

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**Curso de Graduação de Farmácia-Bioquímica**

**Os impactos da tecnologia das vacinas contra COVID-19 no desenvolvimento de vacinas contra o câncer**

Giovana Santiago Cardoso

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade de  
São Paulo.

Orientador(a):  
Dra. Giovana Cappio Barazzone

**São Paulo**  
**2022**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer ao meu bom Deus. Foi Ele quem me deu essa faculdade, foi Ele quem realizou meu sonho. Nunca irei me esquecer do dia, em fevereiro de 2017, em que cheguei em casa e soube da notícia que eu seria aluna da USP no curso que eu mais queria. Foi também Ele quem sustentou meus anos de graduação, me fazendo dar conta de tudo e conciliar toda a minha vida com os estudos mesmo quando achei que não ia conseguir.

Agradeço aos meus pais, por desde pequena investirem tanto na minha educação e insistirem para que eu sempre desse o meu melhor. Meu gosto por aprender veio de vocês, e vocês abriram muitas portas no meu caminho. Se eu fosse descrever tudo que sinto, ficaria aqui para sempre. Só sei agradecer por todo apoio, e claro, por todas as vezes que acordavam às 5h da manhã para me levar no ponto de ônibus ou por deixar a janta sempre preparada quando eu chegava em casa.

Agradeço a Phaola, Larissa, Giovanna, Luana, Claudia e Juliana, por serem o melhor grupo que eu poderia ter encontrado nessa faculdade. Com vocês, tudo que era difícil ficava mais fácil. Vocês me salvavam todas às vezes que eu me perdia no cronograma de provas, e salvavam todos os meus dias ruins com nossas maneiras únicas de estudar e se divertir.

Agradeço às minhas maiores confidentes de fora da faculdade, por sempre me apoiarem, entenderem, se orgulharem e me incentivarem. Tayná, Anna Laura, Rívia, Letícia, Valeria, Ana Clara e Amanda vocês fazem toda a diferença e sempre sabem como renovar minhas energias.

Agradeço à Aline, por sempre estar disposta a me ajudar. E aos meus professores e orientadores deste presente trabalho.

Agradeço à minha Comunidade, pelos meus irmãos e pelas minhas orientadoras por sempre saberem a maneira certeza de me conduzir, por me aconselhar e me preparar para ser uma profissional fiel e apaixonada pela verdade.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO .....	3
LISTA DE ABREVIATURAS .....	4
RESUMO .....	5
1. INTRODUÇÃO .....	6
2. OBJETIVOS .....	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	8
4. RESULTADOS .....	8
4.1 Tipos de vacinas em desenvolvimento .....	9
4.2 O papel dos adjuvantes .....	13
4.3 Ensaios clínicos de vacinas peptídicas .....	14
4.4 Ensaios clínicos de vacinas celulares .....	15
4.5 Ensaios clínicos de vacinas de DNA/RNA .....	16
4.6 Aprovação de vacinas para o mercado .....	17
4.6.1 Aprovação de Vacinas Celulares .....	18
4.6.2 Aprovação de Vacinas Genéticas .....	19
4.6.3 Sipuleucel-T (Provenge): Aprovação de vacina contra câncer de próstata .....	19
4.6.4 T-VEC: Aprovação de vacina contra o melanoma metastático .....	20
4.7 Vacinas contra COVID-19 .....	21
4.7.1 mRNA e os últimos avanços em vacinas .....	22
4.7.2 Aceitação pública das novas tecnologias .....	25
5. DISCUSSÃO .....	25
5.1 Impactos tecnológicos .....	27
5.2 Impactos regulatórios .....	27
5.3 Impactos sociais .....	28
6. CONCLUSÃO .....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30

## LISTA DE ABREVIAÇÕES

TSA	Antígenos específicos de tumor
TAA	Antígenos associados a tumor
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
APC	Células apresentadores de antígeno
IL-2	Interleucina-2
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
TNF	Fator de necrose tumoral
DRR	Taxa de Resposta Durável

