluyente. As doses seguiram as mesmas proporções de 1:1 como na coorte 1 porem	

				na cohort 2 foi administrado 0,9 mg da proteína e do placebo liofilizado e 0,9 ml do adjuvante e do placebo-diluyente. A coorte 3 seguiu as mesmas proporções, porém com 1.2 mg de proteína e de placebo liofilizado e 1.2 ml de adjuvante e placebo-diluyente.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT01022346	Hoffmann-La Roche	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de fase II, com estimativa de incluir 206 participantes.	NIC 2/3, HPV de alto risco/ oncoproteínas não relatadas	RO5217790 – tipo de vacina não relatada. O ensaio foi composto por dois grupos: experimental e placebo. No grupo experimental as	Completo sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: setembro de 2013. Última atualização postada em 15 de agosto de 2016.	Primário: Percentagem de participantes com NIC 2/3 associada a infecção única por HPV 16 que atingiram resolução histológica Secundário: Eficácia e imunogenicidade

		<i>A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Parallel Group, Multicenter Study of the Safety and Response Rate of 3 Subcutaneously Administered Doses of 5 X 10⁷ PFU RO5217790 in Patients With High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2 or 3 Associated With High Risk HPV Infection</i>		pacientes receberam a vacina uma dose de 5 * 10 ⁷ unidades formadoras de placas (pfu) por via subcutânea nos Dias 1, 8 e 15. No grupo placebo as pacientes receberam placebo correspondente ao RO5217790 por via subcutânea nos dias 1, 8 e 15.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT02481414	Mayumi Nakagawa N	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-	NIC 2/3, HPV 16/E6	Pepcan+Candin – vacina de peptídeo.	Recrutando. Data estimada para a conclusão do estudo: agosto de	Primário: A eficácia da resposta clínica de PepCan e Candin [intervalo de tempo: 12 meses após a última vacinação] será avaliada através da obtenção de biópsias de

		controlado de fase II, com estimativa de incluir 125 participantes no estudo. <i>A Phase II Clinical Trial of PepCan Randomized and Double-Blinded to Two Therapy Arms for Treating Cervical High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions.</i>		Haverá dois braços de tratamento: (1) PepCan e (2) Candin. Cada participante receberá injeções quatro vezes com três semanas entre as injeções. O grupo experimental PepCan receberá 50 mcg por peptídeo/injeção associada a 0,3 mL de Candin e o grupo Candin receberá 0,3 mL de Candin com solução salina estéril. Respostas clínicas e virológicas serão avaliadas aos 6 e 12 meses. A segurança será avaliada desde o momento da inscrição até 12 meses de visita. Avaliações imunológicas serão feitas em 4 momentos (pré-	2020. Última atualização postada em 13 de março de 2019.	quadrantes guiadas por colposcopia na visita de 12 meses. Secundário: segurança de PepCan e Candin [Prazo: até 12 meses].

				vacinação, após 2 injeções, 6 meses após 4 injeções e 12 meses após 4 vacinações).		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT03185013	Prakash Bhuyan	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de fase III, duplo-cego, com estimativa de recrutar 198 pacientes. <i>A Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Study of VGX-3100 Delivered Intramuscularly Followed by Electroporation With</i>	NIC 2/3, HPV 16 e 18/ oncoproteína não relatada	VGX-3100 – Vacina de DNA. O estudo foi dividido em dois braços, o experimental e o placebo. No grupo experimental as pacientes receberão a vacina VGX-3100 intramuscular seguida de eletroporação, no dia 0 e nas semanas 4 e 12. No grupo placebo as pacientes receberão	Recrutando. Data estimada para a conclusão do estudo: abril de 2021 Última atualização postada em 8 de março de 2019.	Primário: Regressão histológica ou ausência de HSIL cervical na histologia e depuração viral de HPV-16 e/ou HPV-18. Secundário: Segurança e imunogenicidade

		<i>CELLECTRA™ -5PSP for the Treatment of HPV-16 and/or HPV-18 Related High Grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL) of the Cervix.</i>		injeção intramuscular com placebo seguido de eletroporação no dia 0, na semana 4 e 12.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT00264732	Eisai Inc.	Ensaio clínico randomizado, triplo-cego, placebo- controlado de fase II/III, cego, com com estimativa de recrutar 251 pacientes. <i>A Multi-Center, Double-Blind, Randomized, Placebo- Controlled Study of Amolimogene (ZYC101a) in</i>	NIC 2/3/ HPV e oncoproteínas não relatados.	Amolimogene (ZYC101a) – Vacina de DNA. O estudo foi dividido em 2 grupos experimentais e um grupo placebo. O primeiro grupo experimental recebeu uma dose de amolimogene. Duas injeções intramusculares (IM) (100 microgramas	Completo, sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: maio de 2009. Última atualização postada em 29 de maio de 2013.	Primário: Resolução de NIC 2/3 definida pela avaliação histológica do tecido cervical (presença ou ausência de NIC 2/3. Secundário: Depuração viral.

		<i>the Treatment of High-Grade Cervical Intraepithelial Lesions (CIN 2/3) of the Uterine Cervix</i>		ZYC101a por injeção), uma em cada quadríceps, no início do tratamento seguida de injeções de placebo IM únicas (aproximadamente 1 mL de solução salina estéril a 0,9%) nas semanas 3 e 6 em quadríceps alternados. O grupo experimental 2 recebeu 3 doses de amolimogene. Duas injeções IM (100 microgramas ZYC101a por injeção), uma em cada quadríceps, no início do tratamento. Injeções IM únicas de 100 microgramas de ZYC101a nas semanas 3 e 6 em quadríceps alternados e o		

				grupo placebo recebeu Duas injeções de placebo IM no início do tratamento (1 injeção em cada quadríceps). Injeções de placebo único nas semanas 3 e 6 em quadríceps alternados. Cada injeção de placebo consiste em aproximadamente 1 mL de solução salina estéril a 0,9%.		

QUADRO 11. (continuação) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT00060099	Kristin A. Keefe	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de fase II, com estimativa de recrutar até 80	NIC 2/3, HPV 16/ E7	SGN-00101 (HspE7) – vacina de peptídeo. O ensaio foi delineado para possuir 2 braços. No primeiro as	Desconhecido, sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: não fornecido. Última atualização	Não fornecido.

		pacientes (40 em cada braço do estudo). <i>Phase II Randomized, Double-Blinded Trial Of SGN-00101 (HSP-E7) For Treatment Of CIN II/III.</i>		pacientes receberiam a vacina subcutânea uma vez por mês durante 3 meses consecutivos na ausência de progressão da doença ou toxicidade inaceitável. No segundo, as pacientes receberiam placebo pelo mesmo período do primeiro braço.	postada em 6 de novembro de 2013.	

QUADRO 11. (conclusão) - Ensaios clínicos em andamento sobre segurança eficácia e/ou imunogenicidade de vacinas terapêuticas para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e/ou 3) associadas ao HPV. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019

Registro do ensaio no ClinicalTrials.gov	Pesquisador (es) principal (ais)	Delineamento e título original	NIC/ HPV e oncoproteínas alvo	Tipo de vacina/via de administração/ braços do ensaio	Condição atual do recrutamento e data estimada para completar o estudo	Desfechos
NCT00054041	Cornelia Trimble	Ensaio clínico randomizado de faseII, aberto (não mascarado), com estimativa de recrutar 84 pacientes.	NIC 3, HPV 16/ E7	SGN-00101 (HspE7) – vacina de peptídeo Braço I: as pacientes receberão SGN-00101 por via subcutânea uma	Completo, sem resultados disponíveis. Data estimada para a conclusão do estudo: não fornecido. Última atualização	Primários: Segurança e eficácia via regressão histológica completa de todas as lesões de NIC 3.

		<i>Phase II Evaluation Of SGN-00101 (HSP-E7) Fusion Protein In Women With Cervical Intraepithelial Neoplasia 3, CIN 3.</i>		vez nas semanas 1, 4 e 8 na ausência de progressão da doença. Braço II: as pacientes receberão os cuidados padrão.	postada em 24 de janeiro de 2013.	

6. Discussão

Embora a utilização de vacinas profiláticas disponíveis pelo sistema de saúde demonstre eficácia na prevenção das NIC associadas aos HPVs de alto grau mais prevalentes, ainda existe uma baixa adesão a essas vacinas pelo público alvo, resultando em um período aproximado de 20 anos para que a incidência e a prevalência de lesões associadas a esses vírus diminuam significativamente. Quando a infecção já está estabelecida, a paciente não se beneficia mais desse recurso, podendo desenvolver uma lesão pré-cancerígena que necessita de tratamentos convencionais, muitas vezes associados a morbididades reprodutivas e prejuízos psicológicos significativos, podendo evoluir para o câncer cervical (VICI et al., 2014).

Além disso, a alta prevalência e incidência de lesões e cânceres associados ao HPV demonstram a necessidade de vacinas terapêuticas efetivas que podem ser associadas aos tratamentos convencionais ou mesmo como uma monoterapia. Desse modo, a presente revisão sistemática realizou uma síntese e análise qualitativa de evidências oriundas de estudos experimentais que avaliaram a segurança, eficácia e imunogenicidade de vacina terapêuticas para NIC 2/3 associadas ao HPV.

Por meio da análise dos estudos incluídos na presente revisão sistemática, foi possível observar que a maioria dos ensaios apresentaram alto risco de viés, principalmente associados aos viés de seleção, ausência de cálculo amostral, ausência de informações completas sobre o processo de randomização, viés de performance devido a *missing* de dados sobre o cegamento dos participantes e de avaliadores de desfechos, viés de atrito, especialmente, por não reportarem as perdas do estudo, nem seguirem adequadamente o *checklist Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT), além de apresentarem um número baixo de participantes, ausência de grupo controle e não incluírem na análise de dados a intenção-de-tratar. Todos esses domínios, devem ser levados em consideração para o desenvolvimento de futuros ensaios clínicos randomizados bem delineados com baixo risco de viés e de alta qualidade metodológica sobre a temática em pauta. Ademais, a maioria dos ensaios clínicos encontravam-se na fase I e II, demonstrando que essas vacinas ainda necessitarão de estudos com amostras maiores, com maior tempo de *follow-up*, visando avaliações de farmacovigilância mais precisas em termos de eficácia e custos-benefícios a fim de serem comercializadas e disponibilizadas para a população alvo.

A maioria dos quase-experimentos (ensaios não randomizados) reconheceram suas limitações, e embora os resultados obtidos fossem tidos como promissores e relevantes pelos autores, é premente que para pesquisas futuras, inclua-se um número maior de pacientes os

quais devem ser randomizados e que garantam que os desfechos sejam avaliados de forma blindada e com maior tempo de seguimento. Os ensaios clínicos randomizados (ECRs) são considerados relevantes para análise de intervenções terapêuticas por serem menos suscetíveis a vieses, quando bem delineados. Eles conseguem controlar o viés de seleção, são ensaios maiores (principalmente os de fase III), permitem a alocação aleatória dos pacientes e evitam fatores de confusão que possam influenciar nos desfechos dos estudos (GOULART; RAMSEY; PARVATHANENI, 2014). Entretanto, a randomização pode não ser garantia de homogeneidade entre os grupos, o que pode levar a resultados enviesados (OLIVEIRA; PARENTE., 2010). Não obstante, ensaios clínicos randomizados são caros, demorados, alguns resultados se aplicam somente para uma população específica (geralmente limitados quanto à validade externa), podem estar sujeitos a perda de acompanhamento dos pacientes (NEDEL; SILVEIRA, 2016; OLIVEIRA; PARENTE, 2010). Nesse sentido, os estudos não randomizados, são considerados mais práticos e podem fornecer evidências adicionais e complementares aos ensaios randomizados (BLACK, 1996), sendo estes, para muitos tipos de intervenções no âmbito da saúde pública, a principal fonte de evidências sobre o provável impacto de uma intervenção. Assim como os ensaios randomizados, os quase-experimentos também apresentam algumas desvantagens como o fato de que o grupo amostral na maioria das vezes ser do tipo não-probabilístico, determinado por conveniência, consequentemente dificultando afirmações conclusivas sobre efetividade de uma intervenção. Assim, é relevante que as revisões sistemáticas que abordam os efeitos das intervenções relacionadas à saúde incluam tanto ensaios clínicos randomizados quanto os não randomizados e que os mesmos sejam avaliados do ponto de vista metodológico por ferramentas validadas específicas para cada delineamento (NEDEL; SILVEIRA, 2016; STERNE et al., 2016).

Baseando-se nas características metodológicas dos ensaios selecionados, a análise pelo risco de viés da Cochrane, demonstrou que apenas dois estudos apresentaram baixo de risco de viés. A análise de risco de viés permite avaliar sete domínios e diversos vieses que podem estar presentes em um ensaio clínico randomizado, categorizando-os em alto risco de viés, baixo risco de viés ou risco de viés incerto (CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013). A análise pela ferramenta RONBINS-I, permitiu uma avaliação global do risco de viés dos estudos não randomizados. Segundo essa ferramenta, a maioria dos estudos apresentaram sério risco de viés. Essa ferramenta fornece uma abordagem abrangente e sistematizada para avaliar estudos não randomizados de intervenções (STERNE et al., 2016).

A ausência de grupo controle ou placebo em um ensaio clínico, como observado em muitos estudos selecionados nessa revisão, é um fator limitante para seus resultados, visto que

pode mascarar a eficácia de um tratamento, consequentemente culminando em perda na qualidade da evidência científica. Por exemplo, o grupo controle pode apresentar efeitos muitas vezes superiores ou semelhantes ao grupo que recebeu o tratamento, demonstrando que a melhora da paciente pode acontecer não pelo tratamento em si, mas sim, por outros motivos como História Natural da Doença e aspectos psicológicos (OLIVEIRA; PARENTE, 2010).

Atualmente ainda não existem vacinas terapêuticas para NIC comercialmente disponíveis, além de poucos ensaios promissores na fase III. A maioria dos estudos disponíveis ainda apresentam importantes limitações e predominam os estudos de fase I e II. Os estudos de fase I compreendem o primeiro passo no desenvolvimento de uma nova droga e estão relacionados basicamente com a toxicidade dose-limitante de uma droga, farmacocinética e farmacodinâmica, além de estabelecerem a dose ideal para a próxima etapa do ensaio. Normalmente são ensaios conduzidos com um pequeno número de pessoas, adultos, saudáveis ou com doenças específicas que a droga se destina a tratar. Já nesse passo, é reconhecida a importância da elaboração de estudos controlados para permitir pelo menos alguma comparação de eventos induzidos não-vacinais comuns intercorrentes. Estudos de fase II procuram avaliar a eficácia de uma substância além de sua segurança e tolerabilidade em um período inferior ao da fase III, porém, com maior número de participantes do que na fase I. Os estudos de fase III compreendem basicamente ensaios clínicos controlados randomizados, delineados a fim de avaliar a eficácia e a segurança de uma intervenção por um período mais prolongado com um grande número de pacientes. De fato, na fase III, os estudos são caracterizados como essenciais para a decisão de conceder ou não a licença para demonstrar que um novo produto/intervenção é seguro e eficaz para o fim pretendido (WHO, 2004).

De modo geral, o delineamento dos estudos incluídos nessa revisão, levando-se em conta a duração do tratamento, o tempo de seguimento, o número de pacientes, a composição das vacinas, antígenos utilizados, proteínas imunomoduladoras e a dose utilizada, variaram significativamente. Essa diferença entre os estudos com vacinas terapêuticas já havia sido observado por Brun et al. (2011) e se mantém atualmente com o mesmo padrão pelas diversas tentativas de desenvolvimento de vacinas terapêuticas que utilizam diferentes protocolos, oncoproteínas, vias de administração, adjuvantes e tempo de seguimento que sejam significativamente eficazes contra infecções associadas ao HPV.

Com relação às vacinas utilizadas nos ensaios avaliados nesse estudo, a maioria focou na utilização de vacinas de DNA seguida das vacinas de peptídeos, por via intramuscular e no subtipo de HPV 16, principalmente nos oncogenes E6 e E7. Fato semelhante foi encontrado nos ensaios em andamento, que também apresentam foco maior nas vacinas de DNA

(NCT02139267, NCT02596243, NCT02529930, NCT03206138, NCT03185013 e NCT00264732), utilizando o HPV 16 (NCT02529930, NCT02864147, NCT02195089, NCT01116245, NCT02481414, NCT00060099 e NCT00054041) ou o HPV 16 e/ou 18 (NCT02139267, NCT02596243, NCT03870113, NCT03206138, NCT02576561, NCT01022346 e NCT03185013).

A maioria das vacinas desenvolvidas para o tratamento de lesões associadas ao HPV utilizam o HPV 16, especialmente suas oncoproteínas E6 e E7, por elas interferirem principalmente no ciclo celular do hospedeiro, por serem os maiores responsáveis pelos mecanismos de escape associados ao vírus, e, pelo subtipo de HPV ser o mais associado a NIC 2/3 assim como ao câncer cervical (SOLARES et al., 2011; YANG et al., 2016).

Os ensaios, de modo geral, apresentaram uma boa segurança e tolerabilidade com relação às vacinas. A maioria das pacientes apresentaram reações adversas, porém, classificadas como leve ou moderadas; nenhuma de grau 3 ou superior; não houve casos de morte e a maioria não descontinuou o tratamento em virtude dos eventos adversos. Os eventos adversos mais associados as vacinas foram prurido no local da injeção e alguns sistêmicos semelhantes a sintomas de gripe (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015).

Estudos recentes demonstraram a segurança e tolerabilidade de vacinas profiláticas para o HPV (ARBYN et al., 2016; BOGANI et al., 2017; MARKOWITZ et al., 2014; PETROSKY et al., 2015). Tais vacinas geram anticorpos neutralizantes contra as proteínas que formam o capsídeo do vírus, prevenindo patologias que podem ser originadas por eles. Em vacinas terapêuticas esse parâmetro também é frequentemente avaliado. Alguns estudos como o de Van Poelgeest et al. (2013) determinaram a toxicidade, segurança, imunogenicidade e eficácia da vacina HPV16 SLP subcutânea em 20 pacientes com carcinoma ginecológico avançado ou recorrente induzido pelo HPV16. Os autores concluíram que de forma geral, a vacina foi bem tolerada, conforme determinado pela ausência de toxicidade sistêmica além do grau II, demonstrando apenas sintomas transitórios semelhantes à gripe. Associaram esse dado a uma imunogenicidade favorável através da geração de uma ampla resposta de células T associada a IFN γ , TNF α , IL-5 e/ou IL-10 em 84,6% das pacientes. Entretanto, a resposta clínica não induziu regressão tumoral nem preveniu doença progressiva, demonstrando a necessidade de administrar essas vacinas associadas a tratamentos convencionais como a quimioterapia. Bagarazzi et al. (2012) realizaram um ensaio de fase I com 18 mulheres previamente tratadas

para NIC 2/3 e descreveram resultados promissores relacionados à segurança, tolerabilidade e imunogenicidade da vacina VGX-3100 sintetizada com HPV 16/18 e administrada por eletroporação *in vivo*. Nesse estudo, a imunização foi bem tolerada com relatos de reações leves no local da injeção e sem eventos adversos graves ou de grau 3 e 4, e não foi observada toxicidade limitante de dose. Além dos dados de segurança, o estudo realizou análise por citometria de fluxo onde foi possível identificar a indução de células T CD8+ específicas para HPV associadas à granzima B e perforina que exibiram funcionalidade citolítica completa em todas as doses testadas. Estes dados indicam que essa vacina foi capaz de conduzir respostas imunológicas robustas aos antígenos de HPV de alto risco favorecendo a eliminação de células infectadas e subsequente regressão do processo displásico (BAGARAZZI et al., 2012).

A eficácia verificada através da regressão da lesão, regressão histopatológica e/ou depuração viral foi encontrada na maioria dos estudos (ALVAREZ et al., 2016; BRUN et al., 2011; COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; ROMAN et al., 2007; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2009; TRIMBLE et al., 2015). Assim também, observou-se uma imunogenicidade favorável em grande parte dos estudos incluídos (COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAUFMANN et al. 2007; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SHEETS et al., 2003; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al., 2015; VAN STEENWIJK et al., 2012), mesmo representando dados preliminares. Apenas sete estudos apresentaram regressão histológica superior a 50% em alguma das doses testadas (COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; GREENFIELD et al., 2015; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SOLARES et al., 2011).

Esses dados estão em linha com os achados de um ensaio clínico randomizado, multicêntrico, duplo-cego de fase II no qual foram avaliadas a segurança e a eficácia em 192 mulheres com NIC 2/3 (129 no grupo que recebeu a vacina e 63 no grupo controle), que resultou em resolução histológica e depuração viral significativamente maiores no grupo que recebeu a vacina quando comparado ao grupo que recebeu o placebo. Dados relacionados à resolução histológica completa da NIC 2/3 no sexto mês, demonstraram que mulheres mono infectadas pelo HPV 16 do grupo que recebeu a vacina, apresentaram uma resolução de 18% (IC_{95%}: 8–28%) em comparação com 4% (IC_{95%}: 0–11%) do grupo placebo, resultando em uma eficácia da vacina de 80% (IC_{95%}: 67-88%). O mesmo desfecho avaliado no subgrupo de mulheres infectadas com HPV 16 e qualquer outro tipo de HPV de alto risco mostraram resolução

completa de NIC 2/3 em 18% (IC_{95%}: 4–32%) do grupo da vacina e 8% (IC_{95%}: 7–24%) do grupo placebo, representando uma eficácia de 53% (IC_{95%}: 47-61%). A resolução completa de NIC 2/3 de pacientes infectadas com qualquer subtipo de HPV de alto risco, exceto HPV 16, ocorreu em 35% (IC_{95%}: 21-49%) do grupo da vacina e 17% (IC_{95%}: 2–32%) do grupo placebo, com uma eficácia da vacina de 52% (IC_{95%}: 38-66%). A depuração do DNA viral de todas as NIC 2/3, independentemente do tipo de HPV associado, foi significativamente maior nos grupos que receberam a vacina do que no grupo placebo ($p = 0,01$). Além disso, assim como na maioria dos estudos avaliados na presente revisão sistemática, os autores descreveram que a vacina foi bem tolerada com os eventos adversos mais comuns representados pelas reações no local da injeção (HARPER et al., 2019).

A segurança, eficácia e imunogenicidade de uma vacina terapêutica (ISA101, associada ou não à imiquimode) também foram avaliadas por Van Poelgeest et al. (2016) através de um ensaio controlado, randomizado, multicêntrico em 43 pacientes (21 no grupo da vacina com imiquimode e 22 no grupo que recebeu apenas a vacina) com neoplasia intraepitelial vulvar e vaginal. Para tanto, os autores avaliaram a segurança através da observação de reações no local da injeção e através de reações sistêmicas; a resposta clínica através da regressão da lesão, depuração viral e regressão histopatológica, e, a imunogenicidade através da geração de linfócitos TCD8 específicos para o HPV 16. Os resultados demonstraram que respostas clínicas induzidas pela vacina, em um período de três meses, foram observadas em 18 de 34 pacientes (53%) [IC_{95%}: 35,1-70,2], e em 12 meses após a vacinação, o mesmo parâmetro foi observado em 15 de 29 pacientes (52%) [IC_{95%}: 32,5-70,6], sendo que destas, oito apresentaram uma resposta histológica completa. A depuração ocorreu em todas as pacientes. A resposta imunológica mediada pelas células TCD8 específicas para o HPV foi desenvolvida em todas as pacientes, e foram significativamente mais fortes em pacientes com respostas completas, correlacionando a resposta imunológica com a resposta clínica além de ter apresentado resultados considerados eficazes para o tratamento de neoplasias vaginal e vulvar de alto grau associadas ao HPV16. Entretanto, apesar dos dados relacionados à eficácia e imunogenicidade serem promissores, a segurança da vacina precisa ser melhor avaliada, visto que os 18% dos pacientes de cada grupo apresentaram sintomas como reações alérgicas provavelmente associadas ao peptídeo utilizado no estudo, reações no local da injeção de longa duração, (com edemas ainda presentes após 12 meses), 10 pacientes apresentaram eventos adversos graves (como o desenvolvimento de úlcera no local da injeção, em alguns casos necessitando de intervenções especiais), além disso, houve uma morte por infarto agudo do miocárdio após a injeção que não esteve diretamente relacionada com a vacina. Apesar de todos os eventos

adversos relatados, as pacientes não apresentaram anormalidades clinicamente significativas nos valores laboratoriais e nos sinais vitais durante o estudo. Os dados encontrados no estudo de van Poelgeest et al. (2016) relacionados à segurança e toxicidade são conflitantes com os encontrados na presente revisão sistemática. Os autores sugeriram que para redução dos eventos adversos em estudos futuros seria viável a utilização de adjuvantes alternativos que substituam o utilizado no estudo (Montanide), estudos cautelosos de dose-resposta e a combinação de vacinação com imiquimod na lesão.

Outro estudo que apresenta resultados promissores relacionados à eficácia e a imunogenicidade de vacinas terapêuticas foi realizado através de um ensaio com vacina de peptídeo associada ao adjuvante incompleto de Freund em 20 mulheres com neoplasia intraepitelial vulvar de alto grau positiva para o HPV-16. Kenter et al. (2009) demonstraram eventos adversos locais como edema em 100% das pacientes e eventos sistêmicos como febre em 64% das pacientes, entretanto, nenhum deles excedeu o grau 2 dos Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos do Instituto Nacional do Câncer, e esses sintomas apresentaram melhora em até três meses após a última vacinação. Nesse mesmo período, 12 de 20 pacientes (60%) [IC_{95%}: 36-81] apresentaram respostas clínicas, sendo que dessas, cinco mulheres apresentaram regressão completa das lesões e quatro apresentaram depuração completa do HPV-16. No período de seguimento de 12 meses após a vacinação, 15 das 19 pacientes (79%) apresentaram respostas clínicas (IC_{95%}: 54-94), e 9 (47%) apresentaram uma taxa de resposta completa [IC_{95%}: 24-71] que foi mantida em 24 meses de acompanhamento. Todas as pacientes desenvolveram respostas de células T induzidas pela vacina. As análises *post-hoc* sugeriram que as cinco pacientes que apresentaram resposta completa aos três meses tiveram uma resposta CD4 + significativamente mais forte e uma resposta ampla de interferon- γ T CD8 + em comparação com as pacientes sem uma resposta completa, demonstrando que pode existir uma correlação entre a resposta clínica e a imunogenicidade.

Um dos estudos mais promissores para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas contra o HPV foi desenhado através de um ensaio clínico de fase III realizado por Rosales et al. (2014) em que os autores avaliaram a segurança, eficácia e imunogenicidade da vacina recombinante MVA E2 para tratar lesões intraepiteliais associadas à infecção por papilomavírus. Para isso, o ensaio avaliou 1176 mulheres e 180 homens que receberam a vacina diretamente em seu útero, uretra, vulva ou ânus. Os resultados demonstram que 89,3% das pacientes do sexo feminino apresentaram eliminação completa das lesões após tratamento com MVA E2 e outras 2,4%, apresentaram regressão histopatológica para NIC 1. Nos homens, todas as lesões foram completamente eliminadas. A eficácia também pôde ser avaliada pela

depuração total do DNA do papilomavírus após o tratamento em 83% de todos os pacientes incluídos no estudo. Além disso, a vacina não apresentou eventos adversos significativos e uma excelente resposta imunológica foi observada através do desenvolvimento de anticorpos contra o HPV e geração de uma resposta citotóxica específica contra células transformadas por HPV. Esses dados sugerem que a vacinação terapêutica com a vacina MVA E2 é um excelente candidato para promover imunogenicidade e eficácia, além de demonstrar segurança para a síntese de vacinas terapêuticas para o HPV quando aplicada localmente.

Daayana et al. (2010) realizaram um ensaio clínico de fase II com 19 pacientes com neoplasia intraepitelial vulvar 2/3 associada ao HPV16, utilizando imiquimode seguido da vacinação com TA-CIN. Os resultados deste ensaio demonstraram que a regressão histológica completa ocorreu em 32% das pacientes avaliadas na semana 10, aumentando para 58% na semana 20 e para 63% na semana 52. A depuração do HPV16 foi avaliada na semana 52, onde foi possível determinar que 36% das lesões apresentaram essa depuração. Na semana 20, houve aumento significativo da infiltração local de células T CD8 e CD4 nas pacientes respondedoras que apresentaram regressão da lesão. Em contrapartida, as não respondedoras, que apresentavam a lesão histológica, demonstraram um aumento nas células T reguladoras. Os autores associaram as respostas relacionadas à imunogenicidade e eficácia clínica como fatores relevantes para os efeitos terapêuticos.

A segurança, eficácia e imunogenicidade de vacinas terapêuticas também estão sendo avaliadas para o tratamento de câncer cervical. Reuschenbach et al. (2016) avaliaram esses parâmetros através de uma vacina de peptídeos em 26 pacientes com cânceres avançados durante um período de 6 meses. O estudo não demonstrou eventos adversos graves associados ao uso da vacina, assim como não ocorreram toxicidades limitantes da dose. O desenvolvimento de células TCD4 foi observado em 14 das 20 pacientes, presença de células TCD8 foram detectadas em cinco das 20 pacientes e os anticorpos foram detectados em 14 de 20 pacientes. A eficácia relacionada à resposta tumoral foi avaliada em 14 pacientes, sendo que destas, 64% apresentaram doença estável como melhor resposta geral e 36% desenvolveram doença progressiva. Desse modo, os autores sugeriram que a vacina parece induzir respostas imunes celulares e humorais e não causa toxicidades severas e fornece resultados promissores para o desenvolvimento de imunoterapia para o câncer cervical.

A maioria dos estudos avaliaram a imunogenicidade apenas em células sanguíneas periféricas e não no tecido com a lesão. A associação positiva entre imunogenicidade e eficácia clínica foi apontada em seis estudos (COLEMAN et al., 2016; GARCIA-HERNÁNDEZ et al., 2006; KAWANA et al., 2014; KIM et al., 2014; SOLARES et al., 2011; TRIMBLE et al.,

2015). Entretanto, apesar de demonstrarem resultados promissores relacionados à segurança, eficácia e imunogenicidade das vacinas terapêuticas contra o HPV, algumas variáveis relevantes para o sucesso do tratamento das neoplasias, como o hábito de fumar, uso de contraceptivo oral, idade e número de partos, foram controladas e/ou correlacionadas por poucos estudos e nenhum deles associou os resultados com o número de parceiros ou idade da primeira relação sexual (COLEMAN et al., 2016; GARCIA et al., 2004; SHEETS et al., 2003; TRIMBLE et al., 2015). Essa associação pode ser relevante para o desenvolvimento de vacinas eficazes, uma vez que, todos esses fatores podem influenciar na evolução da doença assim como na sua resposta imunológica (MOSCICKI et al., 2001).

A mensuração das células imunológicas é crucial em uma pesquisa clínica com vacinas terapêuticas para avaliar a sua eficácia através do número e dos subtipos de células imunológicas infiltradas no tecido assim como também na circulação, a fim de se conhecer a cinética dessas células nas respostas contra o HPV, incluindo possíveis mecanismos de escape desses vírus (KAWANA et al., 2014; MALDONADO et al., 2014). Ademais, o desenvolvimento de uma vacina terapêutica pode estar associado a diversos fatores como geração de uma resposta imune significativa, medidas efetivas que controlem os mecanismos de escape do vírus e presença ou ausência de correlação entre imunogenicidade e eficácia clínica e imunossupressões associadas a essas infecções (NIETO; GISSMANN; SCHÄDLICH, 2010).

As estratégias para a elaboração de vacinas efetivas devem contornar algumas limitações inerentes aos ensaios clínicos para este fim, como por exemplo, por meio do bloqueio da imunossupressão local, através da vacinação *in situ* ou da utilização da vacina terapêutica associada a anticorpos antagonistas contra receptores inibitórios como CTLA-4 ou anticorpos agonistas contra moléculas co-estimulatórias como CD137, utilização de adjuvantes eficientes como o uso de eletroporação que permite o aumento da permeabilidade da membrana celular e consequente liberação do antígeno, além de causar danos no local da injeção, atuando como um adjuvante por promover resposta inflamatória, depleção de células Treg através do uso de anticorpo anti-CD25, assim como a utilização de agonistas de TLR e a administração simultânea pela via sistêmica e intralesional (CHUANG et al., 2009; ROMAN et al., 2007; KARAKI et al., 2016). Já foi demonstrado que a via intralesional induziu um recrutamento mais intenso de infiltrados de células T CD8 intraepiteliais quando comparada a outras vias de administração (ALVAREZ et al., 2016), sendo sua associação com outras vias de administração, como a via intramuscular, um benefício para a imunogenicidade de vacinas terapêuticas.

Um método ainda não explorado em pesquisa clínica, com sucesso em ensaios pré-clínicos, está relacionado à utilização de vacinas baseadas em plantas (ROSA et al., 2009). Vacinas compostas por L1, E6 e E7 do HPV16 sintetizadas em tomates demonstraram propriedades profiláticas e terapêuticas através do desenvolvimento significativo de anticorpos e linfócitos T além de se apresentarem seguras. Essa forma de produção de vacinas apresenta muitas vantagens que devem ser cada vez mais exploradas na pesquisa por reduzirem consideravelmente os custos de produção, apresentarem maior segurança, maior escalabilidade, serem capazes de induzir resposta Th1 mesmo sem o uso de adjuvantes e de induzir resposta imunológica específica (BIEMELT et al., 2003; MASSA et al., 2007; WARZECHA et al., 2003).

De modo geral, as vacinas terapêuticas podem ser relevantes para promover a cura de lesões de alto grau, evitar as morbidades associadas aos tratamentos tradicionais e para eliminação da lesão (WALLBILLICH et al., 2012), além de reduzirem o risco de recidiva após o tratamento cirúrgico, uma vez que está estabelecido que a recorrência está diretamente ligada à persistência do HPV após a conização. Em adição, as vacinas terapêuticas auxiliam na prevenção do câncer cervical e outros tipos de cânceres e lesões associadas ao HPV que causam grande impacto para a saúde pública global devido às suas altas taxas de morbimortalidades (LACEY et al., 2013; MAW, 2004; POWELL et al., 2013; REICH et al., 2002;).

As pesquisas com vacinas terapêuticas para NIC 2/3, devem ser realizadas com alta qualidade metodológica e sobretudo, se transpõem prementes para a saúde pública, visto que NIC 2/3 são lesões precursoras do câncer cervical que apresenta altas taxas de recorrência, morbidades e mortalidade. As NIC 2/3 representam um período relevante (aproximadamente 20 anos) entre o momento da infecção e o desenvolvimento do câncer cervical e quanto mais tardio o diagnóstico da neoplasia ou mesmo o desenvolvimento do câncer pior o prognóstico. Além disso, as melhores respostas imunológicas e clínicas são observadas em pacientes com lesões precursoras como NICs quando comparadas ao câncer, principalmente quando relacionadas a pacientes com câncer cervical recorrente. Esse fato está atrelado às alterações sistêmicas e locais associadas ao câncer e parecem ter relação com efeitos deletérios nas células T imunocompetentes (CORDEIRO et al., 2018; MELIEF et al., 2015). Sendo assim, o câncer cervical apresenta um pior prognóstico, maiores prejuízos para o organismo por necessitar dos tratamentos convencionais mesmo com o uso de vacinas terapêuticas, apresenta menor imunogenicidade, pior resposta clínica, além de todo ônus imposto aos pacientes, familiares e sistemas de saúde.

Tomadas em conjunto, as pesquisas desenvolvidas com vacinas terapêuticas apontam para resultados promissores e favoráveis para o tratamento dessas lesões, necessitando de um entendimento maior da cinética da resposta imunológica, e de como prevenir os mecanismos de escape do vírus e melhorar a imunogenicidade associada e resposta clínica de maneira segura. A presente revisão sistemática ratifica a necessidade de futuras pesquisas clínicas com qualidade metodológica direcionadas para essa área, que podem fazer uso inclusive de vacinas baseadas em plantas como uma estratégia que favoreça o custo benefício dessas vacinas e se enquadre na realidade de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como no caso do Brasil.

7. Conclusão

Os resultados da presente revisão sistemática permitiram evidenciar, no que se refere à segurança, que as vacinas que estão sendo desenvolvidas para o tratamento de NIC de alto grau (2/3) apresentam-se seguras e bem toleradas, sendo que a maioria delas desencadeou apenas sintomas sistêmicos classificados como leves ou moderados, os quais melhoraram espontaneamente em um curto período de tempo. Já para as variáveis relacionadas à eficácia e imunogenicidade, os autores apontam resultados favoráveis, tanto no desenvolvimento de células T e de anticorpos específicos para o HPV quanto em resultados significativos relacionados à regressão da lesão, depuração viral e/ou regressão histopatológica da lesão. Entretanto, tais achados devem ser interpretados com cautela, uma vez que, ainda não podem ser considerados conclusivos, visto que a maioria dos estudos apresentaram um número amostral pequeno de participantes, com baixa qualidade metodológica (grande parte dos estudos foram estudos quase-experimentais e/ou ensaios clínicos de fase I ou II, com vieses de seleção importantes), período de acompanhamento relativamente curto com predomínio de apenas um subtipo de HPV de alto risco.

Desse modo, evidencia-se a necessidade de futuros ensaios clínicos randomizados placebo-controlados de fase III bem delineados conduzidos em larga escala e com alta qualidade metodológica, com período de seguimento superior a um ano, e que estratégias para controlar as variáveis confundidoras (por exemplo, utilizando-se de análises multivariadas) que possam interferir nos desfechos, tais como hábito de fumar e uso de contraceptivos orais. Ademais, recomenda-se que os futuros estudos devam focar em abordagens poucos exploradas, porém, que trouxeram resultados favoráveis em outras neoplasias ou cânceres associados ao HPV. Tais abordagens incluem por exemplo, outras vias de administração, como a administração no local da lesão, o uso de plantas para a síntese de vacinas terapêuticas em ensaios clínicos, além da inclusão de outros subtipos de HPV de alto grau para melhor compreensão dos mecanismos de escape do vírus e do desenvolvimento de resposta imunológica associada à eficácia clínica.

8. Considerações finais

O HPV é um vírus que apresenta alta prevalência e incidência em todo o mundo, sendo impactante para a saúde pública global. Os vírus de alto risco apresentam estreita relação com NIC de alto grau que podem levar ao câncer cervical em um período de até 20 anos. As doenças associadas a esse vírus podem ser prevenidas por meio da administração de vacinas profiláticas já disponíveis em diversos sistemas de saúde. Entretanto, ainda existe uma baixa adesão dessa vacina pelo seu público alvo.

Uma vez que as NIC de alto grau representam um importante intervalo entre o momento da infecção até o aparecimento do câncer cervical, é relevante que sejam desenvolvidas técnicas eficazes para o tratamento dessas infecções. Atualmente, os tratamentos disponíveis de ablação e excisão permitem a retirada visível da lesão, contudo, muitas vezes eles não eliminam completamente o vírus, o que pode levar a casos de recorrências da lesão, além dos prejuízos reprodutivos e psicológicos para a paciente.

Baseado no panorama apresentado sobre a História Natural da Doença e suas consequências para a saúde da mulher, o desenvolvimento de vacinas terapêuticas seguras e eficazes, que estejam disponíveis para a população, representa uma estratégia promissora. Entretanto, conforme sinalizado em nossos achados, ainda existem poucos ensaios clínicos randomizados bem delineados que correlacionem segurança, eficácia clínica e imunogenicidade em pacientes com NIC de alto grau que possam ser utilizados para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas para esse fim, necessitando de mais pesquisas nessa área para compreensão da História Natural da Doença, mecanismos de escape, protocolos que permitam melhorar a imunogenicidade e a eficácia clínica com segurança além de enfoque na qualidade metodológica.

Uma alternativa viável para a síntese dessas vacinas para a pesquisa seria sua produção através de vacinas baseadas em plantas, especialmente em países em desenvolvimento. Até o momento, nenhum estudo explorou esse tipo de vacina em ensaios clínicos no tratamento de NIC associada ao HPV, transpondo-se como uma abordagem a ser considerada pelos pesquisadores desse campo, de modo a criar sinergias para beneficiar mais brevemente as pacientes acometidas por essas neoplasias, evitando a progressão da lesão, o aparecimento do câncer cervical, com possíveis impactos nas taxas de morbidades e de mortalidades associadas ao HPV.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. H; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

ABRAHÃO, C. A. *et al.* Complementary therapies as a strategy to reduce stress and stimulate immunity of women with breast cancer. **Journal of Evidence-based Integrative Medicine**, v. 24, p. 2515690X19834169, 2019.

ADAMS, M.; JASANI, B.; FIANDER, A. N. Human papilloma virus (HPV) prophylactic vaccination: challenges for public health and implications for screening. **Vaccine**, v. 25, n. 16, p. 3007-3013, 2007.

AGGARWAL, C. *et al.* Immunogenicity results using human papillomavirus (HPV) specific DNA vaccine, INO-3112 (HPV16/HPV18 plasmids+ IL-12) in HPV+ head and neck squamous cell carcinoma (HNSCCa). **American Society of Clinical Oncology**, v. 35, n.15_suppl, p. 6073-6073, 2017.

AGGARWAL, C. *et al.* Immunotherapy with VGX-3100 (HPV16 and HPV18 plasmids)+ INO-9012 (DNA encoding IL-12) in human papillomavirus (HPV) associated head and neck squamous cell carcinoma (HNSCCa): interim safety and immunogenicity results. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 3, n. S2, p. P426, 2015.

AHN, Y.-H. *et al.* The siRNA cocktail targeting interleukin 10 receptor and transforming growth factor- β receptor on dendritic cells potentiates tumour antigen-specific CD8⁺ T cell immunity. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 181, n. 1, p. 164-178, 2015.

AKIRA, S.; TAKEDA, K. Toll-like receptor signalling. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 7, p. 499, 2004.

