

Universidade Federal de Juiz de Fora
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva

Carolaine Bitencourt Ferreira Fernandes

**USO TERAPÊUTICO DE VACINAS CONTRA HPV EM MULHERES
COM LESÃO DE COLO DE ÚTERO**

Juiz de Fora

2013

Caroline Bitencourt Ferreira Fernandes

USO TERAPÊUTICO DE VACINAS CONTRA HPV

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Processo Saúde-Doecimento e seus Determinantes.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Teresa Bustamante Teixeira

Juiz de Fora
2013

Para Sergio, único companheiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar força, paciência e inspiração para realizar este estudo.

À minha orientadora Professora Maria Teresa por me dar “segundas chances”.

Aos meus pais Angela e Wanderson que suportaram bravamente meu mal humor.

À minha irmã Alessandra que nem viu nada porque estava no quarto estudando...
Você vai vencer!

Ao meu filho Theo que não me cobrou a ausência e que move meu mundo acima de tudo. Você é a maior razão.

À Leila Lamas, irmã de coração, que foi capaz de resistir comigo até o fim (minha vez chegou!).

Ao amigo Fabiano, meu “parceiro”, que tornou inesquecíveis e divertidas nossas aulas (Moscou!).

À Alice que me socorreu nas questões imunológicas mais profundas do que minha capacidade poderia atingir.

Ao meu marido Sergio, único verdadeiro companheiro em todo este tempo de estudo, único auxílio sempre presente, até quando não sabia como ajudar, por ser o culpado pelo início desta ideia e único responsável pelo término dela. Por me empurrar, por me aguentar, por ser minha ciência, minha bibliografia, minha fonte, meu revisor. Professor Doutor Sergio Ibañez Nunes, você faz jus ao seu título.

Ama-se a vitória difícil, porque a derrota lhe preenchia quase todo o espaço possível. E foi com o que restava que se venceu em todo ele.

Vergílio Ferreira

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da diferenciação anormal do epitélio induzida pela infecção pelo HPV	18
Figura 2: Incidência e Mortalidade do Câncer Cervical distribuídas pelas áreas geográficas	22
Figura 3: Índices de mortalidade em mulheres de acordo com as principais localizações, incluindo o câncer cervical, antes e após a correção. Brasil, 1981-2006	24
Figura 4: Estrutura molecular do vírus HPV	27
Figura 5: Representação esquemática do processo de seleção dos estudos – busca nas bases de dados	39
Figura 6: Representação gráfica dos resultados da avaliação de qualidade (CONSORT)	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fases dos ensaios clínicos35

Tabela 2: Características principais dos estudos incluídos, considerando o tamanho da amostra, faixa etária, randomização/cegamento e tipo de partícula utilizada...42

Tabela 3: Tipos de lesão, intervenções e subgrupos dos estudos incluídos.....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
Ca	Carcinoma
CAF	Cirurgia de Alta Frequência
CBFF	Caroline Bitencourt Ferreira Fernandes
CCU	Câncer do Colo do Útero
CD	<i>Cluster of differentiation</i> (grupamento de diferenciação)
CID-10	Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde – 10ª Revisão
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS
CONSORT	<i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i>
DNA	<i>Desoxinucleic acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
EUA	Estados Unidos da América
HC2	<i>Hybrid Capture 2</i> – (Captura Híbrida de 2ª Geração)
HPV	<i>Human Papillomavirus</i> – (Papilomavirus Humano)
IDB	Índice de Desenvolvimento Básico
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JEC	Junção escamo-colunar
LILACS	Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MesH	<i>Medical Subject Headings</i>
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
NIC 2+	Neoplasia Intraepitelial Cervical 2 ou mais grave
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> – (Reação em Cadeia da Polimerase)
PUBMED	<i>Public Medline or Publisher Medline</i>
SciELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
SIN	Sergio Ibañez Nunes

SUS

Sistema Único de Saúde

VLP

Virus Like Particles (Partículas semelhantes a vírus)

RESUMO

O câncer de colo do útero é o segundo tumor mais frequente na população feminina e a segunda causa de morte por neoplasia entre mulheres. A infecção persistente pelo vírus HPV é condição necessária para o aparecimento da doença, bem como de suas lesões precursoras. O uso da vacinação profilática contra o HPV tem se mostrado efetivo na prevenção da doença e, devido ao mecanismo de desenvolvimento do câncer a partir da infecção viral, novas partículas vacinais vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de uso terapêutico, ou seja, na vigência de lesões. Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura sobre o uso de vacinas terapêuticas contra o HPV e sobre as novas partículas utilizadas com este fim. Foi feita uma consulta às bases de dados MEDLINE, PUBMED e LILACS, às coleções SciELO e à BIBLIOTECA COCHRANE, utilizando-se as palavras-chave “papillomavirus humano”, “HPV”, “vacina”, “vacinação”, “terapêutico” e “imunoterapia” em diferentes combinações, sem limite de data. Dos 713 artigos encontrados inicialmente, 352 foram excluídos por estarem repetidos nas diferentes bases de dados, 217 por serem artigos de revisão, 86 por serem realizados em animais, 24 publicados em idiomas que não o inglês, português e espanhol, 15 de outras localizações anatômicas que não o colo do útero, 2 em pacientes HIV positivos, 1 em homens, 2 cujas pacientes possuíam apenas infecção pelo vírus, mas não lesão no colo e 1 realizado in vitro. Um último artigo foi excluído pois utilizava a vacina após a retirada da lesão do colo das pacientes. Desta forma foram selecionados 12 artigos para esta revisão sistemática. Estes são artigos de fase I e II, realizados com poucas pacientes e apenas 2 deles são randomizados e cegados. Não se pôde atribuir nenhuma medida estatística aos resultados, visto a heterogeneidade das publicações. Os estudos analisados utilizaram partículas vacinais baseadas nas proteínas E6, E7 e E2 do HPV, concluindo que a proteína E7 é a mais promissora para uso nas vacinas terapêuticas. Esta revisão concluiu que o uso das vacinas baseadas na proteína E7 de HPV é potencialmente benéfico no tratamento das lesões de colo uterino, sendo um campo de estudo promissor, mas esta conclusão deve ser analisada com cautela devido à ausência de estudos realizados com maior número de pacientes e com critérios metodológicos mais rígidos.

Palavras chave: Vacinas contra papillomavirus. Uso terapêutico. Neoplasia de colo de útero. Infecções por papillomavirus. Revisão sistemática.

ABSTRACT

Cancer of the cervix is the second most common tumor in the female population and the second cause of death from cancer among women. Persistent infection by HPV is a necessary condition for the onset of the disease and its precursor lesions. The use of prophylactic vaccination against HPV has been shown to be effective in preventing disease and mechanism of cancer development from the viral infection, new particle vaccine have been developed with the aim of therapeutic use, in other words, in the presence of injuries. This study aimed to perform a systematic review of the literature on the use of therapeutic vaccines against HPV and the new particles used for this purpose. Was made a query to the databases MEDLINE, PUBMED and LILACS, SciELO and the collections COCHRANE LIBRARY, using the key words "human papillomavirus", "" HPV "," vaccine "," vaccination "," therapeutic " and "immunotherapy" in different combinations, without a time limit. Of the 713 articles found initially, 352 were excluded because they were repeated in different databases, 217 to be review articles, 86 were conducted in animals, 24 published in other languages than English, Portuguese and Spanish, 15 other anatomical locations than the cervix, 2 in HIV-positive patients, 1 in men, 2 whose patients had only infection, but not injury lap and 1 conducted in vitro. One last item was deleted because the vaccine used after removal of the lesion of the cervix patients. Thus 12 articles were selected for this systematic review. These articles are phase I and II, realized with few patients and only two of them are randomized and blinded. We were unable to assign any statistical measure the results, since the heterogeneity of publications. The analyzed studies used particle vaccine based on proteins E6 and E7 of HPV E2, concluding that the E7 protein is the most promising for use in therapeutic vaccines. This review concluded that the use of vaccines based on HPV E7 protein is potentially beneficial in the treatment of lesions of the cervix, being a promising field of study, but this finding should be considered with caution due to the lack of studies with larger numbers of patients and strict methodological criteria.

Keywords: Papillomavirus Vaccines. Therapeutic use. Uterine Cervical Neoplasms. Papillomavirus Infections. Systematic review.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 HISTÓRICO	16
2.2 PATOGÊNESE	17
2.3 AS LESÕES PRECURSORAS DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO	19
2.4 O CÂNCER DO COLO DO ÚTERO	21
2.5 AS VACINAS CONTRA O HPV	25
2.5.1 Resposta imune à infecção pelo HPV	25
2.5.2 A descoberta das vacinas	28
2.5.3 O uso atual das vacinas	29
3 JUSTIFICATIVA	31
4 OBJETIVOS	32
5 MÉTODO	33
5.1 BUSCA E SELEÇÃO DOS ARTIGOS	33
5.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS PUBLICAÇÕES	35
5.3 EXTRAÇÃO DOS DADOS	36
5.4 ANÁLISE	37
6 RESULTADOS	38
6.1 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS	40
6.2 QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS	45
6.3 RESULTADOS DOS ARTIGOS	46
6.3.1 Borysiewicz et al., 1996	46
6.3.2 Sheets et al., 2003	47
6.3.3 Hallez et al., 2004	48
6.3.4 Corona Gutierrez et al., 2004	48
6.3.5 Frazer et al., 2004	49
6.3.6 Santin et al., 2006	50
6.3.7 Einstein et al., 2007	51
6.3.8 Kaufmann et al., 2007	51
6.3.9 Trimble et al., 2009	52
6.3.10 Van Doorslaer et al., 2010	53

6.3.11 Solares et al., 2011	54
6.3.12 Brun et al., 2011	55
7 DISCUSSÃO	56
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICE A: Protocolo de Seleção dos Artigos	68
APÊNDICE B: Formulário para Extração dos Dados	69
APÊNDICE C: Tabela de Avaliação dos Critérios CONSORT	70
APÊNDICE D: Extração dos Dados	71
ANEXO: Checklist CONSORT 2010	77

1 INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero (CCU) é o segundo tumor mais frequente na população feminina no Brasil, precedido apenas pelo de mama, e a segunda causa de morte de mulheres por neoplasia. As taxas de mortalidade por câncer de colo uterino no país assemelham-se às dos países com as maiores taxas, o que se justifica pela alta prevalência do Papillomavirus Humano (HPV) nas mulheres brasileiras (SCHMIDT et al., 2011; AYRES; SILVA, 2010).

Hoje se sabe que o HPV é responsável direto por 99,7% das lesões de colo uterino, Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) graus 1, 2 e 3 e carcinoma, sendo considerado fator necessário para seu aparecimento. Apesar disto, a maioria das mulheres, cerca de 80%, possui infecções transitórias e de resolução espontânea, evidenciando, portanto, que a presença do vírus não é fator suficiente para o aparecimento de tais lesões (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

No Brasil e na maioria dos países do mundo o exame de Papanicolaou ainda é a principal estratégia de rastreamento do câncer cervical na população feminina (WHO, 2013), mas sabe-se que a cobertura do exame no Brasil ainda não é a ideal, principalmente nas populações rurais e de mais baixa renda (MARTINS et al., 2005; SILVA et al., 2011).

Diante da descoberta das vacinas contra o HPV é aventada uma nova perspectiva de controle da doença, através da proteção contra o vírus (SMITH; TRAVIS, 2011). Desta forma, em última instância, a vacinação se apresenta como forma de prevenção primária para o câncer de colo uterino (BOSH, 2011), sendo que o rastreamento através do exame de Papanicolaou atua como prevenção secundária, através do diagnóstico das lesões precursoras (SZAREWSKY, 2012).

O HPV, ao contrário de outros vírus, não gera infecção sistêmica e viremia, desta forma, também não é capaz de desenvolver no hospedeiro memória imunológica capaz de protegê-lo de novas infecções (MARIANI; VENUTI, 2010). De acordo estes mecanismos da resposta imunológica ao HPV, que são predominantemente celulares e locais, a perspectiva da vacinação na presença do vírus e mesmo na

presença de doença, gerando uma proteção sistêmica e conseqüentemente melhor resposta do organismo à infecção selvagem, passa a ser um motivo iminente de estudo (BRINKMAN et al., 2007).

As vacinas disponíveis hoje no mercado, Gardasil® e Cervarix®, estão indicadas exclusivamente para uso profilático, ou seja, na ausência de lesões de colo uterino. Apesar disto, as vacinas foram estudadas quanto ao seu potencial terapêutico, no tratamento das lesões cervicais e na eliminação da infecção crônica pelo vírus, sem que demonstrassem bons resultados nestes casos (CHEN et al., 2011).

Novas vacinas compostas de proteínas oriundas da estrutura molecular do vírus apresentam-se como campo iminente de estudo. Estas proteínas estão relacionadas com sua capacidade de bloquear a apoptose celular que, em última instância, permitem que as células do epitélio cervical se reproduzam indefinidamente, gerando as lesões do colo uterino (BRINKMAN et al., 2007). Desta forma, se estas proteínas são bloqueadas, pode-se presumir que o desenvolvimento das lesões também o é, permitindo, em tese, sua regressão.

Neste contexto, o presente estudo busca o *status* do conhecimento atual sobre a utilização das vacinas contra o HPV na presença de lesões cervicais, bem como quais novas partículas estão sendo pesquisadas com este intuito.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO

Os estudos de papilomas de pele e sua associação com o Papillomavírus Humano (Human Papillomavirus – HPV) foram grandes propulsores da descoberta da associação deste com o câncer do colo do útero (CCU).

Em 1933 Shope e Hurst descreveram pela primeira vez a progressão de lesão papilomatosa para câncer, num estudo experimental realizado em coelhos (SHOPE; HURST, 1933). Mais tarde, na década de 1970, Meisels e Fortin observaram a semelhança morfológica entre células obtidas de condilomas acuminados e aquelas obtidas de displasias de colo uterino (MEISELS; FORTIN, 1976). Apenas em 1981, após vários estudos preliminares tentando relacionar a malignização dos condilomas genitais ao Herpes Vírus tipo II, zur Hausen e colaboradores demonstraram através de hibridização do DNA a presença do HPV nas lesões displásicas de colo uterino (ZUR HAUSEN et al., 1981).

Com a modernização das técnicas moleculares foi possível identificar vários subtipos de HPV, e associar cada um deles ao aparecimento de tumores e verrugas em pele e mucosa, assim como o risco destas lesões progredirem para lesões malignas (DE VILLIERS et. al., 2004).

Em 1996, Muñoz e Bosh publicaram revisão trazendo a noção de causalidade entre HPV e câncer cervical. Nesta publicação os autores fazem um grande levantamento da bibliografia existente até então, chegando à conclusão epidemiológica que o vírus é causa da doença. Tal conclusão se deveu à forte e persistente associação entre HPV e câncer cervical, em todos os estudos, sem grandes diferenças geográficas. Além disto, os autores concluíram que o subtipo 16 é o mais frequente no câncer cervical, seguido pelo subtipos 18, 45 e 31. Já nesta data falava-se sobre outros fatores que predisporiam as mulheres a desenvolver o câncer, como alterações no sistema imunológico, assim como na possibilidade do desenvolvimento de vacinas contra o vírus, no intuito de se evitar a doença. (MUÑOZ; BOSH, 1996).

2.2 PATOGÊNESE

O HPV é um pequeno vírus não envelopado, cujo genoma é constituído por um DNA de dupla fita. Dos cerca de 118 subtipos descritos na literatura, aproximadamente 40 são capazes de infectar o trato genital e apenas uma parte destes é capaz de desencadear carcinogênese (DE VILLIERS et al., 2004). A infecção pelo vírus pode ser latente ou levar a lesões clinicamente diagnosticáveis (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006). Os subtipos considerados de alto risco para o desenvolvimento de lesões oncogênicas são principalmente 16 e 18, além dos subtipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59. Os subtipos 26, 53, 66, 68, 73 e 82 são considerados provavelmente de alto risco. Os demais são classificados como vírus de baixo risco de desenvolvimento de lesões oncogênicas (MATEOS et al., 2011).

No caso da infecção genital, a transmissão ocorre principalmente durante o ato sexual, sendo outras formas bastante raras. A baixa prevalência de infecção pelo vírus em mulheres virgens, cerca de 0-8%, comprova este dado. A entrada do vírus ocorre através de microtraumas do epitélio, principalmente durante o ato sexual, expondo as células da camada basal à infecção (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006). Desta forma, o comportamento sexual é um importante fator associado à infecção por HPV, sendo a promiscuidade grande fator de risco para infecções múltiplas e persistentes (FARIDI et al., 2011).

Aproximadamente 70% das infecções pelo HPV são eliminadas espontaneamente em 1 ano e mais de 90% em 2 anos. Estas são consideradas infecções transitórias, enquanto a permanência do vírus por mais de 2 anos é considerada infecção persistente e está associada ao desenvolvimento do câncer (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

O ciclo de vida do HPV está diretamente ligado à diferenciação celular do epitélio e a estabilização do genoma do vírus na célula epitelial está associada à expressão precoce de oncoproteínas. Durante a divisão celular, células filhas infectadas com DNA viral deixam a camada basal e ascendem na espessura do epitélio. Estas células têm sua diferenciação e amadurecimento impedidos, em graus variáveis, o

que as faz manter características microscópicas de células jovens, além de permitir a soltura de partículas virais na superfície do epitélio, juntamente com as células descamadas (FEHRMANN; LAIMINS, 2003) (Figura 1). A integração do DNA do vírus ao genoma da célula hospedeira é o evento que permite a imortalização da célula epitelial, o que, em última análise, leva ao aparecimento de lesões malignas (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006). Outros mecanismos são associados ao potencial oncogênico da infecção viral, tais como o bloqueio do mecanismo de morte programada celular, ou apoptose, resistência à sinalização de citocinas citotóxicas e cistostáticas, introdução de instabilidade genômica e mitoses multipolares, angiogênese, entre outras (MCLAUGHLIN-DRUBIN; MÜNGER, 2009).