## RESUMO

CARDOSO, GS. Os impactos da tecnologia das vacinas contra COVID-19 no desenvolvimento de vacinas contra o câncer. 2022. no. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

**Palavras chaves:** COVID-19, vacinas, câncer, imunologia

**INTRODUÇÃO:** Os grandes avanços da biologia molecular nas últimas décadas têm ampliado as possibilidades terapêuticas de diversos tipos de doenças, principalmente para o câncer, uma das doenças mais críticas da sociedade e responsável por milhares de mortes mundialmente. De modo alternativo à quimioterapia tradicional, atualmente é possível encontrar no mercado diversas novas tecnologias de tratamento: as terapias-alvo, hormonoterapias e imunoterapias. Dentro dessa última categoria, estão as vacinas contra o câncer. Ao contrário das vacinas contra doenças infecciosas, essas não têm como objetivo a prevenção do câncer, mas seu tratamento. No entanto, embora sejam estudadas há muitas décadas, a maioria delas ainda está na fase de ensaios clínicos, existindo apenas três já aprovadas por alguns países. Das vacinas que se encontram nas fases de teste, são diversas tecnologias empregadas: vacinas celulares, peptídicas ou de material genético (DNA/RNA). Em paralelo, os últimos dois anos moveram a comunidade científica à respeito do desenvolvimento de vacinas em decorrência da pandemia da COVID-19. A colaboração mundial e pesquisas previamente desenvolvidas promoveram um grande avanço tecnológico e vacinas com tecnologias inéditas no mercado foram produzidas em tempo recorde, com enfoque nas vacinas de RNA. Esses feitos, por sua vez, não têm impacto somente no que diz respeito à pandemia, mas à toda ciência. **OBJETIVO:** presente trabalho teve como objetivo principal investigar se há existência de uma correlação dos impactos tecnológicos das vacinas contra COVID-19 no desenvolvimento das vacinas oncológicas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** revisão bibliográfica com artigos encontrados na plataforma PubMed e ensaios clínicos descritos no clinicaltrials.gov. **RESULTADOS:** Os resultados obtidos mostram que as vacinas antitumorais encontram muito mais desafios para demonstrar eficácia em ensaios clínicos do que as vacinas antivirais, tendo apenas duas aprovadas no mercado dos Estados Unidos, devido à complexidade biológica do microambiente tumoral. Ao mesmo tempo, vacinas de RNA/DNA se mostram pouco exploradas e mais promissoras em diversos aspectos. A pandemia da COVID-19 promoveu um grande avanço tecnológico ao introduzir pela primeira vez no mercado vacinas de RNA mensageiro, trazendo soluções tecnológicas para as desvantagens desse tipo de plataforma e promovendo respostas mais eficazes que os outros tipos de vacina. **CONCLUSÃO:** Os impactos dessas novas tecnologias foram considerados positivos nos âmbitos tecnológicos, regulatórios e sociais, e as perspectivas futuras são de que vacinas antitumorais de RNA/DNA ganhem cada vez mais melhorias, incentivo e espaço, demonstrando benefícios clínicos significativos e se mostrando como grandes e acessíveis aliados na imunoterapia de pacientes oncológicos.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas diversas novas abordagens estão sendo exploradas quando se fala de combate ao câncer e novos tipos de terapia têm emergido no mercado, alternativas à quimioterapia tradicional. O avanço da biologia molecular facilitou a busca por tratamentos cada vez mais específicos e personalizados. Atualmente o cenário é de um amplo espaço de possibilidades com o surgimento das terapias-alvo, hormonioterapias, imunoterapias e as vacinas contra o câncer (YANG et al, 2014).