ALBARRAN, A. C. *et al.* MVA E2 recombinant vaccine in the treatment of human papillomavirus infection in men presenting intraurethral flat condyloma: a phase I/II study. **BioDrugs**, v. 21, n. 1, p. 47-60, 2007.

ALVAREZ, R. D. *et al.* A pilot study of pNGVL4a-CRT/E7 (detox) for the treatment of patients with HPV16+ cervical intraepithelial neoplasia 2/3 (CIN2/3). **Gynecologic Oncology**, v. 140, n. 2, p. 245-252, 2016.

ANDERSON, L. *et al.* Treatment of high-grade squamous abnormalities. **Cervical cancer screening guidelines working party**, 2019. Disponível em: <https://wiki.cancer.org.au/australiawiki/index.php?oldid=190225>. Acesso em: 02 dez. 2018.

ARBYN, M. *et al.* Surveillance of effects of HPV vaccination in Belgium. **Cancer Epidemiology**, v. 41, p. 152-158, 2016.

ARIAS-PULIDO, H. *et al.* Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1755-1762, 2006.

ARMSTRONG, R. *et al.* Improving the reporting of public health intervention research: advancing TREND and CONSORT. **Journal of Public Health**, v. 30, n. 1, p. 103-109, 2008.

ASHRAFI, G. H. *et al.* E5 protein of human papillomavirus type 16 selectively downregulates surface HLA class I. **International Journal of Cancer**, v. 113, n. 2, p. 276-283, 2005.

BAGARAZZI, M. L. *et al.* Immunotherapy against HPV16/18 generates potent TH1 and cytotoxic cellular immune responses. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 155, p. 155ra138-155ra138, 2012.

BAIS, A. G. *et al.* A shift to a peripheral Th2-type cytokine pattern during the carcinogenesis of cervical cancer becomes manifest in CIN III lesions. **Journal of Clinical Pathology**, v. 58, n. 10, p. 1096-1100, 2005.

BALDWIN, P. J. *et al.* Vaccinia-expressed human papillomavirus 16 and 18 e6 and e7 as a therapeutic vaccination for vulval and vaginal intraepithelial neoplasia. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. 14, p. 5205-5213, 2003.

BANASZKIEWICZ, A.; RADZIKOWSKI, A. Efficacy, effectiveness, immunogenicity-are not the same in vaccinology. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 19, n. 41, p. 7217, 2013.

BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, n. 6673, p. 245, 1998.

BASHAW, A. A. *et al.* Modulation of antigen presenting cell functions during chronic HPV infection. **Papillomavirus Research**, v. 4, p. 58-65, 2017.

BASU, P. *et al.* A randomized phase 2 study of ADXS11-001 Listeria monocytogenes–Listeriolysin O immunotherapy with or without cisplatin in treatment of advanced cervical cancer. **International Journal of Gynecologic Cancer**, v. 28, n. 4, p. 764-772, 2018.

BEHTASH, N.; MEHRDAD, N. Cervical cancer: screening and prevention. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 7, n. 4, p. 683-686, 2006.

BERGBRANT, I. M. *et al.* Polymerase chain reaction for monitoring human papillomavirus contamination of medical personnel during treatment of genital warts with CO2 laser and electrocoagulation. **Acta Dermato-venereologica**, v. 74, n. 5, p. 393-395, 1994.

BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G. *et al.* An inducible surface presentation system improves cellular immunity against human papillomavirus type 16 E7 antigen in mice after nasal administration with recombinant lactococci. **Journal of Medical Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 427-433, 2004.

BIEMELT, S. *et al.* Production of human papillomavirus type 16 virus-like particles in transgenic plants. **Journal of Virology**, v. 77, n. 17, p. 9211-9220, 2003.

BLACK, N. Why we need observational studies to evaluate the effectiveness of health care. **Bmj**, v. 312, n. 7040, p. 1215-1218, 1996.

BOGANI, G. *et al.* The role of human papillomavirus vaccines in cervical cancer: prevention and treatment. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 122, p. 92-97, 2018.

BOGANI, G.; LORUSSO, D.; RASPAGLIESI, F. Safety and effectiveness of Human Papillomavirus (HPV) vaccination: NCI of Milan position statement. **Vaccine**, v. 35, n. 39, p. 5227-5227, 2017.

BOGAZ, C.; AMORIM, A. C. Meninos também serão vacinados contra HPV. **Portal da saúde**, 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/25991-meninos-tambem-serao-vacinados-contrahpv>. Acesso em: 15 dez. 2017

BOLPETTI, A. *et al.* Interleukin-10 production by tumor infiltrating macrophages plays a role in Human Papillomavirus 16 tumor growth. **BMC Immunology**, v. 11, n. 1, p. 27, 2010.

BONFIGLIO, T. A. History of gynecologic pathology: XIII. Dr. James W. Reagan. **International Journal of Gynecological Pathology**: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists, v. 22, n. 1, p. 95, 2003.

BORYSIEWICZ, L. K. *et al.* A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. **The Lancet**, v. 347, n. 9014, p. 1523-1527, 1996.

BOSCH, F. X. *et al.* Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. **Vaccine**, v. 31, p. H1-H31, 2013.

BOSCH, F. X. *et al.* Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. **Vaccine**, v. 26, p. K1-K16, 2008.

BOSCH, F. X. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. **JNCI: Journal of the national cancer institute**, v. 87, n. 11, p. 796-802, 1995.

BOULENOUAR, S. *et al.* Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 proteins on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 3, p. 473-480, 2009.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos, departamento de ciência e tecnologia. **Diretrizes metodológicas elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados**. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações. **Informe Técnico sobre a Vacina Papilomavírus Humano -HPV na Atenção Básica**. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde, departamento de vigilância das doenças transmissíveis. Coordenação-geral do programa nacional de imunizações. **Informe técnico da ampliação da oferta das vacinas papilomavírus humano 6, 11, 16 e 18 (recombinante) – vacina HPV quadrivalente e meningocócica C (conjugada)**. Brasília, 2018.

BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

BROTMAN, R. M. *et al.* Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 11, p. 1723-1733, 2014.

BROUWER, W. B. F. *et al.* Productivity costs before and after absence from work: as important as common?. **Health Policy**, v. 61, n. 2, p. 173-187, 2002.

BRUN, J-L. *et al.* Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 204, n. 2, p. 169. e1-169. e8, 2011.

BRUN, J-L. *et al.* Targeted immunotherapy of high-grade cervical intra-epithelial neoplasia: Expectations from clinical trials. **Molecular and clinical oncology**, v. 8, n. 2, p. 227-235, 2018.

BRUNI, L. *et al.* ICO/IARC. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. **Information Centre on HPV and Cancer**. Summary Report 27 July 2017.

BRUNI, L. *et al.* Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis. **The Lancet Global Health**, v. 4, n. 7, p. e453-e463, 2016.

BUCKLEY, C. H.; BUTLER, E. B.; FOX, H. Cervical intraepithelial neoplasia. **Journal of clinical pathology**, v. 35, n. 1, p. 1-13, 1982.

BURD, E. M. Human papillomavirus and cervical cancer. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 1, p. 1-17, 2003.

BURK, R. D. *et al.* Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. **Journal of Infectious Diseases**, v. 174, n. 4, p. 679-689, 1996.

CALERO, L.; BRUSIS, T. Laryngeal papillomatosis-first recognition in Germany as an occupational disease in an operating room nurse. **Laryngo-rhino-otologie**, v. 82, n. 11, p. 790-793, 2003.

CAMPO, M. S. *et al.* HPV-16 E5 down-regulates expression of surface HLA class I and reduces recognition by CD8 T cells. **Virology**, v. 407, n. 1, p. 137-142, 2010.

CAMPOS, N. G. *et al.* Resources required for cervical cancer prevention in low-and middle-income countries. **PLoS One**, v. 11, n. 10, p. e0164000, 2016.

CARDOSO, J. R. Revisão sistemática e prática baseada em evidências na tomada de decisão em saúde. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 17, p. 5-6, 2010.

CARLOS LOPES-JÚNIOR, L. *et al.* Effectiveness of traditional Chinese acupuncture versus sham acupuncture: a systematic review. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 24, 2016.

CASTLE, P. E. *et al.* Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 19, n. 7, p. 1675-1681, 2010.

CASTLE, P. E. *et al.* The relationship of community biopsy-diagnosed cervical intraepithelial neoplasia grade 2 to the quality control pathology-reviewed diagnoses: an ALTS report. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 127, n. 5, p. 805-815, 2007.

CATARINO, R. *et al.* Cervical cancer screening in developing countries at a crossroad: Emerging technologies and policy choices. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 6, n. 6, p. 281, 2015.

CDC - Division of Cancer Prevention and Control, Centers for Disease Control and Prevention. 2018. Disponível em: <https://www.cdc.gov/cancer/hpv/index.htm>. Acesso em: 12 de dezembro de 2018.

CHABEDA, A. *et al.* Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. **Papillomavirus Research**, v. 5, p. 46-58, 2018.

CHAHOU, J. *et al.* Association between β -genus human papillomavirus and cutaneous squamous cell carcinoma in immunocompetent individuals—a meta-analysis. **JAMA Dermatology**, v. 152, n. 12, p. 1354-1364, 2016.

CHALMERS, I.; ENKIN, Murray; KEIRSE, Marc JNC. **Effective care in pregnancy and childbirth: pregnancy**. Oxford University Press, USA, 1989.

CHAN, H-T.; DANIELL, H. Plant-made oral vaccines against human infectious diseases—are we there yet?. **Plant Biotechnology Journal**, v. 13, n. 8, p. 1056-1070, 2015.

CHEN, W. *et al.* Human papillomavirus causes an angiogenic switch in keratinocytes which is sufficient to alter endothelial cell behavior. **Virology**, v. 367, n. 1, p. 168-174, 2007.

CHEN, Z. *et al.* Episomal expression of truncated listeriolysin O in LmddA-LLO- E7 vaccine enhances antitumor efficacy by preferentially inducing expansions of CD4⁺ FoxP3[–] and CD8⁺ T cells. **Cancer Immunology Research**, v. 2, n. 9, p. 911–922, 2014.

CHENG, W-F. *et al.* Enhancement of sindbis virus self-replicating RNA vaccine potency by linkage of herpes simplex virus type 1 VP22 protein to antigen. **Journal of virology**, v. 75, n. 5, p. 2368-2376, 2001.

CHIRGWIN, K. D. *et al.* Incidence of venereal warts in human immunodeficiency virus-infected and uninfected women. **Journal of Infectious Diseases**, v. 172, n. 1, p. 235-238, 1995.

CHO, Y-S. *et al.* Down modulation of IL-18 expression by human papillomavirus type 16 E6 oncogene via binding to IL-18. **FEBS letters**, v. 501, n. 2-3, p. 139-145, 2001.

CHUANG, C-M. *et al.* Enhancing therapeutic HPV DNA vaccine potency through depletion of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells. **Vaccine**, v. 27, n. 5, p. 684-689, 2009.

COBAN, C. *et al.* Novel strategies to improve DNA vaccine immunogenicity. **Current gene therapy**, v. 11, n. 6, p. 479-484, 2011.

COLEMAN, H. N. *et al.* Human papillomavirus type 16 viral load is decreased following a therapeutic vaccination. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 65, n. 5, p. 563-573, 2016.

COLEMAN, N.; STANLEY, M. A. Characterization and functional analysis of the expression of vascular adhesion molecules in human papillomavirus-related disease of the cervix. **Cancer**, v. 74, n. 3, p. 884-892, 1994.

COLLINS, A. *et al.* The production of quick scoping reviews and rapid evidence assessments: a how to guide. 2015. Disponível em: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/560521/Production_of_quick_scoping_reviews_and_rapid_evidence_assessments.pdf. Acesso em: dez. 2018.

CONTI, B. J.; SANTIAGO, K. B.; SFORCIN, J. M. Células dendríticas: mini-revisão. **Biosaúde**, v. 16, n. 1, p. 28-33, 2014.

COOK, D. J.; MULROW, C. D.; HAYNES, R. Brian. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. **Annals of internal medicine**, v. 126, n. 5, p. 376-380, 1997.

CORDEIRO, M. N. *et al.* Current research into novel therapeutic vaccines against cervical cancer. **Expert Review of Anticancer Therapy**, v. 18, n. 4, p. 365-376, 2018.

CORTESE, M. S.; ASHRAFI, G. H.; CAMPO, M. S. All 4 di-leucine motifs in the first hydrophobic domain of the E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 are essential for surface MHC class I downregulation activity and E5 endomembrane localization. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 7, p. 1675-1682, 2010.

COX, J. T. History of the use of HPV testing in cervical screening and in the management of abnormal cervical screening results. **Journal of Clinical Virology**, v. 45, p. S3-S12, 2009.

CRAWFORD, L. V.; CRAWFORD, E. M. A comparative study of polyoma and papilloma viruses. **Virology**, v. 21, n. 2, p. 258-263, 1963.

CUBURU, N.; SCHILLER, J. T. Moving forward with human papillomavirus immunotherapies. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 12, n. 11, p. 2875-2880, 2016.

CULLEN, T. S. Cancer of the uterus: its pathology, symptomatology, diagnosis, and treatment, also the pathology of diseases of the endometrium. New York: Appleton, 1900.

CULP, T. D. *et al.* Keratinocyte-secreted laminin 5 can function as a transient receptor for human papillomaviruses by binding virions and transferring them to adjacent cells. **Journal of Virology**, v. 80, n. 18, p. 8940-8950, 2006.

CUMBERBATCH, M. *et al.* Interleukin (IL)-18 induces Langerhans cell migration by a tumour necrosis factor- α -and IL-1 β -dependent mechanism. **Immunology**, v. 102, n. 3, p. 323-330, 2001.

CUTTS, F. T. *et al.* Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, n. 9, p. 719–726, 2007.

DAAYANA, S. *et al.* Phase II trial of imiquimod and HPV therapeutic vaccination in patients with vulval intraepithelial neoplasia. **British journal of cancer**, v. 102, n. 7, p. 1129, 2010.

DAVIDSON, E. J. *et al.* Effect of TA-CIN (HPV 16 L2E6E7) booster immunisation in vulval intraepithelial neoplasia patients previously vaccinated with TA-HPV (vaccinia virus encoding HPV 16/18 E6E7). **Vaccine**, v. 22, n. 21-22, p. 2722-2729, 2004.

D'COSTA, Z. J. *et al.* Transcriptional repression of E-cadherin by human papillomavirus type 16 E6. **PloS One**, v. 7, n. 11, p. e48954, 2012.

DE CARVALHO, A. P. V.; SILVA, V.; GRANDE, A. J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Revista Diagnóstico e Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.

DE JONG, A. *et al.* Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4+ T-cell immunity against early antigens E2 and E6. **Cancer research**, v. 64, n. 15, p. 5449-5455, 2004.

DE LA ROSA, G. P. *et al.* An HPV 16 L1-based chimeric human papilloma virus-like particles containing a string of epitopes produced in plants is able to elicit humoral and cytotoxic T-cell activity in mice. **Virology journal**, v. 6, n. 1, p. 2, 2009.

DE LIMA CAMARA, G. N. N. *et al.* Os papilomavírus humanos–HPV: carcinogênese e imunogênese. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 159-168, 2008.

DE MARTEL, C. *et al.* Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. **International Journal of Cancer**, v. 141, n. 4, p. 664-670, 2017.

DE OLIVEIRA, M. A. P.; PARENTE, R. C. M. Entendendo ensaios clínicos randomizados. **Brazilian Journal of Videoendoscopic Surgery**, v. 3, n. 4, p. 176-180, 2010.

DE OLIVEIRA, M. S.; FERNANDES, A. F. C.; GALVÃO, M. T. G. Mulheres vivenciando o adoecer em face do câncer cérvico-uterino. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 18, n. 2, p. 150-155, 2005.

DE SANJOSÉ, S. *et al.* Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **The Lancet: Infectious Diseases**, v. 7, n. 7, p. 453-459, 2007.

DE VILLIERS, E-M. *et al.* Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, 2004.

DELIGEOROGLOU, E. *et al.* HPV infection: immunological aspects and their utility in future therapy. **Infectious diseases in obstetrics and gynecology**, v. 2013, 2013.

DEMICHELI, V. *et al.* Vaccines for measles, mumps and rubella in children. **Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal**, v. 8, n. 6, p. 2076-2238, 2013.

DISIS, M. L.; WATT, W. C.; CECIL, D. L. Th1 epitope selection for clinically effective cancer vaccines. **Oncoimmunology**, v. 3, n. 9, p. e954971, 2014.

DOORBAR, J. *et al.* Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in medical virology**, v. 25, p. 2-23, 2015.

DOORBAR, J. *et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55-F70, 2012.

D'SOUZA, G.; DEMPSEY, A. The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. **Preventive medicine**, v. 53, p. S5-S11, 2011.

DUGGAN-KEEN, M. F. *et al.* Papillomavirus vaccines. **Frontiers in Bioscience**, v. 3, p. 1192-1208, 1998.

DÜRST, M. *et al.* Papillomavirus sequences integrate near cellular oncogenes in some cervical carcinomas. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 4, p. 1070-1074, 1987.

EGAWA, N. *et al.* Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. **Viruses**, v. 7, n. 7, p. 3863-3890, 2015.

EINSTEIN, M. H. *et al.* Heat shock fusion protein-based immunotherapy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia III. **Gynecologic Oncology**, v. 106, n. 3, p. 453-460, 2007.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-E386, 2015.

FERRARA, A. *et al.* Dendritic cell-based tumor vaccine for cervical cancer II: results of a clinical pilot study in 15 individual patients. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 129, n. 9, p. 521-530, 2003.

FISCHER, R. *et al.* Plant-based production of biopharmaceuticals. **Current opinion in plant biology**, v. 7, n. 2, p. 152-158, 2004.

FONTENOT, J. D. *et al.* A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. **Nature Immunology**, v. 6, n. 11, p. 1142, 2005.

FORSLUND, O. *et al.* Cutaneous human papillomaviruses found in sun-exposed skin: Beta-papillomavirus species 2 predominates in squamous cell carcinoma. **Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. 6, p. 876-883, 2007.

FRANCONI, R. *et al.* Exploiting the plant secretory pathway to improve the anticancer activity of a plant-derived HPV16 E7 vaccine. **International journal of immunopathology and pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 205873920601900119, 2006.

FRAZER, I. H. *et al.* Phase 1 study of HPV16-specific immunotherapy with E6E7 fusion protein and ISCOMATRIX™ adjuvant in women with cervical intraepithelial neoplasia. **Vaccine**, v. 23, p. 172–181, 2004.

FREEMAN, G. J. *et al.* Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 192, n. 7, p. 1027-1034, 2000.

FREITAS, A. C. *et al.* Human papillomavirus vertical transmission: review of current data. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 10, p. 1451-1456, 2013.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, p. 183-184, 2014.

GARCIA, F. *et al.* ZYC101a for treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. **Obstetrics & Gynecology**, v. 103, n. 2, p. 317-326, 2004.

GARCIA-HERNANDEZ, E. *et al.* Regression of papilloma high-grade lesions (CIN 2 and CIN 3) is stimulated by therapeutic vaccination with MVA E2 recombinant vaccine. **Cancer Gene Therapy**, v. 13, n. 6, p. 592, 2006.

GARCIA-IGLESIAS, T. *et al.* Low NKp30, NKp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions. **BMC Cancer**, v. 9, n. 1, p. 186, 2009.

GARLAND, S. M. *et al.* Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 19, p. 1928-1943, 2007.

GAROLLA, A.; PIZZOL, D.; FORESTA, C. The role of human papillomavirus on sperm function. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 23, n. 4, p. 232-237, 2011.

GEE, J. *et al.* Monitoring the safety of quadrivalent human papillomavirus vaccine: findings from the Vaccine Safety Datalink. **Vaccine**, v. 29, n. 46, p. 8279-8284, 2011.

GEORGOPOULOS, N. T.; PROFFITT, J. L.; BLAIR, G. E. Transcriptional regulation of the major histocompatibility complex (MHC) class I heavy chain, TAP1 and LMP2 genes by the human papillomavirus (HPV) type 6b, 16 and 18 E7 oncoproteins. **Oncogene**, v. 19, n. 42, p. 4930, 2000.

GHITTONI, R. *et al.* Role of human papillomaviruses in carcinogenesis. **Ecancermedicalscience**, v. 9, 2015.

GLANVILLE, J. *et al.* **Development and testing of search filters to identify economic evaluations in MEDLINE and EMBASE**. Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2009. Disponível em: https://www.cadth.ca/media/pdf/H0490_Search_Filters_for_Economic_Evaluations_mg_e.pdf f. Acesso em: dez. 2018

GLOBOCAN – **Cervix uteri.** Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/23-Cervix-uteri-fact-sheet.pdf>. Acesso em: 07 Dez. 2018

GOMES MARTINS, L. *et al.* Examen de papanicolaou: factores que influyen a las mujeres a no recibir el resultado. **Enfermería Global**, n. 20, 2010.

GOMEZ, L. M. *et al.* Placental infection with human papillomavirus is associated with spontaneous preterm delivery. **Human reproduction**, v. 23, n. 3, p. 709-715, 2008.

GONÇALVES, M. A. G.; DONADI, E. A. Immune cellular response to HPV: current concepts. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2004.

GOULART, B. H. L.; RAMSEY, S. D.; PARVATHANENI, U. Observational study designs for comparative effectiveness research: an alternative approach to close evidence gaps in head-and-neck cancer. **International Journal of Radiation Oncology**, v. 88, n. 1, p. 106-114, 2014.

GRASSEGER, A. *et al.* Spontaneous or interferon- γ -induced T-cell infiltration, HLA-DR and ICAM-1 expression in genitoanal warts are associated with TH1 or mixed TH1/TH2 cytokine mRNA expression profiles. **Archives of Dermatological Research**, v. 289, n. 5, p. 243-250, 1997.

GRAZIOTTIN, A.; SERAFINI, . HPV infection in women: psychosexual impact of genital warts and intraepithelial lesions. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 6, n. 3, p. 633-645, 2009.

GREENFIELD, W. W. *et al.* A phase I dose-escalation clinical trial of a peptide-based human papillomavirus therapeutic vaccine with Candida skin test reagent as a novel vaccine adjuvant for treating women with biopsy-proven cervical intraepithelial neoplasia 2/3. **Oncoimmunology**, v. 4, n. 10, p. e1031439, 2015.

GRULICH, A. E. *et al.* Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. **The Lancet**, v. 370, n. 9581, p. 59-67, 2007.

GUNN, G. R. *et al.* Two *Listeria monocytogenes* vaccine vectors that express different molecular forms of human papilloma virus-16 (HPV-16) E7 induce qualitatively different T cell immunity that correlates with their ability to induce regression of established tumors immortalized by HPV-16. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 11, p. 6471-6479, 2001.

GUNN, G. R. *et al.* Two *Listeria monocytogenes* vaccine vectors that express different molecular forms of human papilloma virus-16 (HPV-16) E7 induce qualitatively different T cell immunity that correlates with their ability to induce regression of established tumors immortalized by HPV-16. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 11, p. 6471-6479, 2001.

GUPTA, S.; SHANG, W.; SUN, Z. Mechanisms regulating the development and function of natural regulatory T cells. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 56, n. 2, p. 85, 2008.

GUTIERREZ, C. M. C. *et al.* Therapeutic Vaccination with MVA E2 Can Eliminate Precancerous Lesions (CIN 1, CIN 2, and CIN 3) Associated with Infection by Oncogenic Human Papillomavirus. **Human Gene Therapy**, v. 15, p. 421–431, 2004.

HALLEZ, S. *et al.* Phase I/II trial of immunogenicity of a human papillomavirus (HPV) type 16 E7 protein-based vaccine in women with oncogenic HPV-positive cervical intraepithelial neoplasia. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 53, n. 7, p. 642-650, 2004.

HALLIGAN, S. Systematic reviews and meta-analysis of diagnostic tests. **Clinical radiology**, v. 60, n. 9, p. 977-979, 2005.

HALLMO, P.; NAESS, O. Laryngeal papillomatosis with human papillomavirus DNA contracted by a laser surgeon. **European Archives of Otorhino-laryngology**, v. 248, n. 7, p. 425-427, 1991.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HANCOCK, G.; HELLNER, K.; DORRELL, L. Therapeutic HPV vaccines. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 47, p. 59-72, 2018.

HARARI, A. *et al.* Functional signatures of protective antiviral T-cell immunity in human virus infections. **Immunological Reviews**, v. 211, n. 1, p. 236-254, 2006.

HARPER, D. M. *et al.* The efficacy and safety of Tipapkinogen Sovacivec therapeutic HPV vaccine in cervical intraepithelial neoplasia grades 2 and 3: Randomized controlled phase II trial with 2.5 years of follow-up. **Gynecologic oncology**, [2019?]. No prelo

HASAN, U A. *et al.* TLR9 expression and function is abolished by the cervical cancer-associated human papillomavirus type 16. **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 5, p. 3186-3197, 2007.

HEBNER, C. M.; LAIMINS, L A. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. **Reviews in Medical Virology**, v. 16, n. 2, p. 83-97, 2006.

HECK, J. E. *et al.* Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. **International Journal of Epidemiology**, v. 39, n. 1, p. 166-181, 2009.

HEFFERON, K. Plant virus expression vectors: a powerhouse for global health. **Biomedicines**, v. 5, n. 3, p. 44, 2017.

HERD, K. A. *et al.* Recombinant Kunjin virus replicon vaccines induce protective T-cell immunity against human papillomavirus 16 E7-expressing tumour. **Virology**, v. 319, n. 2, p. 237-248, 2004.

HIGGINS J. P. T.; GREEN, S. (editors). **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0**. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em : <www.handbook.cochrane.org.> Acesso em: dez. 2018.

HINRICHS, C. S. *et al.* A phase I/II clinical trial of E6 T-cell receptor gene therapy for human papillomavirus (HPV)-associated epithelial cancers. **Journal of Clinical Oncology**, v.35, n. 15, 2017.

HOLLOWAY, P. *et al.* Natural history of dysplasia of the uterine cervix. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 91, n. 3, p. 252-258, 1999.

HSU, K. *et al.* Enhancement of suicidal DNA vaccine potency by linking Mycobacterium tuberculosis heat shock protein 70 to an antigen. **Gene Therapy**, v. 8, p. 376–383, 2001.

HUANG, S-M.; MCCANCE, D. J. Down regulation of the interleukin-8 promoter by human papillomavirus type 16 E6 and E7 through effects on CREB binding protein/p300 and P/CAF. **Journal of Virology**, v. 76, n. 17, p. 8710-8721, 2002.

HUBERT, P. *et al.* Altered α -defensin 5 expression in cervical squamocolumnar junction: implication in the formation of a viral/tumour-permissive microenvironment. **The Journal of Pathology**, v. 234, n. 4, p. 464-477, 2014.

HUNG, C-F. *et al.* DNA vaccines for cervical cancer: from bench to bedside. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 39, n. 6, p. 679, 2007.

HUNG, C-F. *et al.* Therapeutic human papillomavirus vaccines: current clinical trials and future directions. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 8, n. 4, p. 421-439, 2008.

HUNG, C-F.; WU, T. C. Improving DNA vaccine potency via modification of professional antigen presenting cells. **Current Opinion in Molecular Therapeutics**, v. 5, n. 1, p. 20-24, 2003.

HUTCHINSON, M. L.; BERGER, B. M.; FARBER, F. L. Clinical and cost implications of new technologies for cervical cancer screening: the impact of test sensitivity. **The American journal of managed care**, v. 6, n. 7, p. 766-780, 2000.

INCA- Instituto Nacional de Câncer. **Tipos de Câncer: câncer do colo do útero**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-colo-do-utero>. Acesso em: 03 Dez. 2018

INTERNATIONAL COLLABORATION OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CERVICAL CANCER *et al.* Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461 women with cervical carcinoma and 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 4, p. 1060, 2009.

JAISAMRARN, U. *et al.* Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e79260, 2013.

JANSEN, M. W. J. *et al.* Public health: disconnections between policy, practice and research. **Health Research Policy and Systems**, v. 8, n. 1, p. 37, 2010.

JIANG, Y-M.; CHEN, C-X.; LI, L. Meta-analysis of cold-knife conization versus loop electrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia. **Onco Targets and Therapy**, v. 9, p. 3907, 2016.

JOHANSSON, C. *et al.* HPV-16 E2 contributes to induction of HPV-16 late gene expression by inhibiting early polyadenylation. **The EMBO Journal**, v. 31, n. 14, p. 3212-3227, 2012.

JOURA, E. A. *et al.* A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 8, p. 711-723, 2015.

JUNE, C. H. *et al.* The B7 and CD28 receptor families. **Immunology today**, v. 15, n. 7, p. 321-331, 1994.

KADZE, R. *et al.* Temperature variable and the efficiency of sperm mediated transfection of HPV16 DNA into cells. **Asian journal of andrology**, v. 4, n. 3, p. 169-174, 2002.

KANODIA, S.; FAHEY, L. M.; KAST, W. M. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. **Current Cancer Drug Targets**, v. 7, n. 1, p. 79-89, 2007.

KARAKI, S. *et al.* Is there still room for cancer vaccines at the era of checkpoint inhibitors. **Vaccines**, v. 4, n. 4, p. 37, 2016.

KARIM, R. *et al.* Human papillomavirus deregulates the response of a cellular network comprising of chemotactic and proinflammatory genes. **PLoS One**, v. 6, n. 3, p. e17848, 2011.

KASH, N. *et al.* Safety and efficacy data on vaccines and immunization to human papillomavirus. **Journal of Clinical Medicine**, v. 4, n. 4, p. 614-633, 2015.

KAST, W. M. *et al.* Cellular immunity against human papillomavirus associated cervical cancer. **Seminars in Virology**, v. 7, n.2, p. 117-123, 1996.

KAUFMANN, A. M. *et al.* Safety and immunogenicity of TA-HPV, a recombinant vaccinia virus expressing modified human papillomavirus (HPV)-16 and HPV-18 E6 and E7 genes, in women with progressive cervical cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 8, n. 12, p. 3676-3685, 2002.

KAUFMANN, A. M. *et al.* Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3). **International Journal of Cancer**, v. 121, n. 12, p. 2794-2800, 2007.

KAWANA, K. *et al.* Oral vaccination against HPV E7 for treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3) elicits E7-specific mucosal immunity in the cervix of CIN3 patients. **Vaccine**, v. 32, n. 47, p. 6233-6239, 2014.

KENTER, G. G. *et al.* Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 19, p. 1838-1847, 2009.

KHAN, A. M. *et al.* Smoking and multicentric vulval intraepithelial neoplasia. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 29, n. 2, p. 123-125, 2009.

KIM, J. H. *et al.* Enhancement of dendritic cell-based vaccine potency by anti-apoptotic siRNAs targeting key pro-apoptotic proteins in cytotoxic CD8⁺ T cell-mediated cell death. **Immunology Letters**, v. 122, n. 1, p. 58-67, 2009.

KIM, T. J. *et al.* Clearance of persistent HPV infection and cervical lesion by therapeutic DNA vaccine in CIN3 patients. **Nature Communications**, v. 5, p. 5317, 2014.

KOCKEN, M. *et al.* Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: a long-term multi-cohort study. **The Lancet Oncology**, v. 12, n. 5, p. 441-450, 2011.

KOVATS, S. Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways. **Cellular Immunology**, v. 294, n. 2, p. 63-69, 2015.

KREIMER, A. R. *et al.* Human papillomavirus testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for posttreatment cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 disease. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 15, n. 5, p. 908-914, 2006.

KUMAR, S.; BISWAS, M.; JOSE, T. HPV vaccine: current status and future directions. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 71, n. 2, p. 171-177, 2015.

KYRGIU, M. *et al.* Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v. 354, p. i3633, 2016.

KYRGIU, M.; MITRA, A.; MOSCICKI, A-B. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer?. **Translational Research**, v. 179, p. 168-182, 2017.

LACEY, C. J. N. *et al.* 2012 European guideline for the management of anogenital warts. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. 3, p. e263-e270, 2013.

LAM, P.; STEINMETZ, N. F. Plant viral and bacteriophage delivery of nucleic acid therapeutics. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 10, n. 1, p. e1487, 2018.

LAMIKANRA, A. *et al.* Regression of established human papillomavirus type 16 (HPV-16) immortalized tumors in vivo by vaccinia viruses expressing different forms of HPV-16 E7 correlates with enhanced CD8⁺ T-cell responses that home to the tumor site. **Journal of Virology**, v. 75, n. 20, p. 9654-9664, 2001.

LAMPRECHT, R. L. *et al.* Production of Human papillomavirus pseudovirions in plants and their use in pseudovirion-based neutralisation assays in mammalian cells. **Scientific Reports**, v. 6, p. 20431, 2016.

LASARO, M. O. *et al.* Anti-tumor DNA vaccines based on the expression of human papillomavirus-16 E6/E7 oncoproteins genetically fused with the glycoprotein D from herpes simplex virus-1. **Microbes and Infection**, v. 7, p. 1541-1550, 2005.

LE BORGNE, M. *et al.* Dendritic cells rapidly recruited into epithelial tissues via CCR6/CCL20 are responsible for CD8+ T cell crosspriming in vivo. **Immunity**, v. 24, n. 2, p. 191-201, 2006.

LEE, S-J. *et al.* Both E6 and E7 oncoproteins of human papillomavirus 16 inhibit IL-18-induced IFN- γ production in human peripheral blood mononuclear and NK cells. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 1, p. 497-504, 2001.

LEE, S-J. *et al.* Immunotherapy for human papillomavirus-associated disease and cervical cancer: review of clinical and translational research. **Journal of Gynecologic Oncology**, v. 27, n. 5, 2016.

LEHTINEN, M.; DILLNER, J. Clinical trials of human papillomavirus vaccines and beyond. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 10, n. 7, p. 400, 2013.

LEITE, K. N. S. *et al.* Exame Papanicolau: fatores que influenciam a não realização do exame em mulheres de 40 a 65 anos. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 25, n. 2, p. 15-19, 2018.

LEPIQUE, A. P. *et al.* HPV16 tumor associated macrophages suppress antitumor T cell responses. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 13, p. 4391-4400, 2009.

LETO, M. G. P. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2011.

LI, N. *et al.* Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. **International Journal of Cancer**, v. 128, n. 4, p. 927-935, 2011.

LIMBERGER, A. *et al.* Aspectos imunológicos da infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV). **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 111-122, 2012.

LIN, K. *et al.* Perspectives for preventive and therapeutic HPV vaccines. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 109, n. 1, p. 4-24, 2010.

LOPES-JÚNIOR, L. C. *et al.* Systematic review protocol examining the effectiveness of hospital clowns for symptom cluster management in paediatrics. **BMJ open**, v. 9, n. 1, 2019.

LORENZON, L. *et al.* Human papillomavirus and colorectal cancer: evidences and pitfalls of published literature. **International journal of colorectal disease**, v. 26, n. 2, p. 135-142, 2011.

LYFORD-PIKE, S. *et al.* Evidence for a role of the PD-1: PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. **Cancer research**, v. 73, n. 6, p. 1733-1741, 2013.

MA, B. *et al.* HPV and therapeutic vaccines: where are we in 2010?. **Current Cancer Therapy Reviews**, v. 6, n. 2, p. 81-103, 2010.

MACIAG, P. C.; RADULOVIC, S.; ROTHMAN, J. The first clinical use of a live-attenuated *Listeria monocytogenes* vaccine: a Phase I safety study of Lm-LLO-E7 in patients with advanced carcinoma of the cervix. **Vaccine**, v. 27, n. 30, p. 3975-3983, 2009.

MACKOVA, J. *et al.* Adjuvant effect of dendritic cells transduced with recombinant vaccinia virus expressing HPV16-E7 is inhibited by co-expression of IL12. **International Journal of Oncology**, v. 24, n. 6, p. 1581-1588, 2004.

MAHANTY, S.; PRIGENT, A.; GARRAUD, O. Immunogenicity of infectious pathogens and vaccine antigens. **BMC Immunology**, v. 16, n. 1, p. 31, 2015.

MAHDAVI, A.; MONK, B. J. Vaccines against human papillomavirus and cervical cancer : Promises and challenges. **The oncologist**, v. 10, p. 528–538, 2005.

MAJOR, T. *et al.* The characteristics of human papillomavirus DNA in head and neck cancers and papillomas. **Journal of Clinical Pathology**, v. 58, n. 1, p. 51-55, 2005.

MALDONADO, L. *et al.* Intramuscular therapeutic vaccination targeting HPV16 induces T cell responses that localize in mucosal lesions. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 221, p. 221ra13-221ra13, 2014.

MALMGAARD, L. Induction and regulation of IFNs during viral infections. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 24, n. 8, p. 439-454, 2004.

MALOY, K. J.; POWRIE, F. Fueling regulation: IL-2 keeps CD4+ T reg cells fit. **Nature Immunology**, v. 6, n. 11, p. 1071, 2005.

MANTOVANI, A. *et al.* The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 12, p. 677-686, 2004.

MAO, C-P. *et al.* Combined administration with DNA encoding vesicular stomatitis virus G protein enhances DNA vaccine potency. **Journal of Virology**, v. 84, n. 5, p. 2331-2339, 2010.

MARCOUX, D. *et al.* Pediatric anogenital warts: a 7-year review of children referred to a tertiary-care hospital in Montreal, Canada. **Pediatric Dermatology**, v. 23, n. 3, p. 199-207, 2006.

MARIANI, L.; VENUTI, A. HPV vaccine: an overview of immune response, clinical protection, and new approaches for the future. **Journal of Translational Medicine**, v. 8, n. 1, p. 105, 2010.

MARKOWITZ, L. E. *et al.* Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports**, v. 63, n. 5, p. 1-30, 2014.

MASSA, S. *et al.* A plant protein signal sequence improved humoral immune response to HPV prophylactic and therapeutic DNA vaccines. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 13, n. 2, p. 271-282, 2017.

MATIJEVIC, M. *et al.* Immunization with a poly (lactide co-glycolide) encapsulated plasmid DNA expressing antigenic regions of HPV 16 and 18 results in an increase in the precursor frequency of T cells that respond to epitopes from HPV 16, 18, 6 and 11. **Cellular Immunology**, v. 270, n. 1, p. 62-69, 2011.

MATTHEWS, K. *et al.* Depletion of Langerhans cells in human papillomavirus type 16-infected skin is associated with E6-mediated down regulation of E-cadherin. **Journal of Virology**, v. 77, n. 15, p. 8378-8385, 2003.

MAUCORT-BOULCH, D. *et al.* Predictors of human papillomavirus persistence among women with equivocal or mildly abnormal cytology. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 3, p. 684-691, 2010.

MAW, R. Critical appraisal of commonly used treatment for genital warts. **International Journal of STD & AIDS**, v. 15, n. 6, p. 357-364, 2004.

MAZUREK MELNYK, B. *et al.* Making the case for evidence-based practice and cultivating a spirit of inquiry. In: MELNYK, B.M., FINEOUT-OVERHOLT, E. **Evidence-based practice in nursing & healthcare. A guide to best practice**. 2.ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2011. p. 3-24.

MCBRIDE, A. A. The papillomavirus E2 proteins. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 57-79, 2013.

MCLAUGHLIN-DRUBIN, M. E.; MEYERS, J.; MUNGER, K. Cancer associated human papillomaviruses. **Current Opinion in Virology**, v. 2, n. 4, p. 459-466, 2012.

MEDEIROS, L. R. *et al.* Vertical transmission of the human papillomavirus: a systematic quantitative review. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 1006-1015, 2005.

MEERPOHL, J. J. *et al.* Scientific value of systematic reviews: survey of editors of core clinical journals. **PloS One**, v. 7, n. 5, p. e35732, 2012.

MELIEF, C. J. M *et al.* Therapeutic cancer vaccines. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 9, p. 3401-3412, 2015.

MELNYK, B. M. *et al.* Evidence-based practice: step by step: the seven steps of evidence-based practice. **AJN The American Journal of Nursing**, v. 110, n. 1, p. 51-53, 2010.

MESQUITA JR, D. *et al.* Autoimmune diseases in the TH17 era. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, n. 6, p. 476-486, 2009.

METHLEY, A. M. *et al.* PICO, PICOS and SPIDER: a comparison study of specificity and sensitivity in three search tools for qualitative systematic reviews. **BMC Health Services Research**, v. 14, n. 1, p. 579, 2014.

MEYER, S. I.; FUGLSANG, K.; BLAAKAER, J. Cell-mediated immune response: a clinical review of the therapeutic potential of human papillomavirus vaccination. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 93, n. 12, p. 1209-1218, 2014.

MEZACHE, L. *et al.* Enhanced expression of PD L1 in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancers. **Modern Pathology**, v. 28, n. 12, p. 1594, 2015.

MILES, B. A.; MONK, B. J.; SAFRAN, H. P. Mechanistic insights into ADXS11-001 human papillomavirus-associated cancer immunotherapy. **Gynecologic Oncology Research and Practice**, v. 4, n. 1, p. 9, 2017.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **Annals of Internal Medicine**, v. 151, n. 4, p. 264-269, 2009.

MONNIER-BENOIT, S. *et al.* Immunohistochemical analysis of CD4+ and CD8+ T-cell subsets in high risk human papillomavirus-associated pre-malignant and malignant lesions of the uterine cervix. **Gynecologic Oncology**, v. 102, n. 1, p. 22-31, 2006.

MONSONEGO, J. *et al.* Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). **Gynecologic Oncology**, v. 125, n. 1, p. 175-180, 2012.

MOODY, C. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. **Nature Reviews Cancer**, v. 10, n. 8, p. 550, 2010.

MORROW, M. P. *et al.* Augmentation of cellular and humoral immune responses to HPV16 and HPV18 E6 and E7 antigens by VGX-3100. **Molecular Therapy-Oncolytics**, v. 3, p. 16025, 2016.

MORTENSEN, G. L.; LARSEN, H. K. The quality of life of patients with genital warts: a qualitative study. **BMC Public Health**, v. 10, n. 1, p. 113, 2010.

MOSCICKI, A-B. *et al.* Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. **Jama**, v. 285, n. 23, p. 2995-3002, 2001.