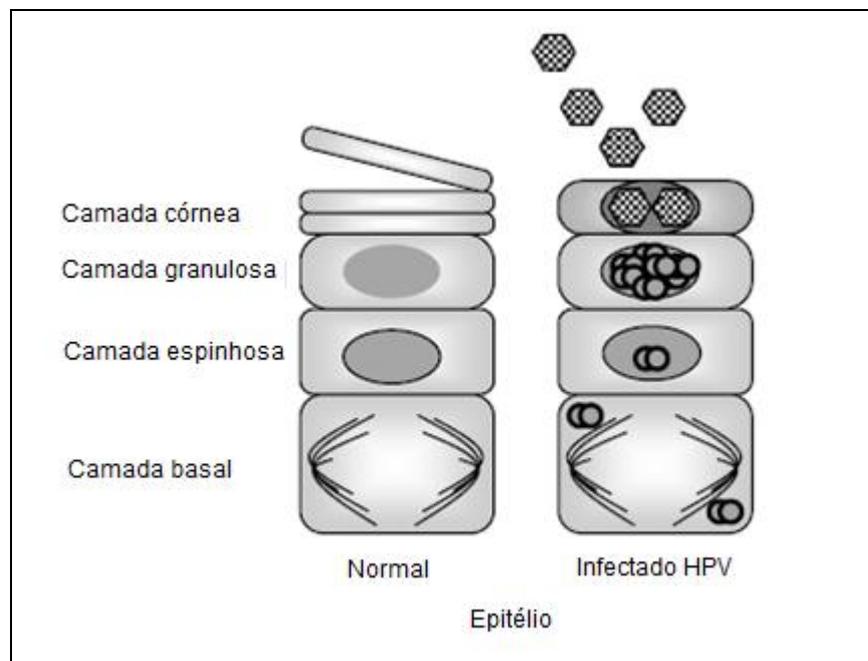


Figura 1: Representação esquemática da diferenciação anormal do epitélio induzida pela infecção pelo HPV. (Adaptado: FEHRMANN, 2003)

A presença do vírus é fator necessário para o desenvolvimento do câncer cervical, mas não é suficiente. Questões associadas ao hospedeiro, como uso de contraceptivos orais, imunidade deficiente, múltiplos parceiros sexuais, fumo e multiparidade, além de outras associadas à infecção pelo vírus, tais como o tipo de vírus e a ocorrência de infecções múltiplas e persistentes, são consideradas

responsáveis por definir quem terá uma lesão progressiva (FARIDI et al., 2011; CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

A principal região do colo uterino suscetível às alterações celulares promovidas pelo HPV é a “zona de transformação”, que se localiza na junção escamo-colunar (JEC), transição entre epitélio colunar da endocérvice e o epitélio escamoso da ectocérvice. Esta é uma região de metaplasia constante, principalmente na presença de ectopia cervical, isto é, a presença de epitélio colunar da endocérvice exposto na face ectocervical do colo uterino. Nas mulheres com ectopia cervical, a JEC situa-se numa posição externa do colo uterino, o que faz com que as células colunares sofram maior metaplasia para células escamosas, como forma de tornar o epitélio mais resistente a agressões do meio vaginal. O processo de metaplasia pode facilitar a entrada do HPV no epitélio (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006)

A prevalência do vírus na população mundial é de cerca de 17,9% entre as mulheres e de menos de 8% entre os homens (FARIDI, 2011). Segundo revisão sistemática de Ayres e Silva (2010), tal prevalência apresentou valores entre 13,7% e 54,3% na população brasileira, podendo variar de 10,4% a 24,5% em mulheres com citologia normal. Nesta revisão as autoras admitem limitações para a estimativa da prevalência do HPV na população brasileira, pois as técnicas de citologia e de pesquisa do vírus utilizadas nos estudos avaliados pelas mesmas são diferentes, além do fato de existir maior concentração de estudos na região sudeste do país, o que poderia afetar o resultado. Além disto, as prevalências estimadas pelo método de Captura Híbrida de Segunda Geração (Hybrid Capture 2 - HC2), mais comumente utilizado nas pesquisas, são em geral menores do que as estimadas pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction – PCR).

2.3 AS LESÕES PRECURSORAS DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO

Em 1888 Williams identificou no colo uterino de pacientes com câncer cervical células não invadidas pelo mesmo próximas às áreas definidas como sendo cancerígenas. A partir deste achado, Cullen em 1900 introduziu o conceito de “lesão

precursora do câncer”, relacionando estas lesões precursoras ao desenvolvimento do câncer, apesar de pouco se conhecer sobre a evolução das mesmas. Este foi um período de histerectomias radicais instituídas como tratamento para as lesões precursoras, no intuito de impedir que as mesmas viessem a se desenvolver (SINGER; MONAGHAN, 2002).

Apenas em 1932 Brothers introduziu nas classificações de lesões cervicais o termo “carcinoma *in situ*”, definido como a presença de células neoplásicas em toda a extensão do epitélio cervical, sem romper, no entanto, a camada basal. Não havia, portanto, invasão do estroma subjacente. Ainda assim, o processo que levava tais células a prosseguirem o desenvolvimento para o câncer era desconhecido, e o tratamento ainda se mantinha o mesmo: a histerectomia. Neste momento, conhecer a evolução natural da doença, desde as lesões precursoras até o câncer passou a ser determinante para a avaliação da conduta diante de cada caso. (BONFIGLIO, 2003).

Com o desenvolvimento da técnica de citologia esfoliativa de Papanicolaou as células oriundas de lesões precursoras e mesmo do CCU puderam ser mais bem definidas e classificadas de acordo com suas características morfológicas (TEIXEIRA; LÖWY, 2011).

Vários modelos de evolução da doença foram propostos, e revisão sistemática de Insinga (2009), já sob a ótica da infecção pelo HPV como causa do CCU, demonstrou o conhecimento adquirido sobre a evolução das lesões precursoras. Em tal revisão, que contou com a análise de mais de 13.000 publicações, entre elas 2.538 sobre a história natural do CCU, demonstrou-se que, na presença de vírus de alto risco, como 16 e 18, uma lesão de alto grau tem, por ano, mais de 50% de possibilidade de evoluir para um carcinoma *in situ*, ao passo que uma lesão de baixo grau tem, por ano, 13% de chances de evoluir para uma lesão de alto grau NIC 2 e 3,5% de evoluir para uma lesão de alto grau NIC 3. Na presença de vírus de baixo risco, como 6 e 11, o risco de aparecimento de uma lesão de baixo grau é de 8,5%, ao ano, ao passo que este risco é praticamente negativo para lesões de alto grau. Desta forma demonstrou-se que a presença do HPV de alto risco é fator necessário para o desenvolvimento do CCU, assim como a baixa potencialidade de lesões de

baixo grau, principalmente na ausência de vírus de alto risco, evoluírem para câncer (INSINGA et al., 2009).

Nas classificações atuais, as lesões precursoras do CCU, chamadas Neoplasias Intraepiteliais Cervicais - NIC, que se apresentam nos graus 1, 2 ou 3, de acordo com a espessura do epitélio que acometem, possuem conduta específica conforme sua potencialidade de evolução para o câncer (BRASIL/INCA, 2006).

O conhecimento da evolução da doença gerou a necessidade de se definirem técnicas de coleta, normatização dos resultados, treinamento de especialistas e organização e campanhas de rastreamento em massa com vistas à diminuição da mortalidade pela doença (TEIXEIRA; LÖWY, 2011).

Além disto, definir a presença ou ausência de HPV de alto risco nas lesões precursoras e também no colo uterino livre de doença pode ser importante para avaliar as pacientes com maior risco de desenvolvimento de doença de alto grau ou câncer (INSINGA et al., 2009).

2.4 O CÂNCER DO COLO DO ÚTERO

Segundo Ayres e Silva (2010), o câncer do colo do útero (CCU) é sexto tipo mais comum na população geral e o segundo entre as mulheres, precedido apenas pelo câncer de mama. Mais de 85% das mortes por CCU ocorrem nos países em desenvolvimento (JEMAL et al., 2011; GAMARRA et al., 2010). No Brasil a incidência de CCU ainda é muito alta, comparável às taxas de países que possuem as maiores incidências, como o Peru e alguns países da África (SCHMIDT et al., 2011). Este dado é consistente com a prevalência também muito alta do HPV nas mulheres brasileiras, de 13,7% a 54,3% (AYRES; SILVA, 2010).

A Figura 2 demonstra a incidência e mortalidade pelo CCU em várias regiões geográficas, evidenciando a importante relação entre o grau de desenvolvimento econômico e social com a doença.

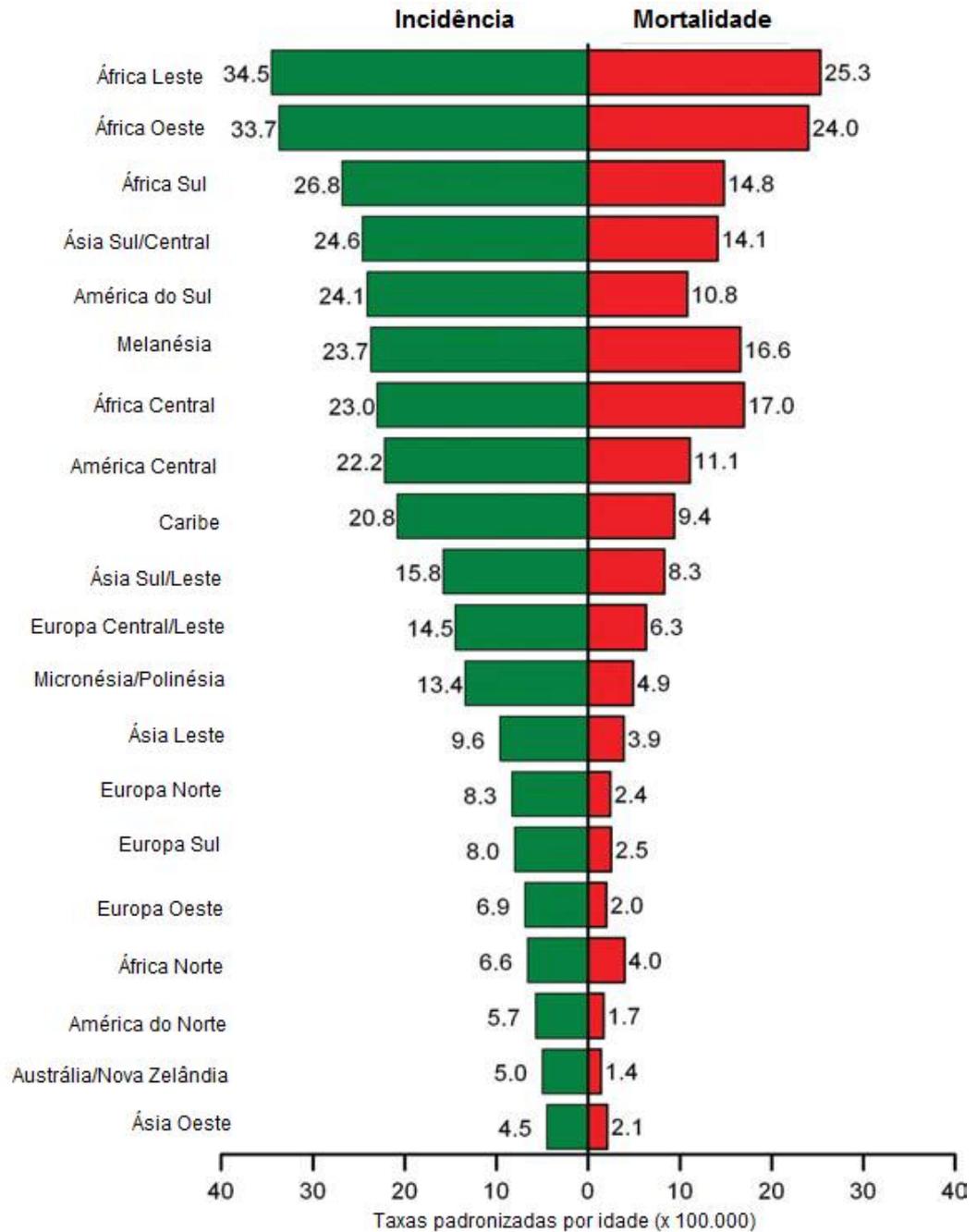


Figura 2: Incidência e Mortalidade do Câncer Cervical distribuídas pelas áreas geográficas. (Adaptado: JEMAL et al., 2011)

A desproporcional sobrecarga da incidência do câncer cervical nos países em desenvolvimento é devida principalmente à ausência ou falha dos sistemas de rastreamento das lesões pré-cancerígenas nestes países (JEMAL et al., 2011), visto esta ser uma patologia prevenível através do diagnóstico das lesões precursoras (GAMARRA et al., 2010).

Apesar do câncer de colo uterino ser um tipo de neoplasia sensível à prevenção e ao diagnóstico precoce, estima-se que a mortalidade por esta doença poderá sofrer incremento de aproximadamente 10% nos próximos 10 anos, na ausência de novas medidas para detecção e tratamento (SILVA et al., 2010).

No Brasil, as estimativas de mortalidade da doença podem ter sua magnitude afetada por problemas relacionados a dificuldades no Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), principalmente devido ao sub-registro de óbitos, mortes erroneamente classificadas como tendo “causas mal definidas” e mesmo por mortes relacionadas ao CCU classificadas como tendo origem no “útero sem outra especificação”, de acordo com a 10^a Revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10). Diante disto, Gamarra e colaboradores (2010) procuraram corrigir estas lacunas do SIM, através da redistribuição dos óbitos por causas mal definidas, atribuição de dados ignorados, como idade e sexo, e principalmente pela correção dos óbitos classificados como “neoplasia de útero sem outra especificação” (CID-10 C55). Desta forma os autores observaram um incremento de 103,4% nas taxas de mortalidade pelo CCU, variando de 35% para as capitais da região Sul até 339% para o interior do Nordeste (GAMARRA et al., 2010).

De acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) o CCU encontra-se na quarta posição entre as causas de óbito por câncer entre as mulheres (BRASIL/INCA/2009). Mas o que se observa após a correção dos dados sobre a mortalidade é que o mesmo passa a representar a segunda causa de morte por câncer entre as mulheres (Figura 3). Também após a correção nota-se uma modificação na tendência da mortalidade pela doença entre as diferentes regiões do país especialmente quando se comparam as capitais com os outros municípios de cada região. Constatou-se para o Brasil como um todo, assim como para as capitais uma tendência decrescente na mortalidade por CCU. Quando considerados apenas os municípios do interior verificou-se tendência ascendente nas regiões Norte e Nordeste, estabilidade na região Sudeste e queda na região Sul. Esta situação reflete principalmente as diferenças no perfil socioeconômico da população, no acesso aos serviços de saúde e na qualidade dos mesmos (SILVA et. al, 2010).

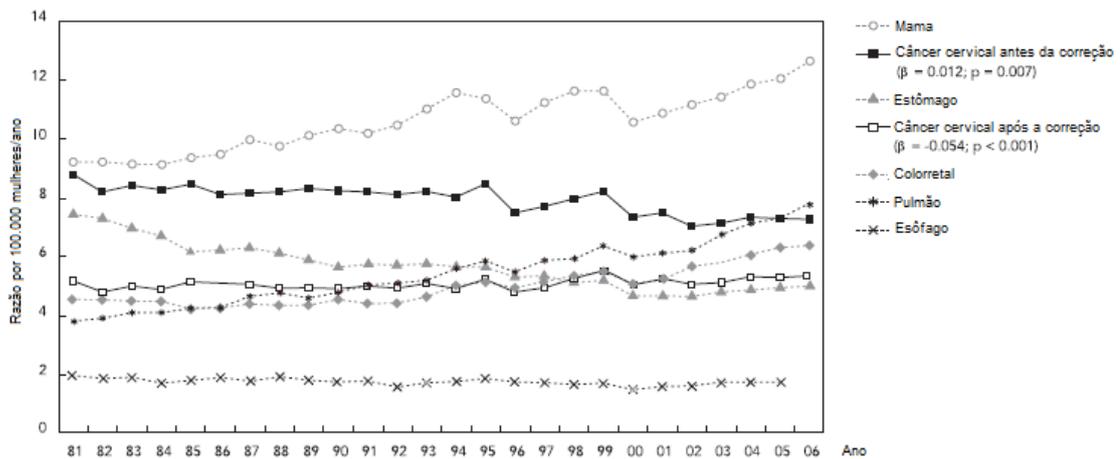


Figura 3: Taxa de mortalidade por câncer em mulheres de acordo com as principais localizações, incluindo o câncer cervical, antes e após a correção. Brasil, 1981-2006. (Fonte: SILVA et al., 2010)

A melhoria das práticas de rastreamento do CCU no Brasil, introduzidas nos anos 1980 com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS), tem sido apontada como uma das principais causas da diminuição da mortalidade por CCU, principalmente nas capitais brasileiras (SCHIMIDT et al., 2011).