O termo “vacina” remete de modo muito natural para a prevenção de doenças infecciosas, mas pouco ainda se difundiu na sociedade sobre sua possibilidade de aplicação no tratamento de doenças oncológicas. Assim como é feito com agentes virais, bacterianos ou parasitários, também é possível estimular o sistema imune a partir de células neoplásicas para o desenvolvimento de atividade contra tumores (HALE et al, 2012). É comprovado que o sistema imune tem um papel importante para bloquear a progressão de câncer. Os linfócitos são responsáveis por reconhecer抗ígenos tumorais específicos, portanto a identificação desses抗ígenos é um grande aliado para estimular as células de defesa a atacarem os alvos corretos (COPIER et al, 2007).

Ao redor do mundo, diversas tecnologias vêm sendo aplicadas no desenvolvimento de vacinas contra o câncer, são elas as vacinas celulares, peptídicas ou genéticas (DNA/RNA). Até mesmo para um mesmo tipo de câncer, é possível utilizar tecnologias diferentes (MANNAN, 2016). No entanto, atualmente apenas duas delas já chegaram a serem aprovadas pelo FDA para comercialização e administração em pacientes.

Uma delas, aprovada pelo FDA em 2010, é destinada ao tratamento de câncer de próstata: Sipuleucel-T (Provenge). É composta pelas células dendríticas do próprio paciente, que foram retiradas e modificadas para expressar uma proteína de superfície que reconhece抗ígenos tumorais na próstata, no caso, a fosfatase ácida prostática PAP (THOMAS e PRENDERGAST, 2016). A outra, aprovada pelo FDA em 2015, chama-se T-VEC e é usada no tratamento de melanoma metastático. Essa vacina, por sua vez, é composta por um vírus herpes tipo 1 geneticamente modificado, que infecta seletivamente as células tumorais e promove sua lise. Além disso, o vírus porta o gene que codifica o Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) humano, fazendo com que ele seja expresso no local, recrutando células brancas e ativando sua ação citotóxica contra o tumor (FERRUCCI et al, 2021).

Além dessas, existe uma outra vacina aprovada em 2008 na Rússia para o tratamento de câncer renal, a Oncophage. Essa vacina é composta de um complexo proteico que une抗ígenos

derivado de tumor com proteínas de choque térmico, que são imunogênicas. A ideia é que o complexo, chamado HSPPC-96, ative a resposta linfocitária específica contra o tumor após o reconhecimento dos抗ígenos acoplados às proteínas de choque térmico. Essa técnica também tem sido estudada para aplicação em melanoma (CAMARERO e RUIZ, 2012).

Segundo o Instituto de Pesquisa do Câncer, atualmente são mais de vinte抗ígenos tumorais diferentes sendo explorados simultaneamente em milhares de ensaios clínicos para o desenvolvimento de novas vacinas. É interessante observar que das únicas três vacinas aprovadas ao redor do mundo, nenhuma delas é vacina de RNA ou DNA. Em contraste, muitas das que estão na fase de ensaios clínicos utilizaram essa tecnologia de desenvolvimento, como por exemplo vacina de mRNA CV9103 para câncer de próstata (RAUSCH et al, 2014), vacina de mRNA contra câncer de estômago (CAFRI et al, 2020), vacina de mRNA MUC1 contra câncer de mama (LIU et al, 2018), etc.

As vacinas de ácidos nucleicos se mostram como uma das melhores abordagens, pois são simples, estáveis e seguras, além de serem bem toleradas pelos pacientes (YANG et al, 2014). As vacinas de RNA, especificamente, atuam bem para causar a diminuição de massa tumoral e lise celular (MCNAMARA et al, 2015). No entanto, percebe-se dificuldades para que elas finalizem suas fases de teste e sejam disponibilizadas no mercado.