MOSCICKI, A-B. *et al.* Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. **Vaccine**, v. 30, p. F24-F33, 2012.

MUNOZ, N. *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **New England journal of medicine**, v. 348, n. 6, p. 518-527, 2003.

MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X. Relación causal entre virus del papiloma humano y cáncer cervicouterino y consecuencias para la prevención. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 121, n.6, p.550-566, 1996.

NANDA, K. *et al.* Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. **Annals of Internal Medicine**, v. 132, n. 10, p. 810-819, 2000.

NANDI, S. *et al.* Techno-economic analysis of a transient plant-based platform for monoclonal antibody production. **MAbs**. v. 8, n.8 p. 1456-1466, 2016.

NARISAWA-SAITO, M.; KIYONO, T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: Roles of E6 and E7 proteins. **Cancer Science**, v. 98, n. 10, p. 1505-1511, 2007.

NATALE, C. *et al.* Computer-assisted analysis of molecular mimicry between human papillomavirus 16 E7 oncoprotein and human protein sequences. **Immunology and Cell Biology**, v. 78, n. 6, p. 580-585, 2000.

NEDEL, W. L.; SILVEIRA, F. Os diferentes delineamentos de pesquisa e suas particularidades na terapia intensiva. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 28, n. 3, p. 256-260, 2016.

NEWTON, K.; DIXIT, V. M. Signaling in innate immunity and inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 3, p. a006049, 2012.

NIEBLER, M. *et al.* Post-translational control of IL-1 β via the human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein: a novel mechanism of innate immune escape mediated by the E3-ubiquitin ligase E6-AP and p53. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 8, p. e1003536, 2013.

NIETO, K.; GISSMANN, L.; SCHADLICH, L. Human papillomavirus-specific immune therapy: failure and hope. **Antiviral Therapy**, v. 15, n. 7, p. 951, 2010.

NOVAES, H. M. D. *et al.* Avaliação tecnológica de vacinas para a prevenção de infecção por papilomavírus humano (HPV): estudo de custo-efetividade da incorporação de vacina contra HPV no Programa Nacional de Imunizações/PNI do Brasil. **Relatório Técnico-científico. Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da USP**, p. 154, 2012.

NOVAES, H. M. D. *et al.* Annual national direct and indirect cost estimates of the prevention and treatment of cervical cancer in Brazil. **Clinics**, v. 70, n. 4, p. 289-295, 2015.

O'ROURKE, K.; DETSKY, A. S. Meta-analysis in medical research: strong encouragement for higher quality in individual research efforts. **Journal of clinical epidemiology**, v. 42, n. 10, p. 1021-1024, 1989.

OSTÖR, A. G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. **International journal of gynecological pathology: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists**, v. 12, n. 2, p. 186-192, 1993.

ØVESTAD, I. T. *et al.* Local immune response in the microenvironment of CIN2–3 with and without spontaneous regression. **Modern pathology**, v. 23, n. 9, p. 1231, 2010.

OXMAN, A. D.; LAVIS, J. N.; FRETHEIM, A. Use of evidence in WHO recommendations. **The Lancet**, v. 369, n. 9576, p. 1883-1889, 2007.

PAAVONEN, J. *et al.* Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. **The Lancet**, v. 374, n. 9686, p. 301-314, 2009.

PADILLA-PAZ, L. A. Human Papillomavirus Vaccine: History , Immunology , Current Status, and Future Prospects. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 48, n. 1, p. 226–240, 2005.

PAGLIUSI, S. R.; AGUADO, M. T.. Efficacy and other milestones for human papillomavirus vaccine introduction. **Vaccine**, v. 23, n. 5, p. 569-578, 2004.

PALEFSKY, J. M. *et al.* A trial of SGN-00101 (HspE7) to treat high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive individuals. **Aids**, v. 20, n. 8, p. 1151-1155, 2006.

PARDOLL, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 4, p. 252, 2012.

PARKIN, D. M.; BRAY, F. The burden of HPV-related cancers. **Vaccine**, v. 24, p. S11-S25, 2006.

PASSOS, M. R. L. *et al.* Papilomavirose humana em genital, parte I. **DST– Jornal brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 20, n. 2, p. 108-124, 2008.

PEGHINI, B. C. *et al.* Local cytokine profiles of patients with cervical intraepithelial and invasive neoplasia. **Human immunology**, v. 73, n. 9, p. 920-926, 2012.

PENG, S. *et al.* Vaccination with dendritic cells transfected with BAK and BAX siRNA enhances antigen-specific immune responses by prolonging dendritic cell life. **Human Gene Therapy**, v. 16, n. 5, p. 584-593, 2005.

PERINO, A. *et al.* Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 5, p. 1845-1848, 2011.

PERUZZI, P. P.; CHIOCCA, E. A. Cancer immunotherapy: A vaccine from plant virus proteins. **Nature Nanotechnology**, v. 11, n. 3, p. 214, 2016.

PETO, J. *et al.* The cervical cancer epidemic that screening has prevented in the UK. **The Lancet**, v. 364, n. 9430, p. 249-256, 2004.

PETROSKY, E. *et al.* Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 64, n. 11, p. 300, 2015.

PLUMMER, M. *et al.* Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. **The Lancet Global Health**, v. 4, n. 9, p. e609-e616, 2016.

POWELL, N. *et al.* Cervical cancers associated with human papillomavirus types 16, 18 and 45 are diagnosed in younger women than cancers associated with other types: a cross-sectional observational study in Wales and Scotland (UK). **Journal of Clinical Virology**, v. 58, n. 3, p. 571-574, 2013.

PRATA, T. T. M. *et al.* Local immunosuppression induced by high viral load of human papillomavirus: characterization of cellular phenotypes producing interleukin-10 in cervical neoplastic lesions. **Immunology**, v. 146, n. 1, p. 113-121, 2015.

PYEON, D. *et al.* Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. **PLoS pathogens**, v. 5, n. 2, p. e1000318, 2009.

RAJ, K. *et al.* E1^E4 protein of human papillomavirus type 16 associates with mitochondria. **Journal of Virology**, v. 78, n. 13, p. 7199-7207, 2004.

RAMANAKUMAR, A. V. *et al.* Incidence and duration of type-specific human papillomavirus infection in high-risk HPV-naïve women: results from the control arm of a phase II HPV-16/18 vaccine trial. **BMJ Open**, v. 6, n. 8, p. e011371, 2016.

RAMANATHAN, P. *et al.* Development and clinical evaluation of dendritic cell vaccines for HPV related cervical cancer-a feasibility study. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 14, p. 5909-16, 2014.

RAMOS, C. A. *et al.* Human papillomavirus type 16 E6/E7-specific cytotoxic T lymphocytes for adoptive immunotherapy of HPV-associated malignancies. **Journal of Immunotherapy**, v. 36, n. 1, p. 66, 2013.

REICH, O. *et al.* Cervical intraepithelial neoplasia III: long-term follow-up after cold-knife conization with involved margins. **Obstetrics & Gynecology**, v. 99, n. 2, p. 193-196, 2002.

REIS, A. A. da Silva *et al.* Papilomavírus humano e saúde pública: prevenção ao carcinoma de cérvix uterina. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1055-1060, 2010.

REUSCHENBACH, M. *et al.* A phase 1/2a study to test the safety and immunogenicity of a p16INK4a peptide vaccine in patients with advanced human papillomavirus-associated cancers. **Cancer**, v. 122, n. 9, p. 1425-1433, 2016.

RICHARDS, K. H. *et al.* The human papillomavirus (HPV) E7 protein antagonises an Imiquimod-induced inflammatory pathway in primary human keratinocytes. **Scientific reports**, v. 5, p. 12922, 2015.

RICHART, RALPH M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 10, n. 4, p. 748-784, 1967.

RIMLAND, B.; MCGINNIS, W. Vaccines and autism. **Lab Medicine**, v. 33, n. 9, p. 708-717, 2002.

RODRIGUES, A. M. X.; BARBOSA, M. L.; MATOS, M. D. L. P. Importância do Exame Papanicolau no Diagnóstico Precoce de Câncer do Colo de útero/Importance of Pap Test for Early Diagnosis of Cancer of Cervical Uterus Cancer. **Revista Multiprofissional em Saúde do Hospital São Marcos**, v. 1, n. 1, p. 58-63, 2013.

ROMAGNANI, S. Lymphokine production by human T cells in disease states. **Annual review of immunology**, v. 12, n. 1, p. 227-257, 1994.

ROMAN, L. D. *et al.* A phase II study of Hsp-7 (SGN-00101) in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. **Gynecologic oncology**, v. 106, n. 3, p. 558-566, 2007.

ROMBALDI, R. L. *et al.* Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. **Virology journal**, v. 6, n. 1, p. 83, 2009.

ROSALES, C. *et al.* A recombinant vaccinia virus containing the papilloma E2 protein promotes tumor regression by stimulating macrophage antibody-dependent cytotoxicity. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 49, n. 7, p. 347-360, 2000.

ROSALES, C.; ROSALES, R. Prophylactic and therapeutic vaccines against human papillomavirus infections. *In: Vaccines*. IntechOpen, 2017.

ROSALES, R. *et al.* Regression of human papillomavirus intraepithelial lesions is induced by MVA E2 therapeutic vaccine. **Human Gene Therapy**, v. 25, n. 12, p. 1035-1049, 2014.

ROSENBERG, S. A. *et al.* Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 13, p. 4550-4557, 2011.

ROSITCH, A. F. *et al.* The incidence of human papillomavirus infection following treatment for cervical neoplasia: a systematic review. **Gynecologic Oncology**, v. 132, n. 3, p. 767-779, 2014.

ROURA, E. *et al.* The influence of hormonal factors on the risk of developing cervical cancer and pre-cancer: results from the EPIC cohort. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0147029, 2016.

RYBICKI, E. P. Plant-based vaccines against viruses. **Virology Journal**, v. 11, n. 1, p. 205, 2014.

RYU, W-S. *Papillomaviruses*. *In: RYU, Wang-Shick. Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses*. 1 ed. Coreia do Sul: Academic Press, 2016. Capítulo 7

SACK, M. *et al.* The increasing value of plant-made proteins. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 163-170, 2015.

SACKETT, D. L. *et al.* Evidence based medicine: what it is and what it isn't. **BMJ**, v.312, 1996.

SANKARANARAYANAN, R. *et al.* HPV vaccination: the promise & problems. **Indian Journal of Medical Research**, v. 130, n. 3, p. 322, 2009.

SANTIN, A. D. *et al.* Therapeutic vaccines for cervical cancer: dendritic cell-based immunotherapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, n. 27, p. 3485-3500, 2005.

SASIENI, P.; ADAMS, J.; CUZICK, J. Benefit of cervical screening at different ages: evidence from the UK audit of screening histories. **British Journal of Cancer**, v. 89, n. 1, p. 88, 2003.

SCHIFFMAN, M. *et al.* Carcinogenic human papillomavirus infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 16086, 2016.

SCHIFFMAN, M. *et al.* Human papillomavirus and cervical cancer. **The Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 890-907, 2007.

SCHILLER, J. T.; DAY, P. M.; KINES, R. C. Current understanding of the mechanism of HPV infection. **Gynecologic Oncology**, v. 118, n. 1, p. S12-S17, 2010.

SCHNUPF, P.; PORTNOY, D. A. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysin. **Microbes and Infection**, v. 9, n. 10, p. 1176-1187, 2007.

SCHWARZ, T. M. *et al.* Comparison of two surgical methods for the treatment of CIN: classical LLETZ (large-loop excision of the transformation zone) versus isolated resection of the colposcopic apparent lesion—study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 16, n. 1, p. 225, 2015.

SCOTT, M.; NAKAGAWA, M.; MOSCICKI, A-B. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 8, n. 2, p. 209-220, 2001.

SEBASTIAN, M. *et al.* Phase Ib study evaluating a self-adjuvanted mRNA cancer vaccine (RNAActive®) combined with local radiation as consolidation and maintenance treatment for patients with stage IV non-small cell lung cancer. **BMC Cancer**, v. 14, n. 1, p. 748, 2014.

SEHNAL, B.; CIBULA, D.; SLAMA, J. Factors influencing decisions about surgical treatment of cervical precancerous lesions. **Expert review of anticancer therapy**, v. 14, n. 4, p. 441-451, 2014.

SELLORS, J. W.; SANKARANARAYANAN, R. **Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a beginner's manual**. International Agency for Research on Cancer., 2003. Disponível em < <https://screening.iarc.fr/doc/Colposcopymanual.pdf> > Acesso em: jan. 2019.

SETTE, N. L. F.; GARCIA, L. F.; SANTIM, A. A. Análise dos fatores associados a não adesão das mulheres ao exame preventivo de câncer de colo de útero: uma revisão bibliográfica. **Revista UNIFEV: Ciência & Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 148-160, 2016.

SEWELL, D. A.; PAN, Z. K.; PATERSON, Y. Listeria-based HPV-16 E7 vaccines limit autochthonous tumor growth in a transgenic mouse model for HPV-16 transformed tumors. **Vaccine**, v. 26, n. 41, p. 5315-5320, 2008.

SHAMSEER, L. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. **BMJ**, v. 349, p. g7647, 2015.

SHEETS, E. E. *et al.* Immunotherapy of human cervical high-grade cervical intraepithelial neoplasia with microparticle-delivered human papillomavirus 16 E7 plasmid DNA. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 188, n. 4, p. 916-926, 2003.

SHOPE, R. E.; HURST, E. W. Infectious papillomatosis of rabbits: with a note on the histopathology. **Journal of Experimental Medicine**, v. 58, n. 5, p. 607-624, 1933.

SIDDIQI, A. *et al.* Prevalence of epithelial abnormalities and high-risk human papilloma virus in cervicovaginal Pap smears of population subgroups as a guide toward evidence-based best practice. **Diagnostic cytopathology**, 2019.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2019. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 69, n. 1, p. 7-34, 2019.

SIKORSKI, M. *et al.* Dynamics of selected MHC class I and II molecule expression in the course of HPV positive CIN treatment with the use of human recombinant IFN-γ. **Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica**, v. 83, n. 3, p. 299-307, 2004.

SIMÕES, P. W. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in breast cancer: a systematic review. **International Journal of Gynecologic Cancer**, v. 22, n. 3, p. 343-347, 2012.

SKEATE, J. G. *et al.* Current therapeutic vaccination and immunotherapy strategies for HPV-related diseases. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 12, n. 6, p. 1418-1429, 2016.

SMITH, E. R. *et al.* New biological research and understanding of Papanicolaou's test. **Diagnostic cytopathology**, v. 46, n. 6, p. 507-515, 2018.

SNIJDERS, P. JF *et al.* HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 208, n. 2, p. 152-164, 2006.

SOLARES, A. M. *et al.* Safety and immunogenicity of a human papillomavirus peptide vaccine (CIGB-228) in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia: first-in-human, proof-of-concept trial. **ISRN obstetrics and gynecology**, v. 2011, 2011.

SOLOMON, D. *et al.* The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **Jama**, v. 287, n. 16, p. 2114-2119, 2002.

SOPORI, M. Effects of cigarette smoke on the immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 5, p. 372, 2002.

SOUTTER, W. P; SASIENI, P.; PANOSKALTSIS, T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. **International journal of cancer**, v. 118, n. 8, p. 2048-2055, 2006.

SPERLING, T. *et al.* Human papillomavirus type 8 interferes with a novel C/EBP β -mediated mechanism of keratinocyte CCL20 chemokine expression and Langerhans cell migration. **PLoS pathogens**, v. 8, n. 7, p. e1002833, 2012.

STANLEY, M. A. *et al.* Immune responses to human papilloma viruses. **Indian Journal of Medical Research**, v. 130, n. 3, p. 266, 2009.

STANLEY, M. A.; PETT, M. R.; COLEMAN, N. HPV: from infection to cancer. **Biochemical Society Transactions**, v.35, n.6, p. 1456-1460, 2007.

STANLEY, M. A.; STERLING, J. C. Host responses to infection with human papillomavirus. In: **Human Papillomavirus**. Karger Publishers, 2014. p. 58-74.

STEBEN, M.; LABELLE, D. Genital warts: Canadians' perception, health-related behaviors, and treatment preferences. **Journal of lower genital tract disease**, v. 16, n. 4, p. 409-415, 2012.

STERN, P. L. *et al.* Therapy of human papillomavirus-related disease. **Vaccine**, v. 30, p. F71-F82, 2012.

STERNE, J. AC *et al.* ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. **Bmj**, v. 355, p. i4919, 2016.

STEVANOVIĆ, S. *et al.* Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 14, p. 1543, 2015.

STONE, S. C. *et al.* HPV16-associated tumors control myeloid cell homeostasis in lymphoid organs, generating a suppressor environment for T cells. **Journal of leukocyte biology**, v. 96, n. 4, p. 619-631, 2014.

STRAUB, E. *et al.* Characterization of the human papillomavirus 16 E8 promoter. **Journal of virology**, v. 89, n. 14, p. 7304-7313, 2015.

SUN, Y-Y. *et al.* Local HPV recombinant vaccinia boost following priming with an HPV DNA vaccine enhances local HPV-specific CD8+ T-cell-mediated tumor control in the genital tract. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 3, p. 657-669, 2016.

SWEET, M.; MOYNIHAN, R. Improving population health; the uses of systematic reviews. 2007.

SWINGLER, G. H.; VOLMINK, J.; IOANNIDIS, J. P. A. Number of published systematic reviews and global burden of disease: database analysis. **Bmj**, v. 327, n. 7423, p. 1083-1084, 2003.

SYRJÄNEN, S. Current concepts on human papillomavirus infections in children. **Apmis**, v. 118, n. 6-7, p. 494-509, 2010.

TACHEZY, R. *et al.* Longitudinal study of patients after surgical treatment for cervical lesions: detection of HPV DNA and prevalence of HPV-specific antibodies. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 25, n. 8, p. 492-500, 2006.

TINDLE, R. W. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. **Nature reviews. Cancer**, v. 2, n. January, p. 1-7, 2002.

TRIMBLE, C. L. *et al.* Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: A randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. **The Lancet**, v. 386, n. 10008, p. 2078-2088, 2015.

TRIMBLE, C. L. *et al.* A phase I trial of a human papillomavirus DNA vaccine for HPV16+ cervical intraepithelial neoplasia 2/3. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 1, p. 361-367, 2009.

TRIMBLE, C. L. *et al.* Naturally occurring systemic immune responses to HPV antigens do not predict regression of CIN2/3. **Cancer immunology, immunotherapy**, v. 59, n. 5, p. 799-803, 2010.

TRIMBLE, C. L. *et al.* Spontaneous regression of high-grade cervical dysplasia: effects of human papillomavirus type and HLA phenotype. **Clinical cancer research**, v. 11, n. 13, p. 4717-4723, 2005.

TSENG, C-J. *et al.* Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery. **Obstetrics & Gynecology**, v. 91, n. 1, p. 92-96, 1998.

TYRING, S. K. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, n. 1, p. S18-S26, 2000.

VAMBUTAS, A.; BONAGURA, V. R.; STEINBERG, B. M. Altered expression of TAP-1 and major histocompatibility complex class I in laryngeal papillomatosis: correlation of TAP-1 with disease. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 7, n. 1, p. 79-85, 2000.

VAN DAMME, P. *et al.* GTL001, a therapeutic vaccine for women infected with human papillomavirus 16 or 18 and normal cervical cytology: results of a phase I clinical trial. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 13, p. 3238-3248, 2016.

VAN DER BURG, S. H.; MELIEF, C. JM. Therapeutic vaccination against human papilloma virus induced malignancies. **Current opinion in immunology**, v. 23, n. 2, p. 252-257, 2011.

VAN DER BURG, S. H.; PALEFSKY, J. M. Human Immunodeficiency Virus and Human Papilloma Virus-why HPV-induced lesions do not spontaneously resolve and why therapeutic vaccination can be successful. **Journal of translational medicine**, v. 7, n. 1, p. 108, 2009.

VAN DOORSLAER, K. *et al.* Serological response to an HPV16 E7 based therapeutic vaccine in women with high-grade cervical dysplasia. **Gynecologic oncology**, v. 116, n. 2, p. 208-212, 2010.

VAN POELGEEST, M. IE *et al.* HPV16 synthetic long peptide (HPV16-SLP) vaccination therapy of patients with advanced or recurrent HPV16-induced gynecological carcinoma, a phase II trial. **Journal of translational medicine**, v. 11, n. 88, 2013.

VAN POELGEEST, M. IE *et al.* Vaccination against oncoproteins of HPV16 for noninvasive vulvar/vaginal lesions: lesion clearance is related to the strength of the T-cell response. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 10, p. 2342-2350, 2016.

VAN STEENWIJK, P. J. *et al.* A placebo-controlled randomized HPV16 synthetic long-peptide vaccination study in women with high-grade cervical squamous intraepithelial lesions. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 61, p. 1485–1492, 2012.

VAN STEENWIJK, P. J. de Vos *et al.* The long-term immune response after HPV16 peptide vaccination in women with low-grade pre-malignant disorders of the uterine cervix: a placebo-controlled phase II study. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 63, n. 2, p. 147-160, 2014.

VARNAVSKI, A. N.; YOUNG, P. R.; KHROMYKH, A. A. Stable high-level expression of heterologous genes in vitro and in vivo by noncytopathic DNA-based Kunjin virus replicon vectors. **Journal of virology**, v. 74, n. 9, p. 4394-4403, 2000.

VASCONCELOS, C. T. M. *et al.* Factors related to failure to attend the consultation to receive the results of the Pap smear test. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 22, n. 3, p. 401-407, 2014.

VELDMAN, T. *et al.* Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. **Journal of virology**, v. 75, n. 9, p. 4467-4472, 2001.

VICI, P. *et al.* Immunologic treatments for precancerous lesions and uterine cervical cancer. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 33, n. 1, p. 29, 2014.

VILLA, L. L. *et al.* Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. **Vaccine**, v. 24, n. 27-28, p. 5571-5583, 2006.

VINTERMYR, O. K. *et al.* Recurrent high-grade cervical lesion after primary conization is associated with persistent human papillomavirus infection in Norway. **Gynecologic oncology**, v. 133, n. 2, p. 159-166, 2014.

VISCIDI, R. P. *et al.* Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18, or 31 and risk of subsequent HPV infection: results from a population-based study in Costa Rica. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 13, n. 2, p. 324-327, 2004.

VISCONDI, J. Y. K. *et al.* Simple but not simpler: a systematic review of Markov models for economic evaluation of cervical cancer screening. **Clinics**, v. 73, 2018.

WAHEED, M. T. *et al.* Need of cost-effective vaccines in developing countries: What plant biotechnology can offer?. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, p. 65, 2016.

WAKEFIELD, A. J. *et al.* RETRACTED: Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. 1998.

WALBOOMERS, J. M. M. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **The Journal of pathology**, v. 189, n. 1, p. 12-19, 1999.

WALLBILLICH, J. J. *et al.* Vulvar intraepithelial neoplasia (VIN 2/3): comparing clinical outcomes and evaluating risk factors for recurrence. **Gynecologic oncology**, v. 127, n. 2, p. 312-315, 2012.

WARZECHA, H. *et al.* Oral immunogenicity of human papillomavirus-like particles expressed in potato. **Journal of virology**, v. 77, n. 16, p. 8702-8711, 2003.

WASSON, C. W. *et al.* Human papillomavirus type 18 E5 oncogene supports cell cycle progression and impairs epithelial differentiation by modulating growth factor receptor signalling during the virus life cycle. **Oncotarget**, v. 8, n. 61, p. 103581, 2017.

WELTE, S. *et al.* Mutual activation of natural killer cells and monocytes mediated by NKp80-AICL interaction. **Nature immunology**, v. 7, n. 12, p. 1334, 2006.

WELTERS, M. J. P. *et al.* Success or failure of vaccination for HPV16-positive vulvar lesions correlates with kinetics and phenotype of induced T-cell responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 107, n. 26, p. 11895–11899, 2010.

WHO, ICO. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). **Human Papillomavirus and Related Cancers in Kenya. Summary Report**, 2010.

WILLIAMS, J. **On cancer of the uterus: being the Harveian Lectures for 1886**. HK Lewis, 1888.

WINER, R. L. *et al.* Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. **New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 25, p. 2645-2654, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Guidelines for WHO guidelines**. Geneva: World Health Organization, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. **WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-second report. Geneva, World Health Organization**, p. 035-101, 2004.

XIN, H. *et al.* Adenovirus-mediated CCR7 and BTLA overexpression enhances immune tolerance and migration in immature dendritic cells. **BioMed research international**, v. 2017, 2017

YAN, J. *et al.* Induction of antitumor immunity in vivo following delivery of a novel HPV-16 DNA vaccine encoding an E6/E7 fusion antigen. **Vaccine**, v. 27, n. 3, p. 431-440, 2009.

YANEZ, R. JR *et al.* LALF32-51-E7, a HPV-16 therapeutic vaccine candidate, forms protein body-like structures when expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves. **Plant biotechnology journal**, v. 16, n. 2, p. 628-637, 2018.

YANG, A. *et al.* Perspectives for therapeutic HPV vaccine development. **Journal of biomedical science**, v. 23, p. 75-94, 2016

YANG, W. *et al.* Increased expression of programmed death (PD)-1 and its ligand PD-L1 correlates with impaired cell-mediated immunity in high-risk human papillomavirus-related cervical intraepithelial neoplasia. **Immunology**, v. 139, n. 4, p. 513-522, 2013.

YIN, W. *et al.* Dendritic cell targeting vaccine for HPV-associated cancer. **Cancer cell & microenvironment**, v. 3, n. 4, 2016.

YUGAWA, T.; KIYONO, T. Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. **Reviews in medical virology**, v. 19, n. 2, p. 97-113, 2009.

ZANDBERG, D. P. *et al.* A phase I dose escalation trial of MAGE-A3-and HPV16-specific peptide immunomodulatory vaccines in patients with recurrent/metastatic (RM) squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN). **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 64, n. 3, p. 367-379, 2015.

ZHANG, B.; SPANDAU, D. F.; ROMAN, A. E5 protein of human papillomavirus type 16 protects human foreskin keratinocytes from UV B-irradiation-induced apoptosis. **Journal of virology**, v. 76, n. 1, p. 220-231, 2002.

ZHANG, Y. *et al.* The expression of Toll-like receptor 8 and its relationship with VEGF and Bcl-2 in cervical cancer. *International journal of medical sciences*, v. 11, n. 6, p. 608, 2014.

ZHU, H. *et al.* Chlamydia trachomatis infection-associated risk of cervical cancer: a meta-analysis. **Medicine**, v. 95, n. 13, 2016.

ZHUANG, H. *et al.* Effects of cervical conisation on pregnancy outcome: a meta-analysis. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 39, n. 1, p. 74-81, 2019.

ZUR HAUSEN, H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *In: Current topics in microbiology and immunology*. Berlin: Springer, 1977. p. 1-30.

ANEXO 1 – Protocolo PROSPERO

PROSPERO

International prospective register of systematic reviews

Safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV): a systematic review

Caroline Goncalves, Fernando Nampo, Luís Lopes-Júnior, Adriana Zilly, Paulo Mayer, Gabriela Bisson

Citation

Caroline Goncalves, Fernando Nampo, Luís Lopes-Júnior, Adriana Zilly, Paulo Mayer, Gabriela Bisson. Safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV): a systematic review. PROSPERO 2017 CRD42017077428 Available from:

http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.php?ID=CRD42017077428

Review question

What are the scientific evidences on the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV)?

Searches

The search strategy will be undertaken through the following electronic bibliographic databases: MEDLINE (via PubMed), Embase (Excerpta Medica Database), Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), Web of Science, LILACS, SciELO and Scopus. In addition, secondary searches in other sources, such as, Google Scholar and registration sites of clinical trials (e.g. ClinicalTrials.gov and www.ensaiosclinicos.gov.br - The Brazilian Clinical Trials Registry (ReBEC). The reference section of the included studies will be hand searched for additional relevant studies. The search strategy will comprise for only key terms according to a pre-established PICOS acronym. There will be no restriction regarding publication date. The bibliographic software EndNote will be used to store, organize, and manage all the references and ensure a systematic and comprehensive search.

The search strategy combining MeSH terms and free-text words that will be used in MEDLINE (via PubMed) and adjusted to the other electronic databases will be as follows:

#1 (Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Neoplasia, Cervical Intraepithelial) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasms) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasm) OR (Intraepithelial Neoplasm, Cervical) OR (Intraepithelial Neoplasms, Cervical) OR (Neoplasm, Cervical Intraepithelial) OR (Neoplasms, Cervical Intraepithelial) OR (Intraepithelial Neoplasia, Cervical) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia, Grade III) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II) OR (High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (CIN) OR (High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Precancerous Conditions) OR (Preneoplastic Condition*)

#2 (Papillomaviridae) OR (Human papillomavirus) OR (Human Papilloma Viruses) OR (Papilloma Virus, Human) OR (Papilloma Viruses, Human) OR (Virus, Human Papilloma) OR (Viruses, Human Papilloma) OR (HPV, Human Papillomavirus Viruses) OR (Human Papillomavirus Viruses) OR (Human Papillomavirus Virus) OR (Papillomavirus Virus, Human) OR (Papillomavirus Viruses, Human) OR (Virus, Human Papillomavirus) OR (Viruses, Human Papillomavirus)

#3 #1 AND #2

#4 (Vaccine) OR (Immunomodulatory Therapy) OR (Therapies, Immunomodulatory) OR (Therapy, Immunomodulatory) OR (Vaccines, Neoplasm) OR (Injection, Therapeutic Vaccine) OR (Vaccinotherapy) OR (Therapeutic vaccine) OR (Vaccinotherapy) OR (Vaccine Immunogenicity) OR (Antigenicity, Vaccine) OR (Adjuvant) OR (Vaccination)

#5 #3 AND #4

#6 (Randomized Controlled Trial) OR (Controlled Clinical Trial) OR (Randomized Controlled Trials) OR (Random Allocation) OR (Clinical Trial) OR (Clinical Trials) OR (Random*) OR (Prospective Studies) OR (Control) OR (Prospective*)

#7 #5 AND #6

The searches will be re-run just before the final analyses, and further studies will be retrieved for inclusion in order to ensure the updating of the search strategy.

PROSPERO International prospective register of systematic reviews

Types of study to be included

Only Controlled Trials (randomized controlled trial and controlled clinical trials) that investigated the efficacy, immunogenicity and safety of the therapeutic vaccine will be eligible.

Condition or domain being studied

Nearly 80% of the sexually active population is infected with some subtype of human papilloma virus (HPV) which may originate a grade I cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or high-risk lesions such as CIN II or III. This virus is present in 99.7% of the cervical neoplasias and affects about 105 million women at least once in a lifetime.

The usual treatment for high grade CIN is the physical removal of the lesion, however, in many cases it does not eliminate the viral DNA allowing lesion persistence or recurrence which can evolve to cancer. These outcomes indicate the importance of developing new treatment strategies to effectively eliminate the HPV, which is precisely the purpose of the therapeutic vaccines.

Currently, in Brazil, prophylactic vaccines for the HPV associated pathologies are available in the public health system. Nonetheless, since its implementation in the vaccination agenda the adhesion has been below the expected and is happening gradually, thus any expressive impact in the population may occur only in one or two decades.

Different from the prophylactic vaccines, therapeutic vaccines being tested aim at eliminating the already present infections in such a way to prevent it from reoccurring by attacking the virus itself. The objective of the present study is to evaluate the efficacy, safety and immunogenicity of the therapeutic vaccines developed for the treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia through a systematic review of the literature.

Participants/population

Inclusion: Patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 and 3) associated with HPV.
Exclusion: Patients with other immunosuppression associated conditions.

Intervention(s), exposure(s)

Use of therapeutic vaccines for the treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia associated with HPV.

Comparator(s)/control

Control group that did not receive the therapeutic vaccine.

Context

There will be no setting restriction (e.g. ambulatory, hospital, clinics).

Main outcome(s)

The safety, the efficacy and the immunogenicity of the therapeutic vaccines used in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia associated with HPV.

Additional outcome(s)

None.

Data extraction (selection and coding)

Article selection:

1 - Identification: After performing the searches in the electronic databases, as described above, duplicates will be excluded.

2 – Screening: Titles and abstracts of studies will be screened by two independent review authors for selection of eligibility of the studies.

For inclusion in the review, the study must have assessed the safety, efficacy and the immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 and 3).

3 – Eligibility: The same two review authors will review the full-text of the retrieved articles independently to check if they meet all the inclusion criteria.

Discrepancies between the reviewers will be resolved either by discussion or, in the lack of agreement, by a third reviewer.

Data extraction:

PROSPERO

International prospective register of systematic reviews

After agreement on the selected studies, a standardized form will be used for data extraction from the studies included. The same two review authors will perform the data extraction independently. Information to be extracted will include: identification of the study; study population and baseline characteristics; type of intervention; study methodology; recruitment methods and study completion rates; main findings; outcomes and times of measurement; implications for clinical practice and conclusions. In the event of the information in any specific article is unclear or for data missing, the review author will contact the correspondent author of the study. In case, if no answer is obtained in a week, the co-authors of the study will be contacted in sequence (first to last). If no response is obtained within two weeks, the article will be excluded from the review. Discrepancies between the reviewers will be resolved either by discussion or, in the lack of agreement, by a third reviewer.

Risk of bias (quality) assessment

Two independent review authors will assess the risk of bias of the included studies using Cochrane 'Risk-of-bias' tool. This tool addresses the following domains: selection bias, reporting bias, performance bias, detection bias, attrition bias, and other sources of bias (Higgins and Altman, 2008). Discrepancies between the reviewers will be resolved either by discussion or, in the lack of agreement, by a third reviewer.

Strategy for data synthesis

We will provide a qualitative synthesis of the findings from the included studies, structured around the type of intervention, target population characteristics, type of outcome and intervention content. We will provide summaries of intervention effects for each study by calculating risk ratios (for dichotomous outcomes) or standardized mean differences (for continuous outcomes) whenever feasible.

Analysis of subgroups or subsets

Outcomes will be analyzed according to the following subgroups: HPV type, CIN grade, associated intervention, route of administration of the vaccine and type of vaccine. Throughout the analysis, new subsets may be added if significantly present in the studies.

Contact details for further information

Caroline Amélia Gonçalves
caroline.g84@hotmail.com

Organisational affiliation of the review

University of São Paulo (USP)
<http://www5.usp.br>

Review team members and their organisational affiliations

Miss Caroline Gonçalves. Universidade de São Paulo (USP)
Dr Fernando Nampo. Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA)
Dr Luís Lopes-Júnior. Universidade de São Paulo (USP)
Dr Adriana Zilly. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)
Dr Paulo Mayer. Universidade Ceuma
Dr Gabriela Bisson. Universidade de São Paulo (USP)

Type and method of review

Systematic review

Anticipated or actual start date

20 September 2018

Anticipated completion date

20 June 2019

Funding sources/sponsors

Graduate Program in Public Health Nursing from the University of São Paulo (USP)

Conflicts of interest

ANEXO 2 – Protocolo submetido ao periódico BMJ Open com parecer

Page 1 of 15

BMJ Open

Reporting checklist for protocol of a systematic review.

Based on the PRISMA-P guidelines.

Instructions to authors

Complete this checklist by entering the page numbers from your manuscript where readers will find each of the items listed below.

Your article may not currently address all the items on the checklist. Please modify your text to include the missing information. If you are certain that an item does not apply, please write "n/a" and provide a short explanation.

Upload your completed checklist as an extra file when you submit to a journal.

In your methods section, say that you used the PRISMA-P reporting guidelines, and cite them as:

Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA. Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis Protocols (PRISMA-P) 2015 statement. Syst Rev. 2015;4(1):1.

		Reporting Item	Page Number
Identification	#1a	Identify the report as a protocol of a systematic review	1
Update	#1b	If the protocol is for an update of a previous systematic review, identify as such	n/a
	#2	If registered, provide the name of the registry (such as PROSPERO) and registration number	2
Contact	#3a	Provide name, institutional affiliation, e-mail address of all protocol authors; provide physical mailing address of corresponding author	1
Contribution	#3b	Describe contributions of protocol authors and identify the guarantor of the review	1
	#4	If the protocol represents an amendment of a previously completed or published protocol, identify as such and list changes; otherwise, state plan for documenting important	n/a

For peer review only - <http://bmjopen.bmj.com/site/about/guidelines.xhtml>

1			protocol amendments	
2				
3	Sources	#5a	Indicate sources of financial or other support for the review	1
4				
5	Sponsor	#5b	Provide name for the review funder and / or sponsor	1
6				
7	Role of sponsor or	#5c	Describe roles of funder(s), sponsor(s), and / or institution(s),	1
8	funder		if any, in developing the protocol	
9				
10				
11	Rationale	#6	Describe the rationale for the review in the context of what is	3 and 4
12			already known	
13				
14				
15	Objectives	#7	Provide an explicit statement of the question(s) the review will	4 and 5
16			address with reference to participants, interventions,	
17			comparators, and outcomes (PICO)	
18				
19				
20	Eligibility criteria	#8	Specify the study characteristics (such as PICO, study design,	5, 6 and
21			setting, time frame) and report characteristics (such as years	7
22			considered, language, publication status) to be used as	
23			criteria for eligibility for the review	
24				
25				
26				
27	Information	#9	Describe all intended information sources (such as electronic	5
28	sources		databases, contact with study authors, trial registers or other	
29			grey literature sources) with planned dates of coverage	
30				
31				
32	Search strategy	#10	Present draft of search strategy to be used for at least one	5 and 6
33			electronic database, including planned limits, such that it	
34			could be repeated	
35				
36				
37	Study records -	#11a	Describe the mechanism(s) that will be used to manage	5
38	data management		records and data throughout the review	
39				
40				
41	Study records -	#11b	State the process that will be used for selecting studies (such	5
42	selection process		as two independent reviewers) through each phase of the	
43			review (that is, screening, eligibility and inclusion in meta-	
44			analysis)	
45				
46				
47				
48	Study records -	#11c	Describe planned method of extracting data from reports	7
49	data collection		(such as piloting forms, done independently, in duplicate), any	
50	process		processes for obtaining and confirming data from investigators	
51				
52				
53	Data items	#12	List and define all variables for which data will be sought	7
54			(such as PICO items, funding sources), any pre-planned data	
55			assumptions and simplifications	
56				
57				
58				
59				
60				

1	Outcomes and	#13	List and define all outcomes for which data will be sought,	7
2	prioritization		including prioritization of main and additional outcomes, with	
3			rationale	
4				
5				
6	Risk of bias in	#14	Describe anticipated methods for assessing risk of bias of	8
7	individual studies		individual studies, including whether this will be done at the	
8			outcome or study level, or both; state how this information will	
9			be used in data synthesis	
10				
11				
12				
13	Data synthesis	#15a	Describe criteria under which study data will be quantitatively	8 and 9
14			synthesised	
15				
16				
17		#15b	If data are appropriate for quantitative synthesis, describe	8 and 9
18			planned summary measures, methods of handling data and	
19			methods of combining data from studies, including any	
20			planned exploration of consistency (such as I ² , Kendall's τ)	
21				
22				
23				
24		#15c	Describe any proposed additional analyses (such as	8 and 9
25			sensitivity or subgroup analyses, meta-regression)	
26				
27				
28		#15d	If quantitative synthesis is not appropriate, describe the type	8 and 9
29			of summary planned	
30				
31	Meta-bias(es)	#16	Specify any planned assessment of meta-bias(es) (such as	n/a
32			publication bias across studies, selective reporting within	
33			studies)	
34				
35				
36				
37	Confidence in	#17	Describe how the strength of the body of evidence will be	8 and 9
38	cumulative		assessed (such as GRADE)	
39	evidence			
40				
41				

The PRISMA-P checklist is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CC-BY 4.0. This checklist was completed on 06. September 2018 using <http://www.goodreports.org/>, a tool made by the [EQUATOR Network](#) in collaboration with [Penelope.ai](#)

*Title Page – BMJ Open***SAFETY, EFFICACY AND IMMUNOGENICITY OF THERAPEUTIC VACCINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH HIGH-GRADE CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL**

Caroline A. Gonçalves¹, BS, MSc., Ph.D candidate. E-mail: caroline.g84@hotmail.com
 Luís C. Lopes-Júnior¹, RN, OCN, Ph.D. E-mail: luisgen@usp.br
 Fernando Kenji Nampo², BS in Physical Therapy, PhD. E-mail: fernando.nampo@gmail.com
 Adriana Zilly³, BS, Ph.D. E-mail: aazilly@hotmail.com
 Paulo César Morales Mayer⁴, BS in Psychology, Ph.D. E-mail: paulocmayer@gmail.com
 Gabriela Pereira-da-Silva¹, BS, Ph.D. E-mail: gbisson@eerp.usp.br

Affiliations and addresses: ¹University of São Paulo (USP) at Ribeirão Preto College of Nursing, WHO Collaborating Centre for Nursing Research Development. Ribeirão Preto, SP, Brazil; ²Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA). Foz do Iguaçu, PR, Brazil; ³Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Foz do Iguaçu, PR, Brazil; ⁴Universidade Ceuma, Imperatriz, MA, Brazil.

Corresponding author: Caroline A. Gonçalves. Department of Maternal-Infant and Public Health Nursing, University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, WHO Collaborating Centre for Nursing Research Development, Avenida dos Bandeirantes, 3900, Campus Universitário, Ribeirão Preto, SP, Brazil, 14040-902. [caroline.g84@hotmail.com], Phone: +55(45)9980-6827.

Acknowledgements

We would like to thank the ITAIPU Binacional, Brazil, for supporting this research with regular doctoral scholarship to Caroline A. Gonçalves.

Author Contributions: CAG, LCLJ, and GPS conceptualized and designed the protocol, drafted the initial manuscript, and reviewed the manuscript. CAG and LCLJ defined the concepts and search items, data extraction process as well as methodological appraisal of the studies. FKN and AZ planned the data extraction and statistical analysis. PCMM and GPS, provided critical insights. All authors have approved and contributed to the final written manuscript.