Apesar disto, a cobertura do exame de Papanicolaou na população brasileira ainda é relativamente deficiente e concentrada na população de menor risco (LEITE, 2008). Segundo dados do Índice de Desenvolvimento Básico (IDB) relativos a 2008, pouco mais de 47% das mulheres brasileiras na faixa etária preconizada realizaram o exame preventivo do colo uterino há um ano ou menos. Cerca de 20% realizaram há mais de um ano e menos de dois anos, enquanto 15% nunca realizaram o exame (BRASIL/MS/IDB, 2009). Estes dados se repetem na avaliação do IDB 2011, que também avalia dados de 2008, apresentando percentagem de mulheres que realizaram o último preventivo há 3 anos ou menos igual a 78,4% e 13,2% que nunca realizaram o exame. Observa-se, no entanto, importante variação regional, sendo que 10,5% das mulheres do sudeste e 18,6% das mulheres do nordeste referem nunca ter feito preventivo (BRASIL/MS/IDB, 2011).

Após 70 anos de sua descrição, o método de Papanicolaou é ainda hoje, no Brasil e na maioria dos países do mundo, a principal estratégia de rastreamento do câncer

de colo uterino e de suas lesões precursoras. No entanto, a redução da mortalidade pelo câncer de colo uterino tem sido mais significativa em países que possuem rastreamento organizado, como Canadá e Suíça e menos expressiva naqueles que possuem rastreamento oportunístico, como o Brasil (WHO, 2011).

Para que esta cobertura seja ampliada é imprescindível o conhecimento da realidade local e dos motivos potenciais de cada população específica para a não realização do exame preventivo, de forma a traçar estratégias eficazes no incremento do diagnóstico e correto tratamento (LEITE, 2008).

2.5 AS VACINAS CONTRA O HPV

2.5.1 Resposta imune à infecção pelo HPV

O HPV está associado a infecções crônicas e para se manter no hospedeiro ele possui alguns mecanismos de escape para evitar o sistema imunológico.

Na infecção primária, a maioria dos vírus é capaz de induzir viremia, o que permite um maior contato destes microorganismos com as células de defesa do organismo e o estabelecimento de uma reposta imune à infecção e da “memória imunológica”. Em uma segunda infecção, ou mesmo numa segunda fase da mesma infecção, a resposta imune é mais rápida, potente e eficaz.

No entanto, não há fase virêmica no ciclo de vida do HPV. A infecção do vírus é totalmente intra-epitelial, o que faz com que o mesmo tenha pouco ou nenhum contato com as células de defesa do organismo, em sua maioria presentes no estroma tecidual (BOLHASSANI et al., 2009).

O HPV não gera citólise e não provoca necrose tecidual e, conseqüentemente, não induz a produção e liberação de citocinas inflamatórias, dificultando a ativação do sistema imunológico. Além disso, as partículas virais livres são liberadas a partir da superfície do epitélio escamoso, tendo pouco ou nenhum contato com o meio estromal, seus canais linfáticos e sanguíneos, o que diminui ainda mais a

possibilidade de contato com as células de defesa do organismo e de desenvolvimento de uma resposta imune.

Em adição, a maioria dos vírus de DNA tem mecanismos para inibir a síntese de interferon e para diminuir a atividade de células apresentadoras de antígenos e o HPV também possui estas propriedades. As células apresentadoras de antígenos são muito importantes para a imunidade local ao HPV e para a capacidade de eliminação local do vírus (MARIANI; VENUTI, 2010).

A infecção pelo HPV permanece, então, restrita ao colo uterino, podendo ativar de forma precária a imunidade mediada por células, o que muitas vezes não é suficiente para a eliminação do vírus, gerando uma infecção persistente, e raramente dando origem a anticorpos (SCHWARTZ; LEO, 2008).

Após a infecção local pelo HPV, cerca de 50% das pessoas desenvolve imunidade contra o vírus. Entretanto, esta imunidade frequentemente não é suficiente para prevenir nem mesmo uma nova infecção pelo mesmo subtipo (SAFAEIAN et al., 2010). Os títulos de anticorpos são baixos. A imunidade humoral desenvolve-se lentamente e com pouca intensidade, geralmente contra a proteína L1 do capsídeo viral (figura 4). Os outros antígenos virais (E1, E2, E6 e L2) não geram quaisquer respostas de anticorpos em infecções naturais pelo HPV (MARIANI; VENUTI, 2010).

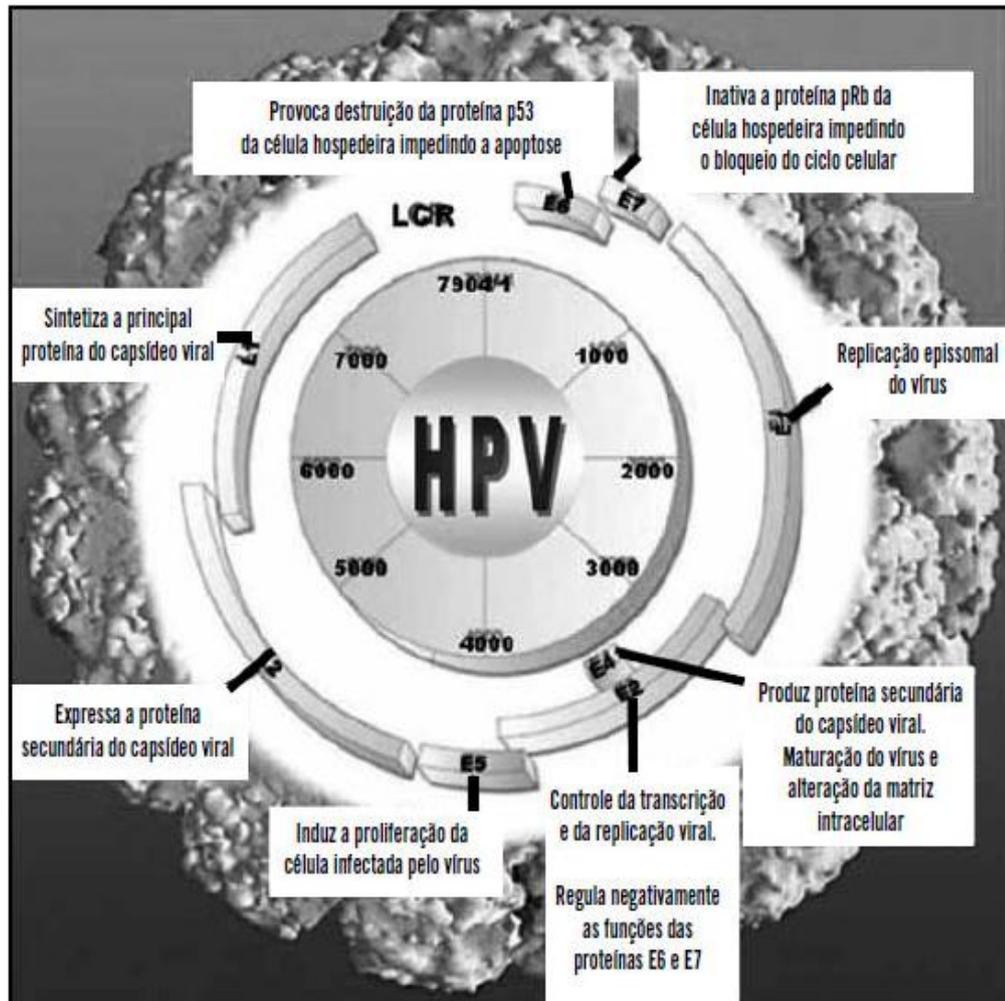


Figura 4: Estrutura molecular do vírus HPV. (Fonte: FERRARO et al., 2010)

O HPV, ao entrar na célula hospedeira, inclui partes de seu genoma no genoma da célula, bloqueando através de proteínas, principalmente E6 e E7, a apoptose celular e prolongando indefinidamente o ciclo reprodutivo da mesma. A proteína E2 também interfere de forma indireta neste processo, visto que regula negativamente as funções das proteínas E6 e E7. Conseqüentemente, estabelece-se uma proliferação contínua do epitélio e o aumento na espessura do mesmo (BRINKMAN et al., 2007), caracterizando as lesões em seus diversos graus, como já descrito no item 2.3.

Além disso, a resposta imune celular, mediada por linfócitos T citotóxicos antígeno-específicos, também está diminuída ou abolida no carcinoma, pela ação do HPV. Em adição, células T CD4+ reguladoras dificultam a ação citotóxica na destruição das células infectadas com o genoma viral (BOLHASSANI et al., 2009).

Desta forma, o HPV manipula o sistema imune na infecção natural, de forma a tornar sua presença pouco incômoda ao organismo, o que permite a manutenção de infecções crônicas latentes e, por conseguinte, a indução de alterações no epitélio do colo uterino (MARIANI, VENUTI, 2010).

2.5.2 A descoberta das vacinas

A prevenção do CCU se baseia nos testes de detecção das lesões precursoras antes que as mesmas evoluam, tratando-se, portanto, de prevenção secundária (SZAREWSKY, 2012). Em última análise, com o advento das vacinas contra o HPV a prevenção primária torna-se possível (BOSH, 2011).

O desenvolvimento das vacinas de HPV baseou-se no estudo da imunologia da infecção pelo vírus, partindo-se da premissa de que sendo o mesmo fator necessário para o desenvolvimento da doença, a prevenção da infecção pelo vírus preveniria o CCU (SCHWARTZ; LEO, 2008).

O desenvolvimento das vacinas levou muitos anos, visto a dificuldade de cultivo do vírus, que infecta exclusivamente a espécie humana, e também o potencial risco de desencadear a doença em pessoas vacinadas com vírus atenuados (SZAREWSKY, 2012).

A descoberta da estrutura molecular do vírus (figura 4) e a produção de partículas semelhantes a vírus (VLPs) a partir de proteínas do capsídeo viral, não possuidoras de DNA, pôde tornar realidade o desenvolvimento da vacina, sua produção em escala industrial e segurança para os vacinados.

As VLPs têm capacidade imunogênica e segurança, visto que se assemelham aos vírus estruturalmente, produzindo altos títulos de anticorpos neutralizantes específicos, sem, no entanto, possuírem capacidade infecciosa.

Em termos práticos a principal diferença entre a resposta imune desenvolvida a partir da infecção natural da resposta gerada pela vacinação é a quantidade e a qualidade dos anticorpos gerados. As VLPs são altamente imunogênicas, mesmo na

ausência dos adjuvantes utilizados nas vacinas comerciais (à base de alumínio – ver item 2.5.3) geram altas concentrações de anticorpos neutralizantes contra L1 e outros anticorpos não específicos. Além desta questão a quantidade de antígenos contida nas vacinas é muito maior do que poderia ser na infecção natural, gerando obviamente uma resposta imune mais potente. Desta forma, os anticorpos gerados contra L1 são anticorpos contra o HPV, permitindo que o organismo reconheça o vírus e ative o sistema imune contra ele. Estes anticorpos, por sua vez, não são capazes de bloquear o ciclo que gera a alteração celular já estabelecida, visto que L1 é uma proteína do capsídeo viral, e não interfere neste processo (MARIANI; VENUTI, 2010).

2.5.3 Uso atual das vacinas

Existem hoje no mercado duas vacinas profiláticas contra o HPV, Cervarix® (GlaxoSmithKline [GSK]) e Gardasil® (Merck, Sharpe and Dohme [MSD]). Ambas possuem VLPs de proteínas L1 recombinantes do capsídeo viral sendo que a vacina da MSD também possui VLPs dos vírus 6 e 11, de baixo risco oncogênico. As duas vacinas também possuem adjuvantes a base de alumínio, o que aumentaria a produção de anticorpos em 60 a 100 vezes mais do que na infecção natural (HARPER et al., 2004).

Gardasil® e Cervarix® foram concebidas para uso profilático, mas também foram estudadas quanto ao seu potencial terapêutico na eliminação da infecção crônica pelo HPV, bem como no tratamento das lesões cervicais, sem, no entanto, provarem bons efeitos nestas circunstâncias (CHEN et al., 2011).

Desta forma, na atualidade, ambas as vacinas comercializadas são indicadas para uso profilático, ou seja, na prevenção da infecção pelos vírus HPV 6, 11, 16 e 18, de acordo com sua formulação, sendo consideradas praticamente 100% eficazes neste objetivo (SCHILLER et al., 2008). Cervarix® está indicada para mulheres de 10-25 anos, aplicada em 3 doses 0-30-180 dias por via intramuscular. Gardasil® está indicada para homens e mulheres de faixa etária 9-26 anos, aplicada em 3 doses 0-60-180 dias por via intramuscular.

A Febrasgo (Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia) recomenda a vacinação em mulheres aos 12 anos de idade, preferencialmente antes do início da atividade sexual e com a mesma vacina em suas 3 doses, mas não contra indica a vacinação até os 55 anos de idade, em mulheres que já iniciaram atividade sexual e mesmo nas que já tiveram lesão comprovada por HPV. Também recomenda a inclusão da vacina contra HPV no Programa Nacional de Imunização do Brasil, sem, no entanto, especificar qual das duas vacinas disponíveis no mercado seria utilizada (FEBRASGO, 2010).

3 JUSTIFICATIVA

As vacinas de HPV têm sido amplamente estudadas. Seus efeitos já documentados no desenvolvimento de imunidade sistêmica contra o vírus, bem como a manutenção desta imunidade ao longo do tempo têm sido base para estudos sobre a utilização das vacinas em pacientes que já tiveram contato com o HPV, que são sorologicamente positivas para o mesmo e, finalmente, para as que possuem lesão ativa.

As vacinas já comercializadas para uso na população, Gardasil® e Cervarix®, não demonstraram efeito terapêutico na regressão de lesões instaladas no colo uterino.

Novas partículas e adjuvantes vêm sendo desenvolvidos para atuarem em outros momentos do ciclo de reprodução da célula infectada pelo HPV, no intuito de bloquear o processo já instalado de lesão tecidual, e, desta foram, obter efeito terapêutico.

Neste contexto justifica-se o estudo do conhecimento atual sobre o uso terapêutico das novas vacinas de HPV, bem como das partículas em desenvolvimento com este propósito.

4 OBJETIVO

Avaliar o *status* do conhecimento atual sobre o uso terapêutico de novas vacinas contra o HPV, ou seja, na presença de lesões de colo uterino, bem como sobre as partículas utilizadas nas mesmas com este fim.

5 MÉTODO

5.1 BUSCA E SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Foi realizada consulta ao sistema MEDLINE, ao portal de dados PUBMED, e ainda à base LILACS e às coleções SciELO e BIBLIOTECA COCHRANE, através do portal BVS, de junho à dezembro de 2012, utilizando-se as palavras-chave “*vaccine*”, “*vaccination*”, “*immunotherapy*”, “*HPV*”, “*Human papillomavirus*” e “*therapeutic*”, bem como seus equivalentes em português, combinadas de formas diferentes em cada base de dados (ver anexo “Protocolo de Seleção dos Artigos”), de acordo com suas peculiaridades. Não foi definido limite de período de publicação, sendo encontrados artigos desde 1995 até 2012. Nenhuma revisão sistemática ou metanálise sobre o uso terapêutico das novas vacinas de HPV, ou seja, na presença de lesões de colo uterino, foi encontrada.

As buscas foram realizadas de forma independente por 2 revisores (CBFF, SIN) utilizando os termos de busca pré-determinados em combinações específicas para cada base de dados (Apêndice A: Protocolo de Seleção dos Artigos).

A busca através dos termos MeSH ou descritores (“*Papillomavirus Vaccines*”, “*Therapeutic use*”, “*Uterine Cervical Neoplasms*” e “*Papillomavirus Infections*”) gerou resultados muito sensíveis e pouco específicos, ao mesmo tempo que a aplicação de filtros metodológicos como “*clinical trials*” gerou resultados muito específicos e pouco sensíveis.

Desta forma, para reduzir as possíveis perdas de artigos importantes, bem como para evitar o excesso de literatura para avaliação, optou-se pela estratégia de busca livre, através da associação de termos de interesse em campos específicos em cada base, como descrito a seguir.

Foram utilizadas 4 combinações diferentes nas bases de dados, da seguinte maneira:

1. Vaccine [Title] – AND
Human papillomavirus [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
2. Vaccination [Title] – AND
Human papillomavirus [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
3. Vaccine [Title] – AND
HPV [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
4. Vaccination [Title] – AND
HPV [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
5. Immunotherapy [Title] – AND
HPV [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
6. Immunotherapy [Title] – AND
Human papillomavirus [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]

Procedeu-se à seleção dos artigos a partir da leitura dos resumos por dois revisores de forma independente. Os critérios de exclusão foram estudos realizados em animais, revisões de literatura, idiomas que não o inglês, o português e o espanhol (foram encontrados artigos em francês, chinês, alemão e búlgaro), estudos em

pacientes HIV positivos, homens, e em outras localizações anatômicas que não o colo uterino (estudos em vulva, laringe e ânus).

5.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS PUBLICAÇÕES

A qualidade das publicações foi avaliada por dois revisores independentes (CBFF e SIN), utilizando o *Checklist* CONSORT (Anexo: *Checklist* CONSORT 2010) em sua versão de 2010, para ensaios clínicos controlados e randomizados (ECR).

Os artigos selecionados para a análise final classificam-se como ensaios de fase I e II, cujo objetivo primordial é a avaliação da segurança e tolerabilidade de drogas novas no seu uso em humanos, realizados com um número pequeno de pacientes (NUNES; LARA, 2012). Apenas dois artigos são ensaios controlados e randomizados. A tabela 1 descreve as características de cada tipo de estudo.