Em paralelo, a pandemia de COVID-19 que teve início nos primeiros meses de 2020 gerou a urgência de uma corrida contra o tempo no desenvolvimento de vacinas, a única maneira de conter o agente coronavírus. Grande foi o empenho mundial de modo que as vacinas foram desenvolvidas e aprovadas em tempo recorde, da produção até os testes em foram menos de 16 semanas. Isso só foi possível devido as tecnologias empregadas terem sido amplamente testadas há mais de 20 anos, mas ainda eram inéditas no mercado, uma vez que nunca havia sido aprovado até então uma vacina de RNA para nenhuma patologia. Vale pontuar que o avanço tecnológico quase que forçado vivido nos últimos meses não tem impacto somente no que diz respeito à pandemia, mas à toda ciência (AL KHAMES AGA et al, 2021).

Especialistas afirmam que as vacinas da COVID-19 desbloquearam uma nova era na ciência no que diz respeito a imunoterapias. O imenso interesse pelas vacinas de ácidos nucleicos pode mudar as perspectivas para seu uso em doenças oncológicas. A tecnologia de vacinas de RNA, principalmente, tende a ser a mais promissora em um futuro próximo, mesmo que ainda precise amadurecer quanto ao entendimento de sua imunogenicidade e segurança (CHAKRABORTY et al, 2021).

Por isso, o presente projeto busca avaliar todos os possíveis impactos que o avanço tecnológico proporcionado pela COVID-19 tenha no desenvolvimento de vacinas oncológicas, analisando o cenário atual e entendendo as tendências futuras.

## **2. OBJETIVOS**

- Identificar as maiores dificuldades que as vacinas contra o câncer enfrentam para finalizarem os testes e serem aprovadas pelos órgãos de vigilância;
- Entender as barreiras burocráticas, científicas e sociais que as vacinas contra o SARS-COV-2 quebraram em decorrência à pandemia e como isso afetaria o cenário das vacinas oncológicas;
- Investigar a relação entre o cenário atual das vacinas oncológicas com as prováveis mudanças que serão observadas em um futuro próximo.

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

- Revisão bibliográfica narrativa de artigos acadêmicos encontrados na base PubMed que envolvem o tema (vacinas, câncer, COVID-19);
- Análise dissertativa dos ensaios clínicos em andamento para desenvolvimento de vacinas oncológicas, usando a base de dados ClinicalTrials.gov.

## **4. RESULTADOS**

Historicamente, a busca de imunoterapias como alternativas para o tratamento de pacientes oncológicos esteve diretamente associada aos achados observados com relação às doenças infecciosas. Diferente da imunoterapia passiva, que consiste na administração de anticorpos antitumorais no paciente, a imunoterapia ativa (vacina) busca estimular a produção endógena de anticorpos e células de defesa antitumorais no próprio organismo do paciente (OLIVERA, 2008). Durante os últimos 100 anos, as tentativas de desenvolvimento de vacinas tumorais foram um espelho, ou uma tentativa de imitação das tecnologias empregadas pelas vacinas antivirais, no entanto, sem obter o mesmo sucesso (MCNEEL, 2018).

As diferenças iniciam já na abordagem de cada uma. Ao contrário das vacinas contra doenças infecciosas, que são desenvolvidas com o intuito de prevenir as doenças, as vacinas contra o câncer não possuem a finalidade preventiva, mas sim terapêutica, embora existam

vacinas antivirais que indiretamente previnam alguns tipos de neoplasia, como a da HPV. Além disso, é importante lembrar que enquanto os抗ígenos de agentes infecciosos costumam ser completamente estranhos ao nosso organismo, os抗ígenos tumorais são proteínas endógenas que sofreram alteração e, desse modo, tendem a induzir uma resposta imune mais fraca (THOMAS e PRENDERGAST, 2016).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2022) no mercado mundial atual existem diversos tipos de vacinas disponíveis para cerca de 25 doenças infecciosas diferentes, dentre elas influenza, hepatites, difteria, tétano, HPV, cólera, febre amarela, tuberculose, rotavírus, poliomielite, rubéola, etc. Por outro lado, as vacinas já aprovadas pelo FDA para os tratamentos oncológicos abrangem apenas duas doenças, o câncer de próstata (Provenge) e o melanoma metastático (T-VEC).