Funding: This research was funded by the ITAIPU Binacional - Fundação Parque Tecnológico de Itaipu (FPTI).

Data Statement section: PROSPERO registration number: CRD42017077428. Available in: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=77428

Word Count: 2542 words.

Disclaimer: The views of the authors do not necessarily reflect those of the NHS, NIHR or the Department of Health.

Competing interests: None declared.

Patient consent: Not required.

Provenance and peer review: Not commissioned; externally peer reviewed.

ABSTRACT

Introduction: Eighty percent of the sexually active population will get human papillomavirus (HPV) infection, which is the most prevalent sexually transmitted disease worldwide. Persistence of high-grade HPV (CIN 2/3) infection may evolve to a cervical intraepithelial neoplasia and these lesions may be precursors of cervical cancer. However, this progression can be prevented by the administration of therapeutic vaccines which use the main oncoproteins responsible for cancer development, in an attempt to trigger a more specific and effective immunological response against this disorder. We aim to evaluate the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade CIN 2/3 associated with HPV.

Methods and analysis: A systematic review of randomized controlled trials (RCTs) will be undertaken. MEDLINE, Embase, CENTRAL Cochrane, Web of Science, LILACS, SciELO and Scopus will be searched, with no restriction regarding publication date. Primary outcomes will include measures related to safety, efficacy and the immunogenicity of the therapeutic vaccines used in these patients. Study selection will follow the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines. Methodological appraisal of the studies will be assessed by the Jadad Scale and Cochrane Risk-of-Bias Tool for RCTs. A narrative synthesis will be done for all included studies. Outcomes will be analyzed according to the subgroups of HPV type, CIN grade, route of vaccine administration and vaccine type. Also, if sufficient data are available, a meta-analysis will be conducted. The effect sizes will be generated using Hedges' g score, for both fixed and random effect models. I^2 statistics will be used to assess heterogeneity and identify their potential sources.

Ethics and dissemination: Ethical approval is not required as primary data will not be collected. Findings will be disseminated widely via peer-reviewed publication and in different media, e.g. conferences, congresses or symposia.

PROSPERO registration number: CRD42017077428.

Keywords: Cervical Intraepithelial Neoplasia; Papillomavirus Infections; Uterine Cervical Neoplasms; Vaccines.

Strengths and limitations of this study:

- This protocol reduces the possibility of duplication, gives transparency to the methods and processes that will be used, reduces possible biases and allows peer review.
- Will offer highest level of evidence for informed clinical decisions from this systematic review of randomised controlled trials.
- This systematic review will be the first to evaluate the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV).
- The scarcity of of randomised controlled trials undertaken with therapeutic vaccines in the treatment of patients with CIN 2/3 associated with HPV, the publication bias and the methodological quality of the grey literature found may be the main limitations of the study.

SAFETY, EFFICACY AND IMMUNOGENICITY OF THERAPEUTIC VACCINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH HIGH-GRADE CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL

INTRODUCTION

In recent decades, sociocultural changes have influenced human behavior leading to the emergence of various sexually transmitted diseases, including those caused by human papillomavirus (HPV).¹ HPV is a non-encapsulated DNA virus with approximately 8000 base pairs belonging to the family Papillomaviridae² which affects approximately 105 million women at least once in their lives.³ HPV is present in 99.7% of cervical intraepithelial neoplasia (CIN)⁴ and is closely related to the onset of cervical cancer, and these pathologies are considered to be a public health global problem.¹

Approximately 80% of the sexually active population is infected with any subtype of HPV.³ Most lesions regress without treatment within a period of up to 24 months as a result of the immune response, however, occasionally 10 to 30% of infections persist and may progress to high-grade lesions (CIN 2/3).⁵

There are approximately 200 HPV genotypes and these may be related to low (CIN 1) or high grade (CIN 2/3). The main risk factor for the development of CIN is the persistence or relapse of high-risk HPV, especially subtypes 16 and 18 that are present in up to 75% of lesions.⁶ These viruses express proteins that promote cell cycle alteration inducing genomic instability in normal cells, inhibiting apoptosis, favoring the formation of mitotic defects and aneuploidy. In addition, they inhibit tumor suppressor genes and modulate the immune system making the tumor cells low immunogenic, which results in immunological tolerance to the tumor and favors the HPV-mediated oncogenicity.^{7,8}

When the virus is detected, the therapy of choice is the physical removal of the lesion, which is able to eliminate more than 80% of initial lesions. However, viral DNA often remains⁹ and may lead to a recurrence of the lesion that may progress to cervical cancer¹⁰ requiring more aggressive treatments, such as chemotherapy and radiotherapy, resulting in the death of 50% of patients.¹¹ On the other hand, treatments that stimulate the immune response have been shown to eliminate up to 90% of CIN 2 lesions upon 24 months.¹³ Therefore, new therapeutic strategies that effectively and permanently eliminate the HPV virus are currently needed.¹²

The production of therapeutic vaccines focuses on the effectiveness of specific immunological responses against antigens^{14,15} in order to eliminate the established pathology

or prevent the patient from being reinfected, neutralizing subsequent infections by the same virus. Because of this characteristic, therapeutic vaccines differ significantly from the available prophylactic vaccines because these later are ineffective in treating established lesions and therefore have no therapeutic properties.¹⁶ Moreover, because the risk population continues to be exposed to the virus without having an associated protective factor, therapeutic vaccines have low adherence rates and therefore the picture of HPV infections that can progress to aggressive pathologies remains unchanged.¹⁷

Hence, based on the fact that HPV infections are frequent and associated with significant public health morbidity and mortality, it is necessary to develop effective and safe therapeutic vaccines against already established HPV-associated lesions. Following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses Protocols (PRISMA-P) checklist as guidance,¹⁸ we propose a systematic and reproducible strategy to query the literature about the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV).

RESEARCH AIMS

The main objectives of this systematic review are: (1) To evaluate the efficacy of therapeutic vaccines in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia, evaluated through histopathological regression of the lesion as well as regression of lesion size or other parameters that the authors considered relevant to assess this variable; (2) To assess the safety of therapeutic vaccines in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia, reporting possible adverse effects to its administration; (3) To assess the immunogenicity of therapeutic vaccines in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia by evaluating changes in the immunological profile of individuals who received the treatment compared to those who did not receive it.

METHODS AND ANALYSIS

Search Strategy

The search strategy will be carried out using resources that enhance methodological transparency and improve the reproducibility of the results and evidence synthesis. The search strategy will be elaborated and implemented prior to study selection, according to the PRISMA-P checklist as guidance.¹⁸ In addition, using the PICOS acronym¹⁹ we elaborated the

guiding question of this review, in order to ensure the systematic search of available literature: "What are the scientific evidences on the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with HPV?" The PROSPERO – International Prospective Register of Systematic Reviews – registration number is: CRD42017077428 (https://www.crd.york.ac.uk/prosperto/display_record.php?RecordID=77428).

Studies will be retrieved using seven databases: MEDLINE - Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (via PubMed), Embase (Excerpta Medica Database), Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), Web of Science, LILACS (Latin American and Caribbean Health Sciences Literature), SciELO (Scientific Electronic Library Online) and Scopus. There will be no restriction regarding publication date. Language restrictions will be applied and only articles in English will be included. Additionally, secondary searches in other sources, such as, Google Scholar and registration sites of clinical trials (e.g. ClinicalTrials.gov) will be also carried out. Also, the reference section of the included studies will be hand searched for additional relevant studies. It is noteworthy that two researchers (CAG and LCLJ) will perform the search strategy independently. In addition, the bibliographic software EndNote (<https://www.myendnoteweb.com/>) will be used to store, organize, and manage all the references and ensure a systematic and comprehensive search.

Initially, the existence of controlled descriptors (such as MeSH terms, Emtree terms, and DeCS-Health Science Descriptors) and their synonyms (key words) was verified in each database. The search terms were combined using the Boolean operators "AND" and "OR".²⁰

Subsequently, the search strategy combining MeSH terms and free-text words that will be used in MEDLINE (via PubMed) and adjusted to the other electronic databases will be as follows in Table 1.

Table 1 Concepts and search items

Databases	Search items
MEDLINE	#1 (Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Neoplasia, Cervical Intraepithelial) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasms) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasm) OR (Intraepithelial Neoplasm, Cervical) OR (Intraepithelial Neoplasms, Cervical) OR (Neoplasm, Cervical Intraepithelial) OR (Neoplasms, Cervical Intraepithelial) OR (Intraepithelial Neoplasia, Cervical) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia, Grade III) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II) OR (High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (CIN) OR (High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Cervical Intraepithelial Neoplasia) OR (Precancerous Conditions)
Embase	
CENTRAL Cochrane	
Web of Science	
Scopus	
LILACS	
SciELO	

OR (Preneoplastic Condition*)

#2 (Papillomaviridae) OR (Human papillomavirus) OR (Human Papilloma Viruses) OR (Papilloma Virus, Human) OR (Papilloma Viruses, Human) OR (Virus, Human Papilloma) OR (Viruses, Human Papilloma) OR (HPV, Human Papillomavirus Viruses) OR (Human Papillomavirus Viruses) OR (Human Papillomavirus Virus) OR (Papillomavirus Virus, Human) OR (Papillomavirus Viruses, Human) OR (Virus, Human Papillomavirus) OR (Viruses, Human Papillomavirus)

#3 #1 AND #2

#4 (Vaccine) OR (Immunomodulatory Therapy) OR (Therapies, Immunomodulatory) OR (Therapy, Immunomodulatory) OR (Vaccines, Neoplasm) OR (Injection, Therapeutic Vaccine) OR (Vaccinotherapy) OR (Therapeutic vaccine) OR (Vaccinotherapy) OR (Vaccine Immunogenicity) OR (Antigenicity, Vaccine) OR (Adjuvant) OR (Vaccination)

#5 #3 AND #4

#6 (Randomized Controlled Trial) OR (Controlled Clinical Trial) OR (Randomized Controlled Trials) OR (Random Allocation) OR (Clinical Trial) OR (Clinical Trials) OR (Random*) OR (Prospective Studies) OR (Control) OR (Prospective*)

#7 #5 AND #6

Abbreviations: MEDLINE, Medical Literature Analysis and Retrieval System Online; Embase, Excerpta Medica Database; CENTRAL, Cochrane Central Register of Controlled Trials; LILACS, Latin American and Caribbean Health Sciences Literature; SciELO, Scientific Electronic Library Online).

Study selection criteria

A summary of the population (P), interventions (I), comparators (C) and outcomes (O) considered, as well as studies designs (S) included according to PICOS acronym, is provided in Table 2.

Table 2 Inclusion and exclusion criteria

PICOS Acronym ¹⁹	Inclusion criteria	Exclusion criteria
P – Population	Patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 and 3) associated with HPV.	Patients with other immunosuppression associated conditions.
I – Intervention	Use of therapeutic vaccines for the treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia associated with HPV.	
C – Comparison	Usual standard of care without receiving the therapeutic vaccine.	
O – Outcome	The safety, the efficacy and the immunogenicity of the therapeutic vaccines used in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia associated with HPV	Studies that do not report safety, the efficacy and the immunogenicity of the therapeutic vaccines as primary outcome
S – Study design	Randomized controlled trial.	All the non-primary literature, such as reviews, dissertations, theses, editorials, protocol studies and clinical guidelines.

Screening and data extraction

Initially the screening of studies will be based on the information contained in their titles and abstracts and will be conducted by two independent investigators (CAG and LCLJ). When the reviewers disagree, the article will be reevaluated and, if the disagreement persisted, a third reviewer (GPS) will make a final decision. Full-paper screening will be conducted by the same independent investigators. Cohen's kappa will be used to measure inter-coder agreement in each screening phase.

Data will be extracted using previously proposed tools^{21–23}, including four domains: i) identification of the study (article title; journal title; impact factor of the journal; authors; country of the study; language; publication year; host institution of the study [hospital; university; research center; single institution; multicenter study]); ii) methodological characteristics (study design; study objective or research question or hypothesis; sample characteristics, e.g. sample size, age, race, baseline characteristics; groups and controls; recruitment methods and study completion rates; stated length of follow-up; validated measures; statistical analyses, adjustments; iii) main findings and implications for clinical practice; and iv) conclusions.

In the event that the information in any specific article is unclear or data are missing, the review author will contact the correspondent author of the study. For data extraction two independent Microsoft Excel spreadsheets will be elaborated by two reviewers (CAG and LCLJ) to summarize the data from the included studies. Then, the spreadsheets will be combined into one. Disagreements will be resolved by a third investigator (GPS).

Quality assessment

Methodological quality of the RCTs will be assessed using the Jadad scale,²⁴ a widely used tool for classification of the quality of the evidence from RCTs. The Jadad scale scores range from 0 to 5, with studies scoring < 3 considered as low quality, and studies that score ≥ 3 classified as high quality.²⁴ The internal validity and risk of bias for RCTs will be assessed with the appraisal tool from the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.1.0,²⁵ which assesses the following study-level aspects: (1) randomization sequence allocation; (2) allocation concealment; (3) blinding; (4) completeness of outcome data and (5) selective outcome reporting; and classifies studies into low, high or unclear risk of bias.

The same two independent reviewers (CAG and LCLJ) will assess the methodological quality of eligible trials as well as will score the selected studies. Disagreements will be resolved by a third reviewer (GPS). The risk of bias for each outcome across individual studies will be summarized as a narrative statement, and supported by a risk of bias table. A review-level narrative summary of the risk of bias will also be provided.

Descriptive analysis and meta-analysis

For studies with a high or unclear risk of bias, defined as high or nuclear risk in 50% or more of the quality assessment outcomes, a narrative description of the risk of bias will be provided. Risk of Bias assessments will be incorporated into synthesis by performing sensitivity analysis (i.e., limiting to studies at lowest risk of bias in a secondary analysis).

A narrative synthesis will be conducted for all the selected studies, including: i) characteristics related to the quality of the selected studies as number of drop-outs per follow-up, early withdrawal by benefit, intention-to-treat analysis, blindness scheme, allocation secrecy and randomization; ii) characteristics of the protocol used in studies such as type of intervention and control group, sample size, treatment time, dose and interval of the vaccine administration; iii) study population characteristics, such as, age, staging of disease, association of treatments or surgeries and other relevant information; iv) outcomes, for instance, the changes in immunological parameters, signs of local and systemic toxicity, histopathological regression of the lesion, regression of lesion size or reduction of viral load.

Furthermore, whenever possible, continuous and dichotomous outcomes will be pooled together for meta-analysis purposes. All effect sizes will be transformed into a common metric, in order to make them comparable across studies – the bias-corrected standardised difference in means (Hedges' g) – classified as positive when in favour of the intervention and negative when in favour of the control. Heterogeneity will be assessed using

I^2 .²⁶ The presence of publication bias will be evaluated by using a funnel plot and the Duval and Tweedie's trim and fill method.²⁷

Patient and public involvement, ethics and dissemination

Patients were not directly involved in the design of this study. Because this is a protocol for a systematic review and no participant recruitment will take place, their involvement on the recruitment and dissemination of findings to participants was not applicable. Additionally, any amendments to this protocol will be documented with reference to saved searches and analysis methods, which will be recorded in bibliographic databases (Ovid), EndNote and Excel templates for data collection and synthesis.

The results of the review will be disseminated via peer-reviewed publication as well as in different media, e.g. conferences, congresses or symposia.

DISCUSSION

One of the strengths of the proposed study is to apply a reproducible and transparent procedure for systematic review of the literature. In this protocol, we clearly describe the types of studies, participants, interventions and outcomes that will be included, as well as the data sources, search strategy, data extraction methods (including quality assessment) and methods of combining data.²⁸ By publishing the research protocol, we reinforce the clarity of the strategy and minimize the risk of bias, namely selective outcome reporting.²⁵ Second, we will focus solely on the impact of the safety, efficacy and immunogenicity of therapeutic vaccines in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3) associated with human papillomavirus (HPV). These results shall provide high-level information to inform, support and customize decisions from the oncology clinicians.

Potential limitations of this study include the heterogeneity of measures and outcomes evaluated and the potentially reduced number of studies in subgroup analyses, which may negatively influence the statistical power in data synthesis.

It is noteworthy that although prophylactic vaccines against HPV are safe and provide protective immunity against viruses that cause high-grade cancers^{3,29,30}, the adherence to these vaccines is low, impairing an effective prevention against the development of this disease as well as cervical cancer. Low adherence to the vaccination also allows the spread of Sexually Transmitted Diseases associated with this pathogen, constituting a serious global problem for public health. Once the disease is already in activity, prophylactic vaccines are no longer effective, and therefore effective and safe therapeutic vaccines that also activate a memory

immune response by promoting the regression of pre-cancerous lesions are needed, thus reducing mortality, morbidity, time and cost of treatment in these patients. In this sense, the present study will provide relevant evidence on the efficacy, safety and immunogenicity of therapeutic vaccines used in the treatment of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia in order to address the gap in the literature on this new therapy to women's health.

REFERENCES

1. Medeiros LR, Ethur ABM, Hilgert JB, *et al.* Vertical transmission of the human papillomavirus : a systematic quantitative review. *Cad Saude Pública* 2005;21:1006–15.
2. Wright Jr TC. Natural History of HPV infections. *J Fam Practice* 2009;58:S3–S7.
3. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2013;382:889-99.
4. D'Souza G, Dempsey A. The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. *Prev Med*. 2011;53:S5–S11.
5. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, *et al.* Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2008; 9:425–34.
6. Kyrgiou M, Athanasiou A, Paraskevaidi M, *et al.* Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2016;354:1–15.
7. Narisawa-Saito M, Kiyono T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: Roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci*. 2007;98:1505–11.
8. Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:1–7.
9. Martin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, *et al.* Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane database Syst Rev*. 2014;6:1–93.
10. Gutierrez CMC, Tinoco A, Navarro T, *et al.* Therapeutic Vaccination with MVA E2 Can Eliminate Precancerous Lesions (CIN 1, CIN 2, and CIN 3) Associated with Infection by Oncogenic Human Papillomavirus. *Hum Gene Ther* 2004;15:421–31.
11. Lacey CJN, Woodhall SC, Wikstrom A, *et al.* 2012 European guideline for the management of anogenital warts. *J Eur Acad Dermatol and Venereol* 2013;27:e263–e70.

12. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:7-30.
13. Discacciati MG, de Souza CA, d'Ottaviano MG, et al. Outcome of expectant management of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 in women followed for 12 months. *Eur J Obstet & Gynecol Reprod Biol* 2011;155:204–8.
14. Bagarazzi ML, Yan J, Morrow MP, et al. Immunotherapy Against HPV16/18 Generates Potent TH1 and Cytotoxic Cellular Immune Responses. *Sci Transl Med* 2012;4:1–33.
15. Dunn GP1, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* 2002;3:991–8.
16. Kash N, Lee MA, Kollipara R, et al. Safety and efficacy data on vaccines and immunization to human papillomavirus. *J Clin Med* 2015;4:614–33.
17. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações. Informe Técnico sobre a Vacina Papilomavírus Humano-HPV na Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
18. Moher D, Shamseer L, Clarke M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev* 2015;4:1.
19. Higgins JPT, Green S, editors. Chapter 5: Defining the review question and developing criteria for including studies. *Cochrane Handbook of Systematic Reviews.* Version 5.0.1. The Cochrane Collaboration. 2008. Accessed February 5, 2013.
20. Lefebvre C, Manheimer E, Glanville J. Searching for studies. In: Higgins JPT, Greene S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, Version 5.0. 2008.
21. Lopes-Júnior LC, Bomfim EO, Nascimento LC, et al. Non-pharmacological interventions to manage fatigue and psychological stress in children and adolescents with cancer: an integrative review. *Eur J Cancer Care* 2016;25:921–935.
22. Lopes-Júnior LC, Rosa MADRP, Lima RAG. Psychological and psychiatric outcomes following PICU admission: a systematic review of cohort studies. *Pediatr Crit Care Med* 2018;19:e58–e67.
23. Carlos L Lopes-Júnior, Cruz LA, Leopoldo VC, Campos FR, Almeida AM, Silveira RC. Effectiveness of Traditional Chinese Acupuncture versus Sham Acupuncture: a Systematic Review. *Rev Lat Am Enferm.* 2016;24:e2762.
24. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996;7:1–12.
25. Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions.* 5.1.0 edition. *Cochrane Collaboration.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2016.

- 1
2
3
4 26. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a
5 simple, graphical test. *BMJ*. 1997;315:629–34.
6
7 27. Duval S, Tweedie R. Trim and fill: A simple funnel-plot-based method of testing and
8 adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 2000;56:455–63.
9
10 28. Silagy CA, Middleton P, Hopewell S. Publishing protocols of systematic reviews:
11 comparing what was done to what was planned. *JAMA* 2002;287:2831–4.
12
13 29. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, *et al*. Prevalence of HPV infection among females
14 in the United States. *JAMA*. 2007; 297: 813-819.
15
16 30. Herrero R, González P, Markowitz LE. Present status of human papillomavirus
17 vaccine development and implementation. *Lancet Oncol*. 2015;16:e206-16.
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

03/05/2019

Email – Caroline Gonçalves – Outlook

BMJ Open - Decision on Manuscript ID bmjopen-2018-026975

BMJ Open <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Ter, 30/04/2019 09:33

Para: luisgen@usp.br <luisgen@usp.br>

30-Apr-2019

Dear Dr. LOPES-JÚNIOR:

Manuscript ID bmjopen-2018-026975 entitled "SAFETY, EFFICACY AND IMMUNOGENICITY OF THERAPEUTIC VACCINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH HIGH-GRADE CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL" which you submitted to BMJ Open, has been reviewed. The comments of the reviewer(s) are included at the bottom of this letter. The Editorial Office have also checked your manuscript for any minor formatting issues and these will be listed at the end of this email.

The reviewer(s) have recommended publication, but also suggest some minor revisions to your manuscript. Therefore, I invite you to respond to the reviewer(s)' comments and revise your manuscript. The reviewers' comments and the previous versions of your article will be published as supplementary information alongside the final version.

To revise your manuscript, log into <https://mc.manuscriptcentral.com/bmjopen> and enter your Author Center, where you will find your manuscript title listed under "Manuscripts with Decisions." Under "Actions," click on "Create a Revision." Your manuscript number has been appended to denote a revision.

You may also click the below link to start the revision process (or continue the process if you have already started your revision) for your manuscript. If you use the below link you will not be required to login to ScholarOne Manuscripts.

*** PLEASE NOTE: This is a two-step process. After clicking on the link, you will be directed to a webpage to confirm. ***

https://mc.manuscriptcentral.com/bmjopen?URL_MASK=dbe614144d7b45ccb5952d2a24739386

You will be unable to make your revisions on the originally submitted version of the manuscript. Instead, revise your manuscript using a word processing program and save it on your computer. Please also highlight the changes to your manuscript within the document by using the track changes mode in MS Word or by using bold or coloured text. Once the revised manuscript with track or highlighted changes is prepared, you can upload it and submit it through your Author Center under file designation "Main Document - marked copy".

In addition to the "Main Document - marked copy", please provide a clean copy (without track or highlighted changes) of the revised manuscript. Please upload it through your Author Center under file designation "Main Document".

When submitting your revised manuscript, you will be able to respond to the comments made by the reviewer(s) in the space provided. You can use this space to document any changes you make to the original manuscript. In order to expedite the processing of the revised manuscript, please be as

03/05/2019

Email – Caroline Gonçalves – Outlook

specific as possible in your response to the reviewer(s).

You will receive a proof if your article is accepted, but you will be unable to make substantial changes to your manuscript, please take this opportunity to check the revised submission carefully.

IMPORTANT: Your original files are available to you when you upload your revised manuscript. Please delete any redundant files before completing the submission.

Because we are trying to facilitate timely publication of manuscripts submitted to BMJ Open, your revised manuscript should be submitted within two weeks. If it is not possible for you to submit your revision by this date, we may have to consider your paper as a new submission.

Once again, thank you for submitting your manuscript to BMJ Open and I look forward to receiving your revision.

Sincerely,
Emma Johnson
Senior Assistant Editor, BMJ Open
ejohnson@bmj.com

Reviewer(s) Reports:

Reviewer: 1

Reviewer Name: Thomas Harder
Institution and Country: Robert Koch Institute, Germany
Please state any competing interests or state 'None declared': None declared

Please leave your comments for the authors below

This systematic review protocol is sound and well-written. I have only a few comments aiming to improve some aspects of the protocol:

- 1) To my opinion, if the authors apply the Cochrane risk of bias tool, it is not necessary to use Jadad scale in addition. Rather, to assess the evidence quality beyond risk of bias in single studies, I suggest to use GRADE.
- 2) The authors should assess the possibility of publication bias if enough studies per outcome are identified.
- 3) In the PICO table, it would be useful to specify the outcomes (i.e., CIN2/3) rather than writing "efficacy".
- 4) During data extraction, It would be useful also to extract information on conflict of interest and study sponsorship from the included studies.

Reviewer: 2

Reviewer Name: Ricardo Rosales
Institution and Country: VIROLAB S DE RL DE CV
Please state any competing interests or state 'None declared': NONE DECLARED

Please leave your comments for the authors below

THE PAPER IS CLEAR AN WELL WRITTEN. IN ADDITION COVERS THE OBJETVES OF THE RESEARCH

Reviewer: 3

Reviewer Name: Dr Stacey Bryan
Institution and Country: Institute for Women's Health, University College London
Please state any competing interests or state 'None declared': None declared

03/05/2019

Email – Caroline Gonçalves – Outlook

Please leave your comments for the authors below

This is a systematic review protocol in which the authors have outlined clearly the aims of the paper. I think it should be made clearer how immunogenicity will be evaluated across the various studies. The limitations of the study have been outlined well, however there have been other studies looking into therapeutic vaccines (Current research into novel therapeutic vaccines against cervical cancer. Cordeiro MN, 2018) how will this study be different to the others.

FORMATTING AMENDMENTS FROM EDITORIAL OFFICE:

- Please embed your CORRESPONDING AUTHOR'S NAME and EMAIL ADDRESS in your main document file as shown in ScholarOne.
- Please ensure to have the same FUNDING STATEMENT both in your main document and in ScholarOne.

APÊNDICE 1 – Estratégia de busca final unificada nas bases de dados eletrônicas após atingido o consenso entre os dois revisores

Estratégia de BUSCA 5.11.2018

Na reunião do dia 05/11 realizamos a busca em 4 bases de dados: Medline via Pubmed, CENTRAL, Web of Science e Scopus e exportamos seus resultados para o Endnote (My endnote web).

Todos as etapas foram devidamente registradas para serem anexadas a tese e ao artigo.

- **Search strategies carried out in duplicates (100% agreement)**

BUSCA 1 – MEDLINE via Pubmed

Luís + Caroline (Pubmed 1100 sem filtro... com filtro da base Clinical Trial 124)

#1	(cervical intraepithelial neoplasia) OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN
#2	papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus
# 3	Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity
#4	randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective

05/11/2018

Advanced search - PubMed - NCBI

[PubMed Home](#)[More Resources](#)[Help](#)**PubMed Advanced Search Builder**[Tutorial](#)Filters activated: Clinical Trial. [Clear all](#)

Use the builder below to create your search

[Edit](#)[Clear](#)**Builder**

All Fields ▾

[Show index list](#)

AND ▾

All Fields ▾

[Show index list](#)[Search](#) or [Add to history](#)**History**[Download history](#) [Clear history](#)

Search	Add to builder	Query	Items found
#6	Add	Search ((((((cervical intraepithelial neoplasia) OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN))) AND ((papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus))) AND ((Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity))) AND ((randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective)) Filters: Clinical Trial	124

05/11/2018

Advanced search - PubMed - NCBI

Search	Add to builder	Query	Items found
#5	Add	Search ((((((cervical intraepithelial neoplasia) OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN))) AND ((papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus))) AND ((Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity))) AND ((randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective))	1100
#4	Add	Search (randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective)	5900216
#3	Add	Search (Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity)	804785
#2	Add	Search (papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus)	52000
#1	Add	Search ((cervical intraepithelial neoplasia) OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN)	76318

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/advanced

2/2

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 1100, após aplicar o filtro da base (CLINICAL TRIAL) da MEDLINE via Pubmed o n=124

BUSCA 2 – CENTRAL

#1

cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN

#2

papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus

3

Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity

#4

randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective

Access provided by: **PORTAL CAPES**

Advanced Search

Please note that the Advanced Search is optimised for English search terms. Certain features, such as search operators and MeSH terms, are only available in English.

✓ Search saved.

—	Title Abstract Keyword ▼	cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithe
—	AND ▼	Title Abstract Keyword ▼
—	Title Abstract Keyword ▼	papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Pa
—	AND ▼	Title Abstract Keyword ▼
—	Title Abstract Keyword ▼	Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vac
—	AND ▼	Title Abstract Keyword ▼
—	Title Abstract Keyword ▼	randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials

(Word variations have been searched)

Cochrane Reviews
4

Cochrane Protocols
0

Trials
143

Editorials
1

Special collections
0

Clinical An
0

143 Trials matching on 'cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR

<https://www.cochranelibrary.com/advanced-search>

1/23

Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade II OR High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia OR Precancerous Conditions OR Preneoplastic Condition OR Premalignant OR Preneoplastic OR CIN in Title Abstract Keyword AND papillomaviridae OR Human papillomavirus OR Human papilloma viruses OR Papilloma virus, human OR Papilloma viruses, human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus in Title Abstract Keyword AND Vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, Therapeutic Vaccine OR Vaccinotherapy OR Therapeutic vaccine OR Vaccine Immunogenicity OR Antigenicity, vaccine OR Adjuvant OR Vaccination OR vaccine immunogenicity in Title Abstract Keyword AND randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR Randomized Controlled Trials OR random allocation OR clinical trial OR Clinical Trials OR Random OR prospective studies OR case control studies OR Control OR prospective study OR Prospective in Title Abstract Keyword - (Word variations have been searched)'

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 148, após aplicar o filtro da base (TRIALs) da CENTRAL o n=143

BUSCA 3 – SCOPUS

#1
(cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR cervical intraepithelial neoplasia grade II OR high grade cervical Intraepithelial neoplasia OR precancerous conditions OR preneoplastic condition OR premalignant OR preneoplastic OR CIN)
#2
(papillomaviridae OR human papillomavirus OR human papilloma viruses OR papilloma virus, human OR papilloma viruses, human OR virus, human papilloma OR viruses, human papilloma OR HPV OR HPV, human papillomavirus viruses OR human papillomavirus viruses OR papillomavirus viruses, human OR virus, human papillomavirus OR viruses, human papillomavirus)
3
(vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, therapeutic vaccine OR vaccinotherapy OR therapeutic vaccine OR vaccine immunogenicity OR antigenicity, vaccine OR adjuvant OR vaccination OR vaccine immunogenicity)
#4
(randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR randomized controlled trials OR random allocation OR clinical trial OR clinical trials)

35 document results

[View secondary documents](#) [View 14 patent results](#)

(cervical AND intraepithelial AND neoplasia OR neoplasia, AND cervical AND intraepithelial OR cervical AND intraepithelial AND neoplasms OR intraepithelial AND neoplasm, AND cervical OR intraepithelial AND neoplasms, AND cervical OR neoplasms, AND cervical AND intraepithelial OR intraepithelial AND neoplasia, AND cervical OR cervical AND intraepithelial AND neoplasia, AND grade AND iii OR cervical AND intraepithelial AND neoplasia AND grade AND ii OR high AND grade AND cervical AND intraepithelial AND neoplasia OR precancerous AND conditions OR preneoplastic AND condition OR premalignant OR preneoplastic OR cin) AND (papillomaviridae OR human AND papillomavirus OR human AND papilloma AND viruses OR papilloma AND virus, AND human OR papilloma AND viruses, AND human OR virus, AND human AND papilloma OR virus-- [View all](#)

Show results for: (cervical AND intraepithelial AND neoplasia OR neoplasia, AND cervical AND intraepithelial OR cervical AND intraepithelial AND neoplasms OR intraepithelial AND neoplasm, AND cervical OR intraepithelial AND neoplasms, AND cervical OR neoplasms, AND cervical AND intraepithelial OR intraepithelial AND neoplasia, AND cervical OR cervical AND intraepithelial AND neoplasia, AND grade AND iii OR cervical AND intraepithelial AND neoplasia AND grade AND ii OR high AND grade AND cervical AND intraepithelial AND neoplasia OR precancerous AND conditions OR preneoplastic AND condition OR premalignant OR preneoplastic OR cin) AND (papillomaviridae OR human AND papillomavirus OR human AND papilloma AND viruses OR papilloma AND virus, AND human OR papilloma AND viruses, AND human OR virus, AND human AND papilloma OR virus, AND human AND papillomavirus AND viruses OR papillomavirus AND viruses, AND human OR virus, AND human AND papillomavirus OR viruses, AND human AND papillomavirus) AND (vaccine OR immunomodulatory AND therapy OR therapy, AND immunomodulatory OR vaccines, AND neoplasm OR injection, AND therapeutic AND vaccine OR actinotherapy OR therapeutic AND vaccine OR vaccine AND immunogenicity OR antigenicity, AND vaccine OR adjuvant OR vaccination OR vaccine AND immunogenicity) AND (randomized AND controlled AND trial OR controlled AND clinical AND trial OR controlled AND clinical AND trials, AND randomized OR randomized AND controlled AND trials OR random allocation OR clinical AND trial OR clinical AND trials)

[Edit](#) [Save](#) [Set alert](#) [Set feed](#)

Scopus

35 document results

[View secondary documents](#) [View 14 patent results](#)

Search within results...

Analyze search results

Show all abstracts

Sort on:

Date (newest)

Refine results

[Limit to](#) [Exclude](#)

Access type

☐ Open Access (6) >

☐ Other (29) >

Year

☐ 2018 (3) >

☐ 2017 (3) >

☐ 2016 (2) >

☐ 2015 (2) >

☐ 2014 (4) >

[View more](#)

Author name

☐ Giuliano, A.R. (3) >

☐ Arbyn, M. (2) >

☐ Finn, O.J. (2) >

☐ Hawk, E.T. (2) >

☐ Lippman, S.M. (2) >

[View more](#)

Subject area

☐ Medicine (28) >

☐ Biochemistry, Genetics and Molecular Biology (12) >

☐ Immunology and Microbiology (8) >

☐ Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (4) >

☐ Veterinary (3) >

[View more](#)

Document type

☐ Review (16) >

☐ Article (10) >

☐ Book (5) >

☐ Book Chapter (3) >

☐ Short Survey (1) >

☐ All [Export](#) [Download](#) [View citation overview](#) [View cited by](#) [Add to List](#) [...](#) [Print](#) [Email](#)

	Document title	Authors	Year	Source	Cited by
☐ 1	Human papilloma virus: Apprehending the link with carcinogenesis and unveiling new research avenues (Review) Open Access	Boda, D., Docea, A.O., Calina, D., (...), Drakoulis, N., Tsatsakis, A.M.	2018	International Journal of Oncology 52(3), pp. 637-655	2
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 2	The dawn of vaccines for cancer prevention	Finn, O.J.	2018	Nature Reviews Immunology 18(3), pp. 183-194	7
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 3	Clinical implications of the interaction between HPV and HIV infections	Dreyer, G.	2018	Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology 47, pp. 95-106	0
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 4	Relationship between human papillomavirus and penile cancer-implications for prevention and treatment	Kidd, L.C., Chaing, S., Chipollini, J., (...), Spiess, P.E., Sharma, P.	2017	Translational Andrology and Urology 6(5), pp. 791-802	2
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 5	Pediatric Dermatopathology (Book)	Phung, T.L., Pourciau, C.Y., Wright, T.S., Smoller, B.R.	2017	Pediatric Dermatopathology pp. 1-622	2
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 6	Precancer atlas to drive precision prevention trials Open Access	Spira, A., Yurgelun, M.B., Alexandrov, L., (...), Wallace, D.C., Lippman, S.M.	2017	Cancer Research 77(7), pp. 1510-1541	19
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 7	Normal and abnormal colposcopic findings [Normale und abnorme kolposkopische Befunde]	Betschart, C., Ghisu, G.-P., Fink, D.	2016	Praxis 105(23), pp. 1363-1369	0
	View abstract	View at Publisher	Related documents		
☐ 8	The Role of Human Papilloma Virus in Penile Carcinogenesis and Preneoplastic Lesions: A Potential Target for Vaccination and Treatment Strategies	Diorio, G.J., Giuliano, A.R.	2016	Urologic Clinics of North America 43(4), pp. 419-425	9

Scopus

10 document results

[View secondary documents](#) [View 14 patent results](#)

Search within results...

Analyze search results [Show all abstracts](#) Sort on: [Date \(newest\)](#)

☐ All [Export](#) [Download](#) [View citation overview](#) [View cited by](#) [Add to List](#) [Print](#) [Email](#)

Document title	Authors	Year	Source	Cited by
☐ 1 The dawn of vaccines for cancer prevention	Finn, O.J.	2018	Nature Reviews Immunology 18(3), pp. 183-194	7
View abstract View at Publisher Related documents				
☐ 2 Relationship between human papillomavirus and penile cancer-implications for prevention and treatment	Kidd, L.C., Chaing, S., Chipollini, J., (...), Spiess, P.E., Sharma, P.	2017	Translational Andrology and Urology 6(5), pp. 791-802	2
View abstract View at Publisher Related documents				
☐ 3 German-Austrian guidelines on anal dysplasia and anal cancer in HIV-positive individuals: Prevention, diagnosis, and treatment	Esser, S., Kreuter, A., Oette, M., (...), Schafberger, A., Wieland, U.	2015	JDDG - Journal of the German Society of Dermatology 13(12), pp. 1302-1319	18
View at Publisher Related documents				
☐ 4 Molecular cancer prevention: Current status and future directions	Maresso, K.C., Tsai, K.Y., Brown, P.H., (...), Lippman, S., Hawk, E.T.	2015	CA Cancer Journal for Clinicians 65(5), pp. 345-383	27
View abstract View at Publisher Related documents				
☐ 5 The long-term immune response after HPV16 peptide vaccination in women with low-grade pre-malignant disorders of the uterine cervix: A placebo-controlled phase II study	De Vos Van Steenwijk, P.J., Van Poelgeest, M.I.E., Ramwadhoebe, T.H., (...), Van Der Burg, S.H., Kenter, G.G.	2014	Cancer Immunology, Immunotherapy 63(2), pp. 147-160	22
View abstract View at Publisher Related documents				
☐ 6 Cost-effectiveness analysis of the bivalent compared with the quadrivalent human papillomavirus vaccines in Taiwan	Demartean, N., Tang, C.-H., Chen, H.-C., Chen, C.-J., Van Krieking, G.	2012	Value in Health 15(5), pp. 622-631	15
View abstract View at Publisher Related documents				

Refine results

Limit to [Exclude](#)

Access type

☐ Open Access (1) >

☐ Other (9) >

Year

☐ 2018 (1) >

☐ 2017 (1) >

☐ 2015 (2) >

☐ 2014 (1) >

☐ 2012 (1) >

[View more](#)

Author name

☐ Berends-Van Der Meer, D.M.A. (1) >

☐ Brockmeyer, N.H. (1) >

☐ Brown, P.H. (1) >

☐ Chaing, S. (1) >

☐ Chen, C.J. (1) >

[View more](#)

Subject area

☐ Medicine (8) >

☐ Immunology and Microbiology (4) >

☐ Biochemistry, Genetics and Molecular Biology (2) >

☐ Nursing (1) >

☐ Veterinary (1) >

Document type

☐ Article (10) >

Source title

Keyword

Affiliation

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 35, após aplicar o filtro da base (ARTICLE) da Scopus o n=10

BUSCA 4 – Web of Science

#1

TS=(cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR cervical intraepithelial neoplasia grade II OR high grade cervical Intraepithelial neoplasia OR precancerous conditions OR preneoplastic condition OR premalignant OR preneoplastic OR CIN)

#2

TS=(papillomaviridae OR human papillomavirus OR human papilloma viruses OR papilloma virus, human OR papilloma viruses, human OR virus, human papilloma OR viruses, human papilloma OR HPV OR HPV, human papillomavirus viruses OR human papillomavirus viruses OR papillomavirus viruses, human OR virus, human papillomavirus OR viruses, human papillomavirus)

3

TS=(vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, therapeutic vaccine OR vaccinothrapy OR therapeutic vaccine OR vaccine immunogenicity OR antigenicity, vaccine OR adjuvant OR vaccination OR vaccine immunogenicity)

#4

TS=(randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR randomized controlled trials OR random allocation OR clinical trial OR clinical trials allocation OR clinical trial OR clinical trials

Histórico de pesquisa:

Resultados	Resultados		Editar resultados	Combinar resultados AND OR Combinar	Excluir resultados Selecionar tudo Excluir
# 5	630	#4 AND #3 AND #2 AND #1 Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos	Editar	☐	☐
# 4	870.774	TS=(randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR controlled clinical trials, randomized OR randomized controlled trials OR random allocation OR clinical trial OR clinical trials) Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos	Editar	☐	☐
# 3	429.410	TS=(vaccine OR immunomodulatory therapy OR therapy, immunomodulatory OR vaccines, neoplasm OR Injection, therapeutic vaccine OR vaccinothrapy OR therapeutic vaccine OR vaccine immunogenicity OR antigenicity, vaccine OR adjuvant OR vaccination OR vaccine immunogenicity) Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos	Editar	☐	☐
# 2	57.702	TS=(papillomaviridae OR human papillomavirus OR human papilloma viruses OR papilloma virus, human OR papilloma viruses, human OR virus, human papilloma OR viruses, human papilloma OR HPV OR HPV, human papillomavirus viruses OR human papillomavirus viruses OR papillomavirus viruses, human OR virus, human papillomavirus OR viruses, human papillomavirus) Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos	Editar	☐	☐
# 1	33.467	TS=(cervical intraepithelial neoplasia OR neoplasia, cervical intraepithelial OR cervical intraepithelial neoplasms OR intraepithelial neoplasm, cervical OR intraepithelial neoplasms, cervical OR neoplasms, cervical intraepithelial OR intraepithelial neoplasia, cervical OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR cervical intraepithelial neoplasia grade II OR high grade cervical Intraepithelial neoplasia OR precancerous conditions OR preneoplastic condition OR premalignant OR preneoplastic OR CIN) Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos	Editar	☐	☐

Web of Science

Pesquisa

Ferramentas ▾

Pesquisas e alertas ▾

Histórico de pesquisa

Lista marcada

Resultados: 630

(de Principal Coleção do Web of Science)

Você pesquisou por: #4 AND #3 AND #2 AND #1 ...[Mais](#)

Criar alerta

Refinar resultados

 Procurar nos resultados...