Tabela 1: Fases dos ensaios clínicos

Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
São os primeiros estudos em seres humanos e envolvem um pequeno número de pessoas (20-80). O objetivo é saber se o tratamento é seguro, se tem efeitos secundários nocivos e como é mais bem administrado. Se os resultados são positivos os pesquisadores podem passar à fase II.	Pequeno número de pessoas (100-300) é usado para determinar a eficácia de um agente terapêutico. Os resultados podem ser em respostas clínicas ou imunológicas. Se o benefício é demonstrado, passa-se para a fase III.	Um grande número de participantes (1000-3000) de diferentes hospitais e centros de pesquisa é utilizado para confirmar a eficácia, monitorar os efeitos colaterais, comparar com os tratamentos comumente utilizados e recolher informações que permitam que o tratamento seja realizado com segurança. A maioria dos estudos de fase III é randomizado e duplo-cego.	Estudos de pós-venda. Após a aprovação da agência de regulação do país, oferecem informações adicionais sobre o uso do agente no mercado e análise de custo-benefício.

Adaptado: BRINKMAN et al., 2007

Embora a avaliação proposta pelo *Checklist* CONSORT se refira aos ECR, optou-se por aplicá-la a todos os artigos selecionados, considerando os quesitos passíveis de serem avaliados.

É importante ressaltar que não foram localizados instrumentos definidos para a avaliação de qualidade de estudos experimentais de fase I e II.

5.3 EXTRAÇÃO DOS DADOS

Utilizou-se um formulário específico para a extração dos dados (Apêndice B: Formulário para Extração de Dados), que também foi preenchido por dois revisores (CBFF e SIN).

Nesta fase foram eliminados mais 3 artigos. Joura e colaboradores (2012), foi eliminado por ser uma revisão de artigos experimentais cujo objetivo era avaliar a recidiva de lesões pós uso da vacina, mas não o tratamento das mesmas, Bellone e colaboradores (2009), por ter a vacina aplicada em peças cirúrgicas após a retirada da lesão do colo, e não nas pacientes, avaliando a resposta *in vitro* da lesão e por último Bagarazzi e colaboradores (2012), que avaliava exclusivamente a resposta imunológica à vacina em pacientes previamente tratadas para NIC 2/3, ou seja, vacinadas após o tratamento da lesão, não atendendo ao objetivo desta pesquisa.

Os dados extraídos foram relacionados às características do estudo, como sua identificação (nome, autores, revista e país de publicação), desenho, local de pesquisa, tipo de vacina analisada e número de pacientes pesquisados, às características dos participantes, como faixa etária e tipo de lesão inicial, aos desfechos e às medidas de eficácia.

Como os artigos são bastante heterogêneos em suas características, nenhuma medida estatística pode ser inferida.

Diferenças na extração das informações foram resolvidas entre os avaliadores através de releitura conjunta do artigo original.

5.4 ANÁLISE

A análise dos resultados obtidos foi compilada através da descrição analítica dos mesmos, visto a grande diferença de metodologia dos estudos, com variável número de participantes, diferentes características iniciais e desfechos avaliados, bem como diferentes partículas vacinais avaliadas.

Desta forma, não foi possível nenhum tipo de análise estatística dos resultados, nem mesmo a comparação entre eles, sendo apenas o objetivo da avaliação descrever o conhecimento atual sobre o uso terapêutico destas diversas vacinas e seus resultados iniciais.

6 RESULTADOS

Foram obtidos inicialmente 129, 158, 103, 129, 139 e 55 artigos, em cada combinação de busca descrita no item 4.2, respectivamente, totalizando 713 artigos (figura 5).

Foram excluídos 352 estudos repetidos nas bases, 86 estudos realizados em animais e 216 artigos de revisão, pela leitura dos títulos e dos resumos. Também foram excluídos 24 artigos publicados em idiomas que não o inglês, português ou espanhol (tomando-se o cuidado de avaliar pelos resumos se o tema do artigo seria importante para o estudo), 15 artigos de outras localizações anatômicas que não o colo uterino e ainda 2 artigos em pacientes HIV positivas, 1 em homens e 2 artigos cujas pacientes possuíam apenas evidência de infecção pelo HPV, pela pesquisa do vírus, mas não possuíam lesão clínica, portanto não se adequando ao estudo. Um total de 15 artigos foi selecionado para leitura do texto completo. Destes manteve-se 1 revisão sistemática que incluía apenas 2 artigos experimentais, desta forma tendo potencial de se enquadrar na análise em seus critérios iniciais (figura 5).

Na segunda etapa de seleção, pela leitura dos artigos na íntegra, foram excluídos mais 3 artigos, a revisão sistemática incluída inicialmente, por avaliar o índice de recidiva da lesão pós vacinação e não o efeito direto da vacina sobre a lesão, outro por ser realizado *in vitro* com as peças de histerectomia de pacientes com diagnóstico de câncer de colo uterino e um terceiro por avaliar apenas a resposta imune pós vacinal em pacientes previamente tratadas, ou seja, vacinadas após o tratamento das lesões. 12 estudos foram selecionados para esta revisão sistemática (figura 5).

1. **Vaccine + HPV + Therapeutic** (48 Medline; 28 Pubmed; 7 Scielo; 3 Lilacs; 43 Cochrane)
2. **Vaccine + Human Papillomavirus + Therapeutic** (50 Medline; 51 Pubmed; 8 Scielo; 4 Lilacs; 45 Cochrane)
3. **Vaccination + HPV + Therapeutic** (31 Medline; 26 Pubmed; 7 Scielo; 1 Lilacs; 38 Cochrane)
4. **Vaccination + Human Pappilomavirus + Therapeutic** (46 Medline; 43 Pubmed; 0 Scielo; 0 Lilacs; 40 Cochrane)
5. **Immunotherapy + HPV** (74 Medline; 60 Pubmed; 1 Scielo; 1 Lilacs; 3 Cochrane)
6. **Immunotherapy + Human Pappilomavirus** (0 Medline; 55 Pubmed ; 0 Scielo; 0 Lilacs; 0 Cochrane)

TOTAL: 713 ARTIGOS

Leitura dos títulos e resumos

Exclusão:

Repetição: 352
 Revisão da literatura: 216
 Estudos em animais: 86
 Idioma: 24
 Outras localizações anatômicas: 15
 HIV +: 2
 Sorologia HPV + (sem lesão): 2
 Homens: 1

Seleção inicial: 15 artigos

Leitura dos Textos Completos:

1. BORYSIEWICZ et al., 1996. A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer.
2. SHEETS, et al., 2003. Immunotherapy of human cervical high-grade cervical intraepithelial neoplasia with microparticle-delivered human papillomavirus 16 E7 plasmid DNA.
3. HALLEZ et al., 2004. 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.
4. CORONA GUTIERREZ et al., 2004. Therapeutic vaccination with MVA E2 can eliminate precancerous lesions (CIN 1, CIN 2, and CIN 3) associated with infection by oncogenic human papillomavirus.
5. FRAZER et al., 2004. Phase 1 study of HPV16-specific immunotherapy with E6E7 fusion protein and ISCOMATRIX adjuvant in women with cervical intraepithelial neoplasia.
6. SANTIN et al., 2006. HPV16/18 E7-pulsed dendritic cell vaccination in cervical cancer patients with recurrent disease refractory to standard treatment modalities.
7. EINSTEIN, et al., 2007. Heat shock fusion protein-based immunotherapy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia III.
8. KAUFMANN et al., 2007. Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3).
9. TRIMBLE et al., 2009. A phase I trial of a human papillomavirus DNA vaccine for HPV16+ cervical intraepithelial neoplasia 2/3.
10. BELLONE et al., 2009. Human papillomavirus type 16 (HPV-16) virus-like particle L1-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes (CTLs) are equally effective as E7-specific CD8+ CTLs in killing autologous HPV-16-positive tumor cells in cervical cancer patients: implications for L1 dendritic cell-based therapeutic vaccines. **EXCLUÍDO: ESTUDO IN VITRO**
11. VAN DOORSLAER et al., 2010. Serological response to an HPV16 E7 based therapeutic vaccine in women with high-grade cervical dysplasia.
12. SOLARES et al., 2011. 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.
13. BRUN et al., 2011. Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy.
14. JOURA et al., 2012. Effect of the human papillomavirus (HPV) quadrivalent vaccine in a subgroup of women with cervical and vulvar disease: retrospective pooled analysis of trial data. **EXCLUÍDO: ANÁLISE DE RECIDIVAS PÓS-VACINAIS**
15. BAGARAZZI, et al., 2012. Immunotherapy against HPV16/18 generates potent TH1 and cytotoxic cellular immune responses. **EXCLUÍDO: ANÁLISE DA RESPOSTA IMUNE À VACINA PÓS TRATAMENTO DA LESÃO**

Figura 5: Representação esquemática do processo de seleção dos estudos – busca nas bases de dados. Fonte: Autora, 2013.

6.1 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Um total de 343 mulheres foi avaliado nos 12 estudos selecionados, com a amostra variando de 4 a 78 mulheres, como mostra a figura 5. A faixa etária estudada foi de 18 a 72 anos, sendo que dois dos artigos citaram sua população apenas como “mulheres adultas” (EINSTEIN et al., 2007 e VAN DOORSLAER et al., 2010), sendo que um deles é seguimento do outro, portanto se utilizaram da mesma metodologia.

Os estudos foram realizados regionalmente, não havendo nenhum multicêntrico, mas com representação geográfica variada, sendo cinco estudos realizados nos Estados Unidos, dois na Alemanha, um em Cuba, um na Inglaterra, um na França, um no México e um na Austrália.

O tempo de seguimento nos estudos variou de 10 dias até 15 meses, e também num mesmo estudo, havendo tempos diferentes para a análise das respostas imunológica e clínica.

As partículas utilizadas para vacinação também foram bastante diversas, sendo que em sua maioria derivam das oncoproteínas E6 e E7 do HPV, que alteram o ciclo celular normal, impedindo a apoptose celular e predispondo à proliferação desordenada do tecido epitelial, como se pode analisar nas figuras 1 e 4.

Borysiewicz e colaboradores (1996) utilizaram a partícula TA-HPV, E6 e E7 mutadas dos vírus 16 e 18, associadas a um vírus vacinal produzido pela Wyeth®, enquanto Sheets e colaboradores (2003) utilizaram ZY101, que possui apenas E7 de HPV 16 modificada. Frazer e colaboradores (2004) também utilizaram as oncoproteínas mutadas E6 e E7, mas apenas de HPV 16, associadas ao adjuvante Iscomatrix®, derivado de *Quillaja saponaria*, uma árvore chilena, que já vem sendo estudado como adjuvante em várias outras vacinas. Brun e colaboradores (2011) também utilizaram E6 e E7 do HPV 16 mutadas, mas associadas as vírus vacinal Ankara e à interleucina 2 humana, sendo sua partícula chamada TG4001.

Einstein e colaboradores (2007) e Van Doorslaer e colaboradores (2010) utilizaram a partícula HspE7, oncoproteína E7 do HPV 16 mutada e fundida com proteína de *Mycobacterium bovis* (BCG). Trimble e colaboradores (2009) utilizaram pNGVL4a-

Sig/E7 (detox)/HSP 70, também correspondente à proteína E7 do HPV 16, mutada em seus aminoácidos 24 e 26, a mesma utilizada por Halez e colaboradores (2004), mas neste caso sob o nome de PD-E7/AS02B, associada a aminoácidos de *Haemophilus influenzae D*, por Solares e colaboradores (2011), chamada de CIGB 228, associada a adjuvantes derivados de *Neisseria meningitidis* e por Kaufmann e colaboradores (2007), chamada de HPV16 L1E7 CVLP, neste caso contando também com a proteína L1 do capsídeo viral associada a baculovírus como adjuvante.

Santin e colaboradores (2006) utilizaram células dendríticas autólogas, ou seja, retiradas da própria paciente, marcadas com a oncoproteína E7 dos HPVs 16 e 18 e injetadas sob forma vacinal.

Corona Gutierrez e colaboradores (2004) utilizaram a partícula MVA E2, que consiste em um poxvírus vacinal chamado Ankara modificado e associado à proteína E2 de papilomavírus bovino.

A tabela 2 resume as principais características dos estudos.

Tabela 2: Características principais dos estudos incluídos, considerando o tamanho da amostra, faixa etária, randomização/cegamento e tipo de partícula utilizada.

Autor	Ano País	Nº de Mulheres	Faixa etária	Randomização Cegamento	Vacina
1. BORYSIEWICZ	1996 Inglaterra	8	39-72	Não/Não	TA-HPV
2. SHEETS	2003 EUA	15	19-44	Não/Não	ZYC101
3. HALLEZ	2004 Alemanha	10	20-51	Não/Não	PD-E7/AS02B
4. CORONA GUTIERREZ	2004 México	78	25-49	Não/Não	MVA E2
5. FRAZER	2004 Austrália	31	19-57	Sim/Sim	E6E7 + Iscomatrix
6. SANTIN	2006 EUA	04	35-42	Não/Não	Células dendríticas autólogas marcadas com a oncoproteína E7 de HPV 16 e 18
7. EINSTEIN	2007 EUA	58	“adultas”	Não/Não	HspE7
8. KAUFMANN	2007 Alemanha	39	20-38	Sim/Sim	HPV16 L1E7 CVLP
9. TRIMBLE	2009 EUA	15	18-50	Não/Não	pNGVL4a-Sig/E7 (detox)/HSP 70
10. VAN DOORSLAER	2010 EUA	57	“adultas”	Não/Não	HspE7
11. SOLARES	2011 Cuba	07	24-43	Não/Não	CIGB 228
12. BRUN	2011 França	21	25-44	Não/Não	TG 4001

Os estudos também se mostraram muito heterogêneos em relação ao tipo de lesão estudada e nas intervenções realizadas. Isto se justifica pelo fato de que em sua maioria o objetivo principal era avaliar a segurança, a tolerabilidade e a imunogenicidade das partículas vacinais. A análise da resposta clínica, em sua maioria, foi secundária. Além disto, as lesões de alto grau, NIC 2 ou mais, possuem um tratamento bem estabelecido em literatura, sendo que, por questões éticas, novos tratamentos devem ser avaliados com cautela e no mínimo possível de pacientes, objetivando não haver prejuízo para as pacientes.

O *status* inicial, pré-vacinação, na maior parte das pesquisas foi a presença de lesões de alto grau, NIC 2+, mas também foram incluídas pacientes com lesões de baixo grau NIC 1 e com câncer *in situ* ou avançado. (Tabela 3)

Concomitante à vacinação, a ressecção de parte do colo uterino através da conização ou CAF foi realizada em 8 dos 12 estudos. (Tabela 3)

Dentro de cada estudo a metodologia usando a subdivisão em grupos de estudo variaram com base em diferentes doses da vacina ou comparando diferentes graus de lesão, em 4 estudos não houve divisão e um comparou vacinação com crioterapia. (Tabela 3)

A tabela 3 resume os tipos de lesão inicial, as intervenções e os subgrupos avaliados em cada estudo.

Tabela 3: Tipos de lesão, intervenções e subgrupos dos estudos incluídos

Autor	Status inicial	Intervenções	Subgrupos
1. BORYSIEWICZ	Ca colo uterino avançado ou recorrente	Vacinação	Não
2. SHEETS	NIC 2/3	Vacinação + Cone ou CAF	1. Vacina 50 mcg/dose 2. Vacina 100 mcg/dose 3. Vacina 200 mcg/dose
3. HALLEZ	NIC 1 ou NIC 3 e HPV alto risco	Vacinação ou Placebo + Cone ou CAF (quando indicado)	1. NIC 1 2. NIC 3
4. CORONA GUTIERREZ	Coilocitose, NIC 1, 2 ou 3 e HPV 16 ou 18+	Vacinação (diretamente no colo uterino)	1. Tratamento (vacinação) 2. Controle (criocirurgia)
5. FRAZER	NIC 1, 2 ou 3	Vacinação + Cone ou CAF (quando indicado)	1. Vacina 20 mcg/dose 2. Vacina 60 mcg/dose 3. Vacina 200 mcg/dose 4. Placebo
6. SANTIN	Ca colo uterino avançado e recidivado pós-tratamento	Vacinação	Não
7. EINSTEIN	NIC 3	Vacinação + Cone ou CAF	1. Vacina + Cone/CAF 2 meses 2. Vacina + Cone/CAF 4 meses
8. KAUFMANN	Lesão de alto grau e HPV 16+	Vacinação	1. Placebo 2. Vacina 75 mcg/dose 3. Vacina 250 mcg/dose
9. TRIMBLE	NIC 2 ou 3 e HPV 16+	Vacinação + Cone ou CAF	1. Vacina 0,5 mg/dose 2. Vacina 1,0 mg/dose 3. Vacina 3,0 mg/dose
10. VAN DOORSLAER	NIC 3/Ca in situ	Vacinação + Cone ou CAF	1. Vacina + Cone/CAF 2. Cone/CAF
11. SOLARES	NIC 2 e 3	Vacinação + CAF	Não
12. BRUN	NIC 2/3 e HPV 16+	Vacinação + Cone ou CAF (quando indicado)	Não

6.2 QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS

Como já citado, os estudos passaram pela análise do *Checklist* CONSORT, apesar de não se enquadrarem nas especificações necessárias para se submeterem ao mesmo, visto não ter sido encontrada na literatura outra ferramenta para avaliação de qualidade para estudos de Fase I e II.

Desta forma, apenas os quesitos que se adequaram a todos os estudos foram avaliados.