Filtrar resultados por:

- ☐ Artigo mais citado no campo (25)
- ☐ Acesso Aberto (270)

Refinar

Anos da publicação

- ☐ 2018 (22)
- ☐ 2017 (31)
- ☐ 2016 (52)
- ☐ 2015 (45)
- ☐ 2014 (49)

mais opções/valores...

Refinar

Categorias do Web of Science

- ☐ ONCOLOGY (186)
- ☐ IMMUNOLOGY (137)
- ☐ MEDICINE RESEARCH EXPERIMENTAL (97)
- ☐ OBSTETRICS GYNECOLOGY (81)
- ☐ MEDICINE GENERAL INTERNAL (67)

mais opções/valores...

Refinar

Tipos de documento

- ☐ ARTICLE (380)
- ☐ REVIEW (239)
- ☐ PROCEEDINGS PAPER (18)
- ☐ EDITORIAL MATERIAL (7)
- ☐ BOOK CHAPTER (3)

mais opções/valores...

Refinar

Organizações - Aprimorada

- ☐ MERCK COMPANY (53)
- ☐ JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (48)
- ☐ GLAXOSMITHKLINE (43)
- ☐ UNIVERSITY OF MELBOURNE (42)
- ☐ NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH NIH USA (38)

mais opções/valores...

Classificar por: Data Numero de citações Total de uso Relevância Mais ▾ 1 de 63 ▸

☐ Selecionar página

5K

 Salvar em EndNote online ▾

Adicionar à Lista marcada

Analisar resultados

Criar relatório de citações

☐

1. **Factors associated with human papillomavirus (HPV) test acceptability in primary screening for cervical cancer: A mixed methods research synthesis**

Por: Tatar, Ovidiu; Thompson, Erika; Naz, Anila; et al.

PREVENTIVE MEDICINE Volume: 116 Páginas: 40-50 Publicado: NOV 2018

Texto integral do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 0
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

2. **Impact of HPV vaccination on outcome of cervical cytology screening in Denmark-A register-based cohort study**

Por: Thamsborg, Lise Holst; Napolitano, George; Larsen, Lise Grupe; et al.

INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER Volume: 143 Edição: 7 Páginas: 1662-1670 Publicado: OCT 1 2018

Texto integral gratuito do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 1
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

3. **Therapeutic DNA Vaccines for Human Papillomavirus and Associated Diseases**

Por: Cheng, Max A.; Farmer, Emily; Huang, Claire; et al.

Acesso antecipado: MAR 2018

Texto integral do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 0
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

4. **Progress in prophylactic human papillomavirus (HPV) vaccination in 2016: A literature review**

Por: Maver, Polona J.; Poljak, Mario

Conferência: 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) Local: Amsterdam, NETHERLANDS Data: APR 09-12, 2016 VACCINE Volume: 36 Edição: 36 Edição especial: SI Páginas: 5416-5423 Publicado: AUG 28 2018

Texto integral do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 0
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

5. **Determining the HPV vaccine schedule for a HIV-infected population in sub Saharan Africa, a commentary**

Por: Menon, Sonia; Rossi, Rodolfo; Kariisa, Mbabazi; et al.

VIROLOGY JOURNAL Volume: 15 Número do artigo: 129 Publicado: AUG 16 2018

Texto integral gratuito do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 0
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

6. **Eurogin roadmap 2017: Triage strategies for the management of HPV-positive women in cervical screening programs**

Por: Cuschieri, Kate; Ronco, Guglielmo; Lorincz, Attila; et al.

INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER Volume: 143 Edição: 4 Páginas: 735-745 Publicado: AUG 15 2018

Texto integral do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 3
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

7. **Explanations for the high potency of HPV prophylactic vaccines**

Por: Schiller, John; Lowy, Doug

VACCINE Volume: 36 Edição: 32 Edição especial: SI Páginas: 4768-4773 Parte: A Publicado: AUG 2018

Texto integral do editor

Visualizar resumo ▾

Número de citações: 2
(da Principal Coleção do Web of Science)

Total de uso

☐

8. **Therapeutic vaccines and immune checkpoints inhibition options for**

Número de citações: 0

https://apps.webofknowledge.com/summary.do?product=WOS&doc=1&qid=7&SID=8BnG3RtpWBmldNbv37Y&search_mode=CombineSearches... 1/2

05/11/2018

Web of Science [v.5.30] - Web of Science Core Collection Results

Web of Science InCites Journal Citation Reports Essential Science Indicators EndNote Publogs Kopernio Caroline Help English

Web of Science Clarivate Analytics

Search Tools Searches and alerts Search History Marked List

Results: 380
(from Web of Science Core Collection)

You searched for: #4 AND #3 AND #2 AND #1 ...More

Create Alert

Refine Results

Search within results for...

Filter results by:

☐ Open Access (168)

Refine

Publication Years

☐ 2018 (9)
☐ 2017 (17)
☐ 2016 (32)
☐ 2015 (27)
☐ 2014 (33)

more options / values...

Refine

Web of Science Categories

☐ ONCOLOGY (123)
☐ IMMUNOLOGY (80)
☐ MEDICINE RESEARCH EXPERIMENTAL (63)
☐ OBSTETRICS GYNECOLOGY (54)
☐ MEDICINE GENERAL INTERNAL (37)

more options / values...

Refine

Document Types

☐ ARTICLE (380)
☐ PROCEEDINGS PAPER (18)

more options / values...

Refine

Organizations-Enhanced

☐ MERCK COMPANY (50)
☐ GLAXOSMITHKLINE (39)
☐ UNIVERSITY OF MELBOURNE (36)
☐ UNIVERSITY OF HELSINKI (33)
☐ JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (28)

more options / values...

Refine

Funding Agencies

Authors

Sort by: Date Times Cited Usage Count Relevance More

1 of 8

Select Page 5K Save to EndNote online Add to Marked List

Analyze Results
Create Citation Report

- Impact of HPV vaccination on outcome of cervical cytology screening in Denmark-A register-based cohort study**
By: Thamsborg, Lise Holst; Napolitano, George; Larsen, Lise Grupe; et al.
INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER Volume: 143 Issue: 7 Pages: 1662-1670
Published: OCT 1 2018
Free Full Text from Publisher View Abstract
- Progress in prophylactic human papillomavirus (HPV) vaccination in 2016: A literature review**
By: Maver, Polona J.; Poljak, Mario
Conference: 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) Location: Amsterdam, NETHERLANDS Date: APR 09-12, 2016
VACCINE Volume: 36 Issue: 36 Special Issue: SI Pages: 5416-5423 Published: AUG 28 2018
Full Text from Publisher View Abstract
- Explanations for the high potency of HPV prophylactic vaccines**
By: Schiller, John; Lowy, Doug
VACCINE Volume: 36 Issue: 32 Special Issue: SI Pages: 4768-4773 Part: A
Published: AUG 2018
Full Text from Publisher View Abstract
- Risk of HPV-16/18 Infections and Associated Cervical Abnormalities in Women Seropositive for Naturally Acquired Antibodies: Pooled Analysis Based on Control Arms of Two Large Clinical Trials**
By: Safaeian, Mahboobeh; Castellsague, Xavier; Hildesheim, Allan; et al.
Group Author(s): Costa Rica HPV Vaccine Trial Grp; PATRICIA Study Grp
JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES Volume: 218 Issue: 1 Pages: 84-94
Published: JUL 1 2018
Free Full Text from Publisher View Abstract
- Optimization of human papillomavirus (HPV) type 16 E7-expressing lactobacillus-based vaccine for induction of mucosal E7-specific IFN gamma-producing cells**
By: Komatsu, Atsushi; Igimi, Shizunobu; Kawana, Kei
VACCINE Volume: 36 Issue: 24 Pages: 3423-3426 Published: JUN 7 2018
Full Text from Publisher View Abstract
- Immunotherapy for cervical cancer: Can it do another lung cancer?**
By: Ramanathan, Priya; Dhandapani, Hemavathi; Jayakumar, Hascitha; et al.
CURRENT PROBLEMS IN CANCER Volume: 42 Issue: 2 Pages: 148-160
Published: MAR-APR 2018
Full Text from Publisher View Abstract
- Clinical management of women presenting with field effect of HPV and intraepithelial disease**
By: Adams, T. S.; Mbatani, N. H.
BEST PRACTICE & RESEARCH CLINICAL OBSTETRICS & GYNAECOLOGY Volume: 47 Pages: 86-94 Published: FEB 2018
Full Text from Publisher View Abstract

Times Cited: 1 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 2 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

Times Cited: 0 (from Web of Science Core Collection)
Usage Count

https://apps.webofknowledge.com/Search.do?product=WOS&SID=8DzKUw8JcZQTJy6jkwH&search_mode=CombineSearches&prID=f657f1df-3... 1/7

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 630, após aplicar o filtro da base (ARTICLE) da Web of Science o n=380

O quadro abaixo é referente ao número de artigos recuperados após a busca final e após aplicar o filtro de cada uma das bases:

Bases	Busca inicial (Antes de aplicar o filtro)	Após aplicar o filtro
Pubmed	1100	Clinical trials: 124
Web of Science	647	Article: 380
Scopus	35	Article: 10
CENTRAL	148	Trials: 143
EMBASE	775	Article and Article in Press: 295
LILACS	8	8

OBS: Exportaremos para o Endnote apenas os resultados já filtrados nas Bases (clinical trials) e no Flowchart Prisma incluiremos os resultados iniciais totais de cada base e indicaremos os motivos de exclusão subsequente (baseado no delineamento etc).

Estratégia de BUSCA 6.11.2018 (15:00-20:45)

BUSCA 5 - Embase

#1 'uterine cervix carcinoma in situ'/exp OR 'intraepithelial neoplasia'/exp OR 'cervical intraepithelial neoplasia 3'/exp OR 'cervical intraepithelial neoplasia 2'/exp OR 'high grade intraepithelial neoplasia'/exp OR 'precancer'/exp
#2 'wart virus'/exp OR 'papillomaviridae'/exp OR 'papillomavirus infection'/exp OR 'papillomavirus-transformed cell line'/exp OR 'human papillomavirus type 16'/exp OR 'human papillomavirus type 18'/exp OR 'human papillomavirus type 16-transformed cell line'/exp OR 'human papillomavirus type 18-transformed cell line'/exp
3 'vaccine'/exp OR 'immunomodulatory activity'/exp OR 'adjuvant'/exp OR 'vaccination'/exp OR 'virus vaccine'/exp OR 'wart virus vaccine'/exp
#4 'randomized controlled trial'/exp OR 'randomization'/exp OR 'controlled clinical trial'/exp OR 'clinical trial'/exp

☐ History	Save Delete Print view Export Email	Combine >	using ☒ And ☐ Or	^ Collapse
☐ #6	#5 AND ('article'/it OR 'article in press'/it)			295
☐ #5	#1 AND #2 AND #3 AND #4			775
☐ #4	'randomized controlled trial'/exp OR 'randomized controlled trial' OR 'randomization'/exp OR 'randomization' OR 'controlled clinical trial'/exp OR 'controlled clinical trial' OR 'clinical trial'/exp OR 'clinical trial'			1,801,450
☐ #3	'vaccine'/exp OR 'vaccine' OR 'immunomodulatory activity'/exp OR 'immunomodulatory activity' OR 'adjuvant'/exp OR 'adjuvant' OR 'vaccination'/exp OR 'vaccination' OR 'virus vaccine'/exp OR 'virus vaccine' OR 'wart virus vaccine'/exp OR 'wart virus vaccine'			685,949
☐ #2	'wart virus'/exp OR 'wart virus' OR 'papillomaviridae'/exp OR 'papillomaviridae' OR 'papillomavirus infection'/exp OR 'papillomavirus infection' OR 'papillomavirus-transformed cell line'/exp OR 'papillomavirus-transformed cell line' OR 'human papillomavirus type 16'/exp OR 'human papillomavirus type 16' OR 'human papillomavirus type 18'/exp OR 'human papillomavirus type 18' OR 'human papillomavirus type 16-transformed cell line'/exp OR 'human papillomavirus type 16-transformed cell line' OR 'human papillomavirus type 18-transformed cell line'/exp OR 'human papillomavirus type 18-transformed cell line'			133,351
☐ #1	'uterine cervix carcinoma in situ'/exp OR 'uterine cervix carcinoma in situ' OR 'intraepithelial neoplasia'/exp OR 'intraepithelial neoplasia' OR 'cervical intraepithelial neoplasia 3'/exp OR 'cervical intraepithelial neoplasia 3' OR 'cervical intraepithelial neoplasia 2'/exp OR 'cervical intraepithelial neoplasia 2' OR 'high grade intraepithelial neoplasia'/exp OR 'high grade intraepithelial neoplasia' OR 'precancer'/exp OR 'precancer'			46,785

295 results for search #6 Set email alert Set RSS feed Search details Index miner

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 775, após aplicar o filtro da base (Article and Article in Press) da Embase o n=295

BUSCA 6 - LILACS

#1

(tw:(neoplasia intraepitelial cervical OR neoplasia cervical intraepitelial OR neoplasia intraepitelial cervical grau III OR cervical intraepithelial neoplasia OR cervical intraepithelial neoplasia, grade III OR NIC OR CIN OR lesão pré-maligna OR lesão pré-neoplásica OR cervical intraepithelial neoplasia grade II OR high grade cervical intraepithelial neoplasia OR premalignant disorder OR preneoplastic))

#2

(tw:(Papillomaviridae OR Human papilomavírus OR Papilomavirus humano OR HPV OR Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Virus OR Papillomaviridae))

#3

(tw:(vaccine OR therapeutic vaccine OR adjuvant OR adjuvantes imunológicos OR vacinas anticâncer OR cancer vaccines OR vacinas antitumor OR vacinas antitumorais OR vacinas contra o câncer OR vacinas contra neoplasias OR vacinas contra tumores OR immunomodulatory therapies OR therapies, immunomodulator OR vacina terapêutica OR therapeutic vaccine OR vaccinotherapy))

#4

(tw:(Randomized Controlled Trial OR Controlled Clinical Trial OR Randomized Controlled Trials OR estudo randomizado))

Portal Regional da BVS
Informação e Conhecimento para a Saúde

Home > Pesquisa > (tw:((neoplasia intraepitelial cervical OR neoplasia cervical intraepitelial OR neopla... (8)

(tw:((neoplasia intraepitelial cervical OR neoplasia cervical in Título, resumo, assunto Pesquisar

Busca Avançada Localizar descritor de assunto Configurar filtros

Formato de apresentação Ordem do resultado 20 RSS XML Print Email Facebook Google+ Twitter Plus

Resultados 1 - 8 de 8 1 Próxima > Última >>

1. **Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial.**
Trimble, Cornelia L; Morrow, Matthew P; Kraynyak, Kimberly A; Shen, Xuefei; Dallas, Michael; Yan, Jian; Edwards, Lance; Parker, R Lamar; Denny, Lynette; Giffear, Mary; Brown, Ami Shah; Marcozzi-Pierce, Kathleen; Shah, Divya; Slager, Anna M; Sylvester, Albert J; Khan, Amir; Broderick, Kate E; Juba, Robert J; Herring, Timothy A; Boyer, Jean; Lee, Jessica; Sardesai, Niranjan Y; Weiner, David B; Bagarazzi, Mark L.
Lancet; 386(10008): 2078-2088, 2015 Nov 21.
Artigo em Inglês | MEDLINE | ID: mdl-26386540
[Mostrar mais](#) [Texto completo](#) [Similares](#) [PubMed Links](#) [Minha BVS](#)

2. **The clinical effectiveness and cost-effectiveness of primary human papillomavirus cervical screening in England: extended follow-up of the ARTISTIC randomised trial cohort through three screening rounds.**

Sua seleção (0)
[Listar documentos](#)
[Limpar seleção](#)

Filtrar
expandir todos fechar todos

Texto completo
☐ Disponível (5)

Coleções
☐ Bases de dados internacionais (8)

Base de dados
☐ MEDLINE (8)

Assunto principal
☐ Neoplasia Intraepitelial Cervical (8)
☐ Infecções por Papillomavirus (6)
☐ Vacinas contra Papillomavirus (6)
☐ Neoplasias do Colo do Útero (5)

OBS: o número de artigos recuperados após a busca inicial foi de 08, para esta base não foi utilizado nenhum filtro.

BUSCAS MANUAIS

Bases	Busca 1	Busca 2
REBEC	0	0
Clinical Trials.gov	6	29
Google Scholar	170	-
British Library	19	-
Handsearching		

REBEC n = 0

cervical intraepithelial neoplasia OR CIN AND Human papilomavírus OR HPV AND therapeutic vaccine OR vaccine AND clinical trial OR Randomized Controlled Trial

cervical intraepithelial neoplasia AND HPV AND vaccine AND clinical trial

cervical intraepithelial neoplasia AND Human papilomavírus AND therapeutic vaccine OR vaccine AND clinical trial

The screenshot shows the REBEC website interface. At the top, there is a header with the logo and navigation links. Below the header, there is a search bar with the text "BUSCA AVANÇADA" and a "Buscar ensaios" button. The main content area displays the search criteria used: "1. Tipo do estudo: Intervencional" and "2. Gênero de inclusão: feminino". Below this, it states "Nenhum ensaio clínico foi encontrado com o termo: cervical intraepithelial neoplasia OR CIN AND Human papilomavírus OR HPV AND therapeutic vaccine OR vaccine AND clinical trial OR Randomized Controlled Trial".

Saúde
Ministério da Saúde

REGISTRO BRASILEIRO DE
Ensaaios Clínicos

USUÁRIO SENHA **ENTRAR** Esqueceu a senha? Registrar-se

PT | ES | EN

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

Buscar ensaios

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / ENSAIOS REGISTRADOS

Critérios Utilizados na Busca Refine esta busca

1. Tipo do estudo: Intervencional
2. Gênero de inclusão: feminino

[+ Compartilhe este resultado](#)

Nenhum ensaio clínico foi encontrado com o termo: cervical intraepithelial neoplasia AND HPV AND vaccine AND clinical trial

Saúde
Ministério da Saúde

REGISTRO BRASILEIRO DE
Ensaaios Clínicos

USUÁRIO SENHA **ENTRAR** Esqueceu a senha? Registrar-se

PT | ES | EN

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

Buscar ensaios

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / ENSAIOS REGISTRADOS

Critérios Utilizados na Busca Refine esta busca

1. Tipo do estudo: Intervencional
2. Gênero de inclusão: feminino

[+ Compartilhe este resultado](#)

Nenhum ensaio clínico foi encontrado com o termo: cervical intraepithelial neoplasia AND Human papillomavirus AND therapeutic vaccine OR vaccine AND clinical trial

Clinical Trials.gov = Busca 1 (n=6); Busca 2 (n=29)

06/11/2018

Search of: Available, Completed, Terminated Studies | Studies With Results | Interventional Studies | Cervical Intraepithelial Neopla...

NIH U.S. National Library of Medicine

ClinicalTrials.gov [Modify Search](#)[Start Over](#)

29 Studies found for: **Available, Completed, Terminated Studies | Studies With Results | Interventional Studies | Cervical Intraepithelial Neoplasia | Studies with Female Participants**

Also searched for **Neoplasm, Cervical dysplasia, Cancer** and more. [See Search Details](#)

Applied Filters: ☒ **Available** ☒ **Completed** ☒ **Terminated** ☒ **With Results** ☒ **Interventional**
☒ **Female**

[List](#)[By Topic](#)[On Map](#)[Search Details](#)[Hide Filters](#)[Download](#)[Subscribe to RSS](#)

Filters

Showing: 1-10 of 29 studies studies per page[Show/Hide Columns](#)

Status

- ☐ Not yet recruiting
- ☐ Recruiting
- ☐ Enrolling by invitation
- ☐ Active, not recruiting
- ☐ Suspended
- ☒ Terminated
- ☒ Completed
- ☐ Withdrawn
- ☐ Unknown status[†]

Expanded Access

- ☒ Available
- ☐ No longer available
- ☐ Temporarily not available
- ☐ Approved for marketing

Eligibility Criteria

Row	Saved	Status	Study Title	Conditions	Interventions
1	☐	Terminated Has Results	Hexaminolevulinate (HAL) Photodynamic Therapy (PDT) of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) Grade 1	• Cervical Intraepithelial Neoplasia	• Drug: Hexaminolev (HAL) • Drug: Placebo

<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?recrs=ceh&slt=With&type=Intr&cond=Cervical+Intraepithelial+Neoplasia&gndr=Female>

1/4

06/11/2018 Search of: Available, Completed, Terminated Studies | Studies With Results | Interventional Studies | Cervical Intraepithelial Neopla...

NIH U.S. National Library of Medicine

ClinicalTrials.gov [Modify Search](#)[Start Over](#) 6 Studies found for: **Available, Completed, Terminated Studies | Studies With Results | Interventional Studies | Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2/3 | Studies with Female Participants**Applied Filters: ☒ **Available** ☒ **Completed** ☒ **Terminated** ☒ **With Results** ☒ **Interventional**
☒ **Female**[List](#)[By Topic](#)[On Map](#)[Search Details](#)**Terms and Synonyms Searched:**

Terms	Search Results*	Entire Database**
Synonyms		
Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2/3	1 studies	11 studies
Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2	6 studies	69 studies
cin 2	6 studies	38 studies
cervical intraepithelial neoplasia 2	3 studies	5 studies
Cervical intraepithelial neoplasia grade II	--	1 studies
Cervical intraepithelial neoplasia II	--	1 studies
CIN II	--	7 studies
Grade 2/3	1 studies	15 studies
Cervical Intraepithelial Neoplasia	6 studies	294 studies
Cervical dysplasia	2 studies	137 studies
Cervical Intraepithelial Neoplasms	1 studies	3 studies
Cervix Intraepithelial Neoplasia	--	2 studies
Grade 2	3 studies	5,230 studies

<https://clinicaltrials.gov/ct2/results/details?recrs=ceh&rslt=With&type=Intr&cond=Cervical+Intraepithelial+Neoplasia+Grade+2%2F3&gndr=Female> 1/3

Google Scholar n=170

Pesquisa com todas as palavras: cervical intraepithelial neoplasia AND Human papillomavirus AND therapeutic vaccine OR vaccine AND clinical trial

Com frase exata: SAFETY, EFFICACY AND IMMUNOGENICITY OF THERAPEUTIC VACCINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH HIGH-GRADE CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS

Onde minhas palavras ocorrem: Em qualquer lugar do artigo

Pesquisa avançada

Encontrar artigos

com todas as palavras

com a frase exata

com no mínimo uma das palavras

sem as palavras

onde minhas palavras ocorrem ☒ em qualquer lugar do artigo ☐ no título do artigo

Exibir artigos de autoria de
Exemplos: "Guilherme Bittencourt" ou McCarthy

Exibir artigos publicados em
Exemplos: *Saber Eletrônica* ou *Revista Ciência Hoje*

Exibir artigos com data entre —
Exemplo: 1996

Google Scholar in English

https://scholar.google.com.br/scholar?start=9&q=cervical+intraepithelial+neoplasia+AND+H+uman+papilomav%C3%ADrus+AND+therapeutic+vaccine+OR+vaccine+AND+clinical+trial+%22SAFETY,+EFFICACY+AND+IMMUNOGENICITY+OF+THERAPEUTIC+VACCINES+IN+THE+TREATMENT+OF+PATIENTS+WITH+HIGH-GRADE+CERVICAL+INTRAEPITHELIAL+NEOPLASIA+A&hl=pt-BR&as_sdt=0,5

British Library n=19

http://explore.bl.uk/primo_library/libweb/action/search.do?vid=BLVU1

Main catalogue   Our website   Explore Further

Advanced search   Note: Search terms must be in lower case

Anywhere ▾   contains ▾   cervical intraepithelial neoplasia

AND ▾

Anywhere ▾   contains ▾   human papillomavirus

AND ▾

Anywhere ▾   contains ▾   therapeutic vaccine

Material type: Articles ▾

Start Date: Year

End Date: Year

Search scope: Everything in this catalogue ▾

Date range searching is not available for Article, Issue and Archived Website records; nor does it work for Audio records.

Search   **Clear**   [Simple search](#)

06/11/2018

Explore the British Library Search - cervical intraepithelial neoplasia / human papillomavirus / therapeutic vaccine

[Guest](#) [My workspace](#) [Personal settings](#) [Log in](#)

[Catalogues](#)
[Collections](#)
[Discover](#)
[Services](#)
[Visiting](#)
[About](#)
[Information for...](#)

Explore the British Library

[Explore Home](#) [Feedback](#) [Tags](#) [Basket](#) [Request Other Items](#) [My Reading Room Requests](#) [Help](#)
[Main catalogue](#) [Our website](#) [Explore Further](#)
Advanced search **Note: Search terms must be in lower case**

 Material type:

 Start Date:

 End Date:

 Search scope:
Date range searching is not available for Article, Issue and Archived Website records; nor does it work for Audio records.
[Search](#)
[Clear](#)
[Simple search](#)

Access Options

[Online: Reading Room only](#) (15)

[Purchase a copy](#) (14)

[Request to Reading Room](#) (6)

[Refine further](#)

Author/Contributor

[Sylvester, Albert J](#) (3)

[Juba, Robert J](#) (3)

[Yan, Jian](#) (3)

[Kraaynak, Kimberly A](#) (3)

[Lee, Jessica](#) (3)

[Show 15 more](#)
[Refine further](#)

Subject

[Medicine](#) (13)

[Biotechnology](#) (9)

[Pharmaceutical](#)
[Chemistry](#) (9)

[Vaccines--Periodicals](#) (2)

 Results 1 - 10 of **19** for **Everything in this catalogue** Sort by: [relevance](#)

1 2 ➔

- 1 **A phase I dose-escalation clinical trial of a peptide-based human papillomavirus therapeutic vaccine with Candida skin test reagent as a novel vaccine adjuvant for treating women with biopsy-proven cervical intraepithelial neoplasia 2/3**
Greenfield, William W et al.
Oncoimmunology -- Taylor & Francis -- Volume: 4 Issue: 10; -- 2015

[Details](#) [I want this](#) [Notes & Tags](#)

- 2 **T-cell response to human papillomavirus type 52 L1, E6, and E7 peptides in women with transient infection, cervical intraepithelial neoplasia, and invasive cancer**
Chan, P. K. et al.
Journal of medical virology. VOL 83; NUMBER 6, ; 2011, 1023-1030 -- John Wiley & Sons, Ltd -- 2011

[Details](#) [I want this](#) [Notes & Tags](#)
http://explore.bl.uk/primo_library/libweb/action/search.do?fn=search&ct=search&initialSearch=true&mode=Advanced&tab=local_tab&indx=1&du... 1/3

Handsearching during the screening

Após as buscas e exclusões de duplicatas, iniciou-se a seleção dos artigos das bases selecionadas para a pesquisa a fim de avaliar se os artigos seguiriam para a próxima etapa de seleção por leitura de abstract até a seleção final dos artigos. Para esta etapa, foram utilizados critério de inclusão e exclusão previamente definidos em protocolo. As razões das exclusões encontradas nos artigos basearam-se em critérios contraditórios aos pré-estabelecidos relacionados à População, Intervenção, Tipo de Estudo e desfecho, como demonstra a Quadro a seguir:

Razões das exclusões

Razão	Variável
População (P)	Pacientes com CIN I, pacientes com imunodepressões associadas, lesões não relacionadas a neoplasia intraepitelial cervical, outras patologias associadas a HPV que não a intraepitelial cervical, pacientes saudáveis, estudos com homens e modelos animais
Intervenção (I)	Programa de vacinação, vacina profilática, vacinas preventivas, vacinas quadrivalentes, vacinas bivalentes, <i>screening</i> , triagem, medicamentos tópicos, testes genéticos, histopatopatologia, testes preventivos
Desfechos	Qualquer estudo que avaliou apenas 1 ou 2 das 3 variáveis que serão avaliadas (Segurança, eficácia e imunogenicidade)
Study design (S)	Estudos não randomizados, revisão, capítulos de livros, opinião de especialistas, tese, dissertação, estudos epidemiológicos, análise crítica, update, diagnóstico, prognóstico, custo-efetividade, impactos econômicos, distribuição geográfica, estudo de cohort, guidelines, testes de percepção e estudos de modelos matemáticos

APÊNDICE 2. Quadros de extração de dados final dos ensaios clínicos incluídos na análise qualitativa após atingido o consenso entre os dois revisores.

DATA EXTRACTION FORM

Summary of the study 01

Study: 01	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Ellen E. Sheets, Robert G. Urban, Christopher P. Crum, Mary Lynne Hedley, Joseph A. Politch, Michael A. Gold, Laila I. Muderspach, Geoffrey A. Cole, and Peggy A. Crowley-Nowick.
Title	Immunotherapy of human cervical high-grade cervical intraepithelial neoplasia with microparticle-delivered human papillomavirus 16 E7 plasmid DNA
Impact Factor (JCR)	American Journal of Obstetrics and Gynecology – JCR ₂₀₁₇ : 5.574
Year of publication	2003
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	Not reported.
Country	USA
Aim	To evaluate the safety of the administration of a bacterial expression plasmid encoding a 13 amino acid sequence that is highly homologous with human papillomavirus E7 within poly (lactide-co-glycolide) microparticles (ZYC101) in women with HLA A2+ antigen and persistent cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 and human papillomavirus 16
Methods	a) Study design: This was a multisite phase I dose-escalating toxicity uncontrolled trial (50 µg, 100 µg, and 200 µg pDNA) that used three clinical sites. b) Study location: Patients were accrued from the study site's patient volume and by private physician referral in USA. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Initial eligibility requirements included ≥18 years old, nonpregnant woman using approved method of birth control, no evidence of immunosuppression by history or hematologic assessment by white count, negative evaluation for hepatitis B and C, >1 year since previous CIN 2/3 treatment, and an adequate colposcopy test that revealed residual disease at least 1 month after diagnostic biopsy. e) Exclusion criteria: Not reported. f) Ethical aspects: The study was performed in compliance with Good Clinical Practice, according to the International Conference on

	Harmonisation. Each site received institutional review board approval for the study. Written informed consent was obtained from each patient before enrollment. g) Trial Register: Not reported. h) Trial arms: Double-arm (no control group): - Experimental Group: Six patients were assigned to intramuscular injection arm and nine patients were assigned to intramuscular injection arm within each dose level. No placebo control subjects were accrued. i) Randomization: Not reported. j) Masking: All accrual biopsy specimens and final LEEP histologic findings were reviewed by one of the authors (C. P. C.) without knowledge of the initial diagnosis. k) Intervention protocol: Six patients were assigned to either the subcutaneous or intramuscular arm within each dose level. Doses were given in alternating anterior thigh locations. The subcutaneous arm was dropped for the 200 µg pDNA dose level because four of the five complete responses were seen with patients who were treated intramuscularly. The active component of ZYC101 is a bacterial expression plasmid (BIOTOPE; Zycos, Lexington, Mass), which expresses a segment (codons 83-94) of the HPV-type 16 E7 protein that is fused to a secretory leader sequence. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Six patients were assigned to intramuscular injection arm and nine patients were assigned to intramuscular injection arm within each dose level. - Intention-to-treat: Not reported. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Not reported. - Procedures: Patients were treated according to the study schedule. Briefly, patients were seen every 3 weeks for treatment, safety monitoring, and immunologic assessment. Colposcopy at each visit ensured that patients did not experience a significant progression of their lesion. These images were captured digitally for secondary review. Cytologic findings at visit 3 were used to assess potential disease progression. Patients underwent an LEEP procedure at week 10. The final visit was 4 months after LEEP, a standard surveillance interval for patients with CIN. Patients underwent a complete physical examination with pretreatment vital signs at each visit. Vital signs were monitored for 1 hour after drug injection. Laboratory evaluation was extensive in view of the phase I investigational drug usage n) Instruments for data collection: The case report forms were used to record information that related to the AEs (such as time of onset, time of resolution, intensity [mild, moderate, severe] and whether the AE was serious), the action taken to resolve the AE, and the relationship to the study drug, categorized by probably, possibly,

	probably not, unknown, and present before the trial. Classifications of AEs were according to body system and event description as defined by the World Health Organization Adverse Reaction Terminology coding dictionary and only included treatment-emergent AEs. o) Outcomes: - Primary outcome: The primary endpoint was safety and toxicity. - Secondary outcome: Secondary endpoints included histologic response as well as immune response. - p) Data analysis: - Statistical analysis: Clinical results were summarized and evaluated by the McNemar test or the Stuart-Maxwell test, where appropriate, to detect any statistically significant changes between baseline and follow-up visits. All statistical tests were performed with the use of two-sided tests and a type I error rate (α level) of .05. All tables and statistical analyses were produced with the SAS software (version 6.12; SAS Institute Inc, Cary, NC) for Windows 95 (Microsoft Corporation, Redmond, Wash). - Statistical analysis was performed with StatView statistical software (version 5.0.1, SAS Institute Inc). - Analysis of experimental data: All cytokine and antibody concentrations exhibited nonnormal distributions; therefore, data were log transformed before analysis to normalize the distributions and stabilize the variances. Two-way analysis of variance with one between-subjects variable (responders vs nonresponders) and one within-subject variable (5 time points for testing) were used to examine all longitudinal data. A statistically significant analysis of variance was followed by post hoc analysis with Scheffe tests. In all cases, statistical significance was assumed when the probability value of $\leq .05$.¹⁹ The positive/negative cutoff value that was noted in Table IV was determined from the preimmune antibody level and the concentration of stimulated interferon gamma in the T-cell analysis. The mean concentration of either antibody or interferon gamma plus 3 SDs of the mean were calculated and used as the cutoff value for positivity.

Main Results	All 15 patients who were accrued were positive for HLA-A2 antigen with PCR-documented HPV 16–induced CIN 2/3. One patient had a mixed infection of HPV 16/31. The average patient age was 29.7 years old (range, 19–44 years), and 93% of the patients were white. <i>Safety:</i> All sections from the complete responders were negative after PCR analysis. Eight patients had at least one treatment emergent AE, of which seven AEs were either possibly (2 AEs) or probably (5 AEs) related to the investigational drug. Treatment-emergent AEs are summarized by body system and preferred term in Table II. Five of these patients reported leg pain at the site of injection, which resolved within 48 to 72 hours and required only over-the-counter preparations for analgesia. There were no SAEs. <i>Efficacy results:</i> Other secondary clinical end points that were evaluated were lesion diameter as noted on periodic colposcopy and repetitive cytologic evidence that was obtained during treatment and at the time of definitive LEEP excision. Colposcopy revealed no significant changes in apparent lesion size for nonresponders. Five patients demonstrated a complete histologic response on final LEEP excision, and one additional patient had an equivocal histologic response after consensus review. <i>Immunological responses:</i> All subjects demonstrated a response to influenza peptide before injection with ZYC101; this response did not change after dosing. In contrast, the concentration of interferon gamma that was secreted after stimulation with HPV peptides was significantly higher after being dosed with ZYC101 ($P = .039$). Post hoc testing demonstrated that T-lymphocyte activity was significantly greater at weeks 3 and 6 compared with week 0. Four of the five patients with a complete response exhibited an increased proportion of IgA antibody that was specific for HPV 16 E2 peptide to total IgA in cervical secretions after the administration of ZYC101.
Limitations	Not reported.
Conclusions	Overall, there was a 33% complete response to ZYC101 and a 40% partial/complete response rate (if the one patient whose disease was not completely supportive of a preinvasive abnormality at LEEP is included). There were no serious AEs that were related to the administration of ZYC101. Eleven of the 15 patients demonstrated significant HPV-specific T-cell responses after dosing.
Implications for clinical practice	Not reported.

Summary of the study 02

Study: 02	
ROBINS-I: Not applicable	Cochrane Risk of Bias Tool: Low
Authors	Francisco Garcia, MPH, Karl Ulrich Petry, Laila Muderspach, Michael A. Gold, Patricia Braly, Christopher P. Crum, Marianne Magill, MS, Michael Silverman, Robert G. Urban, Mary Lynne Hedley, and Kathleen J. Beach.
Title	ZYC101a for Treatment of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Randomized Controlled Trial
Impact Factor (JCR)	Obstetrics & Gynecology – JCR ₂₀₁₇ : 4.982
Year of publication	2004
Conflict of interest	This study was fully supported by ZYCOS Inc. Drs. Hedley and Urban are employees of ZYCOS and, as such, have stock options.
Study sponsorship	Drs. Beach and Silverman are consultants for the company and have stock options.
Country	USA
Aim	To assess the efficacy, safety, and immunogenicity of VGX-3100 delivered by electroporation before a planned standard therapeutic resection of CIN2/3 lesions positive for HPV-16 or HPV-18.
Methods	a) Study design: This phase 2 trial was multicenter, double blind, randomized, and placebo controlled. b) Study location: 17 centers in the United States and Europe. c) Sample size / Sampling: Assuming resolution rates of 33% and 80% for placebo and treated groups, respectively, a sample size of 30 patients in each group yields a power greater than 90%. The assumption for spontaneous resolution was based on phase 1 results, whereas the assumption of 80% efficacy was taken from efficacy rates of invasive procedures, which range from 60 –90%. Subjects were enrolled and randomized equally to placebo, 100 µg DNA, or 200 µg DNA. The sample size calculation was performed as a 2:1 ratio for placebo versus combined treatment because there were no data to suggest that the 2 doses of ZYC101a differed in efficacy. d) Inclusion criteria: Women were eligible if they met the following inclusion criteria: 18 years or older, histologically confirmed CIN 2/3 by colposcopically directed punch biopsy, positive HPV test result by Hybrid Capture II analysis (onco- genic types; Digene Corporation, Gaithersburg, MD) or polymerase chain reaction (any type), and presence of a colposcopically evaluable CIN 2/3 lesion before the first injection. All subjects were required to use effective contraception during the course of the study. e) Exclusion criteria: Subjects were excluded if they had evidence of disease in more than 2 cervical quadrants; treatment for cervical dysplasia within the past year; or immunologic disorders.

	f) Ethical aspects: The Ethical approved was obtained by the Institutional Review Board or this trial. g) Trial Register: Not reported. h) Trial arms: Experimental Group (EG) e Control Group (CG): total of 161 patients randomized in the proportion - EG = 53 patients were allocated to receive 100 µg active of ZYC101a; and 58 patients were allocated to receive 200 µg active of ZYC101a - CG = 50 patients were allocated to placebo. i) Randomization: Subjects were enrolled and randomized equally to placebo, 100 µg DNA, or 200 µg DNA. Subjects were randomized within each study center in blocks of 6; no other stratification variables were used. The randomization was generated and validated by an independent contract research organization using SAS 6.12 for Windows (SAS Institute, Cary, NC). Numbered containers were provided to each site by an independent packaging company and kept in the study site pharmacy. Subjects were then assigned a randomization number in sequential order. After randomization, subjects were injected intramuscularly (lateral quadriceps), once every 3 weeks (weeks 0, 3, and 6), for a total of 3 doses j) Masking: The syringe was then given to a nurse not associated with subject contact and evaluation, who administered the injection under conditions that masked the identity of study drug from the subject and all other study staff. Entry cervical diagnostic punch biopsy and exit cone biopsy were independently reviewed by 2 study pathologists and classified according to published criteria. Non-concordant diagnoses were adjudicated by independent review of the slides by a third pathologist and consensus achieved in a conference of all 3 study pathologists who remained blinded to treatment assignment. k) Intervention protocol: Subjects were enrolled and randomized equally to placebo, 100 µg DNA, or 200 µg DNA. After randomization, subjects were injected intramuscularly (lateral quadriceps), once every 3 weeks (weeks 0, 3, and 6), for a total of 3 doses. ZYC101a (ZYCOS Inc, Lexington, MA) is an investigational agent and was formulated based on its precursor, ZYC101, which showed promise in phase 1 trials. Both drugs are composed of plasmid DNA encapsulated in biodegradable poly (D,L-lactide-co-glycolide) microparticles.¹⁷ The ZYC101a product includes the complete HPV-encoding sequences contained within ZYC101 (HPV-16 E7, human lymphocyte antigen A2 restricted), in addition to regions encoding segments of HPV-16 and HPV-18 E6 and E7 viral proteins. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: not reported - Modified intention-to-treat: A total of 161 women meeting the eligibility criteria were enrolled, randomized, and dosed according to the study protocol. This group was evaluated for drug safety and tolerability. Of the original group of 161 subjects, 27 were found to have enrollment biopsy findings that were not

confirmed by the independent panel of pathologists as CIN 2/3. This finding suggests that a significant number of biopsies were overread by the local pathology laboratories. Another 7 subjects did not have exit histopathology results for review at the conclusion of the study (4 subjects were pregnant, 1 was lost to follow-up, 1 underwent conization at a clinic not associated with the trial, and 1 exit slide was not available for adjudication). Therefore, 127 subjects were eligible for analysis of drug-efficacy endpoints (modified intent-to-treat population).

m) Procedures for data collection: The primary efficacy variable was based on the histologic diagnosis of conization-derived cervical tissue (presence or absence of CIN 2/3). Inclusion in this endpoint analysis required confirmation of the initial diagnosis of CIN 2/3 by the independent panel of pathologists, each of whom was blinded to patient treatment. Histologic resolution was defined as an outcome of either “normal” or “CIN 1,” which included the category of “atypical squamous epithelium suggestive of HPV” at time of exit. Lack of histologic resolution was defined as residual CIN 2/3 or invasive carcinoma at study exit.