A figura 6 sumariza os itens avaliados e os resultados dos estudos. A tabela de avaliação dos critérios CONSORT completa para cada artigo encontra-se em detalhes no Apêndice C.

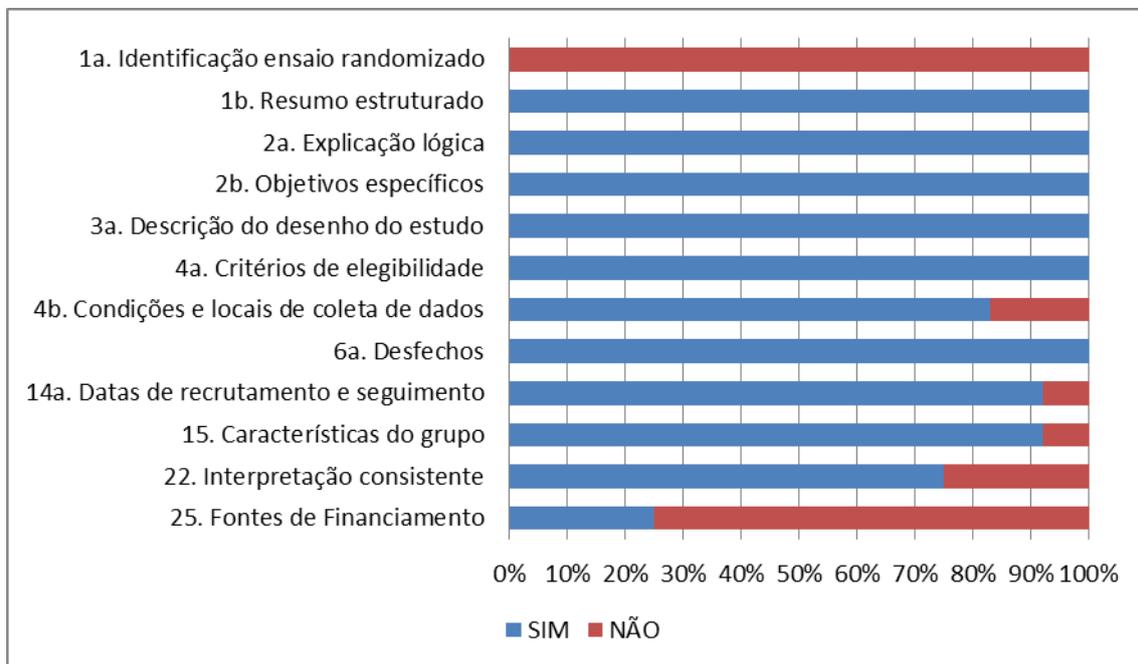


Figura 6: Representação gráfica dos resultados da avaliação de qualidade (CONSORT). Fonte: Autora, 2013.

6.3 RESULTADOS DOS ARTIGOS

Devido à heterogeneidade dos artigos os resultados obtidos por cada autor não podem ser sumarizados e nenhuma medida de associação pode ser inferida.

Desta forma, os resultados serão descritos um a um, de forma resumida.

O Apêndice D (Extração dos Dados) demonstra os resultados extraídos e compilados.

6.3.1 Borysiewicz et al., 1996

Borysiewicz e colaboradores (1996) realizaram estudo na Inglaterra com 8 mulheres, de 39 a 72 anos, que apresentavam quadro de câncer de colo uterino avançado ou recorrente, todas positivas para HPV 16. Este foi o primeiro estudo identificado na literatura que apresentou o uso de determinada substância na presença de lesão de colo uterino, avaliando, portanto, seu potencial terapêutico, neste caso pelo desenvolvimento de resposta imune.

A vacina utilizada, chamada TA-HPV, era constituída de uma associação das proteínas E6 e E7 de HPV 16 e 18 mutadas, associadas a um vírus vacinal não especificado.

O objetivo do estudo foi avaliar a segurança da vacina e sua capacidade de desenvolvimento de resposta imune HPV específica.

As pacientes receberam apenas 1 dose da vacina e foram monitoradas clínica e imunologicamente por tempos variados, tendo o tempo de acompanhamento variado de 2 meses após a vacinação (interrompido por óbito da paciente) até 21 meses (paciente viva e livre de tumor).

A vacina se mostrou segura, mas não obteve resultados clínicos significativos. Todas as pacientes vacinadas desenvolveram anticorpos vacinais, mas apenas 3 (37,8%) desenvolveram anticorpos HPV específicos. Estes resultados não possuem

medida estatística. O autor concluiu que mais estudos deveriam ser realizados com o objetivo de avaliar a vacina TA-HPV.

6.3.2 Sheets et al., 2003

Sheets e colaboradores (2003) realizaram estudo com 15 mulheres norte-americanas de 19 a 44 anos, com quadro de lesão de alto grau no colo uterino (NIC 2/3).

A vacina utilizada, chamada de ZYC101, era constituída de um plasmídeo de expressão bacteriana possuidor da proteína E7 de HPV 16 modificada.

O objetivo do estudo foi avaliar a segurança, imunogenicidade e resposta clínica da vacina.

As pacientes foram divididas em subgrupos de 50, 100 e 200 mcg de DNA homólogo a E7 de HPV 16. As pacientes receberam 3 doses da vacina em 0, 3 e 6 semanas e CAF/cone na semana 10, sendo seguidas até 4 meses após o CAF/cone.

A vacina foi considerada segura e a melhor dose estimada foi de 100 mcg. Houve aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) da produção de interferon gama nas pacientes vacinadas, bem como aumento na resposta de linfócitos T. Trinta e três por cento das pacientes obtiveram regressão completa da lesão e 40% regressão parcial (de acordo com o protocolo do estudo), sendo este resultado considerado significativo pelos autores visto a taxa de regressão espontânea de NIC 2/3 ser de 11% a 30% em 1 ano (dados do autor) e estas taxas terem sido obtidas em 10 semanas.

6.3.3 Hallez et al., 2004

Hallez e colaboradores (2004) estudaram 10 pacientes alemãs entre 20 e 51 anos, sendo 5 com NIC 1 e 5 com NIC 3, todas positivas para HPV 16.

A vacina utilizada foi a PD-E7/AS02B, cujo princípio básico é uma mutação da proteína E7 de HPV 16.

As pacientes foram divididas em 2 grupos, um para tratamento e um grupo controle que recebeu placebo (solução salina). O grupo tratamento recebeu 3 doses de vacinação em 0, 2 e 4 semanas. As pacientes com NIC 3 realizaram conização após 8 semanas de completada a vacinação, independente do grupo, tratamento ou placebo.

O objetivo do estudo foi avaliar a resposta imune pós vacinal. O grupo vacina foi composto por 7 pacientes. Destas, 71% desenvolveram resposta imune através de linfócitos T CD8 produtores de interferon-gama e 100% desenvolveram anticorpos ($p < 0,05$). Nenhuma paciente do grupo controle desenvolveu resposta imune.

6.3.4 Corona Gutierrez et al., 2004

Corona Gutierrez e colaboradores (2004) estudaram 78 mulheres mexicanas, de 25 a 49 anos, positivas para HPV 16 ou 18, com lesões de colo variáveis, desde coloitose até NIC 3.

A vacina utilizada na pesquisa, chamada de MVA E2, é constituída da partícula E2 do papilomavírus bovino, associada ao poxvírus Ankara.

O objetivo da pesquisa foi avaliar a capacidade terapêutica da vacina através da resposta da lesão à mesma e da resposta imune.

As pacientes foram divididas em 2 grupos, o primeiro recebeu 6 doses da vacina, uma dose por semana, diretamente no colo uterino, e o segundo recebeu crioterapia.

Todas as pacientes vacinadas com o MVA E2 desenvolveram anticorpos em altos títulos, 34 de 39 pacientes vacinadas tiveram regressão completa da lesão (87,17%) e 2 pacientes regrediram a lesão de NIC 3 para NIC 1 (5,13%). Cinquenta por cento das pacientes vacinadas apresentaram eliminação completa do vírus do HPV presente previamente.

Não há dados sobre o desenvolvimento de imunidade no grupo não vacinado, apenas a citação de que, neste grupo, tratado com crioterapia, houve resposta completa com eliminação da lesão em 80% das pacientes. Também não há menção sobre a significância estatística destes dados.

6.3.5 Frazer et al., 2004

Frazer e colaboradores (2004) realizaram na Austrália um estudo randomizado e cego com 31 pacientes de 19 a 57 anos portadoras de lesões de colo que variavam de NIC 1 a NIC 3. Estas pacientes foram divididas em dois grupos, tratamento e placebo, sendo que o grupo tratamento foi dividido em 3 subgrupos de acordo com a dose recebida de vacina. As pacientes portadoras de diferentes lesões foram distribuídas uniformemente entre os grupos e subgrupos.

A vacina utilizada foi constituída pelas proteínas E6 e E7 associada a um adjuvante chamado Iscomatrix® (à base de *Quillaja saponaria*, uma árvore chilena).

O objetivo do estudo foi avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina.

As pacientes do grupo tratamento receberam doses de 20 e 60 mcg da vacina, em intervalos de 21 dias, num total de 3 doses, e um subgrupo recebeu dose única de 200 mcg da vacina. Além disto, CAF ou cone foi realizado de 7 a 14 dias após o término da vacinação (ou placebo) nas pacientes com lesão de alto grau.

A vacina se mostrou segura e altamente imunogênica em todas as dosagens. Títulos de anticorpos contra E7 aumentaram em todos os subgrupos vacinados e contra E6 aumentaram apenas nos subgrupos que receberam 20 e 60 mcg de vacina. A carga viral de HPV presente no colo uterino também diminuiu significativamente em todas as pacientes vacinadas.

Estes resultados foram estatisticamente significativos, com $p < 0,05$.

6.3.6 Santin et al., 2006

Santin e colaboradores (2006) realizaram um estudo nos EUA com 4 pacientes, de 35 a 42 anos de idade, portadoras de câncer de colo uterino avançado ou recidivado, sem outras terapêuticas possíveis. Destas 4 mulheres, duas possuíam adenocarcinoma HPV 18+, uma possuía carcinoma escamoso HPV 16+ e outra carcinoma adeno-escamoso HPV 18+.

A vacina utilizada na pesquisa foi constituída com células dendríticas maduras extraídas do sangue das próprias pacientes e marcadas com a proteína E7 de HPV 16 e 18.

O objetivo da pesquisa foi avaliar a viabilidade e segurança da vacina, bem como a resposta imune das pacientes à mesma. Cada paciente recebeu 13 doses de vacinação, em intervalos específicos. Cada dose da vacina era seguida da aplicação de Interleucina 2 recombinante humana no intuito de favorecer a resposta imune. Duas das 4 pacientes foram a óbito 5 meses após o início do tratamento, experimentando rápida progressão do tumor após a vacinação, e as outras duas 13 meses após o início, tendo progressão muito mais lenta após o início da vacinação.

Duas pacientes tiveram resposta imune humoral aumentada à proteína E7 do HPV e outras duas não tiveram. As 4 pacientes tiveram aumento nos linfócitos T CD8, sendo que as duas pacientes que tiveram resposta humoral aumentaram os linfócitos T CD8 mais intensamente.

Não houve análise da significância estatística destes dados.

6.3.7 Einstein et al., 2007

Einstein e colaboradores (2007) analisaram 58 mulheres norte-americanas com quadro de NIC 3, 11 das quais já haviam recebido tratamento ablativo para a lesão.

As pacientes foram divididas em dois grupos, sendo que ambos receberam 3 doses subcutâneas da vacina com a partícula HspE7 nos meses 0, 1 e 2. O grupo 1 realizou CAF/cone após 2 meses da vacinação e o grupo 2 realizou CAF/Cone após 4 meses após a vacinação.

O objetivo primordial do estudo era avaliar a segurança e a toxicidade da vacina, sendo que análises clínicas da lesão foram feitas de maneira secundária.

A vacina HspE7 mostrou-se segura e não tóxica nos dois grupos, não tendo efeitos colaterais significativos.

Das 58 pacientes, 13 tiveram regressão completa da lesão (22,5%), 32 tiveram regressão parcial (55%) e 11 tiveram estabilização da lesão (19%). 2 pacientes na coorte 2 tiveram progressão da lesão (3,5%). Estes resultados foram calculados comparando-se a lesão prévia à vacinação com as peças de CAF/cone obtidas pós vacinação. Estimando a taxa de regressão espontânea das lesões em 10% (dados do próprio autor), a resposta de regressão parcial e total foi considerada estatisticamente significativa.

6.3.8 Kaufmann et al., 2007

Kaufmann e colaboradores (2007) realizaram na Alemanha estudo randomizado, duplamente cegado e controlado por placebo, com 39 mulheres de 20 a 39 anos com lesão de alto grau (NIC 2+) e pesquisa positiva para HPV 16 em monoinfecção.

A vacina utilizada na pesquisa, chamada HPV16L1E7 CVLP, é constituída da proteína E7 do HPV 16 mutada, associada à proteína L1 do capsídeo viral.

O objetivo primordial do estudo foi avaliar a segurança da vacina, e secundariamente a eficácia da mesma através da produção de anticorpos específicos, do aumento de células T e da regressão da lesão colposcópica.

As pacientes foram divididas em 3 subgrupos: placebo, baixa dose de vacina (75 mcg) e alta dose de vacina (250 mcg). Nos subgrupos vacina foram aplicadas 4 doses da

mesma em 0, 2, 6 e 12 semanas, mantendo-se os mesmos intervalos no subgrupo placebo.

Todas as pacientes possuíam anticorpos contra L1 de HPV 16 no início do estudo. O grupo vacinado teve aumento significativo nos títulos de anticorpos ($p < 0,001$), sendo que houve diferença entre as dosagens da vacina apenas para a IgM, sendo que o grupo que recebeu maior dosagem teve maiores níveis de IgM ($p < 0,04$).

De forma diferente, apenas 1 paciente tinha anticorpos contra E7 de HPV 16 no início do estudo. No subgrupo de baixa dosagem, 4 pacientes apresentaram anticorpos contra E7 no final do estudo, e no subgrupo alta dosagem 6 pacientes apresentaram anticorpos, mas todas elas em títulos muito baixos (não há dados estatísticos).

Na análise da resposta clínica, considerou-se resposta positiva uma redução de 50% ou mais da lesão inicial ou diminuição do grau histológico. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

6.3.9 Trimble et al., 2009

Trimble e colaboradores (2009) analisaram 15 mulheres norte-americanas entre 18 e 50 anos com quadro de NIC 2/3 de colo uterino, confirmada por biópsia, associada ao HPV 16.

O objetivo principal do estudo foi avaliar a segurança e tolerabilidade de três doses diferentes da vacina, chamada de pNGVL4a-Sig/E7 (detox)/HSP 70, basicamente constituída de proteína E7 de HPV 16 mutada. As pacientes foram divididas em 3 grupos que receberam, respectivamente, 0,5 mg, 1,0 mg e 3,0 mg da vacina intramuscular no deltoide, administradas em 0, 4 e 8 semanas. Os objetivos secundários foram a avaliação da resposta clínica à vacina, através de citologia, colposcopia e biópsia (se este fosse o caso) e a avaliação da resposta imune através da medida dos níveis de anticorpos produzidos 7 semanas após o fim da vacinação e 6 meses após.

Os autores concluíram que a vacina é segura e bem tolerada em todas as dosagens, mas não houve desenvolvimento de resposta imune a E7 na análise inicial de 7 semanas. No grupo de maior dose, 3 pacientes tiveram regressão completa da lesão (33%), mas os autores não consideraram estatisticamente significativo pela comparação com a taxa estimada de regressão espontânea.

Houve aumento da resposta de linfócitos T a E7 na semana 19 (não houve especificação do grupo) em 4 pacientes (26,7%) e desenvolvimento de resposta IgG contra E6 de HPV16 em 2 pacientes (o que provavelmente não se deveu à vacinação) no grupo de maior dose (22,2%). Ainda neste grupo de maior dose, após 6 meses, 5 pacientes desenvolveram resposta imune contra E7 (55,6%). Não houve menção sobre a significância estatística destes resultados.

6.3.10 Van Doorslaer et al., 2010

Este estudo é uma análise secundária do estudo de Einstein e colaboradores (2007), sendo realizado na mesma população e com a mesma partícula vacinal, HspE7.

Van Doorslaer e colaboradores (2009) analisaram a resposta imune à HspE7 através do desenvolvimento de IgG contra E7 de HPV 16 e contra VLPs de HPV 16 e HPV 18, medida após 9 meses do esquema vacinal completo.

Foram analisadas 57 pacientes com NIC 3, divididas da mesma forma em dois grupos, como já descrito no estudo anterior, e receberam 3 doses de vacina subcutânea de HspE7 nos meses 0, 1 e 2. A análise dos níveis de IgG contra E7 de HPV 16 e contra VLPs de HPV 16 e HPV 18 foi feita através de imunofluorescência.

Os autores concluíram que 81% das pacientes tiveram elevação dos níveis de IgG contra E7 de HPV 16 ($p < 0,012$), mas não houve mudança nos níveis de IgG contra as VLPs de HPV 16 e HPV 18. Em 11 pacientes que tiveram regressão completa da lesão e que completaram os 12 meses de análise, os níveis de IgG contra E7 eram significativamente maiores ($p < 0,003$).

6.3.11 Solares et al., 2011

Solares e colaboradores (2011) estudaram 7 mulheres cubanas, das quais 2 apresentavam NIC 2 e 5 apresentavam NIC 3, todas positivas para HPV 16.

A vacina utilizada foi CIGB 228, cujo princípio básico também é a mutação da proteína E7 de HPV 16.