- **Data collection period:** Between December 2000, and November 2001.
- **Procedures:** Approximately 6 months after study entry, all subjects underwent a surgical excisional conization, most often using a loop electrical surgical excision procedure (LEEP). At enrollment (up to 12 weeks before the first dose was administered), all eligible subjects underwent a medical history and physical examination. Subjects were monitored by colposcopic evaluation, cytology, and HPV testing at weeks 6, 10, 18, and 26. Additional visits included colposcopic evaluations at weeks 0, 3, 14, and 22.

n) Outcomes:

- **Primary outcome:** The primary efficacy endpoint were safety and efficacy.
- **Secondary outcome:** The secondary endpoint was immune response.

o) Data analysis:

- **Statistical analysis:** In general, continuous variables were summarized by descriptive statistics, including number, mean, median, standard deviation, minimum, and maximum. Categorical variables were presented with the number and percentage in each category. All percentages were calculated using nonmissing data as the denominator. All statistical tests were 2-sided with an $\alpha=0.05$ level of significance. The demographic and baseline diagnostic data between placebo and the combined active groups were calculated. The P values were based on Cochran-Mantel-Haenszel tests for colposcopy, and on Fisher exact test for the other data. For colposcopy, the Cochran-Mantel-Haenszel test, stratified by pooled center, was performed. For other efficacy variables, the Fisher exact test was performed because the data came from a central laboratory or reader. The center-to-center variation was taken into account only for the colposcopy, which was performed at the individual centers.

	Because histology was based on an independent reader, there was no center variation to control for. For all efficacy analyses, unless explicitly stated otherwise, placebo was compared against the 2 active groups combined, and only if the P value was lower than .05 was placebo compared against each of the active treatment groups separately. The populations analyzed included the safety population (all patients receiving at least 1 dose) and the modified intent-to-treat population (patients who had confirmed CIN 2/3 at baseline and who had cone biopsy data with a confirmed exit diagnoses). Analyses were also performed on a prospectively defined subpopulation of the modified intent-to-treat population of subjects who were younger than 25 years. This was supported by the findings of the phase 1 study showing that 100% of the patients (n =4) younger than 25 years experienced resolution of CIN 2/3 after treatment with ZYC101. All statistical analyses were performed using PC SAS 6.12 (SAS Institute, Cary, NC). - An additional substudy, using a single set of 20 LEEP slides that was not associated with the trial, was performed to explore the level of interreader variability. The slide set was sent consecutively to each of the 3 study pathologists. A <i>k</i> statistic was computed between each pair of readers. - Analysis of experimental data: General immune status as well as the level of HPV- directed immune reactivity was evaluated at each visit using γ interferon enzyme-linked immunospot with phytohemagglutinin or sets of pooled peptides derived from the ZYC101a coding region. The limit of detection and the fold change required or scoring as a positive response was calculated by analyzing the intraassay and interassay variability.
Main Results	<i>Safety:</i> Twenty-four distinct HPV types were identified at baseline, including types 16, novel, 31, 58, 52, 56, 66, 18, and 53. The study drug was well tolerated at both the 100-μg and 200-μg dose levels, with no major systemic side effects reported. Local injection site reactions, including mild-to-moderate pain, erythema, and induration, were more frequently reported by women receiving ZYC101a, regardless of dose, compared with placebo ($p < .05$). In each case, these symptoms resolved spontaneously or with the use of nonprescription analgesics. <i>Efficacy:</i> The primary efficacy endpoint of the study was the resolution of CIN 2/3 histology (Table 4). In the moderate intent-to-treat population, there was no statistical difference ($p = .12$) in clearance of disease at the time of conization among subjects receiving ZYC101a (43%) compared with those receiving placebo (27%). In the prospectively defined subgroup of women younger than 25 years, there was a statistically higher disease resolution rate for subjects treated with ZYC101a compared with placebo (70% versus 23%, $p = .007$). Subjects younger than 25 years with HPV-16 or HPV-18 at study entry, as well as subjects with other HPV subtypes at entry, experienced higher rates of resolution than did the corresponding subjects who received placebo (64% versus 22% and 73% versus 25%, respectively). The proportion of subjects within each treatment group without colposcopically visible lesions increased slowly but consistently, from 0% at baseline to between 35–40% at the time of LEEP. <i>Immune responses:</i> Almost twice as many subjects younger than 25 years as

	compared to those 25 years or older had more than 1 HPV type at baseline or experienced new distinct HPV exposures while participating in the study. These data may explain why 30% more subjects younger than 25 years had elevated immune responses to HPV at baseline. These age groups were comparable in the general immune status at baseline (as determined by mitogenic stimulations). Although immune responses to HPV did increase in many subjects, there was no correlation between an elevated HPV-specific immune responses and clinical response.
Limitations	Not reported.
Conclusions	The data collected in this study are supportive of the continued clinical development of ZYC101a for the treatment of CIN 2/3 in women younger than 25 years. If the efficacy and safety of ZYC101a are confirmed, a new treatment paradigm might involve administering ZYC101a to the young woman with a diagnosis of CIN 2/3, and after a 6-month period, performing a diagnostic colposcopy and biopsy.
Implications for clinical practice	A persistent finding of CIN 2/3 would result in the use of invasive procedures, whereas a diagnosis of either CIN 1 or normal histology would lead to continued monitoring consistent with current management guidelines.

Summary of the study 03

Study: 03	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	E Garcia-Hernandez, JL Gonzalez-Sanchez, A Andrade-Manzano, ML Contreras, S Padilla, CC Guzman, R Jimenez, L Reyes, G Morosoli, ML Verde, and R Rosales.
Title	Regression of papilloma high-grade lesions (CIN 2 and CIN 3) is stimulated by therapeutic vaccination with MVA E2 recombinant vaccine
Impact Factor (JCR)	Cancer Gene Therapy – JCR ₂₀₁₇ : 3.652
Year of publication	2006
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	Not reported.
Country	México
Aim	To evaluate the potential use of the MVA E2 recombinant vaccinia virus in treating high-grade lesions (CIN 2 and CIN 3) associated with oncogenic papillomavirus.
Methods	a) Study design: A phase II clinical trial involving 52 female patients with CIN 3 and 2 patients with CIN 2 high degree lesions b) Study location: Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), and the Hospital Santa Fe in Mexico. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: presence of oncogenic human papillomavirus (HPV) type 16 or 18, age between 25 and 49 years, not to be pregnant, and to have high-grade (CIN 2 and CIN 3) lesions. Patients between 25 and 50 years old, Patients with positive result for NIC II or NIC III lesions confirmed by colposcopy, Nonpregnant women; women must avoid becoming pregnant for at least 1 year after MVA E2 treatment, Normal medullar reserve, Normal kidney reserve, Normal blood chemistry, Biopsy must show possible lesion associated with papillomavirus infection (lesion does not pass the basal epithelium). e) Exclusion criteria: Patients younger than 25 years and older than 50 years, Pregnant women or nursing women, Patients without reliable contraceptive methods, Positive test for HIV, Fever from unknown cause, Chronic infections such as tuberculosis, pyelonephritis, and pneumonia, Patients with other diseases different from cervical cancer, Women who have participated in another clinical protocol up to 3 months before the beginning of this protocol, Women who are receiving any type of drug that may interfere with the objectives of this clinical protocol, Women who have received any type of steroid or immune modulators up to 4 weeks before enrolling in this protocol,

	Patients whose biopsy shows that the lesion overpasses the basal membrane. f) Ethical aspects: The study protocol and the informed consent were approved by the Institutional Review Board as defined by Federal Regulatory Guidelines. g) Trial Register: LE-BI-MVA-001 Protocol. h) Trial arms: Double-arm (with control group): - Experimental Group: Fifty-four female patients with high degree lesions were treated either with an MVA E2 therapeutic vaccine or with conization. Thirty-four women received the therapeutic vaccine, at a total of 10^7 virus particles per dose injected directly into the uterus once every week over a 6-week period. - Control Group: A control group, consisting of 20 patients with mainly CIN3 lesions, was treated with conization. Patients were admitted to the study protocol if they fulfilled the relevant eligibility criteria. These criteria included presence of oncogenic human papillomavirus (HPV) type 16 or 18, age between 25 and 49 years, not to be pregnant, and to have high-grade (CIN 2 and CIN 3) lesions. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: The MVA E2 virus was injected weekly directly into the uterus in a radial clockwise fashion at points corresponding to 3, 6, 9, and 12 o'clock over a 6-week period, using 10^7 virus particles per dose. MVA E2 name identifies an antineoplasm preparation, which has an effect on the immune system, favoring the eradication of the lesions produced by the human papilloma virus. Different administration routes have used it extensively and no adverse effect has been observed. It comes in a 1ml vial presentation. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: 54 patients (34 patients treated with MVA E2 therapeutic vaccine and 20 of the control group) - Intention-to-treat: Not reported. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between 2002 e 2004. - Procedures: Reduction of lesions was monitored weekly by colposcopy. At the end of the protocol, a biopsy was taken exactly at the same place as the first biopsy for histological analysis. The type of immune response generated by the MVA E2 treatment was determined by measuring antibody titers against the E2 protein and the MVA E2 virus, and by quantitating cytotoxic activity against cancer cells bearing papillomavirus DNA. Biopsies were taken during visits 2(beginning) and 8 (end of treatment). n) Outcomes:

	- Primary outcome: The primary endpoints were safety and efficacy based on the change in the percentage of initial value of the lesion recorded at the beginning of the treatment with respect to the end of treatment. - Secondary outcome: Secondary endpoints included immune response. Also, the rate of total failure, defined as the percentage of patients who suffered one failure event during treatment, plus the percentage of patients who abandoned the study because of an adverse event. o) Data analysis: - Statistical analysis: Primary Efficacy Analysis: Groups of patients recorded as successful will be compared, using the adjustment of Mantel–Haenszel χ^2, including all patients who finished the treatment up to visit 9. Patients will be considered successful when they receive a complete treatment with MVA E2 recombinant virus without any failure event. We will perform a two-tailed analysis with $\alpha = 0.05$ and 95% confidence interval to calculate the differences between groups. All statistical analyses will be performed with the program Statistica, and the χ^2 model following the examination by Breslow–Day. The secondary efficacy parameters include the change in the percentage of initial size of the lesion recorded at the beginning of the treatment with respect to the size of the lesion at the end of the treatment, taking as successful if the lesion is reduced in at least 50% or if the lesion remains constant without increase in size during the application of the MVA E2. To evaluate the population in study all primary and secondary efficacy analysis will include χ^2 and Cochran–Mantel–Haenszel analysis. Also, a descriptive statistical analysis will be provided with the information about adverse events and the laboratory results. In addition, physical examinations, vital signs, and electrocardiograms will be performed to evaluate any detected change in the patient's health status and cytotoxic probes and annotated in the corresponding CFR form. All the above information will be evaluated to determine adherence to the protocol LEBI-MVA-001. Biodemographic and pathological characteristics of each patient will be considered for the selection phase. At the end of the study tables will be included containing all results that cover all efficacy measurements. - Analysis of experimental data: The specific antibody response against the recombinant MVA E2 vaccine, and the HPV E2 protein, was evaluated by ELISA.

Main Results	<i>Safety:</i> As determined from physicians reports for the 34 patients who received the MVA E2 vaccine, only few mild adverse events were observed, considered to be related to the vaccine treatment. Side effects were headache in 12 patients, flu-like symptoms in nine patients, temperature above 39.1°C for 1 day in six patients, chills in eight patients, mild abdominal pain in four patients, and joint pain lasting for 1 day in two patients. <i>Efficacy:</i> By colposcopy, 19 patients out of 34 showed no lesion, in three patients the lesions were reduced by 85–90%, in eight other lesions had reduced by 60%, and in four more patients, they were reduced by 25%. Histological analysis showed total elimination of high-grade lesions in 20 out of 34 patients after treatment with MVA E2. Eleven patients had a 50% reduction in lesion size. In two other patients, the lesion was reduced to CIN 2 and in one more patient the lesion was reduced to low grade (CIN 1). All patients developed antibodies against the MVA E2 vaccine and generated a specific cytotoxic response against papilloma-transformed cells. DNA viral load was significantly reduced in MVA E2-treated patients. Conization eliminated the lesions in 80% of the patients, but patients did not develop cytotoxic activity specific against cancer cells and did not eliminate the papillomavirus. In addition, three patients treated with conization had recurrence of lesions 1 year later. <i>Immune responses:</i> Specific antibodies against the MVA E2 virus were found in all treated patients. A direct correlation was observed between anti-MVA E2 antibodies and the regression of lesions. Twelve out of 34 patients efficiently eliminated all papilloma virus DNA.
Limitations	Not reported.
Conclusions	The therapeutic vaccination with MVA E2 proved to be very effective in stimulating the immune system against papillomavirus, and in generating regression of high-grade lesion
Implications for clinical practice	Not reported.

Summary of the study 04

Study: 04	
ROBINS-I: not applicable	Cochrane Risk of Bias Tool: Uncertainty
Authors	Andreas M. Kaufmann, John D. Nieland, Ingrid Jochmus, Siegfried Baur, Klaus Friese, Joseph Gabelsberger, Friederike Giesecking, Lutz Gissmann, Birgit Glasschroder, Thomas Grubert, Peter Hillemanns, Reinhard H€opfl, Hans Ikenberg, Jorg Schwarz, Matthias Karrasch, Anette Knoll, Volkmar K€uppers, Martin Lechmann, Ralph J. Lelle, Harald Meissner, Rainer T. M€uller, Michael Pawlita, Karl Ulrich Petry, Henryk Pilch, Elke Walek and Achim Schneider
Title	Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3)
Impact Factor (JCR)	International Journal of Cancer – JCR ₂₀₁₇ : 6.513
Year of publication	2007
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	Not reported.
Country	Germany
Aim	To assess the safety and get a first impression on efficacy of 4 consecutive administrations at 2 dose levels in patients positive for HPV16 and negative for other high risk HPV types.
Methods	a) Study design: This study was a double blind, four-arm, placebo-controlled, random- ized study b) Study location: 10 German study sites (Berlin, D€usseldorf, Hamburg, Hanover, Jena, Mainz, Munich (2), M€unster, Rostock).. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Patients had histologically proven ectocervical CIN 2/3 lesions and were HPV16 mono-infected (exclusion of other high-risk HPV types) as detected by RT-PCR (MTM, Heidelberg, Germany). Other inclusion criteria were age 18–50, lesion at least 1 cm in diameter or covering 2 cervical quadrants, negative pregnancy test and use of contraceptives, signing of informed consent. e) Exclusion criteria: The exclusion criteria were any sign of invasive disease, endocervical involvement, concomitant infections, previous therapy for CIN, pregnant/lactating or postmenopausal, HIV positive or major medical conditions. f) Ethical aspects: Approved was obtained from each Internal Review Board of the participating centers. All investigations involving humans have been performed in accordance with the principles embodied in the Declaration of Helsinki. The study was performed in compliance with the guidelines of Good Clinical Practice as

	described in the International Conference on Harmonization of Good Clinical Practices guidelines g) Trial Register: Not reported. h) Trial arms: Experimental Group (EG) e Control Group (CG): Of the 239 patients screened, 39 were included in this study:- EG = 12 patients were allocated to receive low dose of 75 µg active of vaccine; and 14 patients were allocated to receive high dose 250 µg active of vaccine - CG = 13 patients were allocated to placebo. i) Randomization: Only mentioned, but not reported in detail. j) Masking: Only mentioned, but not reported in detail. k) Intervention protocol: Each woman was injected 4 times with the same dose at 0, 2, 6 and 12 weeks. Patients were treated in an outpatient setting, however, for safety reasons patients were hospitalized after each vaccination for 24 h and were carefully monitored for local and systemic safety parameters. The HPV16 L1E7 fusion gene consisting of the truncated L1 and amino acids 1–55 of E7 of HPV16. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: All patients who received at least 1 vaccination and at least 1 follow-up examination (n = 38) were included in the full analysis set (FAS). The other patients were only listed individually. The patients were analyzed according to the treatment they actually received. In addition, a per-protocol (PP) analysis was performed including all patients without relevant protocol violations. The decision on the patients to be excluded was made before unblinding. All results presented within this article refer to the PP population (n = 36) except safety analyses, which were based on the FAS. - Modified intention-to-treat: 36 subjects were eligible for analysis of drug-efficacy endpoints (modified intent-to-treat population). m) Procedures for data collection: The primary efficacy variable was based on the histologic diagnosis of conization-derived cervical tissue (presence or absence of CIN 2/3). Inclusion in this endpoint analysis required confirmation of the initial diagnosis of CIN 2/3 by the independent panel of pathologists, each of whom was blinded to patient treatment. Histologic resolution was defined as an outcome of either “normal” or “CIN 1,” which included the category of “atypical squamous epithelium suggestive of HPV” at time of exit. Lack of histologic resolution was defined as residual CIN 2/3 or invasive carcinoma at study exit. To evaluate histological changes, biopsies were taken at base- line week 24 and week 48. - Data collection period: Between December 2000, and May 2002.

	- Procedures: Study participation took 24 weeks with 2 optional follow-up visits after 36 and 48 weeks. Blood samples were collected at baseline, 2 weeks after each vaccination and after 24 weeks. Peripheral blood mononuclear cells (PBL) and plasma were stored frozen until analysis. n) Outcomes: - Primary outcome: The primary endpoint of the study was a safety evaluation of HPV16 L1E7 CVLP, assessed by the frequency and severity of adverse events and changes in clinical laboratory parameters, vital signs and physical examinations. - Secondary outcome: Secondary endpoints were to obtain evidence for efficacy, suitability of the vaccination schedule and of diagnostic procedures. Efficacy parameters were (i) immunological responses as assessed by HPV16 specific antibodies, T cells and DTH response (by skin testing) and (ii) clinical outcome by lesion size (calculated as smallest 3 largest diameter), colposcopic grading, cytology (Pap classification) and histology. o) Data analysis: - Statistical analysis: All target variables were described according to their type using descriptive statistics (frequencies or mean, standard deviation and median). Testing for differences of response rates between treatment groups was done by Fisher's exact test with an exploratory significance level of 5%. For the statistical analysis, the data of the 2 doses of placebo accompanying each vaccine group were pooled. For some cases of difference testing the data of the 2 vaccine groups were pooled additionally. Statistical analyses were performed with the use of SAS Software (SAS Institute, Heidelberg, Germany). - Analysis of experimental data: The intraepithelial lesion size at entry had to encompass at least 10 mm in the smallest diameter and/or to cover at least 2 cervical quadrants. The CIN status was determined independently by 2 pathologists analyzing a biopsy taken within 1 month before start of treatment. In case of disagreement about the CIN status (as happened in 40% of the assessments) a third pathologist was consulted. For clinical efficacy, 3 criteria were used, i.e., (i) reduction of the lesion size by at least 50% calculated by subtracting residual from initial area (at week 24 with a further reduction until week 48), (ii) reduction of CIN grade by histology to CIN 1 or less and (iii) loss of HPV16 DNA determined by consensus primer PCR. Immunological parameters were studied in the PBL and plasma that were cryopreserved at baseline, 2 weeks after each vaccination, and at week 24. HPV16 L1 VLP-specific antibodies IgG, IgM, IgA and IgE were measured by a commercially available VLP ELISA (Virofem, Mainz, Germany) and antibodies against the HPV16 E1, E2, E6, E7 proteins were measured by the GST ELISA method.
Main Results	<i>Safety:</i> 31 out of 38 patients reported a total of 128 AEs during treatment, with 81.6%; i.e., 76.9% of the high-dose group (49 AEs), 83.3% of the low-dose group (48 AEs) and 84.6% of the placebo group (31 AEs). Most AEs of

	the vaccine groups were assessed as mild to moderate in intensity (58.3% in the low dose and 38.5% in the high- dose group), the majority of AEs in the placebo group were mild (53.8%). <i>Efficacy:</i> The CIN 2/ 3 cervical intraepithelial neoplasia of one high-dose group patient had worsened and was then a persistent CIN 3 and required treatment with loop electrosurgical excision procedure (LEEP). It was assessed as mild in intensity. <i>Immune responses:</i> All patients were HPV16 positive and thus most patients tested positive for HPV16L1 antibodies at baseline (36/36 had IgM, 27/ 36 IgG and 11/36 had IgA anti-HPV16L1 antibodies).
Limitations	Not reported.
Conclusions	In summary, this clinical trial in CIN 2/3 patients with a CVLP vaccine shows a good safety profile. Only mild to moderate side effects intrinsic to immunization treatments were observed. No significant differences in clinical effects and immunogenicity of the vaccine were seen between the low and high-dose cohorts. Vaccination results in a boost of antibody concentrations that are up to 100 times higher than natural titers in the corresponding placebo cohort. Importantly, also cellular immune responses were observed, and a trend for clinical efficacy underlining the potentially therapeutic feature of our strategy. Therefore, it was demonstrated evidence for safety and a nonsignificant trend for the clinical efficacy of the HPV16 L1E7 CVLP vaccine.
Implications for clinical practice	Not reported.

Summary of the study 05

Study: 05	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	L.D. Roman, S. Wilczynski, L.I. Muderspach, A.F. Burnett, A. O'Meara, J.A. Brinkman, W.M. Kast, G. Facio, J.C. Felix, M. Aldana, and J.S. Weber.
Title	A phase II study of Hsp-7 (SGN-00101) in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia
Impact Factor (JCR)	Gynecologic Oncology – JCR ₂₀₁₇ : 4.959
Year of publication	2007
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	This study was supported by grants from the NCI P30CA14089 and the Beckman Foundation and performed with help from the Beckman Center for Immune Monitoring at USC.
Country	USA
Aim	To determine the effects of vaccination with a protein encoding a bacterial heat shock protein fused to sequences from the oncogenic E7 protein of HPV-16 in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia.
Methods	a) Study design: A single-arm, open, and uncontrolled trial. b) Study location: LAC + USC Women's and Children's Hospital or the USC/Norris Cancer Center, Los Angeles, CA, USA. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Eligibility criteria included age 18 or greater, biopsy-proven CIN II/III with colposcopic evidence of a persistent high- grade lesion 4 weeks after biopsy, visualization of the entire lesion and the entire squamocolumnar junction on colposcopic evaluation, no intraepithelial neoplasia on endocervical curettage, and documented presence of any type of HPV (based on DNA PCR performed on a cervical swab). Adequate platelet count (100,000/mm³ or greater), hemoglobin level (greater than 8.5 g/dl), creatinine level (less than 1.4 mg/dl), bilirubin level (less than 2 mg/dl) and SGOT/SGPT (less than 2.5 times institutional norm). e) Exclusion criteria: Women who were pregnant, who were known to be positive for the human immunodeficiency virus, who had invasive cancer less than 5 years from the date of entry, who had a history of diethylstilbestrol exposure in utero, or who had a history of anaphylaxis to bee stings were excluded. f) Ethical aspects: Patients were required to comprehend and sign an informed consent form approved by the Institutional Review Board (IRB) of LAC + USC Medical Center. g) Trial Register: Not reported.

	h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group: Twenty-one women were prospectively entered into a Phase II study. All women had biopsy-proven high-grade cervical intraepithelial neoplasia and persistent post-biopsy lesions visible by colposcopy. Four injections of HPV-16 Hsp E7 fusion protein at a dose of 500 µg were given 3 weeks apart after which Loop Electrosurgical Excision of the Transformation Zone (LLETZ) was performed. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: The Hsp E7 vaccine was administered at a dose of 500 µg via deep subcutaneous injection to the anterior thigh four times 3 weeks apart with a 1-ml syringe and 23-gauge needle. The Hsp E7 vaccine was produced by Stressgen, Biotechnologies (Victoria, BC, Canada). It is a recombinant fusion protein consisting of Mycobacterium bovis Hsp65 (638 amino acids) fused to the HPV E7 protein and designated as SGN- 00101 (98 amino acids). l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: The Hsp E7 vaccine was administered at a dose of 500 µg via deep subcutaneous injection to the anterior thigh four times 3 weeks apart with a 1-ml syringe and 23-gauge needle. - Intention-to-treat: In the Simon two-stage design for the phase II trial, if the “undesirable” complete response rate was less than 30% based on a high spontaneous regression rate of 25% for CIN II/III, and the “desired” complete response rate was 50% then 26 patients were to be treated in the first part with at least 8 responses needed. If 8 or more responses are observed in the first 26 patients, then another 20 patients were planned to be treated and at least 18/46 responses lasting 3 months would be needed to reject a 30% response rate with alpha and beta error rates of 10% or less. The trial was ended prematurely since the immune responses were felt to be modest, and a replacement trial was initiated with higher doses and number of vaccination using the Hsp vaccine. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between September 2001 and March 2004. - Procedures: Women who were eligible and agreed to participate underwent a full history and physical examination. The Hsp E7 vaccine was administered at a dose of 500 µg via deep subcutaneous injection to the anterior thigh four times 3 weeks apart with a 1-ml syringe and 23-gauge needle. Prior to each vaccination, a toxicity assessment, a full physical examination, and a blood count and serum chemistry were performed. Pap test and colposcopic evaluation were performed to rule out progression of disease (defined as enlargement of any lesion by more than 50% or development of invasive cancer based on punch biopsy) after the second vaccination. At 6 weeks after the fourth vaccination, the LLETZ was performed as previously

	described. Study subjects were followed for a year in our clinic with Pap tests and colposcopy performed at 3, 6, and 12 months after the LLETZ. HPV testing by DNA PCR was performed pre-study to determine eligibility, then prior to the third vaccination, at the time of the LLETZ, and at 3, 6 and 12 months after LLETZ. Apheresis was performed pre-vaccination and within a week prior to the LLETZ to collect peripheral blood cells for assessment of immunologic response to vaccination. Histopathologic sections from the initial cervical biopsies and the LLETZ procedure were reviewed by the study pathologists (JCF and SW). n) Instruments for data collection: Not reported. o) Outcomes: - Primary outcome: The primary endpoint was regression of CIN lesions, loss of ability to detect HPV infection. - Secondary outcome: Secondary endpoints included assessment of HPV-specific CD8 and CD4 immune response - p) Data analysis: - Statistical analysis: Descriptive analyses was done. - Analysis of experimental data: Immune parameters were evaluated pre-vaccine and at the time of Loop Electrosurgical Excision of the Transformation Zone (LLETZ) by ELISPOT, and HPV testing was performed at intervals before and after LLETZ. - With the exception of disease progression, response to treatment was based on histopathologic analysis of the LLETZ specimen. Complete response was defined as no evidence of persistent intraepithelial neoplasia or evidence of only low-grade intraepithelial neoplasia (CIN I) on the LLETZ specimen. Progressive disease was defined as the presence of invasive cancer on the LLETZ specimen, or enlargement of any lesion by more than 50% based on colposcopic evaluation. An immune response to any peptide by ELISPOT was defined as an increase in the post-vaccine specimen of at least twofold above the pre-vaccine value, of a magnitude of at least 10 spots and at least three times the standard deviation of the pre-vaccine specimen. If the pre-vaccine specimen value was undetectable or zero, then the post-vaccine specimen had to have at least 10 spots per hundred thousand cells input.

Main Results	Most women were less than 35 years old with a median age of 26 and had high-grade intraepithelial neoplasia on their pre-study Pap test. Three had CIN II and eighteen had CIN III. Interestingly, most women (76%) were not positive for HPV-16, but rather for other high- risk HPV types. Nine of 21 patients were HLA-A2-positive. <i>Safety:</i> The overall toxicity of the vaccine regimen was minimal. <i>Efficacy results:</i> Of the 21 women, 20 were deemed eligible for assessment of response. Of the 20 women eligible for response assessment, 7 (35%) had a complete response, 1 (5%) regressed to CIN I, and 11 (55%) had stable disease. Of the 17 women who completed 1 year of follow-up after the LLETZ, 13 (77%) remained without evidence of recurrent cervical intraepithelial neoplasia, at their last follow-up and four of these 13 women (31%) had negative PCR assays for HPV throughout the follow-up period. Of the seven women who had had a complete response (negative LLETZ specimen), five remained free of intraepithelial neoplasia at 1 year, one was lost to follow-up, and one developed VIN I 4 months after the LLETZ. <i>Immunological responses:</i> All patients had a low-resolution DNA PCR typing for class I HLA A and B alleles, and ELISPOT assays using purified CD8 T cells were performed using both fresh and 10-day restimulated cells. The data indicate that 9/17 or 52% of patients had evidence of an immune response to at least one peptide, suggesting that the Hsp E7 vaccine was immunogenic in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia and HPV infection.
Limitations	Although there may have been an encouraging association between immune response to the vaccine by ELISPOT and complete regression of high-grade CIN in this report, the small number of patients studied and the known spontaneous regression rate of CIN prevents any definitive conclusion as to the utility of the vaccine we tested. Only a larger multi-institutional randomized study with a placebo control arm will permit definitive conclusions to be drawn about the effectiveness of an Hsp E7 fusion protein in the treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia.
Conclusions	In conclusion, we have shown that a heat shock protein– HPV fusion protein is safe and well tolerated and generates modest levels of immunity and clinical responses in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia.
Implications for clinical practice	Hsp-7 (SGN-00101), at this dose and schedule induced lesion regression in women with high-grade intraepithelial neoplasia.

Summary of the study 06

Study: 06	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Cornelia L. Trimble, Shiwen Peng, Ferdynand Kos, Patti Gravitt, Raphael Viscidi, Elizabeth Sugar, Drew Pardoll, and TC Wu1.
Title	A Phase I Trial of a Human Papillomavirus (HPV) DNA Vaccine for HPV16+ Cervical Intraepithelial Neoplasia 2/3
Impact Factor (JCR)	Clinical cancer research – JCR ₂₀₁₇ : 9.619
Year of publication	2009
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	Funding - NCI K23CA85437 (CLT), NCI Cervical Cancer SPORE Project 5 P50CA098252 (TCW), NCI RAID Project 048 (DMP), NCI QuickTrials R21 CA105696 (CLT), NCI Cancer Center Core Grant NCI 3 P30 CA006973-45, Maryland State Cigarette Restitution Funding (CLT), Dana Foundation (CLT)
Country	USA
Aim	To evaluate the safety and immunogenicity of a therapeutic HPV16 DNA vaccine administered to women with HPV16+CIN2/3
Methods	a) Study design: This Phase I dose-escalation open-label study. b) Study location: Johns Hopkins Medical Institutions (Johns Hopkins Hospital Outpatient Center, Johns Hopkins Bayview Medical Center, and Johns Hopkins at Green Spring Station) c) Sample size / Sampling: The sample size was based upon the standard 3+3 dose finding design with three dosing levels and an additional 6 individuals at the MTD. Given the low toxicity levels observed in prior DNA vaccine studies, the expected sample size was 15 patients, 9 for dose escalation and 6 additional for the MTD. d) Inclusion criteria: Eligibility criteria included ability to give informed consent, immune competence, HIV-seronegativity, non-pregnant status, and presence of residual, visible lesion after a colposcopically directed biopsy-confirmed diagnosis of CIN2/3. Patients included in this analysis had lesions associated with HPV16, the genotype most commonly associated with cervical cancer and its precursor lesions. e) Exclusion criteria: Not reported. f) Ethical aspects: Human experimental guidelines of DHHS were followed in the conduct of clinical research, and the protocol was reviewed and approved by the Johns Hopkins Institutional Review Board. g) Trial Register: Not reported.

	h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group: This trial incorporated the standard '3+3' dose escalation design with an additional 6 patients allocated to the maximally tolerated dose (MTD). i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: The study protocol included 3 vaccinations with one of three doses of study vaccine, 0.5mg, 1.0mg, or 3.0 mg by intramuscular injection in alternating deltoid muscles. Immunizations were administered on day of enrollment (day 0), week 4 and 8. At the highest dose, 3mg, the vaccination was split equally between the left and right deltoids. The vaccine, pNGVL4a-Sig/E7(detox)/HSP70, was manufactured by the National Cancer Institute's Rapid Access to Interventional Development (RAID) program. It is composed of a closed circular DNA plasmid expressing HPV16E7 mutated at aa 24 and 26, linked to sequences coding for Sig and for HSP70. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Per-protocol included 3 vaccinations with one of three doses of study vaccine, 0.5mg, 1.0mg, or 3.0 mg by intramuscular injection in alternating deltoid muscles. Immunizations were administered on day of enrollment (day 0), week 4 and 8. - Intention-to-treat: Not reported. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between December 10, 2003 and December 4, 2006. - Procedures: Patients referred for colposcopic evaluation of high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) pap smears were approached for participation. Patients underwent standard colposcopic evaluation and diagnosis at study entry (t=0), an interval colposcopic exam at week 8, standard cone or LEEP resection of the squamocolumnar junction at week 15 and had a postoperative exam at week 19. At each study visit, colpographs, cervical swabs, and peripheral blood were obtained. Subjects were monitored throughout the study with physical assessments including serial colposcopic exams, and subject self-assessment for local and systemic symptoms by diary cards for 7 days after each vaccination. n) Instruments for data collection: Adverse events were assessed for severity by criteria in National Cancer Institute CTCAE v.3.0. o) Outcomes: - Primary outcome: The primary endpoint was safety and tolerability of the study vaccine. - Secondary outcome: Secondary endpoints included histology at week 15 (7 weeks post-vaccination), and systemic T-cell response measured by γ IFN enzyme-linked immunospot assay

	(Elispot). p) Data analysis: - Statistical analysis: The analyses were primarily descriptive in nature. Summary statistics (means, standard deviations, proportions and confidence intervals) were used to descriptively characterize the cohorts numerically. Plots of the outcome variables including T cell response to the vaccine antigen, E7, over time, were used to describe the change in markers pre- and post-vaccination. Comparisons between groups were made using t-test or Wilcoxon rank-sum tests. - Analysis of experimental data: Using DenVu digital imaging software we obtained serial colposcopic images over the 15-week interval. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were obtained at study entry (screening/week 0), and at weeks 8, 15, and 19. systemic T-cell response measured by γ IFN enzyme-linked immunospot assay (Elispot). Antibodies to HPV 16 E6 and E7 were measured by ELISA using the glutathione S-transferase (GST) capture method.
Main Results	The mean age of study participants was 29.3 years (S.D. 8.97). Reasons for screening failure included no visible ectocervical high grade lesion, and not HPV16. The first patient enrolled was taken off study for noncompliance after she had undergone vaccination twice. All of the subsequently enrolled subjects received all three injections and completed 41 weeks of clinical observation. No patient had progression of disease during the study window. <i>Safety:</i> No dose-limiting toxicities were observed. Transient local reactogenicity was reported in 5/15 (33 %), with the worst severity being mild. Systemic symptoms (malaise, myalgia, headache) after vaccination were also reported by 5 of 15 subjects. Vaccination did not elicit antibody responses. <i>Efficacy results:</i> A total of three subjects (3/9) (33%) had complete histologic regression of disease at week 15. All of the regressors were in the highest dose cohort (3mg). Colposcopic regression did correlate with histology at week 15. <i>Immunological responses:</i> Using the overnight assay, HPV16 E7-specific T cell responses were identified at baseline in 3/15 subjects. E7 –specific response was increased in one of these patients subsequent to vaccination at week 15 and was stable in one other subject with a pre-existing response. In the third patient, response to E7 declined. Four patients in whom no detectable E7 response was found pre-vaccination had measurable responses post-vaccination. Five patients had measurable responses to E6 at study entry. None of those subjects demonstrated an increase in either E6 or E7 responses subsequent to vaccination. Two of the individuals in the highest dose cohort, both regressors, had measurable responses to E6. Overall, responses to E6 were not of greater absolute magnitude in regressors compared to non-regressors at either of the two time points. ($p=0.4228$ and 0.4964, respectively). Unexpectedly, detected responses to E7 in 5/9(55.6%) of subjects at six months in the highest dose cohort. No new responses to E7 were detected in subjects in the lower dose cohorts.
Limitations	Not reported.

Conclusions	This HPV16 DNA vaccine was safe and well tolerated. While it appears possible to elicit HPV-specific T cell responses in patients with established dysplastic lesions, other factors are likely to play a role in lesion regression.
Implications for clinical practice	Human papillomavirus (HPV) causes 10% of malignancies in women. Despite the availability of prophylactic vaccines, because barriers to obtaining prophylaxis are significant, the need to pursue therapeutic strategies remains real. Because the viral oncoproteins (E6 and E7) are functionally required for disease initiation and persistence, they present compelling immunotherapeutic targets. In the US, high grade cervical dysplasia, the immediate precursor to cervical cancer is common. We developed an HPV16 E7 targeted vaccine which had considerable therapeutic effect in the preclinical TC-1 model. Here we report clinical, safety, and immunologic outcomes of a single-institution, investigator-initiated phase I dose-escalation trial in women with HPV16+ high grade dysplasia.

Summary of the study 07

Study: 07	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Jean-Luc Brun, Véronique Dalstein, Jean Leveque, Patrice Mathevet, Patrick Raulic, Jean-Jacques Baldauf, Suzy Scholl, Bernard Huynh, Serge Douvier, Didier Riethmuller, Christine Clavel, Philippe Birembaut, Valérie Calenda, Martine Baudin, and Jean-Paul Bory.
Title	Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy
Impact Factor (JCR)	Oncology – JCR ₂₀₁₇ : 2.262
Year of publication	2011
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	Not reported.
Country	France
Aim	To evaluate the safety and 6-month efficacy of the TG4001 targeted immunotherapeutics in patients with HPV 16–related CIN 2/3, with a follow-up of responders up to 12 months after lesion diagnosis and TG4001 administration.
Methods	a) Study design: A single-arm, multicenter phase II trial. b) Study location: Gynecological outpatient departments of 8 participating hospitals in France. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Age ≥ 25 years, lesion entirely visualized by colposcopy, CIN 2/3 histologically confirmed by colposcopy-directed punch biopsy, and HPV 16 positivity detected by polymerase chain reaction on the baseline biopsy specimen. e) Exclusion criteria: History of CIN 2/3 management; coinfection with HPV 18, HPV 31, or HPV 33; active systemic infectious disease (human immunodeficiency virus [HIV], Hepatitis B virus, Hepatitis C virus); steroid therapy or any other immunomodulating concomitant treatment; pregnancy or breast-feeding; and allergy to eggs due to chick embryo fibroblasts being used in TG4001 production. f) Ethical aspects: The study was approved by the ethics committee of all participating centers. Written informed consent was obtained from each patient. g) Trial Register: ClinicalTrials.gov identifier: NCT01022346 h) Trial arms: Single-arm (no control group):

	- Experimental Group Ten patients were vaccinated orally during dose optimization studies (1, 2, 4, or 6 capsules/day) at weeks 1, 2, 4, and 8 (Step 1). Seven additional participants were only tested using the optimized vaccine formulation (Step 2), giving a total of 10 patients who received optimized vaccination. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: Patients received 3 subcutaneous injections of TG4001 (TG4001 is a suspension of MVATG8042 vector particles consisting of an attenuated recombinant vaccinia virus, modified vaccinia virus of Ankara, containing the sequence coding for the modified E6 and E7 early genes of HPV 16 and human interleukin-2 gene. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Per protocol, a patient was considered as a responder in case of eradication of HR-HPV (either DNA and/or mRNA) and no high-grade cervical lesion detected by colposcopy ($\pm$ biopsy) and cytology. A patient was considered as a clinical responder if she was diagnosed with CIN ≤ 1 on the cone biopsy or in case of colposcopy minor changes or less and cytology LSIL or less, assuming that it is the reflection of a regression of the initial CIN 2/3 lesion. - Intention-to-treat: Among 140 patients with CIN 2/3 screened for participation in the study, 54 (39%) accepted the protocol, respected the clinical inclusion criteria, and gave informed consent. Thirty-three patients were excluded for various reasons. Therefore, 21 patients were enrolled and vaccinated (intent-to-treat population). All of them received the 3 planned injections and were followed up for at least 6 months after their first injection. m) Procedures for data collection: - Data collection period: From 2004 through October 2005. - Procedures: After enrollment, at TG4001 administration (month 0) and at each follow-up period (months 2, 4, and 6), patients underwent a colposcopy and 2 liquid-based samples were taken with the ThinPrep collection device. A cervical biopsy was taken in case of an unexpected change of the lesion at colposcopy, which could be evocative of a progression or if the colposcopic impression and the cytologic results were not congruent at any time point. Blood sampling was carried out at baseline and during follow-up for standard biological parameters evaluation and immunologic testing. Blood count, liver function tests, serum creatinine, human chorionic gonadotrophin, serologies for HIV and hepatitis B and C, and CD4+ /CD8+ T-cell count were assessed at baseline and at 6 months. At month 6, patients were considered as clinical responders if they demonstrated no or minor changes at colposcopy and cytologic diagnosis low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) or less. An additional visit was scheduled at month 12 for all patients who did not undergo conization,

	to confirm that the lesion had not recurred, based on colposcopic, cytologic, and virologic assessments. Conversely, in case of high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) at cytology or major changes at colposcopy examination at month 6, as well as any suspicion of progression of the disease during the follow-up, a conization was performed. n) Instruments for data collection: Safety evaluation consisted of adverse events report analysis and standard laboratory parameters evaluation. Adverse events were classified according to the Medical Dictionary for Regulatory Activities, version 5.0. o) Outcomes: - Primary outcome: Primary efficacy endpoint was based on the percentage of patients with a response at 6 months. - Secondary outcome: Secondary endpoint included time to regression of clinical lesions assessed by colposcopy and/or cytology, time to eradication of HR-HPV, and time to eradication of HPV 16 mRNA. p) Data analysis: - Statistical analysis: All statistical analyses were performed using the software (SAS, version 8.2; SAS Institute Inc, Cary, NC). <i>P</i> values of < .05 were regarded as significant. - Analysis of experimental data: Antibodies to MVA were evaluated qualitatively using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at baseline, month 2, and month 6. Antibodies to HPV 16 E6 and E7 were evaluated qualitatively using ELISA and Western blotting at baseline, month 2, and month 6.
Main Results	Among 140 patients with CIN 2/3 screened for participation in the study, 54 (39%) accepted the protocol, respected the clinical inclusion criteria, and gave informed consent. Thirty-three patients were excluded for various reasons. Therefore, 21 patients were enrolled and vaccinated (intent-to-treat population). All of them received the 3 planned injections and were followed up for at least 6 months after their first injection. The baseline characteristics of the patients were as follows: median age 34 years (range, 25–44), median height 166 cm (range, 154–175), median weight 60 kg (range, 48–92), and median body mass index 22 kg/m² (range, 18–30). Among enrolled patients, 16 (76%) were current smokers and 15 (71%) were using oral contraceptives. Immunologic parameters were as follows: median CD4 count 995/mm³ (range, 590–1736), median CD8 count 509/mm³ (range, 299–753), and CD4/CD8 median ratio 2.2 (1.2–4.0). The norm ranges of CD4 and CD8 were 400–1700 and 200–1000/mm³, respectively. <i>Safety:</i> Nineteen patients (90%) reported at least 1 adverse event. Among 86 adverse events reported, 65 were attributed to the TG4001. The intensity of main events was mild or moderate. <i>Efficacy results:</i> At 6 months, 5 patients fulfilled both criteria of response (eradication of HR-HPV and HSIL detected neither by colposcopy nor by cytology). The efficacy rate per protocol was 24% (95% confidence interval [CI], 8–47%). Ten patients (48%) were evaluated as clinical responders at month 6; they demonstrated no or minor changes at colposcopy and cytologic diagnosis LSIL or less. The clinical efficacy rate was 48% (95% CI, 28–70%).

	and was not influenced by the grade of CIN. In terms of virology results, 7 of the 10 clinical responders concomitantly had no HPV 16 mRNA detected. Kaplan Meier curves reflecting time to cytologic regression and eradication of HPV are shown in Figure 3. The median times to disappearance of HSIL abnormalities, to clearance of HPV 16 E6/E7 transcripts, and to HR-HPV DNA clearance were 13.5 weeks (95% CI, 9–27), 13.3 weeks (95% CI, 9 – 18), and 26 weeks (95% CI, 19 –33), respectively. <i>Immune responses:</i> Serum samples from 17 patients were available for analysis of neutralizing antibody response to MVA at month 6. No patient had a significant level of MVA neutralizing antibodies at baseline: median 47 (range, 35–78). The median NAT50 of serum from patients 2 months after the first injection was 204 (range, 70 – 411), $P < .001$. This increase remains for at least 6 months after the first injection: median, 146 (range, 76 –275); $P = .001$. MVA NAT₅₀ increased significantly after TG4001 injections in 10 of 17 patients. No significant difference in titers was observed between responder and nonresponder patients. Serum samples from 16 patients were available for analysis of total IgG anti- body response to E6 and E7 of HPV 16 with ELISA test. At baseline, all patients had antibody responses to E7 and 3 (19%) had antibody responses to E6. Following treatment with TG4001, no patient developed or enhanced an anti- body response to E6 or E7 as assessed by this method.
Limitations	One of the weaknesses of the study was that this multicenter phase II trial was not controlled. However, the spontaneous regression rate of CIN 2/3 is known to range from 20-25% at 6 months and to depend more on the HPV type than on factors such as CIN grade or decreased smoking habits. Another element was the loss of the samples dedicated to the T-cell response analysis, preventing us from demonstrating the specificity of the E6/E7 immune response.
Conclusions	In conclusion, these promising data warrant further development of TG4001 in CIN 2/3 treatment. This study demonstrated that TG4001 is associated with low morbidity and can induce the regression of HPV 16 –related CIN 2/3. The clinical efficacy rate was 48% (95% CI, 28 –70%).
Implications for clinical practice	Therefore, this study represents the first proof-of-concept for HPV targeted immunotherapy with TG4001.

Summary of the study 08

Study: 08	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Ana M. Solares, Idania Baladron, Thelvia Ramos, Carmen Valenzuela, Zaida Borbon, Sonia Fanjull, Leonardo Gonzalez, Dagnelia Castillo, Julio Esmir, 2 Milaid Granadillo, Aileen Batte, Alberto Cintado, Mayte Ale, Maria E. Fernandez de Cossio, Annia Ferrer, IsisTorrens, andPedroLopez-Saura
Title	Safety and Immunogenicity of a Human Papillomavirus Peptide Vaccine (CIGB-228) in Women with High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia: First-in-Human, Proof-of-Concept Trial
Impact Factor (JCR)	Obstetrics and Gynecology – JCR ₂₀₁₇ : 5.426
Year of publication	2011
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	The financial support was provided by HeberBiotec SA.
Country	Cuba
Aim	To evaluate the toxicity, safety, immunogenicity, HPV clearance, and lesion regression
Methods	a) Study design: A single-arm, open, and uncontrolled study. b) Study location: Seven gynecobstetric hospitals throughout Havana and other provinces. They were then evaluated at the National Reference Center for Cervical Cancer at the “Ramon Gonzalez Coro” Havana Hospital. c) Sample size / Sampling: Sample size was previewed as between 7 and 10 patients. This N range assured that if no severe adverse reaction appeared, the probability of its occurrence would be less than 20%, with an 80%–90% confidence interval. d) Inclusion criteria: HLA-A2-positive patients, 18-to-65 years-old with histological confirmed HPV16-positive CIN II/III, with a larger diameter $\geq 3\text{mm}$ by videocolposcopy. Eligibility also required the following criteria: leukocytes $>3 \times 10^9/\text{L}$, lymphocytes $>1 \times 10^9/\text{L}$, thrombocytes $>100 \times 10^9/\text{L}$, and hematocrit $>30\%$. e) Exclusion criteria: Exclusion criteria were to have received any immunomodulator treatment up to 3 months before inclusion, psychiatric dysfunctions, pregnancy, and breastfeeding, decompensate chronic diseases such as asthma, epilepsy, autoimmune, or immunodeficiency diseases, hypertension, anemia, acute systemic or genital tract infections, and renal, hepatic, and cardiovascular disorders. f) Ethical aspects: The study followed the principles of the Declaration of Helsinki for investigations in humans. It was approved by the Ethics and Scientific Committees of the participant institutions and by the Cuban Regulatory Authority.

	g) Trial Register: Not reported. h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group: Seven women were entered. Age ranged from 24 to 43 years (median 29). All patients had high-grade CIN confirmed on their histological pre-study and lesion areas between 30 and 638mm². Moreover, all women were HPV16 and HLA-A2 positive. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: Patients received four vaccinations. The vaccine was administered subcutaneously at 1-week interval. The CIGB-228 vaccine consists of two components. One dose of the CIGB-228 vaccine contained 0.1 mg of peptide and 0.16 mg of VSSP in a total volume of 0.5 mL. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Complete response was considered as disappearance of all initial TLA (Total Lesion Area); partial response if at least a 30% decrease of the initial TLA; progressive disease meant at least a 20% increase of the initial TLA and as stable disease if a reduction or an increase of the TLA compared to the initial value that is not enough for classification of the outcome as partial response or progressive disease. - Intention-to-treat: Not reported. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between October 2007 and February 2008. - Procedures: Patients were subjected to colposcopy monthly and LEEP excision of lesions in the cervix 60 days after completion of the immunization protocol. Subjects underwent a general physical, cytological, and a colposcopic examinations monthly and cervical biopsy prior to and at termination of the study by LEEP (90 days after the first vaccine administration). Blood samples were drawn for routine safety analysis prior to and 1 week after each vaccine administration and for immunological analysis prior to each vaccination and two weeks after the last dose. Patients were tested for pregnancy at each visit. Additionally, patients were followed clinically and colposcopically at 3, 6, 9, and 12 months after LEEP. Systemic toxicity was evaluated for 24 hours after each CIGB-228 vaccination, including continuous cardiovascular monitoring, temperature, respiratory frequency, and blood pressure measurements 30 min after each injection, then every hour during 4 hours. Patients completed diary cards of adverse events as auto report over the seven days following each vaccine administration.

	n) Instruments for data collection: The medical terminology used for AE and their severity classification (in grades) were those of the Cancer Therapy Evaluation Program, Common Terminology Criteria. o) Outcomes: - Primary outcome: Primary efficacy endpoint were toxicity and safety. - Secondary outcome: Secondary endpoint included immunogenicity. p) Data analysis: - Statistical analysis: The total lesion area (TLA) was the parameter evaluated for colposcopic response. Response was defined according to the RECIST criteria. The percentage of decrease was measured as - $\% \text{ decrease} = \frac{\text{TLA}_{\text{initial}} - \text{TLA}_{\text{final}}}{\text{TLA}_{\text{initial}}} \times 100$ - Analysis of experimental data: Colposcopic evaluations were done using a video colposcopy device (Mediscope, Medison, Korea) with a calibrated rack to standardize imaging distance and illumination. Lesions were examined by two different specialists after applying 5% acetic acid for 3 min. Histological analyses were performed on colposcopically directed biopsies from abnormal areas taken before treatment and afterwards in the LEEP specimen. HLA-A2 allele was performed by PCR-SSP typing of HLA class I allele method. The presence of HPV DNA in biopsies was examined prior to and at termination of the study (90 days after the first vaccine administration) by PCR using a pair of L1-consensus primers (GP5+/GP6+). Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from fresh K3-EDTA blood samples within 2 h after sample collection using Ficoll density gradient. PBMCs isolated from blood samples drawn weekly before each vaccination (first, second, third, fourth) and one week after the last vaccination were subjected to IFNγ ELISPOT analysis.

Main Results	Age ranged from 24 to 43 years (median 29). All patients had high-grade CIN confirmed on their histological pre- study and lesion areas between 30 and 638 mm². Moreover, all women were HPV16 and HLA-A2 positive. The treatment schedule was completed in all patients, which were also evaluated one year after their LEEP for recurrence. <i>Safety:</i> All patients reported local pain at the vaccination site and 6 patients reported burning sensation. Other events were reported with low frequencies as local redness and swelling. Systemic adverse events, including fever, tremors, and cramps were registered in few cases. <i>Efficacy results:</i> TLA decreased in all patients at colposcopy at 3 months of follow-up after CIGB-228 vaccination. Colposcopic response was evidenced in six of seven patients (85.7%), four of them (57.1%) complete and two (28.6%) partial response. Histological analyses indicated that 57.1% of the patients (4/7) experienced full regression while 14.3% (1/7) had histological grade downstaging. Stable disease was observed in two patients (28.6%). Concomitant negativization of HPV16 from the original lesion sites was observed in three of the patients who had a complete response. <i>Immunological responses:</i> Some preexisting HPV16 T cell immunity that was E7 peptides 11–20, 82– 90 and 86–93-specific was detected in all patients (including fourth patients who had a complete response). After the vaccination, all seven patients responded to peptides 86–93 and 82–90. Six of seven patients were positive to peptide 11–20.
Limitations	The small number of patients studied and the known spontaneous regression rate of CIN prevents any definitive conclusion as to the utility of the vaccine we tested. Only in futures larger multi-institutional randomized study with a placebo control arm will permit definitive conclusions to be drawn about the effectiveness of CIGB-228 vaccine in the treatment of high-grade CIN.
Conclusions	The study have shown that CIGB-228 vaccination is safe and well tolerated. This vaccine generates promising results based in the levels of immunity and clinical response. It was found to induce robust IFNγ T-cell responses to the HPV16 oncoprotein E7 in women with high-grade CIN. CIGB-228 vaccination resulted in clinical activity, as evidenced by the colposcopy, histology and the HPV clearance.
Implications for clinical practice	In patients with premalignant lesions, immunotherapy with CIGB-228 vaccine is attractive.

Summary of the study 09

Study: 09	
ROBINS-I: not applicable	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Peggy J. de Vos van Steenwijk, Tamara H. Ramwadhoebe, Margriet J. G. Lo "wik, Caroline E. van der Minne, Dorien M. A. Berends-van der Meer, Lorraine M. Fathers, A. Rob P. M. Valentijn, Jaap Oostendorp, Gert Jan Fleuren, Bart W. J. Hellebrekers, Marij J. P. Welters, Mariette I. van Poelgeest, Cornelis J. M. Melief, Gemma G. Kenter, and Sjoerd H. van der Burg.
Title	A placebo-controlled randomized HPV16 synthetic long-peptide vaccination study in women with high-grade cervical squamous intraepithelial lesions
Impact Factor (JCR)	Cancer Immunology Immunotherapy – JCR ₂₀₁₇ : 4.711
Year of publication	2012
Conflict of interest	This study has been conducted by the Leiden University Medical Center (LUMC), which holds a patent on the use of synthetic long peptides as vaccine (US 7.202.034). C.J.M.M. and S.H.v.d.B. are named as inventors on this patent. The LUMC does not share the financial benefit from this patent with its employees. C.J. M. M. has been employed part-time (75 %) since January 20, 2008, by ISA Pharmaceuticals, which exploits this long-peptide vaccine patent, and has been granted options on ISA Pharmaceuticals stock. All other authors declare that they have no conflict of interest.
Study sponsorship	This study was financially supported by grants from the Dutch Cancer Society (KWF 2006-3679) and The Netherlands Organization for Health Research and Development (ZonMW 92003425).
Country	Netherlands
Aim	The aim of this study was to investigate the capacity of an HPV16 E6/E7 synthetic overlapping long peptide vaccine to stimulate the HPV16-specific T-cell response, to enhance the infiltration of HPV16-specific type 1 T cells into the lesions of patients with HPV16+ high-grade cervical squamous intraepithelial lesion (HSIL) and HPV clearance.
Methods	a) Study design: A placebo-controlled randomized blinded phase II study. b) Study location: Out-patient department of two hospitals in the Netherlands. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Patients with histologically proven HPV16 + HSIL, leukocytes $> 3 \times 10^9/L$, lymphocytes $> 1 \times 10^9/L$, thrombocytes $> 100 \times 10^9/L$ and hematocrit $> 30 \%$, and no radiotherapy, chemotherapy or other potentially immunosuppressive therapy administered within 4 weeks prior to the immunotherapy. e) Exclusion criteria: Not reported. f) Ethical aspects: The study was approved by the Dutch Central

	Committee on Human Research (CCMO) and the Medical Ethical Committee of the Leiden University Medical Centre and the Haga Teaching Hospital. g) Trial Register: number NL14015.000.06 h) Trial arms:: - Experimental Group: Patients in arm 1 received the vaccine at a dose of 300 lg per peptide twice with a 3-week interval; - Control Group: Patients in arm 2 received a placebo (PBS) twice with a 3-week interval; i) Randomization: Patients with histologically proven HPV16 + HSIL were randomized into two groups. No additional information. j) Masking: This is a placebo-controlled randomized blinded phase II study. No additional information on blinded is provided. k) Intervention protocol: Patients received either the vaccine at a dose of 300 lg per peptide twice with a 3-week interval or a placebo, phosphate-buffered saline (PBS). The vaccine consisted of a mix of 13 overlapping 25–35 mer peptides representing the entire sequence of the E6 and E7 proteins of HPV16 (HPV16-SLP) dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) and admixed with 20 mM phosphate buffer (pH 7.5) and Montanide ISA-51. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: A total of 47 patients visiting the out-patient department of two hospitals in the Netherlands gave informed consent to screening for this study. Due to the anxiety of patients with a HSIL to post- pone the LEEP procedure, accrual proved an obstacle. Of the 27 eligible patients, only 10 consented and one patient (placebo group) never showed up for vaccination. - Intention-to-treat: Not reported. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between June 2007 and December 2009. - Procedures: Seven weeks after the first vaccination, a LEEP excision was performed at which time an extra biopsy of the HSIL was taken and blood drawn for immunomonitoring. DTH skin test was performed 2–4 weeks after surgery at which time blood was drawn to measure the effect of the LEEP excision on the systemic immune response. n) Instruments for data collection: Monitoring for adverse events was performed, and adverse events were classified according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3.0 (CTCAE). o) Outcomes: - Primary outcome: Primary efficacy endpoint were safety and

	toxicity. - Secondary outcome: Secondary endpoint included immunogenicity. p) Data analysis: - Statistical analysis: Not reported. - Analysis of experimental data: Systemic HPV16-specific T-cell reactivity against six peptide pools (4 E6 and 2 E7 peptide pools) was determined by IFNc-ELISPOT.
Main Results	Of the 27 eligible patients, only 10 consented and one patient (placebo group) never showed up for vaccination. Within the vaccine group, 2 patients did not receive the second vaccination due to side effects and one due to a study stop. <i>Safety and toxicity:</i> Placebo patients did not display adverse reactions. All 5 patients in the vaccination group displayed adverse reactions not exceeding grade 2 according to CTCAE and included injection site reactions with itching, redness, swelling and pain. All patients experienced swellings of more than 8 cm which lasted for several days. Systemic reactions consisted of a headache (80 % of the patients), diarrhea, fatigue and/or dizziness (40 % of the patients) and nausea, chills, myalgia, rash, fever, urticaria, edema of the limbs or an allergic reaction needing antihistamines (20 % of the patients). <i>Efficacy results:</i> All patients were diagnosed with HSIL before vaccination. In none of the other patients was a change in the histological and viral disease status found at the time of LEEP. A semi-quantitative analysis of local changes in immune infiltrate on hematoxylin–eosine-stained sections revealed a change from a scattered pattern to a dense immune infiltrate in 3 of the 5 vaccinated patients. A similar change was observed in one of the three patients in the placebo group. <i>Immunological responses:</i> All vaccinated patients showed strong responses to 2–5 of the peptide pools (5/5 patients against E6 peptide pools and 4/5 against E7.2) 7 weeks after first vaccination, with reactivity up to 255 HPV-specific IFN-γ producing cells per 100,000 cells. Of the patients receiving placebo, 2 subjects showed a weak IFN-γ-associated HPV-specific response to one peptide pool (13 and 10 spots per 100,000 cells, against E7.2 and E6.1, respectively). None of the patients tested displayed an HPV16-specific proliferative response at the start of the study. Three of the four patients receiving a placebo remained unresponsive to HPV16 E6 and E7 throughout the duration of the study. Before vaccination, no HPV16-specific cytokine production was found. At the time of LEEP treatment, HPV16-specific IFNγ production—ranging between 146 and 1582 pg/mL—was found in 3 of the five vaccinated patients. Only in one patient did we find a robust T-helper type 1 response. Two patients displayed a Th-2 response with the production of IL-5 and IL-10. One patient had a weak polarization (Th-0) with very low amounts of IL-5 production, and one patient had a weak mixed Th-1 and Th-2 response producing little amounts of IFNγ, TNFα, IL-5 and IL-10.
Limitations	The small number of patients included in this study. The study was extended in time; however, the accrual stayed extremely low and it was decided to stop the study prematurely. In addition, motivational problems and the local and systemic side effects of the HPV16-SLP vaccine in HSIL patients must be taken into account when considering further studies in patients with premalignant lesions for whom an effective treatment is available.

Conclusions	No conclusions could be drawn on vaccine-enhanced T-cell infiltration of the lesion, and there was no HPV clearance at the time of LEEP excision. Thus, vaccination of HSIL patients results in increased HPV16-specific T-cell immunity. Further development of this type of treatment relies on the ability to motivate patients and in the reduction in the side effects.
Implications for clinical practice	The vaccination of HSIL patients results in increased HPV16-specific T-cell immunity.

Summary of the study 10

Study: 10	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Kei Kawana, Katsuyuki Adachi, Satoko Kojima, Ayumi Taguchi, Kensuke Tomio, Aki Yamashita, Haruka Nishida, Kazunori Nagasaka, Takahide Arimoto, Terufumi Yokoyama, Osamu Wada-Hiraike, Katsutoshi Oda, Tomomitsu Sewaki, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii.
Title	Oral vaccination against HPV E7 for treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3) elicits E7-specific mucosal immunity in the cervix of CIN3 patients
Impact Factor (JCR)	Vaccine – JCR ₂₀₁₇ : 3.235
Year of publication	2014
Conflict of interest	None.
Study sponsorship	This work was supported by a grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (KK) and for Comprehensive Strategy for Practical Medical Technology, by a cancer research grant from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (KK) of Japan, by a grant from Kanzawa Medical Research Foundation (KK), TOKYO IGAKUKAI (KK) and by a grant from the Okinawa New Industry Creation Project (TS).
Country	Japan
Aim	To assess the safety, immunogenicity, and clinical efficacy of GBL101c, in a Phase I/IIa study involving patients with HPV16-positive CIN3.
Methods	a) Study design: A single-center, single-arm (non-controlled), observational Phase I/IIa study. b) Study location: Not reported. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Enrolled patients had (1) histologically confirmed ectocervical CIN3 lesions and were (2) infected only with HPV16 as documented by in-house PGMY-CHU HPV genotyping methods which can detect 34 HPV subtypes. Other eligibility criteria included: (3) age 18–45, (4) colposcopic evidence of a persistent high-grade lesion 4 weeks after biopsy, (5) normal pretreatment laboratory blood values, and (6) signed informed consent. e) Exclusion criteria: Exclusion criteria included: (1) any signs of invasive disease, (2) endocervical involvement, (3) pregnancy/lactation, and (4) HIV positivity, immunosuppressive disease or use of immunosuppressive medications. f) Ethical aspects: Approved by the medical ethics committee of the University of Tokyo, Faculty of Medicine. All patients gave written informed consent. This clinical trial is registered to UMIN-CTR

	which is accepted by ICMJE. IRB approval No.: P9002144-11X. g) Trial Register: Clinical registration ID: UMIN000001686 (2009/02/06). h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group Ten patients were vaccinated orally during dose optimization studies (1, 2, 4, or 6 capsules/day) at weeks 1, 2, 4, and 8 (Step 1). Seven additional participants were only tested using the optimized vaccine formulation (Step 2), giving a total of 10 patients who received optimized vaccination. i) Randomization: Not reported. j) Masking: All data underwent independent third-party management and analysis and were evaluated by a third-party committee for efficacy and safety. In addition, grading of the lesions was performed by several experienced independent blinded pathologists according to strict criteria. k) Intervention protocol: The vaccine was administered by one of three routes: 1) particle- mediated epidermal delivery (PMED) in the thigh, using a needle-free ND10 delivery system developed by PowderMed, Ltd.; 2) IM delivery in the deltoid muscle; or 3) direct intralesional/intramucosal delivery in the cervix. The vaccine was administered at study weeks 0, 4, and 8. A loop electrosurgical excisional procedure (LEEP) or cold knife conization was performed seven weeks after the third vaccination, at study week 15. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Ten patients were vaccinated orally (GLBL101c) during dose optimization studies (1, 2, 4, or 6 capsules/day) at weeks 1, 2, 4, and 8 (Step 1). Seven additional participants were only tested using the optimized vaccine formulation (Step 2), giving a total of 10 patients who received optimized vaccination. - Intention-to-treat: it was not performed. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between February 2009 and November 2012. - Procedures: For initial safety assessments, the minimal formulated amount (250 mg) of GLBL101c (one capsule) was administered daily. Next, four small scale dose-escalation cohorts (one or three patients per cohort) were treated with 1, 2, 4, or 6 capsules/day for four total rounds (Step 1). If no adverse effects were observed in cohorts given lower doses, the dose was escalated by one capsule per day in the next cohort. If no clinical response was observed at a given dose, the trial was discontinued for that dose level. Once a safe and effective dose was identified, seven more patients were enrolled at that dose level for a total of ten patients using the optimized dose of GLBL101c (Step 2). All patients received four rounds of oral vaccination at week 1, 2, 4, and 8. Each dose of GLBL101c was administered orally once each morning after fasting for five days, each treatment week.

	The subjects for only 9 weeks prior to reassessment and possible treatment to ensure optimal patient safety. n) Instruments for data collection: Adverse events were graded according to version 3.0 of the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), which grades events on a scale of 1–5, with higher grades indicating greater severity. o) Outcomes: - Primary outcome: The primary end points were to evaluate the safety and the pathological efficacy of vaccination. - Secondary outcome: The secondary endpoints were mucosal and systemic HPV16 E7-CMI and local cytological efficacy. p) Data analysis: - Statistical analysis: ELISpot data are ELISpot numbers were compared between immunization groups using Mann–Whitney U-test. A p-value of <0.05 was considered significant. - Analysis of experimental data: Cervical lymphocytes (CxLs) and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected and E7 specific interferon-γ-producing cells were counted (E7 cell-mediated immune responses: E7-CMI) by ELISPOT assay. All patients were re-evaluated 9 weeks after initial vaccine exposure using cytology and biopsy to assess pathological efficacy.
Main Results	<i>Safety:</i> All enrolled patients were Japanese women. Ten patients were enrolled in safety and dose escalation studies (Step 1) and seven additional patients were studied only at the optimized vaccination dose (4 capsules/day; Step 2). The distribution of participant HLA haplotypes was similar to that in the Japanese population. No patient experienced serious side effects induced by GLBL101c according to CTCAE. No patient was withdrawn because of adverse events or progression of their disease. <i>Efficacy:</i> Two of three patients using 4 capsules/day experienced a pathological down-grade to CIN2. One of three patients on 6 capsules/day experienced a pathological down-grade to CIN2 while two had no pathological changes noted. Taken together these results with immunological responses, 4 capsules/day was chosen as the optimal dose of GLBL101c and seven additional patients were enrolled at this dosage in Step 2. Combining Step 1 and 2 patients receiving 4 capsules/day, 7 of 10 patients (70%) using this regimen had a pathological down-grade to CIN2 at week 9 and one other patient (Patient ID: Step 1–5) had a pathological down-grade to CIN2 at week 12. Of the 13 patients receiving 4–6 capsules/day, nine patients (69%) with pathological down-grade to CIN2 did not require additional surgical treatment and were followed cytologically. Among the patients without additional treatment, five patients (56%) showed further cytological regression to LSIL or normal cytology by 12 months after administration. All nine patients continued to have no evidence of CIN3 when followed without intervention between 14 and 33 months. <i>Immune responses:</i> At baseline, all patients lacked E7-CMI in PBMCs while three patients had barely detectable levels of E7-CMI in CxLs. At week 9, all

	patients had increases in cervical E7-CMI significantly. In particular all patients taking 4 or 6 capsules/day had marked increases in cervical E7-CMI than in PBMCs. In comparison between patients of cohorts, E7-CMI at week 9 (9 wk) in patients on 4 capsules/day significantly higher than those in patients on 1, 2, or 6 capsules/day. Only two of the 13 patients receiving four or six capsule doses had significant increases in E7-CMI in PBMCs. These data indicate that oral administration of GLBL101c induces predominantly mucosal E7-CMI homing to the cervical epithelium. E7-CMI in the CxLs of patients experiencing a pathological down-grade was clearly higher than that among patients with no pathological change ($p = 0.000004$). ROC analysis of E7-CMI in CxLs indicated a cut-off value of 21.8 IFNy-producing cells/105 cells ($AUC = 0.994$) for pathological regression and a sensitivity and specificity using this cut-off value of 94.5% and 99.2%, respectively.
Limitations	In this study, one of three patients on 6 capsules/day had clinical response while all patients using 4capsules/day had a down- grade to CIN2 by week 12. Furthermore, E7-CMI in patients on 4capsules/day was significantly higher than that in patients on 6 capsules/day. This may be the result of small sample size and will need to be studied further. Although we cannot conclusively state that 4 capsules/day is the optimal dose, we can state that this dose is both safe and effective.
Conclusions	Oral administration of an E7-expressing <i>Lactobacillus-based</i> vaccine can elicit E7-specific mucosal immunity in the uterine cervical lesions.
Implications for clinical practice	This vaccine strategy may be a novel HPV-targeting immunotherapy for cervical cancer involving the induction of E7- specific mucosal immunity.

Summary of the study 11

Study: 11	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Tae Jin Kim, Hyun-Tak Jin, Soo-Young Hur, Hyun Gul Yang, Yong Bok Seo, Sung Ran Hong, Chang-Woo Lee, Suhyeon Kim, Jung-Won Woo, Ki Seok Park, Youn-Young Hwang, Jaehan Park, In-Ho Lee, Kyung-Taek Lim, Ki-Heon Lee, Mi Seon Jeong, Charles D. Surh, You Suk Suh, Jong Sup Park, and Young Chul Sung.
Title	Clearance of persistent HPV infection and cervical lesion by therapeutic DNA vaccine in CIN3 patients
Impact Factor (JCR)	Nature Communication – JCR ₂₀₁₇ : 12.124
Year of publication	2014
Conflict of interest	Authors from Genexine, Inc. are employees of and/or shareholders of the company, which is developing GX-188E vaccine. The remaining authors declare no competing financial interests.
Study sponsorship	This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea (grant number: HI12C1686).
Country	Korea
Aim	To describe a newly developed HPV E6/E7 DNA therapeutic vaccine, designated GX-188, designed to facilitate the processing and presentation of HPV E6/E7 antigens by dendritic cells (DCs) through the co-expression of Fms-like tyrosine kinase-3 ligand (Flt3L) that offer an effective therapeutic vaccine strategy for eradicating persistent HPV infections and HPV induced tumors, together with an important insight into the immune correlates to control persistent viral infection.
Methods	a) Study design: This phase 1 clinical study was conducted as an open label, single center, dose-escalation study. b) Study location: Cheil General Hospital & Women's Healthcare Center, Seoul, Korea. c) Sample size / Sampling: Not reported. d) Inclusion criteria: Women aged between 20 and 50 years with histologically and virologically proven HPV16- or HPV18-associated CIN3. e) Exclusion criteria: Subjects with hepatitis B virus, hepatitis C virus or human immunodeficiency virus infections, abnormal electrocardiography including arrhythmia, history of severe adverse drug events or severe allergic diseases were excluded. Females who were pregnant or planning to be pregnant were not recruited in the study. f) Ethical aspects: The clinical trial protocol was reviewed and approved by the Institutional Review Board at Cheil General Hospital

	and Women's Healthcare Center (CGH-IRB-2012-35). This study was conducted in accordance with the ethical principles that had their origin in the current Declaration of Helsinki and was consistent with International Conference on Harmonization Good Clinical Practice (IHC GCP) and applicable regulatory requirements. All study participants gave written informed consent before undergoing screening for study eligibility and enrolment. g) Trial Register: This trial is listed at http://www.clinicaltrials.gov (NCT01634503). h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group: According to the inclusion and exclusion criteria for this study, nine out of 11 screened patients with CIN3 were enrolled to receive the DNA vaccine (GX-188E). i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: Vaccination consisted of a series of three vaccine injections administered intramuscularly to alternating deltoid muscles at weeks 0, 4 and 12. A standard 3 + 3 dose-escalation scheme was followed and dose levels of 1, 2 and 4 mg were tested. At the highest dose, 4 mg of GX-188E was split into 2 + 2 mg and injected to the left and right deltoids muscles. For the intramuscular injector, an EP device (TriGrid Delivery System, Ichor medical systems, Inc.) was used to facilitate DNA uptake into cells. pGX-188, contains a plasmid DNA encoding E6 and E7 proteins of HPV serotypes 16 and 18 fused with tpa signal sequence and extracellular domain of Flt3L. Synthetic codon-optimized E6 or E7 genes were fragmented into two parts (C-terminal and N-terminal regions) with a small overlapping sequence (encoding 16 amino acids). l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: nine patients with CIN3 were enrolled - Intention-to-treat: nine patients with CIN3 were enrolled m) Procedures for data collection: - Data collection period: not reported. - Procedures: The screened patients were examined by multiple methods, including colposcopy, cytology, histology and HPV type test, at the visit for screening (VS) time point, 2 weeks before the start of the trial. The assessments including colposcopy, histology, endocervical cytology and HPV genotyping test were conducted by local laboratory at the trial site. The assessments were performed in compliance with the standardized method or the internal protocol of Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center. Responses to treatment were evaluated using virology and histology results at weeks 20 and 36 post GX-188E vaccination. For histological evaluation, biopsy samples were taken during screening and two follow-up visits at weeks 20 and 36. Data from histological and

	cytological analyses were reviewed independently by at least two pathologists and results were confirmed after discussion with by conference of all pathologists and investigators. To evaluate virological response, HPV typing was performed to determine whether subjects were infected by either HPV16 and/or HPV18. Samples were collected from the cervix by using a swab-type device, and total DNAs were extracted using the AccuPrep Genomic DNA Extraction kit. n) Outcomes: - Primary outcome: The primary end point was to evaluate safety and tolerability in patients with CIN3. - Secondary outcome: The secondary end points included systemic induction of HPV E6- and E7- specific T-cell immune responses measured by IFNγ ELISPOT, and changes of involved lesions and HPV infection status at the uterine cervix. o) Data analysis: - Statistical analysis: Descriptive statistics of the safety, pharmacodynamics and pharmacokinetic outcomes was performed using SAS (V9.1) software. Standard and two-tailed paired Student's t-test was performed to analyses statistical significance of all quantitative data using Prism 5.0 software (GraphPad). - Analysis of experimental data: GX-188E-induced clinical responses were determined by evaluating the patients' HPV infection status as well as the cytological and histological changes of their high-grade cervical lesions over the 36-week period of the clinical trial. To study the cellular immune response induced by GX-188E, an IFN-g ELISPOT assay as described in the Methods was performed before, at VS time point (- 2 weeks), during, at VT2 (2 weeks) and VT4 time points (8 weeks), and after, at VF1 (20 weeks) and VF2 time points (36 weeks), GX-188E vaccination.
Main Results	<i>Safety:</i> A total of 49 adverse events (AEs) were recorded during all visits. Twenty-three AEs, including eczema, ecchymosis, vaginal itching, sleepiness, anorexia and dizziness were determined to be unrelated to the vaccination. Nineteen AEs including chills, injection site pain, swelling and hypoaesthesia, were recorded to be associated with GX-188E vaccination. However, all these AEs were considered to be mild (grade 1) and all patients recovered completely within 3 days after GX-188E vaccination. Also, a change in the number of WBCs (white blood cells) was not observed. <i>Efficacy:</i> At baseline (VS), all nine patients had CIN3 with either severe dysplasia or carcinoma in situ according to the histological evaluation of colposcopic-directed biopsy specimens. At 8 weeks post last vaccination (VF1), six out of nine patients were free of lesions—two patients from each cohort. <i>Imumne responses:</i> Relatively high pre-existing IFN-g ELISPOT response was detected in one patient, whereas the other eight patients displayed weak pre-existing HPV-specific cellular immunity before vaccination. On the basis of the criteria described in the Methods, all subjects exhibited a marked increase in the vaccine-induced E6- and E7-specific IFN-g ELISPOT response compared with the background level before vaccination. A relatively

	high level of IFN-g ELISPOT response was observed in eight out of nine patients at 24 weeks (VF2) following the last vaccination, which, when compared with the responses at 8 weeks (VF1) post vaccination, is decreased for one patient, comparable for three patients and increased for four patients. Overall, this finding indicates that GX-188E vaccination-induced E6/E7-specific memory T-cell response can be maintained for at least 24 weeks post last vaccination. Th2 (IL-4 and IL-10) and Th17 (IL-17A) cytokines were not significantly increased by vaccination. Taken together with the above IFN-g ELISPOT and ICS analyses, these results suggest that GX-188E vaccination leads to the induction of a strong Th1-polarized HPV-specific cellular immune response. In addition, eight out of nine patients, with exception of A04, displayed an increase in proportions of HPV-specific CD8 T cells with two effector functions after vaccination (VF1) compared with before vaccination (VS).
Limitations	Even though the number of patients (n = 9) is too small to draw a definite conclusion, our findings may provide an important insight into the key requirements for a therapeutic vaccine to be effective against various persistent infections and chronic diseases.
Conclusions	The magnitude of systemic polyfunctional CD8 T-cell response is the main contributing factor for histological, cytological and virological responses, providing valuable insights into the design of therapeutic vaccines for effectively treating persistent infections and cancers in humans.
Implications for clinical practice	Considering that the current primary treatment option for CIN3 is surgical excision, which is often accompanied with several side effects⁸, our non-invasive immunological approach with good safety and excellent clinical efficacy within 12 to 36 weeks could mark one of important milestones for treating CIN3 patients with severe dysplasia or carcinoma in situ.

Summary of the study 12

Study: 12	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	William W Greenfield, Shawna L Stratton, Rebecca S Myrick, Rita Vaughn, Lisa M Donnalley, Hannah N Coleman, Maria Mercado, Andrea M Moerman-Herzog, Horace J Spencer, Nancy R Andrews-Collins, Wilbur C Hitt, Gordon M Low, Nirvana A Manning, Samantha S McKelvey, Dora Smith, Michael V Smith, Amy M Phillips, C Matthew Quick, Susanne K Jeffus, Laura F Hutchins, and Mayumi Nakagawa.
Title	A phase I dose-escalation clinical trial of a peptide-based human papillomavirus therapeutic vaccine with Candida skin test reagent as a novel vaccine adjuvant for treating women with biopsy-proven cervical intraepithelial neoplasia 2/3.
Impact Factor (JCR)	OncoImmunology – JCR2017: 7.719
Year of publication	2015
Conflict of interest	Mayumi Nakagawa is one of the inventors named in patents and patent applications describing PepCan. Other authors have no potential conflict of interests to declare.
Study sponsorship	This work was supported by grants from the National Institutes of Health (R01CA143130, UL1TR000039, and P20GM103625).
Country	USA
Aim	To demonstrate safety of a human papillomavirus (HPV) therapeutic vaccine called PepCan, which consists of four current good-manufacturing production-grade peptides covering the HPV type 16 E6 protein and Candida skin test reagent as a novel adjuvant.
Methods	a) Study design: This clinical trial was a phase I single-arm, single-site, dose escalation study. b) Study location: Little Rock, Arkansas, USA. c) Sample size / Sampling: Sample calculation unreported. d) Inclusion criteria: Patients with biopsy-proven CIN2/3 were eligible for vaccination. Patients who already were diagnosed with biopsy-proven CIN2/3 were also eligible as long as the first vaccine injection could be given within 60 d, and other inclusion criteria were met (ages 18 to 50 years old, blood pressure 200/120 mm Hg, heart rate 50 to 120 beats per minute, respiration 25 breaths per minute, temperature 100.4°F, white count $3 \times 10^9/L$, hemoglobin ≥ 8 g/dL, and platelet count $\geq 50 \times 10^9/L$). e) Exclusion criteria: history of disease or treatment causing immunosuppression, pregnancy, breast feeding, allergy to Candida, a history of severe asthma, current use of b-blocker, and a history of invasive squamous cell carcinoma of the cervix. f) Ethical aspects: The study was approved by the Institutional Review Board, and a written informed consent was obtained from each participant.

	g) Trial Register: NCT016532499 h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group = Patients (n= 37) were enrolled, and those with biopsy-proven CIN2/3 (n= 24) were eligible for vaccination, i.e., received PepCan, which consists of four current good-manufacturing production-grade peptides covering the HPV type 16 E6 protein and Candida skin test reagent as a novel adjuvant. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: The vaccination PepCan was started within 60 d of biopsy date, and four injections were given 3 weeks apart. Each patient received the same dose of the peptides, and six subjects were recruited in each dose group. The vaccine was administered intradermally in any limb. Twelve weeks after the last injection, blood was drawn, ThinPrep sample was collected, and Loop Electrical Excision Procedure (LEEP) was performed. The vaccine consisted of four current good-manufacturing production-grade synthetic peptides covering the HPV 16 E6 protein with the following sequences: E6 1–45 (Ac- MHQKRTAMFQDPQERPRKLPQLCTELQT-TIHDIILECVYCKQQL-NH2), E6 46–80 (Ac-RREVYDFAFRDLCIVYRDGNPYAVCDKCL- KFYSKI-NH2), E6 81–115 (Ac-SEYRHYCYSLYGTTLEQQYNKPLCDLLIR- CINCQK-NH2), and E6 116–158 (Ac-PLCPEEKQRHLDKKQRFHNIRGRWT-GRCMSCCRSSRTRRETQL-NH2). Prior to injecting patients, lyophilized peptides were reconstituted with sterile water and were mixed with 300 ml of Candida albicans skin test reagent (Candin) in a syringe. The amount of peptide per injection was 50, 100, 250, or 500 mg per peptide, and the total injection volume was 0.4, 0.5, 0.75, or 1.2 ml respectively. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Patients (n= 37) were enrolled between September 2012 and March 2014, and those with biopsy-proven CIN2/3 (n= 24) were eligible for vaccination. Six subjects each were enrolled (50, 100, 250, and 500 mg per peptide). Four injections were administered intradermally every 3 weeks in limbs. - Intention-to-treat: it was not performed. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between September 2012, and March 2014. - Procedures: At the screening visit, the cervix was visualized under a colposcope after applying acetic acid, biopsies were obtained, Thin-Prep (Hologic, #70097-0001) was collected for HPV-DNA testing (Linear Array HPV Genotyping Test, Roche

	Molecular Diagnostics, #04472209190 and #03378012190), and routine laboratory testing was performed (complete blood count, sodium, potassium, chloride, carbon dioxide, blood urea nitrogen, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase, lactate dehydrogenase, g-glutamyl transpeptidase, total bilirubin, and direct bilirubin). Urine pregnancy test was performed prior to each injection, and blood was drawn for routine laboratory testing and immunological assessments immediately prior to the first and third injections. Digital photographs were taken as additional documentation. Efficacy was based on histological grading of the LEEP samples. n) Instruments for data collection: Safety and tolerability were assessed from the time informed consent was obtained until the day LEEP was performed using version 4.1 of the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events. o) Outcomes: - Primary outcome: The PepCan safety. - Secondary outcome: The secondary endpoint was concomitant histopathological regression as well as immune responses from the PepCan. p) Data analysis: - Statistical analysis: A generalized estimate equation analyses were performed to compare the frequencies of grade 2 immediate and delayed injection site reactions between the higher doses (250 and 500 µg) and the lower doses (50 and 100 µg), while accounting for the correlation among injections given to the same individual. A sign test was performed to compare the numbers of cervical quadrants with visible lesions prior to and after four vaccinations. A paired t-test was used to determine significance of increased CD3 T-cell responses as determined by rising positivity index for each region after two or four vaccinations, and to compare percentages of Th1, Th2, and Tregs after two or four vaccinations from the baseline. Wilcoxon rank-sum test was used to compare percentages of Th1, Th2, or Tregs between responders and non-responders prior to vaccination, after two vaccinations or after four vaccinations. Chi-square test was used to compare frequencies of each HLA molecule between the patients and the general population in the United States or between the patients and the corrected population frequencies based on racial distributions of the patients. Fisher's exact test was used to compare HLA frequencies between responders and non-responders. No adjustments were made for multiple comparisons. - Analysis of experimental data: T-cell lines were established from three blood draws from each patient CD3 T cells were magnetically selected (Pan T Cell Isolation Kit II, Miltenyi Biotec, #130-096-535) from CD14-depleted PBMCs. HPV 16 E6- and E7-specific CD3 T-cell lines were established by <i>in vitro</i> stimulation of CD3 cells for 7 d with autologous dendritic cells

	pulsed with E6-glutathione S-transferase and E6 expressing recombinant vaccinia virus or E7-glutathione S-transferase and E7 expressing recombinant vaccinia virus. <i>In vitro</i> stimulation was repeated for an additional 7 d. ELISPOT assays were performed in triplicate using overlapping peptides covering the E6 and E7 proteins of HPV 16. - Thawed PBMCs were stained with relevant isotype controls and combinations of monoclonal antibodies to analyze Th1, Th2, and Tregs: fluorescein isothiocyanate-labeled anti-human CD4 (clone RPA-T4, eBioscience, #45-0048-41), phycoerythrin-labeled anti-human/mouse T-bet (clone 4B10, eBioscience, #12-5825-82), PerCP-Cy5.5-labeled anti-human CD25 (clone BC96, eBioscience, #45-0259-42), allophycocyanin-labeled anti-human Foxp3 (clone PCH101, eBioscience, #17-4776-42), and phycoerythrin -Cy7 labeled anti-human/mouse GATA3 (clone L50-823, Becton Dickinson Biosciences, #560405). Cells were first stained with antibodies for surface markers CD3, CD4, and CD25. Staining for intracellular T-bet, GATA3, and Foxp3 was performed using the Foxp3 staining kit (eBioscience, #00-5523-00). Flow cytometric analysis was performed with FACS Fortessa using FACS Diva software (Becton Dickinson Biosciences). - Nuclear localization of FoxP3 was utilized to quantitate Tregs using a digital pathology system. Slides of LEEP samples were pre-treated with a target retrieval solution (Dako Corporation, #S2369), peroxidase block (Dako Corporation, #S2003), and serum-free protein block (Dako Corporation, #X0909) prior to performing immunohistochemistry with primary goat anti-human polyclonal antibody against FoxP3 (R&D Systems, #AF3240) at 1:400 dilution. - Low-resolution typing for HLA class I A, B, and C and class II DRB1, DQB1, and DPB1 was performed with MicroSSP Generic DNA Typing Trays (One Lambda, #SSP1L and #SSPDRQP1), using DNA extracted from PBMCs. Data were analyzed with HLA Fusion (One Lambda).
Main Results	<i>Safety</i> None of the vaccine recipients experienced any dose-limiting toxicity, and the most frequent AEs were immediate (seen with all injections) and delayed injection site reactions. <i>Efficacy</i> CIN2/3 was no longer present at exit in 9 of 23 (39%) patients who completed the study (complete responders), and the CIN2/3 lesions measured 0.2 mm² in 3 (13%) patients. The histological response rates by dose were 83%, 50%, 33%, and 40% (67%, 50%, 17%, and 20% complete response). None progressed to cervical squamous cell carcinoma. The regression rates were similar for CIN2 (50%) and CIN3 (54%), and in CIN2/3 associated and not associated with HPV 16 (44% vs. 57%). At least one HPV type present at entry became undetectable in 13 of 23 (57%) patients. By dose, the rates were 83%, 50%, 50%, and 40% with the highest undetectability at the lowest dose. <i>Immune responses</i> New CD3 T-cell responses to at least one region of the E6 protein were detected in 15 of 23 patients (65%) with the increased responses after vaccination being statistically significant in 10 patients (43%). The CD3 T-

	cell response rates to E6 by dose were 83%, 67%, 83%, and 20% with the best responses at the 50 and 250 µg doses. The percentages of statistically significant increase in E6 responses were 50%, 50%, 50%, and 20% by dose. The percentages of regulatory T cells (Tregs) were not changed after vaccinations while those of Th1 cells were significantly increased ($p=0.02$). The percentages of T-helper type 2 (Th2) cells increased significantly initially after two vaccinations ($p=0.03$) but decreased below the baseline after four vaccinations. Compared to the general population in the United States, HLA frequencies for A30, A33, A66, B14, B15, B40, C03, C18, DQ03, DQ05, and DR03 were significantly increased in patients who received vaccination ($n=24$).
Limitations	Not reported.
Conclusions	This study demonstrated that PepCan is safe. A significantly increased systemic level of Th1 cells suggests that Candida, which induces interleukin-12 (IL-12) in vitro, may have a Th1 promoting effect. A phase II clinical trial to assess the full effect of this vaccine is warranted.
Implications for clinical practice	Not reported.