O objetivo principal do estudo foi avaliar a segurança e a tolerabilidade da vacina, bem como a resposta imune e clínica.

As pacientes receberam 4 doses da vacina em intervalos de uma semana. Após 60 dias do esquema completo as pacientes foram submetidas à CAF.

Os autores concluíram que a vacina é segura e bem tolerada. Houve regressão completa da lesão em 4 das 7 pacientes (57,1%), regressão parcial em 2 das 7 pacientes (28,6%) e diminuição do grau da lesão em 1 das 7 pacientes (14,3%). Desta forma os mesmos consideraram que os resultados foram significativos, apesar de não haver grupo controle, visto a estimativa de regressão espontânea das lesões ser em torno de 10% em 6 meses (dados dos autores). Houve também aumento na produção de interferon-gama, mas não é citado o nível de significância desta conclusão.

6.3.12 Brun et al., 2011

Brun e colaboradores (2011) avaliaram 21 mulheres francesas, com idade entre 25 e 44 anos, com lesão de alto grau (NIC 2/3) e positivas para HPV 16 por captura híbrida, em monoinfecção.

A vacina utilizada, chamada de TG 4001, era constituída das proteínas E6 e E7 de HPV 16 recombinantes, associadas ao vírus vacinal Ankara e ao gene da interleucina 2 humana.

O objetivo do estudo foi avaliar a segurança da vacina e sua eficácia, através da análise da regressão das lesões do colo uterino presentes inicialmente.

As pacientes receberam 3 doses da vacina, em 0, 8 e 15 dias, e foram avaliadas após 6 meses através de exame clínico local com colposcopia e análise sorológica da resposta imune. Ao final do estudo, 13 das 21 pacientes inicialmente alocadas foram submetidas à CAF/Cone.

A vacina foi considerada segura e com baixo índice de morbidade. A eficácia clínica foi estimada em 48%, com intervalo de confiança de 95%, sendo a taxa de regressão espontânea das lesões considerada de 20% (dados do autor). Não houve incremento na resposta imune ao E6 e E7 nas pacientes vacinadas.

7 DISCUSSÃO

A questão deste estudo, vacinação terapêutica, por si só já é motivo de discussões semânticas no meio científico.

Vacina é uma preparação de antígenos microbianos, frequentemente combinada com adjuvantes, administrada aos indivíduos para desenvolver imunidade e proteção contra infecções microbianas. Imunoterapia é o tratamento de uma determinada doença com agentes terapêuticos que promovem ou inibem a resposta imune, através da administração de anticorpos específicos, ou de células de defesa, configurando uma resposta passiva (ABBAS et al., 2012).

Em teoria, vacinação é sempre profilática, baseada no princípio de que uma determinada partícula apresentada ao sistema imune o estimulará a produzir anticorpos contra determinada doença. Já a imunoterapia é por essência terapêutica, visto que ocorre sempre na presença da doença.

Nesta pesquisa optamos por utilizar o termo “vacina terapêutica” visto o princípio básico ser exatamente o de produção de anticorpos pelo próprio indivíduo, mas com a peculiaridade disto ocorrer na vigência da doença.

Os artigos científicos analisados ainda se apresentam de forma heterogênea reportando-se ao tratamento em questão como vacinação e como imunoterapia, mas todos com o mesmo princípio: o uso de partículas para estimular o sistema imune a produzir anticorpos na presença de lesões de colo uterino. Este pensamento parte da premissa de que o vírus é fator necessário para o aparecimento das lesões de colo uterino (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003) e como tal também pode ser o foco do tratamento das mesmas.

As especificidades da infecção pelo HPV e das lesões de colo uterino já citadas neste trabalho corroboram para a existência de pesquisas tão diversas sobre o tema. É evidente a busca, por parte dos pesquisadores, de novas soluções para o tratamento das lesões pré-neoplásicas de alto grau (NICs 2 e 3 e carcinoma *in situ*), mas também a dificuldade de se estudar novos protocolos de tratamento na vigência

de lesões potencialmente graves, cujo manejo se encontra bem estabelecido em literatura, pelo risco de expor as pacientes à progressão da doença.

Com o advento das vacinas profiláticas contra o HPV e a perspectiva de seu uso na população livre de doença, há também a possibilidade de erradicação do câncer de colo uterino no futuro. Mas estes resultados só seriam viáveis após muitos anos de vacinação em massa. Neste interim, grande parte da população feminina adulta, economicamente ativa e em fase reprodutiva estaria ainda sujeita à exposição ao câncer de colo uterino, sem novas perspectivas de tratamento.

Desta forma, os estudos se mostram favoráveis ao desenvolvimento de uma vacina que pudesse, no mínimo, auxiliar os tratamentos vigentes das lesões de colo, diminuindo a morbidade, as taxas de progressão e de recidiva.

A análise dos resultados desta pesquisa nos traz dados sobre o estado atual do conhecimento sobre a vacinação terapêutica, bem como as limitações de seu uso.

Dos 12 estudos que foram avaliados, 11 apresentaram a proteína E7 do HPV como base principal da vacina. A proteína foi avaliada sozinha ou em associação com a proteína E6, o que ocorreu em 3 estudos, ou L1, o que ocorreu em apenas 1 estudo, de Kaufmann e colaboradores (2007). Desta forma concluímos que esta é a principal proteína a ter perspectivas de uso terapêutico nas vacinas.

Os resultados do uso da proteína E7 na constituição das vacinas são promissores. Dos 11 estudos que avaliaram E7, 3 apresentaram boa resposta imunológica à vacina, 2 apresentaram resposta clínica favorável e 3 apresentaram boas respostas clínicas e imunológicas. Apenas o estudo de Kaufmann e colaboradores (2007), que avaliou E7 associada a L1, não apresentou bons resultados nem clínicos nem imunológicos.

Ainda entre os 11 estudos que avaliaram E7, 2 foram realizados em mulheres com câncer avançado de colo uterino e, apesar do número reduzido de pacientes, também sugeriram boa resposta imune à vacina, apesar de não comprovarem estatisticamente estes resultados.

Vale ressaltar que destes 11 estudos apenas 5 obtiveram resultados com significância estatística, e apenas 2 tiveram grupo controle, o que se justifica por serem estudos de fase I e II, como já foi citado anteriormente.

Desta forma podemos concluir que a vacina baseada na proteína E7 de HPV é potencialmente benéfica no tratamento das lesões de colo uterino, sendo necessários maiores estudos para definir este benefício.

Nenhum estudo avaliou isoladamente a proteína E6 de HPV no tratamento das lesões. Nos 3 estudos que avaliaram esta proteína em associação com a proteína E7 os resultados foram favoráveis. Em um deles, realizado com pacientes portadoras de câncer avançado, não houve nenhuma resposta clínica, mas houve o desenvolvimento de resposta imune. Em outro houve resposta imune significativamente aumentada tanto contra E6, quanto contra E7, e finalmente no terceiro houve resposta clínica com redução das lesões, mas nenhuma resposta imune ao complexo E6E7. Assim sendo, não podemos concluir qual a real importância da proteína E6 nas vacinas terapêuticas, visto que a mesma só foi avaliada em conjunto com a proteína E7.

Apenas o estudo de Corona Gutierrez e colaboradores (2004), entre os 12 estudos avaliados, utilizou a proteína E2 do HPV como base para a vacina. Este estudo é peculiar, pois além de ser o único a avaliar E2, as vacinas foram aplicadas diretamente no colo uterino, em quatro pontos cardinais. Seus resultados merecem particular atenção, visto que são altamente positivos tanto na resposta imune quanto na resposta clínica, com alto índice de remissão das lesões, eliminação do vírus do trato genital e desenvolvimento de anticorpos, num curto intervalo de tempo (avaliação foi realizada após 7 semanas). Desta maneira não podemos desprezar este resultado, que apesar de ser avaliado em um único estudo é de grande significado terapêutico.

O que se pode concluir é que as vacinas devem ser avaliadas em populações maiores, em estudos experimentais estruturados através da randomização e do cegamento, para que possam retratar com fidelidade a real potencialidade de tratamento das lesões.

Limitações óbvias para estes estudos são as lesões já muito avançadas, NIC 3 e Ca in situ, sob risco de progressão e piora do quadro. Mas uma possibilidade para o estudo destas pacientes seria o uso de terapia local (vacinação no próprio colo uterino) com seguimento de tempo curto, ou mesmo a vacinação clássica, intramuscular ou subcutânea, seguida de terapia convencional (CAF/Cone) e análise em tempo curto.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho aponta que as vacinas terapêuticas para tratamento de lesões do colo uterino têm resultados iniciais promissores, apesar da maioria dos estudos estarem em fase I e II. Tal constatação sugere a necessidade do desenvolvimento de maiores estudos para determinar sua eficácia clínica.

A revisão identificou que a partícula mais utilizada nas vacinas com finalidade terapêutica é a proteína E7 de HPV, em variadas associações.

Há que se ter em mente que estes indicativos iniciais merecem muitas outras avaliações, não apenas com relação ao real significado dos resultados, mas também no que concerne ao custo de produção destas vacinas, na efetividade desta intervenção na história natural da doença, na carga da própria doença na população que se disporia a receber a intervenção, na infraestrutura necessária para uma futura adoção das vacinas terapêuticas, entre outras.

Neste momento de pesquisas iniciais sobre a vacinação terapêutica contra as lesões de colo uterino e o HPV, a questão pertinente é eminentemente clínica: demonstrar a eficácia de determinada partícula na regressão de lesões de colo uterino. Mas se faz relevante identificar o real impacto epidemiológico que tal medida poderia trazer ao Sistema de Saúde.

Questões importantes que surgem desta análise merecem especial atenção. Em que população se aplicaria a vacina? Se na população com diagnóstico firmado, dependeríamos de um sistema diagnóstico bem estruturado e com alta cobertura, o que é um dos grandes problemas no Brasil na atualidade (LEITE, 2008). Se na população geral, confrontaríamos o uso da vacina terapêutica com a vacina profilática, haveria a necessidade de se definir exatamente em que momento aplicar cada uma delas. O que fazer com mulheres com infecção pelo HPV, mas sem lesão no colo uterino? Qual vacina utilizar?

Finalmente, devemos salientar que esta revisão procurou demonstrar o *status* do conhecimento atual sobre a utilização de vacinas terapêuticas contra o HPV, ou seja, na presença de lesões no colo uterino, mas várias questões clínicas, éticas,

epidemiológicas e financeiras podem ser levantadas a partir de seus resultados e devem ser tema de novos estudos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Apêndice I - Glossário. In: ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7ª edição. São Paulo: Elsevier, 2012.

AYRES, A.R.; SILVA, G.A. Cervical HPV infection in Brazil: systematic review. **Rev Saude Publica**, v. 44, n. 5, p. 963-974, 2010.

BAGARAZZI, M. L.; YAN, J.; MORROW, M. P.; SHEN, X.; PARKER, R. L.; LEE, J. C.; GIFFEAR, M.; PANKHONG, P.; KHAN, A. S.; BRODERICK, K. E.; KNOTT, C.; LIN, F.; BOYER, J. D.; DRAGHIA-AKLI, R.; WHITE, C. J.; KIM, J. J.; WEINER, D. B.; SARDESAI, N. Y. Immunotherapy against HPV16/18 generates potent TH1 and cytotoxic cellular immune responses. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 155, p. 1-15, 2012.

BELLONE, S.; EL-SAHWI, K.; COCCO, E.; CASAGRANDE, F.; CARGNELUTTI, M.; PALMIERI, M.; BIGNOTTI, E.; ROMANI, C.; SILASI, D.; AZODI, M.; SCHWARTZ, P. E.; RUTHERFORD, T. J.; PECORELLI, S.; SANTIN A. D. Human papillomavirus type 16 (HPV-16) virus-like particle L1-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes (CTLs) are equally effective as E7-specific CD8+ CTLs in killing autologous HPV-16-positive tumor cells in cervical cancer patients: implications for L1 dendritic cell-based therapeutic vaccines. **Journal of Virology**, v. 83, n. 13, p. 6779-6789, 2009.

BOLHASSANI, A.; MOHIT, E.; RAFATI, S. Different spectra of therapeutic vaccine development against HPV infections. **Human Vaccines**, v. 5, n. 10, p. 671-689, 2009.

BONFIGLIO T. A. History of gynecologic pathology. **Int J Gynecol Pathol**, v. 22, n. 1, p. 95-100, 2003.

BORYSIEWICZ, L. K.; FIANDER, A.; NIMAKO, M.; MAN, S.; WILKINSON, G. W. G.; WESTMORELAND, D.; EVANS, A. S.; ADAMS, M.; STACEY, S. N.; BOURSNEILL, M. E. G.; RUTHERFORD, E.; HICKLING, J. K.; INGLIS, S. C. A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. **Lancet**, v. 347, p. 1523-1527, 1996.

BOSH, F. X. Human Papillomavirus: science and technologies for the elimination of cervical cancer. **Expert Opin Pharmacother**, v.12, n. 14, p. 2189-2204, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Indicadores e Dados Básicos do Brasil, 2009**. Disponível em: < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabnet.exe?idb2009/f22.def>>. Acesso em: 04 ago. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Indicadores e Dados Básicos do Brasil, 2011**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabnet.exe?idb2011/f2201.def>>. Acesso em: 04 ago. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2010: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde**. Rio de Janeiro: INCA, 2006.

BRINKMAN, J. A.; HUGHES, S. H.; STONE, P.; CAFFREY, A. S.; MUDERSPACH, L. I.; ROMAN, L. D.; WEBER, J. S.; KASTA, W. M. Therapeutic vaccination for HPV induced cervical cancers. **Disease Markers**, v. 23, p.337-352, 2007.

BRUN, J. L.; DALSTEIN, V.; LEVEQUE, J.; MATHEVET, P.; RAULIC, P.; BALDAUF, J. J.; SCHOLL, S.; HUYNH, B.; DOUVIER, S.; RIETHMULLER, D.; CLAVEL, C.; BIREMBAUT, P.; CALEND, V.; BAUDIN, M.; BORY, J. P. Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy. **Am J Obstet Gynecol**, v. 204, n. 169, p. e1-e8, 2011.

CAVALCANTI, S. M. B.; CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelos papilomavírus humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 18, n. 1, p. 73-79, 2006.

CHEN, J.; NI, G.; NIU, X. S. Papillomavirus virus like particle-based therapeutic vaccine against human papillomavirus infection related diseases: Immunological problems and future directions. **Cellular Immunology**, v. 269, n. 1, p. 5-9, 2011.

CORONA GUTIERREZ, C. M.; TINOCO, A.; NAVARRO, T.; CONTRERAS, M. L.; CORTES, R. R.; CALZADO, P.; REYES, L.; POSTERNAK, R.; MOROSOLI, G.; VERDE, M. L.; ROSALES, R. 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.

DE VILLIERS, E.M.; FAUQUET, C.; BROKER, T.R.; BERNARD, H.U.; ZUR HAUSEN, H. Minireview: Heterogeneity of the Human Papillomavirus group. **Virology**, v. 324, p. 17-27, 2004.

EINSTEIN, M. H.; KADISH, A. S.; BURK, R. D.; KIM, M. Y.; WADLER, S.; STREICHER, H.; GOLDBERG, G. L.; RUNOWICZ, C. D. Heat shock fusion protein-based immunotherapy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia III. **Gynecol Oncol**, v. 106, n. 3, p. 453-460, 2007.

FARIDI, R.; ZAHRA, A.; KHAN, K.; IDREES, M. Oncogenic potential of Human Papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. **Virol J**, v. 8, n. 269, p. 1-8, 2011.

FEBRASGO – FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Vacinação contra HPV. In: FEBRASGO. **Manual de Orientação - Trato Genital Inferior**. 1ª edição. São Paulo: Febrasgo, 2010.

FEHRMANN, F.; LAIMINS, L.A. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. **Oncogene**, v. 22, p. 5201-5207, 2003.

FERRARO, C.T.L.; CANEDO, N. H. S.; OLIVEIRA, S. P.; CARVALHO, M. G. C.; DIAS, E. P. Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas. **J Bras Patol Med Lab**, v.47, n.4, p. 451-459, 2011.

FRAZER, I. H.; QUINN, M.; NICKLIN, J. L.; TAN, J.; PERRIN, L. C.; NG, P.; O'CONNOR, V. M.; WHITE, O.; WENDT, N.; MARTIN, J.; CROWLEY, J. M.; EDWARDS, S. J.; MCKENZIE, A. W.; MITCHELL, S. V.; MAHER, D. W.; PEARSE, M. J.; BASSER, R. L. 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.

GAMARRA, C. J.; VALENTE, J. G.; SILVA, G. A. Correção da magnitude da mortalidade por câncer do colo do útero no Brasil, 1996-2005. **Rev Saude Publica**, v.44, n. 4, p. 629-638, 2010.

HALLEZ, S.; SIMON, P.; MAUDOUX, F.; DOYEN, J.; NOËL, J. C.; BELIARD, A.; CAPELLE, C.; BUXANT, F.; FAYT, I.; LAGROST, A. C.; HUBERT, P.; GERDAY, C.; BURNY, A.; BONIVER, J.; FOIDART, J. M.; DELVENNE, P.; JACOBS, N. 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**, v. 53, n. 7, p. 642-650, 2004.

HARPER, D.M.; FRANCO, E.L.; WHEELER, C.; FERRIS, D.G.; JENKINS, D.; SCHUIND, A.; ZAHAF, T.; INNIS, B.; NAUD, P.; DE CARVALHO, N. S.; ROTELI-MARTINS, C. M.; TEIXEIRA, J.; BLATTER, M. M.; KORN, A. P.; QUINT, W.; DUBIN, G. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. **Lancet**, v. 364, n. 9447, p. 1757-1765, 2004.

INSINGA, R. P.; DASBACH, E. J.; ELBASHA, E.H. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, n. 119, p. 1-26, 2009.

JEMAL, A.; BRAY, F.; CENTER, M. M.; FERLAY, J.; WARD, E.; FORMAN, D. Global cancer statistics. **CA Cancer J Clin**, v. 61, n. 2, p. 69-90, 2011.

JOURA, E. A.; GARLAND, S.M.; PAAVONEN, J.; FERRIS, D. G.; PEREZ, G.; AULT, K. A.; HUH, W. K.; SINGS, H. L.; JAMES, M. K.; HAUPT, R. M. Effect of the human papillomavirus (HPV) quadrivalent vaccine in a subgroup of women with cervical and vulvar disease: retrospective pooled analysis of trial data. **BMJ**, v. 344, n. e1401, p. 1-14, 2012.

KAUFMANN, A. M.; NIELAND, J. D.; JOCHMUS, I.; BAUR, S.; FRIESE, K.; GABELSBERGER, J.; GIESEKING, F.; GISSMANN, L.; GLASSCHRÖDER, B.; GRUBERT, T.; HILLEMANN, P.; HÖPFL, R.; IKENBERG, H.; SCHWARZ, J.; KARRASCH, M.; KNOLL, A.; KÜPPERS, V.; LECHMANN, M.; LELLE, R. J.; MEISSNER, H.; MÜLLER, R. T.; PAWLITA, M.; PETRY, K. U.; PILCH, H.; WALEK, E.; SCHNEIDER, A. Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3). **Int J Cancer**, v. 121, p. 2794-2800, 2007.

LEITE, J. M. S. Vigilância epidemiológica e prognóstico de sobrevida de pacientes com câncer de colo de útero. **Brasilia Med**, v. 45, n. 2, p.92-106, 2008.

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. 105, p. 1-8, 2010.

MARTINS, L.F.L.; THULER, L.C.S.; VALENTE, J.G. Cobertura do exame de Papanicolaou no Brasil e seus fatores determinantes: uma revisão sistemática da literatura. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 8, n. 27, p. 485-492, 2005.

MATEOS, M.L.; ANTONIO, J.C.; DOMÍNGUEZ, M.R.; SANZ, I.; RUBIO, M.D. Evaluación de un sistema de PCR a tiempo real (cobas 4800) para la detección separada de los genotipos 16 y 18 y otros genotipos de alto riesgo del virus Del papiloma humano en la prevención del cáncer cervical. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 29, n. 6, p. 411-414, 2011.

MCLAUGHLIN-DRUBIN, M.E.; MÜNGER, K. Oncogenic Activities of Human Papillomaviruses. **Virus Res**, v. 143, n. 2, p. 195-208, 2009.

MEISELS, A.; FORTIN, R. Condilomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. **Acta Cytol**, v. 20, n. 6, p. 505-509, 1976.

MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X. Relación causal entre virus del papiloma humano y cancer cervicouterino y consecuencias para la prevención. **Bol Oficina Sanit Panam**, v. 121, n. 6, p. 550-66, 1996.

NUNES, S. I.; LARA, C. M. Pesquisa Experimental. In: Neto, J. A. C. **Metodologia da pesquisa científica: da graduação à pós-graduação**. 1ª ed. Curitiba: CRV, 2012.

SAFAEIAN, M.; PORRAS, C.; SCHIFFMAN, M.; RODRIGUEZ, A. C.; WACHOLDER, H.; GONZALEZ, P.; QUINT, W.; VAN DOORN, L. J.; SHERMAN, M. E.; XHENSEVAL, V.; HERRERO, R.; HILDESHEIM, A. Epidemiological study of anti-HPV16/18 seropositivity and subsequent risk of HPV16 and -18 infections. **J Natl Cancer Inst**, v. 102, n. 21, p. 1653-1662, 2010.

SANTIN, A. D.; BELLONE, S.; PALMIERI, M.; RAVAGGI, A.; ROMANI, C.; TASSI, R.; ROMAN, J. J.; BURNETT, A.; PECORELLI, S.; CANNON, M. J. HPV16/18 E7-pulsed dendritic cell vaccination in cervical cancer patients with recurrent disease refractory to standard treatment modalities. **Gynecologic Oncology**, v. 100, p. 469-478, 2006.

SCHILLER, J. T.; CASTELLSAGUE, X.; VILLA, L. L.; HILDESHEIM, A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. **Vaccine**, v. 26, Suppl. 10, p. 53K-61K, 2008.

SCHMIDT, M. I.; DUNCAN, B. B.; SILVA, G. A.; MENEZES, A. M.; MONTEIRO, C. A.; BARRETO, S. M.; CHOR, D.; MENEZES, P. R. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Lancet**, v. 377, n. 9781, p. 1949-1961, 2011.

SCHWARTZ, T. F.; LEO, O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: Improving upon nature. **Gynecol Oncol** v. 110, n. 3, Suppl 1, p. S1-S10, 2008.

SELLORS, J. W.; SANKARANARAYANAN, R. **Colposcopy and treatment of Cervical intraepithelial neoplasia: a beginners manual**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2003.

SHEETS, E. E.; URBAN, R. G.; CRUM, C. P.; HEDLEY, M. L.; POLITCH, J. A.; GOLD, M. A.; MUDERSPACH, L. I.; COLE, G. A.; CROWLEY-NOWICK, P. A. Immunotherapy of human cervical high-grade cervical intraepithelial neoplasia with microparticle-delivered human papillomavirus 16 E7 plasmid DNA. **Am J Obstet Gynecol**, v. 188, n. 4, p.916-926, 2003.

SHOPE, R.E.; HURST, W. Infectious papillomatosis of rabbits. **J Exp Med**, v. 58, n. 5, p. 607-625, 1933.

SILVA, G. A.; GAMARRA, C. J.; GIRIANELLI, V. R.; VALENTE, J. G. Cancer mortality trends in Brazilian state capitals and other municipalities between 1980 and 2006. **Rev Saude Publica**, v. 6, n. 45, p. 1009-1018, 2011.

SILVA, G. A.; GIRIANELLI, V. R.; GAMARRA, C. J.; TEIXEIRA, M. T. B. Cervical cancer mortality trends in Brazil, 1981-2006. **Cad Saude Publica**, n. 26, v. 12, p. 2399-2407, 2010.

SINGER, A.; MONAGHAN J. Histopatologia da neoplasia do trato genital inferior. In: Singer, A.; Monaghan J. **Colposcopia, patologia e tratamento do trato genital inferior**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.

SMITH, G. D.; TRAVIS, L. Getting to know Human Papillomavirus (HPV) and the HPV vaccines. **J Am Osteopath Assoc**, v. 111, n. 3, Suppl. 2, p. S29-S34, 2011.

SOLARES, A. M.; BALADRON, I.; RAMOS, T.; VALENZUELA, C.; BORBON, Z.; FANJULL, S.; GONZALEZ, L.; CASTILLO, D.; ESMIR, J.; GRANADILLO, M.; BATTE, A.; CINTADO, A.; ALE, M.; COSSIO, M. E. F.; FERRER, A.; TORRENS, I.; LOPEZ-SAURA, P. 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, id. 292951, p. 1-9, 2011.

SZAREWSKY, A. Cervarix®: a bivalent vaccine against HPV types 16 and 18, with cross-protection against other high-risk HPV types. **Expert Rev Vaccines**, n. 11, v. 6, p. 645-657, 2012.

TEIXEIRA, L. A.; LÖWY, I. Imperfect tools for a difficult job: Colposcopy, 'colpocytology' and screening for cervical cancer in Brazil. **Social Studies of Science**, v. 41, n. 4, p. 585-609, 2011.

TRIMBLE, C. L.; PENG, S.; KOS, F.; GRAVITT, P.; VISCIDI, R.; SUGAR, E.; PARDOLL, D.; WU, T. C. A phase I trial of a Human Papillomavirus (HPV) DNA vaccine for HPV16+ cervical intraepithelial neoplasia 2/3. **Clin Cancer Res**, v. 15, n. 1, p. 361-367, 2009.

VAN DOORSLAER, K.; REIMERS, L. L.; STUDENTSOV, Y. Y.; EINSTEIN, M. H.; BURK, R. D. Serological response to an HPV16 E7 based therapeutic vaccine in women with high-grade cervical dysplasia. **Gynecol Oncol**, v. 116, n. 2, p. 1-7, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Programes and projects**. Cancer. Screening and early detection of cancer. Disponível em:
<http://www.who.int/cancer/detection/cervical_cancer_screening/en/index.html>
Acesso em: 04 ago. 2013.

ZUR HAUSEN, H.; DE VILLIERS, E. M.; GISSMANN, L. Papillomavirus infections and human genital cancer. **Gynecol Oncol**, v. 12, n. 2 pt 2, p. 124-128, 1981.

APÊNDICE A

Protocolo de Seleção dos Artigos

1. Critérios de inclusão:

a. Palavras do Título/Abstract para busca inicial (4 buscas):

- i. Vaccine [Title] – AND
Human papillomavirus [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
- ii. Vaccination [Title] - AND
Human papillomavirus [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
- iii. Vaccine [Title] - AND
HPV [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
- iv. Vaccination [Title] - AND
HPV [Title] – AND
Therapeutic [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
- v. Immunotherapy [Title] – AND
HPV [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]
- vi. Immunotherapy [Title] – AND
Human papillomavirus [Title and Abstract - Pubmed][Palavras – demais bases]

b. Leitura do Abstract:

i. População de estudo:

- 1. Humanos (aplicar filtro “HUMANS” no Pubmed e olhar “Termos MeSH secundários – HUMANO” nas demais bases)
- 2. Mulheres
- 3. Não virgens
- 4. Não grávidas
- 5. Não HIV

2. Descritores:

a. Descritores para o tema (Medical Subjects Headings – MeSH)

- i. Vacinas contra Papillomavirus (Papillomavirus Vaccines)
 - 1. Uso terapêutico (Therapeutic use)
- ii. Infecções por Papillomavirus (Papillomavirus Infections)
- iii. Neoplasias do colo do útero (Uterine Cervical Neoplasms)

APÊNDICE C

Tabela de Avaliação dos Critérios CONSORT

Quesito	Artigo 1	Artigo 2	Artigo 3	Artigo 4	Artigo 5	Artigo 6	Artigo 7	Artigo 8	Artigo 9	Artigo 10	Artigo 11	Artigo 12
1a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1b	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2b	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3b	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
4a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4b	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
5	99	99	1	1	1	1	99	1	1	1	1	1
6a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6b	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
7a	99	99	99	99	1	0	99	0	99	99	99	99
7b	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
8a	99	99	99	99	99	0	99	99	1	99	99	99
8b	99	99	99	99	99	0	99	99	1	99	99	99
9	99	99	99	99	99	0	99	99	0	99	99	99
10	99	99	99	99	99	0	99	99	0	99	99	99
11a	99	99	99	99	99	1	99	99	1	99	99	99
11b	99	99	99	99	99	1	99	99	99	99	99	99
12a	99	99	99	99	99	1	99	0	1	99	99	99
12b	1	1	1	1	99	99	99	99	99	99	99	99
13a	99	99	99	99	99	1	99	1	1	1	1	1
13b	99	99	99	99	99	1	99	99	1	1	1	1
14a	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
14b	1	1	1	1	1	99	1	99	99	1	1	1
15	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
16	1	1	1	1	1	1	99	1	1	99	99	99
17a	1	1	99	99	1	1	99	0	1	99	99	99
17b	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
18	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
19	0	0	1	0	99	99	1	99	99	99	99	99
20	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	1
21	99	99	99	99	99	0	99	99	0	99	99	99
22	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23	99	99	99	99	99	0	99	99	0	99	99	99
24	99	99	99	99	99	0	1	1	0	99	99	99
25	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Revista	Localização Geográfica	Desenho	Randomização/Cegamento
1	Borysiewicz, 1996	The Lancet	Inglaterra	Experimental	Não/Não
2	Sheets, 2003	AJOG	EUA	Experimental	Não/Não
3	Hallez, 2004	Cancer Immunol Immunother	Alemanha	Experimental	Não/Não
4	Corona Gutierrez, 2004	Hum Gene Ther	México	Experimental	Não/Não
5	Frazer, 2004	Vaccine	Austrália	Experimental	Sim/Sim
6	Santin, 2006	Gynecol Oncol	EUA	Experimental	Não/Não
7	Einstein, 2007	Gynecol Oncol	EUA	Experimental	Não/Não
8	Kaufmann, 2007	Int J Cancer	Alemanha	Experimental	Sim/Sim
9	Trimble, 2009	Clin Cancer	EUA	Experimental	Não/Não
10	Van Doorslaer, 2010	Gynecol Oncol	EUA	Experimental	Não/Não
11	Solares, 2011	Obstetrics and Gynecology	Cuba	Experimental	Não/Não
12	Brun, 2011	AJOG	França	Experimental	Não/Não

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Características da População	Nº Global	Subgrupos NIC 1/ NIC 2/ NIC 3 ou Ca
1	Borysiewicz, 1996	Mulheres de 39-72 anos, com Ca avançado ou recorrente, todas positivas para HPV 16	8	Não
2	Sheets, 2003	Mulheres de 19 a 44 anos, não grávidas e sem doenças crônicas graves	15	Subgrupos por dose 50, 100 e 200 Mcg de DNA homólogo a E7 de HPV 16
3	Hallez, 2004	Mulheres entre 20 e 51 anos	10	NIC 1 = 5; NIC 3 = 5
4	Corona Gutierrez, 2004	Mulheres entre 25-49 anos, não grávidas, sem doenças crônicas descompensadas	78	Subgrupos Tratamento 36 pacientes tratadas com a vacina e 42 pacientes no grupo controle tratadas com criocirurgia
5	Frazer, 2004	Mulheres de 19 a 57 anos, não gestantes, não HIV, sem doenças crônicas descompensadas	31	Subgrupo vacina 24 pacientes 3 doses (9 receberam 20 mcg/dose; 10 receberam 60 mcg/dose e 5 receberam 200 mcg/dose) e 7 subgrupo controle. Excisão da lesão nos pacientes de alto grau
6	Santin, 2006	Mulheres entre 35-42 anos, com câncer de colo uterino avançado já tratado anteriormente e sem outras terapêuticas possíveis	4	Não
7	Einstein, 2007	Mulheres adultas (não especifica intervalo de idade) não HIV, não gestantes,	58	CAF/Cone 2 meses após a vacinação (grupo 1) e Caf/Cone 4 meses após a vacinação (grupo 2)
8	Kaufmann, 2007	Mulheres entre 20 a 38 anos, não grávidas, não HIV, não lactantes, não menopausadas, sem doenças crônicas descompensadas	39	Subgrupos Placebo, baixa dose de vacina (75 mcg) e alta dose de vacina (250 mcg)
9	Trimble, 2009	Mulheres entre 18 e 50 anos, Não HIV, não grávidas	15	Não
10	Van Doorslaer, 2010	Mulheres adultas (não especifica intervalo de idade) não HIV, não gestantes,	57	CAF/Cone 2 meses após a vacinação (grupo 1) e Caf/Cone 4 meses após a vacinação (grupo 2)
11	Solares, 2011	Mulheres entre 24 a 43 anos, não grávidas, sem doenças crônicas descompensadas	7	Não
12	Brun, 2011	Mulheres de 25 a 44 anos, não gestantes, não HIV, sem doenças crônicas descompensadas	21	Não

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Status Inicial	Estratégia de captação
1	Borysiewicz, 1996	Cancer de colo uterino avançado ou recorrente	Não especificado
2	Sheets, 2003	NIC 2 ou 3	Pacientes oriundas de clínicas particulares
3	Hallez, 2004	NIC 1 = persistência de lesão comprovada por biópsia por pelo menos 3 meses. NIC 3 = lesão exocervical comprovada por biópsia e pesquisa positiva para HPV 16 (Captura)	Pacientes recrutadas dos hospitais Universitário de Liège e Erasmo
4	Corona Gutierrez, 2004	6 pacientes com coloitose; 15 NIC 1; 9 NIC 2; 6 NIC 3. No grupo controle 26 pacientes NIC 1 e 16 NIC 2. Todas positivas para HPV 16 ou 18 por captura híbrida (não especificado paciente por paciente)	Não disponível
5	Frazer, 2004	13 pacientes com NIC 3, 10 pacientes com NIC 2 e 8 pacientes com NIC 1, distribuídas uniformemente entre os grupos vacina (em suas várias dosagens) e placebo	4 hospitais participantes em Brisbane e Melbourne (Austrália) de out 1999 a abr 2001
6	Santin, 2006	2 pacientes com adenocarcinoma HPV 18+; 1 paciente com carcinoma escamoso HPV 16+; 1 paciente com carcinoma adenoescamoso HPV 18+	Não disponível
7	Einstein, 2007	NIC 3 (11 das 58 mulheres já haviam sofrido tratamento ablativo para a lesão)	2 instituições do New York Cancer Consortium
8	Kaufmann, 2007	Lesão de alto grau de pelo menos 1 cm de diâmetro, ou que cubra 2 quadrantes do colo, pesquisa de HPV + para 16 (monoinfecção - PCR)	10 centros de estudos de cidades alemãs
9	Trimble, 2009	Lesão visível residual NIC 2 ou 3 após biópsia confirmatória, associada ao HPV 16	Pacientes encaminhadas para colposcopia no Johns Hopkins Medical Institutions
10	Van Doorslaer, 2010	NIC 3 / Ca in situ	Pacientes encaminhadas de duas instituições do New York Cancer Consortium
11	Solares, 2011	Lesão de alto grau NIC 2 e 3. NIC 2 = 2 pacientes; NIC 3 = 5 pacientes, todas positivas para HPV 16	Pacientes recrutadas em 7 serviços especializados de Havana e outras províncias, avaliadas no Centro de Referência Nacional para Câncer do colo do útero "Ramon Gonzalez Coro"
12	Brun, 2011	5 pacientes com NIC 2 e 16 pacientes com NIC 3, todas positivas para HPV 16 por Captura híbrida (em monoinfecção)	Pacientes recrutadas dos ambulatórios de ginecologia de 8 hospitais franceses (não especificados), de 2004 a 2005