Summary of the study 13

Study: 13	
ROBINS-I: not applicable	Cochrane Risk of Bias Tool: Low
Authors	Cornelia L Trimble, Matthew P Morrow, Kimberly A Kraynyak, Xuefei Shen, Michael Dallas, Jian Yan, Lance Edwards, R Lamar Parker, Lynette Denny, Mary Giffear, Ami Shah Brown, Kathleen Marcozzi-Pierce, Divya Shah, Anna M Slager, Albert J Sylvester, Amir Khan, Kate E Broderick, Robert J Juba, Timothy A Herring, Jean Boyer, Jessica Lee, Niranjana Y Sardesai, David B Weiner, and Mark L Bagarazzi.
Title	Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial
Impact Factor (JCR)	Lancet–JCR ₂₀₁₇ : 47.831
Year of publication	2015
Conflict of interest	MPM, KAK, XS, MD, JY, MG, ASB, KM-P, DS, AMS, AJS, AK, KEB, RJJ, TAH, JB, JL, NYS, and MLB are employees of Inovio Pharmaceuticals, and own shares or have been awarded stock options in the company. DBW has grant funding, participates in industry collaborations, and has received speaking honoraria and fees for consulting; this service includes serving on scientific review committees and advisory boards; remuneration includes direct payments or stock or stock options; DBW reports potential conflicts associated with this work with Pfizer, Bristol-Myers Squibb, Inovio, Merck, VGXI, Aldevron, MedImmune, and Roche. CLT has received an unrestricted research award from Inovio Pharmaceuticals. All other authors declare that they have no competing interests.
Study sponsorship	Inovio Pharmaceuticals.
Country	USA
Hypotheses	Whether therapeutic vaccination can elicit adaptive immune responses in patients with existing disease, and whether T-cell responses elicited by peripheral vaccination can have a therapeutic effect in a mucosal target lesion.
Aim	To assess the efficacy, safety, and immunogenicity of VGX-3100 delivered by electroporation before a planned standard therapeutic resection of CIN2/3 lesions positive for HPV-16 or HPV-18.
Methods	a) Study design: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. b) Study location: 36 academic centers and private gynecology practices in the USA, Estonia, South Africa, India, Canada, Australia, and Georgia. c) Sample size / Sampling: The study was designed to provide 80% power at a two-sided α level of 0.05 to detect about a 27-percentage point difference in histopathological regression, assuming the proportion with histopathological regression in the placebo group ranged from 25% to 40%. Target enrolment was 148 patients (3:1, VGX-3100: placebo), and allowed for supplementation of enrolment

	based on projected dropouts. d) Inclusion criteria: Women aged 18–55 years with histologically confirmed HPV-16-positive or HPV-18positive CIN2/3. e) Exclusion criteria: Women who were pregnant, breastfeeding, co-infected with hepatitis B, hepatitis C, or HIV, or having other immune deficient states. f) Ethical aspects: The protocol was approved by the institutional review board or ethics committee at each participating center, and all patients gave written informed consent. An independent data and safety monitoring board reviewed unmasked safety and histopathological regression data. g) Trial Register: The trial was registered at ClinicalTrials.gov (number NCT01304524) and EudraCT (number 2012-001334-33). h) Trial arms: Experimental Group (EG) e Control Group (CG): total of 167 patients randomized in the proportion (3: 1) - EG = 125 patients received VGX-3100 - CG = 42 patients received placebo. i) Randomization: Patients were randomly assigned to receive either VGX-3100 (Inovio Pharmaceuticals) or placebo at study weeks 0, 4, and 12. The randomization sequence was computer-generated by the funder's representative with a blocking factor of 4. Randomization was stratified by age (<25 years vs ≥25 years) and CIN2 versus CIN3 (3:1, VGX-3100: placebo) in each of the four strata. Study sites were assigned a group of sequential randomization numbers, and enrolled patients were assigned to a treatment group according to the randomization sequence. j) Masking: Doses were prepared and labelled in masked syringes by an unmasked study pharmacist who had no other involvement in the study. Investigators, participants, study staff administering treatments, pathologists assessing histopathological regression, and those analyzing the data were masked to treatment group assignment. Patients and study site personnel remained masked to treatment assignments until all study data were collected and finalized. k) Intervention protocol: The patients were randomized (3:1) to receive 6 mg VGX-3100 (3 mg plasmid targeting HPV-16 E6 and E7, and 3 mg plasmid targeting HPV-18 E6 and E7) given intramuscularly at 0, 4, and 12 weeks or sterile water administered intramuscularly in 1 mL, followed by electroporation using the CELLECTRA (Inovio Pharmaceuticals) constant current device. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol (patients receiving three doses without protocol violations): In the per-protocol analysis 107 patients received VGX-3100 and 36 placebo. - Modified intention-to-treat (patients receiving at least one dose): In the modified intention-to-treat 114 patients received VGX-3100 and 40 placebo.

m) Procedures for data collection:

- **Data collection period:** Between Oct 19, 2011, and July 30, 2013.
- **Procedures:** Injection-site reactions, systemic symptoms, and unexpected adverse events were monitored throughout the study. Patients recorded local and systemic solicited and unsolicited adverse events in a symptom diary for 7 days after each dose. Injection sites were assessed 2 weeks after each dose. Creatine phosphokinase testing was done 2 weeks after each dose, and electrocardiograms (ECGs) were done pre-dose and post-dose. A mandatory interim colposcopy was done 12 weeks after the third dose. At the week 36 primary endpoint visit, patients with colposcopic evidence of residual disease underwent standard therapeutic resection. In patients with no evidence of disease, investigators had the option to biopsy the site of the original lesion(s).

Whole blood was collected at baseline and at weeks 6, 14, 24, 36, and 88. Peripheral blood mononuclear cells and serum were cryopreserved for immune analysis. T-cell and antibody responses to HPV-16 and HPV-18 E6 and E7 were determined by interferon γ ELISpot, intracellular cytokine staining, and enzyme-linked immunosorbent assay. Available tissue sections from both the diagnostic biopsy and week 36 specimens were stained by immunohistochemistry for CD8 and p16 after histological diagnoses were finalized. HPV genotyping was done on cytological specimens from baseline and at weeks 6, 14, 24, 36, 62, and 88. Cytopathology was assessed at weeks 14, 62, and 88.

- n) Instruments for data collection:** In the first 40 patients enrolled, local pain was assessed with a *Visual Analogue Scale* (VAS) immediately after study treatment and 5 min and 10 min later. Adverse events were graded according to *Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.03* and were assessed by masked trial investigators.

o) Outcomes:

- **Primary outcome:** The primary efficacy endpoint was histopathological regression to either CIN1 or normal pathology at 36 weeks after the first dose.
- **Secondary outcome:** The secondary endpoint was concomitant histopathological regression and clearance of HPV-16 or HPV-18, or both (viral clearance), at week 36.

p) Data analysis:

- **Statistical analysis:** The primary and secondary efficacy endpoints were analyzed based on stratified differences in the proportion of patients with histopathological regression between treatment groups.^{18–20} Safety analyses were based on differences between treatment groups in the proportion of patients who experienced adverse events during the 7-day and 28-day periods after any dose, and for the entire study period.²¹ Efficacy was analyzed in the per-protocol population (patients who received all three doses of VGX-3100 or placebo and

	excluding patients with protocol violations) and also in a modified intention-to-treat population (patients who received at least one dose of VGX-3100 or placebo). Safety was analyzed in all patients who received at least one dose of either VGX-3100 or placebo. Post-hoc efficacy analyses of histopathological regression to normal and viral clearance were done using the same methods used for the primary and secondary efficacy analyses. Analyses of genotype- specific histopathological regression and concomitant histopathological regression and viral clearance across strata were based on differences of proportions.²¹ Post- hoc immunogenicity analyses compared responses between treatment groups, within the VGX-3100 group between those with histopathological regression or concomitant histopathological regression and viral clearance and those without, and within the VGX-3100 group between the baseline and post-treatment timepoints. Two-sample t tests or paired t tests were used for tissue immunogenicity analyses, and Wilcoxon- Mann-Whitney rank-sum tests or Wilcoxon signed-rank tests for peripheral immunogenicity analyses, due to the non-normality of the peripheral data. Because all post-hoc analyses were intended to be hypothesis- generating for future studies, p values were not corrected for multiplicity and therefore do not account for type I errors. - Analysis of experimental data: ELISpot assays were done using separate E6 and E7 peptide pools from the relevant HPV genotype(s) identified at study entry, and with a single combined pool for the HPV genotype that the patient was not infected with. hole slide image capture was done with a Nanozoomer 1.0-HT digital slide scanner (Hamamatsu Photonics KK, Hamamatsu City, Japan). Quantitative image analyses of the intensity of CD8+ infiltrates in normal and dysplastic epithelium and subjacent stroma were done using Tissue Studio version 3.6 (Definiens, Munich, Germany). HPV genotyping was done on cytological specimens from baseline and at weeks 6, 14, 24, 36, 62, and 88 using the Linear Array HPV assay (Roche, Basel, Switzerland).
Main Results	There were no major differences in age (<25 years vs ≥25 years), ethnic origin, race, or disease severity (CIN2 vs CIN3) between treatment groups. <i>Safety:</i> Treatment with VGX-3100 was well tolerated. <i>Efficacy:</i> In the per-protocol analysis, histopathological regression occurred in 53 (49.5%) of 107 VGX-3100 recipients compared with 11 (30.6%) of 36 placebo recipients (percentage point difference 19.0, 95% CI 1.4–36.6; p=0.034). In the modified intention-to-treat analyses, histopathological regression occurred in 55 (48.2%) of 114 VGX-3100 recipients compared with 12 (30.0%) of 40 placebo recipients (percentage point difference 18.2, 1.3–34.4; p=0.034). Concomitant histopathological regression and viral clearance occurred in 43 (40.2%) of 107 VGX-3100 recipients compared with five (14.3%) of 35 placebo recipients in the per-protocol analysis (percentage point difference 25.9, 95% CI 8.0–39.2; p=0.003). In the modified intention-to-treat analyses, concomitant histopathological regression and viral clearance occurred in 45 (39.5%) of 114 VGX-3100 recipients and six (15.4%) of 39 placebo recipients (percentage point difference 24.1, 95% CI

	7.3–36.6; $p=0.003$). Thus, among those with histopathological regression, viral clearance was more likely among VGX-3100 recipients (about 80%) than among placebo recipients (about 50%). In post-hoc immunological analyses, T-cell responses to HPV-16 and HPV-18 E6 and E7 peaked at week 14 for VGX-3100 recipients, with a 9.5 times greater median response than in placebo ($p<0.0001$). <i>Immunological responses:</i> VGX-3100 elicited significantly increased frequencies of antigen-specific, activated CD8+ T cells, identified by cell surface expression of CD137,22 that also expressed perforin compared with placebo ($p=0.001$). Patients with histopathological regression had higher frequencies of HPV-specific CD8+ CD137+ T cells expressing perforin than those without histopathological regression ($p=0.0499$). The difference in frequencies of HPV-specific CD8+ CD137+ T cells that expressed perforin was greatest in patients who had concomitant histopathological regression and viral clearance compared with patients who did not ($p=0.032$). Humoral responses were also greater in VGX-3100 recipients compared with placebo recipients. Peak responses to E7 occurred at study week 14 and persisted through week 36. Anti-HPV-16 E7 and anti-HPV-18 E7 antibody concentrations in the VGX-3100 and placebo groups were significantly different at study weeks 6, 14, 24, and 36 ($p\leq 0.0023$ for both antigens at each visit). VGX-3100 recipients with histopathological regression and viral clearance developed antibody responses to both HPV-16 and HPV-18 E7 that were significantly higher than for those who did not achieve histopathological regression and viral clearance, at the time of peak response (post-dose 3) but also as early as post-dose 2 and as late as week 24.
Limitations	First, HPV genotyping was based on cervical swabs. Because over half of the lesions were associated with mixed infections, some might have been caused by genotypes other than HPV-16 or HPV-18. Second, this regimen induced histopathological regression and viral clearance in about 40% of women with CIN2/3 positive for HPV-16 or HPV-18, whereas surgical excision would have eliminated the dysplastic tissue in 85–90% of women whose resections had negative surgical margins. However, up to 40–50% of resections that have positive endocervical margins recur. Finally, using a non-surgical treatment approach for CIN2/3 with less effectiveness than what has been reported for surgical resection might raise the concern that microinvasive cancers will develop.
Conclusions	VGX-3100 is the first therapeutic vaccine to show efficacy against CIN2/3 associated with HPV-16 and HPV-18. VGX-3100 could present a non-surgical therapeutic option for CIN2/3, changing the treatment outlook for this common disease.
Implications for clinical practice	Developing immune therapies for HPV disease is important because existing strategies for early detection and prevention of disease are both cumbersome and expensive, needing iterative visits and procedures, and so, disease remains common. The annual cost of the care of HPV-associated disease in the USA is about US\$6 billion. Because rates of prophylactic vaccination for HPV are suboptimum in the USA (38%), the burden of HPV-associated disease is not likely to decrease in the near future. In 2013, only 57% of adolescent girls aged 13–17 years had initiated vaccination. Among vaccine initiators, only 38% completed the three-dose regimen. In addition, the existing prophylactic vaccines, Gardasil and Cervarix, have no therapeutic effects. Moreover, the incidence of HPV-associated cancers in anatomical sites for which screening algorithms have not yet been validated, particularly in the oropharynx, is increasing steadily, and will likely bypass that of cervical cancer in the near future.

Summary of the study 14

Study: 14	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>
Authors	Ronald D. Alvarez, M.D., M.B.A, Warner K. Huh, M.D., Sejong Bae, Ph.D., Lawrence S. Lamb Jr., Ph.D., Michael G. Conner, M.D., Jean Boyer, Ph.D., Chenguang Wang, Ph.D., Chien-Fu Hung, Ph.D., Elizabeth Sauter, Mihaela Paradis, Emily A. Adams, MB(ASCP)CM, Shirley Hester, R.N., Bradford E. Jackson, Ph.D.1, T.C. Wu, Ph.D., and Cornelia Trimble, M.D.
Title	A Pilot Study of pNGVL4a-CRT/E7(detox) for the Treatment of Patients with HPV16+ Cervical Intraepithelial Neoplasia 2/3 (CIN2/3)
Impact Factor (JCR)	Gynecologic Oncology – JCR ₂₀₁₇ : 4.959
Year of publication	2016
Conflict of interest	Dr. T-C Wu is a co-founder of and has equity interest in Papivax, LLC and owns Papivax Biotech Inc. stock options and is a member of their Scientific Advisory Board. Under a license agreement between Papivax Biotech, Inc., and the Johns Hopkins University, Dr. Wu is entitled to royalties on the vaccine described in this article. This arrangement has been approved by the Johns Hopkins University in accordance with its conflict of interest policies. Dr. Warner K Huh serves as a compensated consultant for Thevax and Merck. Neither of these companies have a corporate interest in the vaccine described in this article. None of the other authors have any conflicts of interests to report.
Study sponsorship	This project was supported by the Johns Hopkins/UAB Cervical Cancer SPORE NCI 1 P50 CA098252 and the NCI NExT Program for vaccine production.
Country	USA
Aim	The purpose of this study was to evaluate the safety, efficacy, and immunogenicity of a plasmid vaccine, pNGVL4a-CRT-E7(detox), administered either intradermally, intramuscularly, or directly into the cervical lesion, in patients with HPV16-associated CIN2/3.
Methods	a) Study design: A pilot translational clinical trial. b) Study location: Clinics at the University of Alabama at Birmingham (UAB) and at Johns Hopkins University (JHU). c) Sample size / Sampling: Sample size was based on the traditional 3+3 design with six dosing cohorts. If no Dose-limiting toxicity (DLT) were observed at the low dose levels for each route of vaccination, then we proceeded with accrual to the higher dose level. If a DLT was experienced by 1 of 3 subjects in a dose cohort, then up to 3 additional subjects could be accrued to that treatment group. If a DLT was experienced by 2 or more subjects in a dose cohort, then accrual of additional patients would have ceased. The maximum sample size for this study was up to 36 patients. d) Inclusion criteria: To be eligible for this study, female patients age 19 years or greater were required to have HPV16-positive (HPV16+)

	CIN2/3 confirmed by colposcopy and biopsy. Patients were required to have a measurable lesion after biopsy. Patients were required to have a hemoglobin of 9 g/dl or greater and to be both HIV and hepatitis B seronegative. e) Exclusion criteria: Patients with cytologic or histologic evidence of glandular dysplasia were not eligible for this study. Patients who were pregnant, had active autoimmune disease, were taking immunosuppressive medication, or had history of arterial or venous thrombosis were not eligible for this study. Patients with an allergy to gold or prior chrysotherapy were also ineligible. f) Ethical aspects: All patients were required to provide informed consent for the screening phase and, if eligible, for the administrative phase. Institutional Review Board approval was obtained at both institutions prior to the initiation of the trial. g) Trial Register: NCT00988559. h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group = Patients (n = 32) with HPV16+ CIN2/3 were enrolled in treatment cohorts evaluating pNGVL4a-CRT-E7(detox), administered by either particle-mediated epidermal delivery (PMED), intramuscular injection (IM), or cervical intralesional injection, at study weeks 0, 4, and 8. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Routine histologic diagnoses were made on H&E sections and reviewed subsequently by study pathologists blinded to treatment group. k) Intervention protocol: The vaccine was administered by one of three routes: 1) particle-mediated epidermal delivery (PMED) in the thigh, using a needle-free ND10 delivery system developed by PowderMed, Ltd.; 2) IM delivery in the deltoid muscle; or 3) direct intralesional/intramucosal delivery in the cervix. The vaccine was administered at study weeks 0, 4, and 8. A loop electrosurgical excisional procedure (LEEP) or cold knife conization was performed seven weeks after the third vaccination, at study week 15. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: Patients (n = 32) received a total of three doses of either 8 or 16 µg of pNGVL4a-CRT/ E7(detox) administered intradermally; either 1 or 3 mg of vaccine administered intramucosally; or either 1 or 3 mg of vaccine administered intramuscularly in the deltoid. - Intention-to-treat: it was not performed. m) Procedures for data collection: - Data collection period: Between November 2009 and September 2013.

	- Procedures: The vaccine pNGVL4a-CRT/ E7(detox) was administered at study weeks 0, 4, and 8. A loop electrosurgical excisional procedure (LEEP) or cold knife conization was performed seven weeks after the third vaccination, at study week 15. Patients underwent colposcopy at baseline (pretreatment), at week 8. A standard therapeutic resection of the cervical squamocolumnar junction (either a cold knife conization or a LEEP) was performed at study week 15, seven weeks after the third vaccination. In addition, HPV 16 viral load was measured in exfoliated cell specimens obtained pretreatment and at weeks 8 and 15. Patients were assessed for adverse effects by history and physical prior to and at weeks 4, 8, 15, 19, 28, and 41. Patients were also given diary cards to record symptoms. Toxicity assessment primarily focused on local injection site reactions, and solicited general signs and symptoms including allergic reaction, fever, and cytokine release syndrome. n) Instruments for data collection: The toxicities were designated/assessed utilizing Common Toxicity Criteria V 4.0. o) Outcomes: - Primary outcome: Primary endpoints included standard safety and tolerability endpoints as defined in CTCAE v4.0. - Secondary outcome: Secondary and exploratory endpoints included histologic regression, defined as no CIN2/3 in the resection specimen, cervical viral load, and immune response to vaccine antigen. p) Data analysis: - Statistical analysis: The demographics and baseline characteristics for patients enrolled onto the study were tabulated and summarized for each route of delivery using descriptive statistics (mean, median, standard deviation, range, frequency and percentage). The detailed properties and severity of reported vaccine-specific adverse events were tabulated, and frequencies and percentages of events assessed for each route of delivery. The clinical responses were tabulated, and frequencies and percentages of events were presented for each route of delivery. Non-parametric Wilcoxon signed rank tests were conducted for evaluating the changes in HPV viral load pre- and post-vaccination and the immune responses. Kruskal- Wallis rank sum tests were conducted for comparisons of the different route of delivery cohorts. - Analysis of experimental data: - HPV viral load: HPV 16 viral load was measured in exfoliated cell specimens obtained pretreatment and at weeks 8 and 15, using the HPV16-specific TaqMan kinetic PCR method developed by Gravitt et al. - Immunogenicity: it was assessed by HPV16 E6/E7-specific IFN-γ ELISpot assays with cryopreserved PBMCs. - Immunohistochemical staining: Tissue in paraffin blocks that was residual after histopathologic diagnoses had been finalized

	were used for immunohistochemical (IHC) staining for CD8. Five-micron sections were cut from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue from the pre-vaccination (diagnostic biopsy) and from the post-vaccination resection (7 weeks after the third vaccination). Images were captured using a Nikon E600 microscope/Plan fluor $\times 20/0.50$ ocular and a DXM1200f Nikon digital camera (Nikon, Melville, NY). Regions of interest (ROIs) were delineated in normal epithelium, in stroma immediately beneath normal epithelium, in CIN2/3 epithelium, and in stroma immediately subjacent to CIN2/3, using NIS Elements AR3 imaging software (Nikon).
Main Results	<i>Safety:</i> 32 patients comprised the study group. The majority of patients were Caucasian (72%) and the median age was 26 years (range 20–44). There was equal distribution of CIN 2 and CIN 3 in pretreatment biopsies in the study group. Twenty-two of 32 patients (69%) experienced vaccine-specific related adverse events. <i>Clinical efficacy:</i> Twenty-seven of 32 patients enrolled on the treatment phase of the trial completed all three vaccinations per protocol and had a standard therapeutic resection performed at week 15. Histologic regression to CIN 1 or less occurred in 8 (30%) patients. Persistent CIN 2/3 was observed in 19 (70%) patients. Of the 8 patients with histologic response, 1 had CIN 1 and 7 had no residual CIN. In this pilot study, there was no clear difference in rate of histologic regression across the three different routes of vaccination. <i>HPV viral load:</i> Cervical HPV viral loads were measured before and after vaccination in all vaccinated subjects. No differences between pre-and post-vaccination viral loads, in any of the treatment cohorts. <i>Immunogenicity:</i> Immune responses to E7 were minimal and were not significantly different than responses to HPV16 E6, which was not included in pNGVL4a-CRT- E7(detox) (Figure 2). However, in the cervical tissue, in subject-matched comparisons, intraepithelial CD8+ T cell infiltrates increased after vaccination in subjects in the intralesional administration cohort ($p = 0.0313$). CD8+ T cell infiltrates in the stroma subjacent to residual CIN epithelium increased with all three routes of vaccination. In contrast, in adjacent normal mucosa, the intensity of CD8+ T cell infiltrates did not change, either in the epithelium or in the stroma. The intensity of intraepithelial CD8+ T cell infiltrates in lesional mucosa before vaccination was greater in both the epithelium as well as the underlying stroma in regressors compared to non-regressors. ($p=0.0477$).
Limitations	The primary limitations of this study include the fact that this was a small phase I trial designed to primarily evaluate the feasibility and safety of pNGVL4a-CRT/E7(detox). Expanded studies will be required to further confirm the potential immunologic benefit of intralesional vaccination over other routes of administration.
Conclusions	In summary, this trial demonstrated the feasibility, safety and potential clinical benefit of pNGVL4a-CRT/E7(detox) a novel DNA vaccine composed of a pNGVL4a plasmid vector containing a mutated form of the HPV16 E7 antigen linked to calreticulin (CRT) for patients with HPV16 associated CIN2/3.
Implications for clinical practice	The therapeutic HPV DNA vaccine pNGVL4a-CRT/E7(detox) can be administered safely. The Immune response was most robust when vaccinated directly into the cervix. Histologic regression to $\leq$ CIN 1 was noted in 30%

	of vaccinated CIN 2/3 patients.

Summary of the study 15

Study: 15	
ROBINS-I: <i>Serious</i>	
Cochrane Risk of Bias Tool: <i>High</i>	
Authors	Hannah N. Coleman, William W. Greenfield, Shawna L. Stratton, Rita Vaughn, Alexander Kieber, Andrea M. Moerman-Herzog, Horace J. Spencer, Wilbur. C. Hitt, Charles Matthew Quick, Laura F. Hutchins, Samuel G. Mackintosh, Ricky D. Edmondson, Stephen W. Erickson, and Mayumi Nakagawa.
Title	Human Papillomavirus Type 16 Viral Load is Decreased Following a Therapeutic Vaccination
Impact Factor (JCR)	Cancer Immunology Immunotherapy – JCR ₂₀₁₇ : 4.711
Year of publication	2016
Conflict of interest	Mayumi Nakagawa is one of inventors named in patents and patent applications describing PepCan. Other authors do not have any conflict of interest to disclose.
Study sponsorship	This study was supported by a number of grants from National Institutes of Health. “Understanding and Enhancing T-Cell Responses to High Risk Human Papillomaviruses” (R01CA143130) and the Translational Research Institute (UL1TR000039) supported the Phase I clinical trial. The University of Arkansas for Medical Sciences Proteomics Core Laboratory is supported by the Arkansas IDeA Network for Biomedical Research Excellence (P20GM103429), the University of Arkansas Center for Protein Structure and Function (P30GM103450), and the University of Arkan.
Country	USA
Aim	To reports the results of the final dose phase, and the feasibility of performing cytokine/chemokine and proteomic analyses for identifying potential biomarkers in the Phase II study.
Methods	a) Study design: This clinical trial was a phase II single-arm, single-site, dose escalation study. b) Study location: Little Rock, Arkansas, USA. c) Sample size / Sampling: Sample calculation unreported. d) Inclusion criteria: Subjects with biopsy-confirmed HSIL regardless of HPV types detected were eligible. Patients with biopsy-proven CIN2/3 were eligible for vaccination. Patients who already were diagnosed with biopsy-proven CIN2/3 were also eligible as long as the first vaccine injection could be given within 60 d, and other inclusion criteria were met (ages 18 to 50 years old, blood pressure 200/120 mm Hg, heart rate 50 to 120 beats per minute, respiration 25 breaths per minute, temperature 100.4°F, white count $3 \times 10^9/L$, hemoglobin ≥ 8 g/dL, and platelet count $\geq 50 \times 10^9/L$). e) Exclusion criteria: history of disease or treatment causing immunosuppression, pregnancy, breast feeding, allergy to Candida, a

	history of severe asthma, current use of b-blocker, and a history of invasive squamous cell carcinoma of the cervix. f) Ethical aspects: All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the Institutional Review Board, the Food and Drug Administration, and with the 1964 Helsinki declaration including its later amendments. Informed Consent: Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. g) Trial Register: NCT02481414. h) Trial arms: Single-arm (no control group): - Experimental Group = Patients (n = 34) were enrolled, including six subjects each were vaccinated with PepCan at the 50, 100, 250, and 500 µg per peptide dose in the dose-escalation phase of a Phase I clinical trial, plus ten additional subjects were vaccinated at the 50 µg in the final dose phase. i) Randomization: Not reported. j) Masking: Not reported. k) Intervention protocol: The vaccination PepCan was started within 60 d of biopsy date, and four injections were given 3 weeks apart. Each patient received the same dose of the peptides, and six subjects were recruited in each dose group. The vaccine was administered intradermally in any limb. Twelve weeks after the last injection, blood was drawn, ThinPrep sample was collected, and Loop Electrical Excision Procedure (LEEP) was performed. The vaccine consisted of four current good-manufacturing production-grade synthetic peptides covering the HPV 16 E6 protein with the following sequences: E6 1–45 (Ac- MHQKRTAMFQDPQERPRKLPQLCTELQT-TIHDIILECVYCKQQLL-NH₂), E6 46–80 (Ac-RREVDFAFRDLCIVYRDGNPYAVCDKCL- KFYSKI-NH₂), E6 81–115 (Ac-SEYRHYCYSLYGTTLEQQYNKPLCDLLIR- CINCQK-NH₂), and E6 116–158 (Ac-PLCPEEKQRHLDKKQRFHNIRGRWT-GRCMSCRSSRTRRETQL-NH₂). Prior to injecting patients, lyophilized peptides were reconstituted with sterile water and were mixed with 300 µl of Candida albicans skin test reagent (Candin) in a syringe. The amount of peptide per injection was 50, 100, 250, or 500 µg per peptide, and the total injection volume was 0.4, 0.5, 0.75, or 1.2 ml respectively. l) Per-protocol and modified intention-to-treat analyses: - Per-protocol: six subjects each were vaccinated with PepCan at the 50, 100, 250, and 500 µg per peptide dose in the dose-escalation phase of a Phase I clinical trial, plus ten additional subjects were vaccinated at the 50 µg in the final dose phase, which was shown to have the highest histological regression rate. PepCan was administered intradermally every 3 weeks, and a loop electrical excision procedure was performed 12 weeks after the last injection.

- **Intention-to-treat:** it was not performed.

m) Procedures for data collection:

- **Data collection period:** Between July 2014 and March 2015.
- **Procedures:** At the screening visit, the cervix was visualized under a colposcope after applying acetic acid, biopsies were obtained, Thin-Prep (Hologic, #70097-0001) was collected for HPV-DNA testing (Linear Array HPV Genotyping Test, Roche Molecular Diagnostics, #04472209190 and #03378012190), and routine laboratory testing was performed (complete blood count, sodium, potassium, chloride, carbon dioxide, blood urea nitrogen, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase, lactate dehydrogenase, g-glutamyl transpeptidase, total bilirubin, and direct bilirubin). Urine pregnancy test was performed prior to each injection, and blood was drawn for routine laboratory testing and immunological assessments immediately prior to the first and third injections. Digital photographs were taken as additional documentation. Efficacy was based on histological grading of the LEEP samples.

- n) Instruments for data collection:** Safety and tolerability were assessed from the time informed consent was obtained until the day LEEP was performed using version 4.1 of the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events.

o) Outcomes:

- **Primary outcome:** The PepCan safety.
- **Secondary outcome:** The secondary endpoint was concomitant histopathological regression as well as immune responses from the PepCan.

p) Data analysis:

- **Statistical analysis:** Wilcoxon signed-rank test was used to compare (1) pre-vaccination and post-4 vaccination HPV 16 viral loads in persistently HPV 16-positive subjects, and (2) pre-vaccination and post-2 vaccination plasma cytokine/chemokine levels. Wilcoxon rank-sum test was used to compare pre-vaccination cytokine/chemokine levels between histological responders and on-responders. Non-parametric repeated measures analysis was used to compare cytokine/chemokine levels between plasma samples separated at 1 hour and 2 hours after phlebotomy.

With the proteomics data, normalized precursor intensities were log-transformed for statistical analysis to stabilize variance. Pearson's correlation coefficient was used to evaluate the consistency of intensities between replicate samples from the healthy donor. For samples from the 5 vaccine recipients at 3 time-points, proteins were tested for change in mean log-intensity from baseline to post-4-vaccinations using a paired version of the moderated t-test, as implemented in the R/Bioconductor package *limma*. The package *limma* is widely used in gene expression array analysis and increasingly in proteomic contexts. The moderated t-test is an empirical Bayes approach, equivalent to shrinkage of the estimated sample variances towards a pooled estimate, resulting in more stable inference when the sample

	size is small. We only tested those 294 proteins for which at least two patients had intensity data available at both baseline and post-4-vaccinations, which ensured that variance estimates were specific to each protein. Corrections for multiple comparisons were not performed. - Analysis of experimental data: - <i>HPV 16 Viral Load</i> A method described by Mirabello and colleagues was followed [18] to determine the HPV 16 viral load in subjects in whom HPV 16 was detected at entry and at exit using Linear Array HPV Genotyping Test (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA). - <i>Multiplex Cytokine/Chemokine Analysis</i> Plasma samples from 19 consecutive blood samples drawn at a research clinic between July 2014 and March 2015 were separated by centrifugation and frozen in a -80°C freezer at 1 hour and 2 hours after blood draw. Plasma samples separated within 1 hour from pre- vaccination blood sample and post-2 vaccination blood samples were available from 19 subjects throughout the study. Pre-vaccination plasma samples only were available from 2 more subjects (n=21). The quantities of IL-1β, IL-1 receptor agonist (IL-1RA), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, eotaxin, basic fibroblast growth factor (FGF), G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, IFN-γ induced protein 10 (IP-10), monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), MIP-1α, MIP-1β, platelet-derived growth factor subunit B (PDGF-BB), regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES), TNF-α, vascular endothelial growth factor (VEGF), IL-2 receptor α (IL-2Rα), chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (CXCL1), hepatocyte growth factor (HGF), IFN-α2, LIF, chemokine (C-C motif) ligand 7 (CCL7), macrophage migration inhibitory factor (MIF), chemokine (C-X-C motif) ligand 9 (CXCL9), β-nerve growth factor (β-NGF), stem cell factor (SCF), stem cell growth factor β (SCGF-β), TRAIL, IL-16, and IL-18 in selected plasma samples were determined using a commercially available Bio-Plex kit (Bio-Rad Laboratories) according to the manufacturer's instructions using a MAG-PIX instrument (Bio-Rad Laboratories). Plasma levels of TGF-β1, TGF-β2, and TGF-β3 were determined using a separate Bio-Plex kit as acid treatment was required. - <i>Proteomic Analysis</i> Blood was drawn from a healthy donor (40ml) and vaccine recipients (60-80ml) in vacutainer tubes containing sodium heparin, and PBMCs were isolated using a ficoll-hypaque gradient method. For proteomic analysis, one vaccine recipient was from the 50μg/ peptide group, two vaccine recipients were from the 100μg/peptide group, and two additional vaccine recipients were from the 250μg/peptide group. Eluted peptides were ionized by electrospray (1.9 kV) followed by MS/MS analysis using collision induced dissociation on an LTQ Orbitrap Velos mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA). Tandem mass spectra were extracted by Thermo MSFile Reader version 2.2. All MS/MS samples were analyzed using MaxQuant (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried, Germany; version 1.3.0.5).
Main Results	<i>Safety:</i> Eight of 10 subjects completed the study. As with the dose-escalation part of the Phase I clinical trial, no dose-limiting toxicities were reported, and the most common adverse event (AE) was mild to moderate immediate injection site reactions which were reported with all injections. <i>Efficacy:</i> The final regression rate of the 50μg dose group (n=14) was 50%, which was the same as the 100μg dose (n=6). Although the study is not powered to detect differences in efficacy among different dose levels, there

	was a trend of lower doses (50 and 100µg) being more effective than the higher doses (250 and 500µg). The rate of at least one HPV type becoming undetectable at exit was the highest (85%) at the 50µg dose. <i>HPV 16 Viral Load:</i> Of 13 subjects in whom HPV 16 DNA was detected prior to vaccination, it became undetectable in 3 subjects and was persistent in 9 subjects. In the patients with persistent HPV 16 viral loads, a significant decrease (mean of 840 copies per cells to 76.6 copies per cell, $p=0.008$) was observed in 8 of the 9 patients. <i>Immunological responses</i> to HPV 16 E6, as measured by IFN-γ ELISPOT assay, were similar among the first 3 dose levels in terms of detecting positive response to at least one new E6 region and for the increase in response being statistically significant. In 3 of 8 subjects who completed the final dose phase, the increase in CD3 T-cell response to at least one HPV 16 E6 region was statistically significant. Immune profiling showed statistically significant increases in circulating T-helper type 1 (Th1) cells after 2 ($p=0.02$) and 4 vaccinations ($p=0.0004$). T-helper type 2 (Th2) cells initially increased significantly ($p=0.01$) but decreased to below the baseline level after 4 vaccinations, although not significantly. Regulatory T-cell (Treg) levels were minimally changed. The differences in Treg levels pre-vaccination ($p=0.03$) and post-2 vaccinations ($p=0.04$) between these two groups were statistically significant. The comparisons of cytokine/chemokine plasma concentrations between plasma separated at 1 hour and 2 hours after 19 blood draws revealed statistically significant differences in 15 of 44 analytes. Most were decreased over time but some increased. Comparisons of cytokine/chemokine levels between pre-vaccination and post-2 vaccination revealed a statistically significant decrease only in RANTES (median decrease of 1,703pg/ml, decrease observed in 14 of 19 subjects examined, $p=0.003$). A paired moderated t-test identified 24 proteins significantly changed in abundance between baseline and after four vaccinations ($p < 0.05$), with 17 decreasing and 7 increasing.
Limitations	Although the 50µg dose level was chosen for the final dose phase for having had the best histological regression rate (83%) in the dose-escalation phase ($n=6$), the final regression rate of the 50µg dose at the study completion ($n=14$) was the same as the 100µg dose, suggesting that the initial higher response may have been a statistical aberration due to a small sample size. Corrections for multiple analyses were not performed.
Conclusions	In short, the Phase I clinical trial of PepCan has demonstrated its safety and decrease in HPV 16 viral load in those who were HPV 16-positive at entry.
Implications for clinical practice	Not reported.