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Intervenção	Vacina Utilizada
1	Borysiewicz, 1996	1 dose de vacina	TA-HPV (E6E7 de HPV 16 e 18 mutadas associadas a um vírus vacinal - Wyeth)
2	Sheets, 2003	3 doses de vacina em 0-3-6 semanas + CAF ou Cone na semana 10	ZYC101 = plasmídeo de expressão bacteriana que possui proteína E7 de HPV 16 modificada
3	Hallez, 2004	3 doses de vacinação ou placebo em intervalos de 2 semanas e nas pacientes com NIC 3 conização após 8 semanas de completada a vacinação.	PD-E7/AS02B (mutação no aminoácidos 24 e 26 da partícula E7 HPV-16 ligada aos primeiros 108 aminoácidos da proteína do Haemophilus influenzae D)
4	Corona Gutierrez, 2004	6 Vacinações diretamente no colo do útero (pontos 0; 3; 6 e 9 horas), semanalmente	MVA E2 (vírus vacinal do poxvirus ANKARA associado à partícula E2 do papilomavirus bovino)
5	Frazer, 2004	3 vacinações em dosagens de 20 mcg, 60 mcg e 200 mcg, com intervalos de 21 dias entre elas. CAF ou cone nos dias 49 a 56 (7 a 14 dias após término da imunização)	E6E7 recombinante + Iscomatrix (adjuvante a base de quillaja saponaria - árvore chilena)
6	Santin, 2006	13 vacinações: 5 em intervalos de 14 dias, seguidas de 5 em intervalos de 30 dias, seguidas de 3 em intervalos de 60 dias. Todas as doses das vacinas eram seguidas por aplicações de IL2 humana recombinante nos dias 2-7	Células dendríticas maduras autólogas marcadas com a oncoproteína E7 de HPV 16 e 18
7	Einstein, 2007	3 doses de vacina subcutânea (0-1 e 2 meses) + Caf/ Cone após 2 (grupo 1) ou 4 (grupo 2) meses após a vacinação	HspE7 (proteína E7 do HPV 16 fundida com proteína de micobacterium bovis (BCG))
8	Kaufmann, 2007	4 vacinações em 0, 2, 6 e 12 semanas	HPV16 L1E7 CVLP. Mutação da partícula E7 do HPV 16 associada a adjuvantes oriundos do baculovirus
9	Trimble, 2009	3 vacinações intramusculares no deltóide com 1 das 3 doses estudadas 0,5 mg (3 pacientes); 1,0 mg (3 pacientes) e 3,0 mg (9 pacientes) nas semanas 0, 4 e 8 + CAF/cone de acordo com protocolo (7 semanas após o fim da vacinação)	pNGVL4a-Sig/E7 (detox)/HSP 70 = partícula E7 do HPV 16 mutada nos aminoácidos 24 e 26
10	Van Doorslaer, 2010	3 doses de vacinação subcutânea com intervalo de 1 mês entre elas + CAF ou cone (realizado no mês 5 para o grupo 1 e no mês 7 para o grupo 2)	HspE7 (proteína E7 do HPV 16 fundida com proteína de micobacterium bovis (BCG))
11	Solares, 2011	4 vacinações 0, 1, 2 e 3 semanas. CAF 60 dias após esquema completo.	CIGB 228. Partícula E7 do HPV 16 mutada ligada a partículas adjuvantes oriundas de N. meningitidis
12	Brun, 2011	3 doses da vacina e 0, 8 e 15 dias. Após 6 meses de seguimento 13 pacientes foram submetidas a CAF/CONE	TG4001 = E6E7 de HPV 16 recombinantes associados ao vírus vacinal ANKARA e ao gen da interleucina 2 humana

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Tempo de análise pós vacina	Objetivo do estudo
1	Borysiewicz, 1996	Dias 1, 3 e 5 após a vacinação, e de 10-14 dias após a vacinação.	Avaliar segurança e capacidade de desenvolvimento de resposta imune HPV específica
2	Sheets, 2003	Colposcopia a cada dose da vacina, citologia na semana 6, visita final 4 meses após o CAF ou Cone. Medida da resposta imunológica a cada dose da vacina, na semana 10 (do CAF/Cone) e no final do seguimento (4 meses)	Avaliar a segurança, imunogenicidade e resposta clínica da vacina
3	Hallez, 2004	Pacientes foram monitoradas clinicamente nas semanas 0, 2, 4, 8, 20, 32 e 44 por colposcopia, citologia e pesquisa de HPV. Resposta imune avaliada em 0, 2, 4 e 8 semanas e entre as semanas 35 e 60 pós vacinação	Avaliar a resposta imune humoral e celular pós vacinal
4	Corona Gutierrez, 2004	Análise sorológica semanal para avaliar a produção de anticorpos contra MVA E2 até a semana 7 de estudo,	Avaliar a capacidade terapêutica da vacina através da resposta das lesões à mesma e da resposta imune.
5	Frazer, 2004	Análises imunológicas antes e depois de cada dose da vacina em 0, 21 dias e 42 dias e depois de 3 semanas após a última dose da vacina. Colposcopia antes e no final do estudo (49 dias +/- 10 dias após a última vacinação)	Avaliar segurança e imunogenicidade da vacina.
6	Santin, 2006	2 pacientes foram a óbito 5 meses após o início do tratamento e 2 foram a óbito 13 meses após o início do tratamento.	Avaliar a viabilidade e a segurança da vacina, bem como a resposta imune das pacientes à mesma.
7	Einstein, 2007	1 mês pós vacina na coorte 1 e 3 meses pós vacina na coorte 2	Avaliar a eficácia e a toxicidade da vacina em pacientes com NIC III
8	Kaufmann, 2007	24 semanas, com 2 visitas opcionais após 36 e 48 semanas. Sangue coletado no início, 2 semanas após cada vacinação e após 24 semanas. Avaliações clínicas em 0, 24 e 48 semanas (esta opcional)	Objetivo primário: segurança da vacina. Objetivos secundários: parâmetros de eficácia através da produção de anticorpos específicos, aumento das células T e regressão da lesão colposcópica.
9	Trimble, 2009	7 semanas após o fim da vacinação e após 6 meses	Objetivo primário: segurança e imunogenicidade da vacina. Objetivos secundários: avaliar a colposcopia, citologia e histologia 7 semanas após a vacinação, além da resposta imune à vacina.
10	Van Doorslaer, 2010	Meses 0, 2 e 5, para a coorte 1, no mês 0, 1, 2, 3 e 7 para a coorte 2; e no mês 12 (final) para todos	Medir os níveis de IgG contra E7 de HPV 16 e contra VLPs de HPV 16 e 18
11	Solares, 2011	Meses 1, 2, 3, 6, 9, 12 e 15 pós término da vacinação. Resposta imune avaliada antes de cada dose da vacina e 2 semanas após a última dose.	Avaliar a segurança e tolerabilidade da vacina bem como a resposta imune e clínica
12	Brun, 2011	Análise em 6 meses da resposta clínica (ausência de lesão de alto grau à colposcopia (+/- biópsia) e citologia e da resposta local com erradicação do HPV do colo	Avaliar segurança e eficácia da vacina na regressão de lesões de colo uterino

APÊNDICE D

Extração dos Dados

Número	Autor/Ano	Resultados Obtidos
1	Borysiewicz, 1996	A vacina não obteve resultados clínicos significativos, todos os pacientes desenvolveram anticorpos antivacinais e 3 pacientes desenvolveram resposta específica ao HPV.
2	Sheets, 2003	Aumento na resposta da secreção de interferon gama em todos os pacientes e da resposta de linfócitos T (estatisticamente significativa). 33% das pacientes obtiveram regressão completa da lesão e 40% regressão parcial (a taxa de regressão espontânea de NIC 2/3 varia de 11 a 30% em 1 ano e estes resultados foram obtidos em 10 semanas). Não houve efeitos adversos sérios e a melhor dose estimada foi de 100 Mcg
3	Hallez, 2004	5/7 pacientes vacinadas (71%) desenvolveram imunidade T CD8 produtores de INF gamma; 7/7 pacientes vacinadas desenvolveram anticorpos (p<0,05). Nenhuma paciente do grupo placebo teve resposta imune.
4	Corona Gutierrez, 2004	Todas as pacientes tratadas com MVA E2 produziram anticorpos em altos títulos contra o vírus. 34/39 pacientes tiveram regressão completa da lesão, em 2 pacientes a lesão reduziu de NIC 3 para NIC 1 e 3 apresentaram colócitos isolados. 50% das pacientes mostraram eliminação do vírus HPV
5	Frazer, 2004	A vacina é segura e altamente imunogênica, além de estar associada a redução significativa na carga viral de HPV no epitélio cervical. Títulos de anticorpos contra E7 foram significativamente maiores no grupo maior dose, após a 1ª dose da vacina. Após as 3 doses estes valores se equiparam. Anticorpos contra E6 eram encontrados em algumas pacientes no início do estudo e tiveram aumento após 3 doses da vacina, em qualquer dose, mas não após dose única de 200 mcg. Produção de INF gama também aumentou significativamente.
6	Santin, 2006	2 pacientes não aumentaram sua imunidade humoral contra E7 HPV 16/18, e 2 pacientes aumentaram. As 4 pacientes tiveram aumento nas células T CD8, mas 2 mais intensamente (as mesmas que tiveram resposta humoral)
7	Einstein, 2007	13 pacientes tiveram regressão completa da lesão (22,5%), 32 tiveram regressão parcial (55%) e 11 tiveram estabilização da lesão (19%). 2 pacientes tiveram progressão da lesão (3,5%) na coorte 2. A estimativa de regressão espontânea é de cerca de 10% e uma resposta de RC + RP acima de 35% é considerada estatisticamente significativa . A resposta completa nas mulheres previamente tratadas foi 2,7x maior que nas não tratadas (sem significância).
8	Kaufmann, 2007	A vacina foi bem tolerada em ambas as dosagens. Aumento dos níveis de anticorpos contra L1 foi significativamente maior no grupo vacinado (com baixa ou alta dose). Não houve aumento nos níveis de anticorpos no subgrupo placebo. Não houve diferença clínica em termos de redução de lesão estatisticamente significativa entre os grupos alta e baixa dose e entre o grupo placebo.
9	Trimble, 2009	3 pacientes com regressão completa da lesão colposcópica e histológica (3/9 - 33%) no grupo de dosagem mais alta (3 mg). 5 pacientes relataram sintomas leves (5/15) após as vacinações. A vacinação não induziu resposta de anticorpos, mas induziu resposta de linfócitos T E7 em 4 pacientes na semana 19; 2 (22%) pacientes desenvolveram resposta IgG E6 no grupo de maior dose. Após 6 meses 5 indivíduos (5/9 - 55,6%) desenvolveram resposta E7 no grupo de maior dose.
10	Van Doorslaer, 2010	81% das pacientes tiveram elevação estatisticamente significativa nos níveis de IgG contra E7 HPV 16 após a vacinação, mantidos até a análise final no mês 12 (9 meses após o final da vacinação) p<0,012. Níveis de IgG contra HPV 16/18 VLPs não se alterou. 11 pacientes tiveram eliminação completa da lesão e estas possuíam níveis significativamente maiores de IgG contra E7 (p<0,003)
11	Solares, 2011	4/7 (57,1%) pacientes obtiveram regressão completa da lesão; 2/7 (28,6%) obtiveram regressão parcial da lesão e 1/7 (14,3%) teve diminuição do grau da lesão. Todas as 7 pacientes já possuíam células T CD8 produtoras de INF gama, mas aumentaram a produção do INF gama após a vacinação (não especifica o quanto maior)
12	Brun, 2011	A vacina é segura e associada a baixa morbidade. A eficácia clínica foi estimada em 48% (IC 95%) de acordo com o protocolo, sendo o valor estimado de regressão espontânea em torno de 20% (dados do autor). Nenhuma paciente teve incremento na resposta imune ao E6 E7

ANEXO

Checklist Consort 2010 (traduzido)		
CONSORT 2010 Lista de informações a serem incluídas ao relatar um estudo randomizado *		
Seção/Tópico	Item No	Checklist item
Título e resumo		
	1a	Identificação como um ensaio randomizado no título
	1b	Resumo estruturado do desenho do estudo, métodos, resultados e conclusões (para orientação específica ver CONSORT para resumos)
Introdução		
Contexto e	2a	Formação científica e explicação lógica
Objetivos	2b	Objetivos específicos ou hipóteses
Métodos		
Desenho do	3a	Descrição do desenho do estudo (tais como paralelo, fatorial), incluindo índice de alocação
estudo	3b	Mudanças importantes nos métodos após o início do estudo (como critérios de elegibilidade), com as razões
Participantes	4a	Critérios de elegibilidade para os participantes
	4b	Condições e locais onde os dados foram coletados
Intervenções	5	As intervenções para cada grupo, com detalhes suficientes para permitir a replicação, incluindo como e quando eles foram realmente administrados
Desfechos	6a	Desfechos primários e secundários pré-especificados completamente definidos, incluindo como e quando eles foram avaliados
	6b	Quaisquer alterações aos resultados do ensaio após o início do estudo, com as razões
Tamanho da	7a	Como o tamanho da amostra foi determinado
amostra	7b	Quando aplicável, a explicação de todas as análises intercalares e diretrizes de interrupção
Randomização:		
geração de	8a	Método usado para gerar a sequência de distribuição aleatória
sequência	8b	Tipo de randomização; detalhes de qualquer restrição (tais como bloqueio e tamanho do bloco)

Sim = 1 Não = 0
Não aplicável 99

ANEXO

<i>Checklist Consort 2010 (traduzido)</i>	
Alocação mecanismo de ocultação	9 Mecanismo usado para implementar a sequência de alocação aleatória (como recipientes numerados sequencialmente), descrevendo as providências tomadas para esconder a sequência até que as intervenções tivessem sido atribuídas
Implementação	10 Quem gerou a sequência aleatória de alocação, os participantes que se inscreveram e quem atribuiu as intervenções aos participantes
Cegamento	11a Se sim, quem ficou cego após atribuição das intervenções (por exemplo, os participantes, prestadores de cuidados, aqueles que avaliam os resultados) e como
Métodos estatísticos	11b Caso seja relevante, descrição da semelhança das intervenções 12a Métodos estatísticos utilizados para comparar os grupos para os resultados primário e secundário 12b Métodos para análises adicionais, tais como análises de subgrupos e análises ajustadas
Resultados	
Fluxo de participantes (um diagrama é altamente recomendável)	13a Para cada grupo, o número de participantes que foram designados aleatoriamente, receberam o tratamento pretendido, e foram analisados para o resultado primário 13b Para cada grupo, perdas e exclusões após randomização, juntamente com as razões
Recrutamento	14a Datas definindo os períodos de recrutamento e seguimento 14b Por que o estudo terminou ou foi parado
Dados de base	15 Uma tabela mostrando as características demográficas e clínicas para cada grupo
Números analisados	16 Para cada grupo, o número de participantes (denominador) incluído em cada análise e se a análise foi pelos grupos originalmente atribuídos
Resultados e estimativa	17a Para cada resultado primário e secundário, os resultados para cada grupo, e a estimativa do tamanho do efeito e a sua precisão (por exemplo, intervalo de confiança de 95%) 17b Para resultados binários, apresentação de ambos os efeitos, absolutos e relativos, é recomendado
Análises auxiliares	18 Resultados de outras análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo pré-especificado de exploratório

ANEXO

<i>Checklist Consort 2010 (traduzido)</i>	
Danos	19 Todos os danos importantes ou efeitos não intencionais em cada grupo (para orientação específica ver CONSORT para danos)
Discussão	
Limitações	20 Limitações do estudo, abordando fontes de viéses, imprecisão, e, se for o caso, a multiplicidade de análises
Generalização	21 Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos resultados do estudo
Interpretação	22 Interpretação consistente com os resultados, equilibrando benefícios e malefícios, e considerando outras provas relevantes
Outras Informações	
Registro	23 Número de inscrição e nome do registro do estudo
Protocolo	24 Quando o protocolo do estudo completo pode ser acessado, se disponível
Financiamento	25 Fontes de financiamento e outros apoios (como fornecimento de medicamentos); o papel dos financiadores

* Recomendamos a leitura desta declaração em conjunto com o CONSORT 2010 Explicação e Elaboração para esclarecimentos importantes sobre todos os itens. Caso seja relevante, também recomendamos a leitura das extensões CONSORT para grupos de estudos randomizados, estudos de não-inferioridade e equivalência, tratamentos não farmacológicos, estudos sobre ervas, e ensaios pragmáticos. Extensões adicionais em breve; para atualizações relevantes desta lista, consulte www.consort-statement.org.