Em paralelo, atualmente existem em torno de 600 ensaios clínicos diferentes de vacinas oncológicas em andamento ao redor do mundo (em torno de 380 nos Estados Unidos, 202 na Europa Ocidental, 8 no Brasil e 75 na China) e sendo em torno de 150 desses na fase 3, segundo a base de dados *clinicaltrials.gov*. Todavia, estes ensaios não se tratam de 660 diferentes vacinas criadas, mas sim de inúmeras tentativas de melhorar a eficácia terapêutica daquelas que falharam em testes anteriores – através de utilização de novos alvos tumorais e combinações de outras abordagens terapêuticas (DEMARIA e BILUSIC, 2019).

#### **4.1 Tipos de vacinas em desenvolvimento**

Historicamente, as primeiras tentativas de desenvolvimento de vacinas antitumorais vêm dos promissores achados das primeiras vacinas contra doenças infecciosas, que utilizavam o patógeno inativado para estimular o sistema imune, gerar resposta imunológica e consequentemente prevenir o organismo de uma possível infecção daquele mesmo agente vivo. As tentativas no campo oncológico seguiam o mesmo racional, embora os resultados não tenham sido tão positivos quanto. Por alguma razão, injetar células tumorais inativadas do próprio paciente ou similares em seu organismo não provocava uma imunidade relevante o suficiente para melhorar o prognóstico da doença (MCNEEL, 2018).

Mais tarde, novos achados quanto às vacinas antivirais e antibacterianas novamente conduziram a uma série de tentativas de replicações na imunoterapia do câncer. As vacinas contra a hepatite B têm grande influência nisso. Observou-se que um抗ígeno de superfície do vírus da hepatite B, denominado HBsAg, tinha um papel relevante na resposta imune provocada contra o vírus. A partir disso, vacinas recombinantes foram desenhadas de modo a expressar o

HBsAg como alvo e gerar uma resposta imune eficaz sem precisar usar o vírus de forma inteira (KRUGMAN, 1975).

Desde então, iniciou-se a corrida pela descoberta de antígenos tumorais com a finalidade de utilizá-los como alvo, algo que se perpetua até hoje. Os ensaios clínicos de vacinas antitumorais atuais geralmente envolvem dois tipos de alvos terapêuticos: antígenos específicos de tumor (TSAs) e antígenos associados ao tumor (TAAs), sendo este último referente a moléculas que também podem ser encontradas, mesmo que em menor nível, nas células saudáveis (DEMARIA e BILUSIC, 2019).

Estes fatores abriram as portas para que se estabelecesse um critério de medida da eficácia de uma vacina oncológica: a capacidade de um antígeno específico de gerar imunidade. (MCNEEL, 2018). Existem também outras variáveis importantes que impactam nos resultados finais dos ensaios clínicos, como as plataformas de entrega e adjuvantes utilizados.

A plataforma corresponde à maneira que o antígeno será inserido no organismo, podendo ser de forma direta, com os próprios peptídeos/proteínas purificadas; ou indireta, através de células do próprio paciente modificadas ou de códigos genéticos, para que o antígeno de interesse seja expresso de maneira endógena (MORSE et al, 2021).

A Tabela 1 a seguir mostra as três plataformas utilizadas para o desenvolvimento de vacinas antitumorais e os números dos ensaios clínicos realizados no mundo nos últimos 30 anos, disponíveis na base de dados *clinicaltrials.gov*.

**Tabela 1. Status dos Ensaios Clínicos em qualquer fase realizados nos últimos 30 anos, de acordo com a plataforma da vacina.**

Plataforma	Mecanismo de Ação	Ensaios clínicos em andamento	Ensaios clínicos completos	Ensaios clínicos interrompidos	Total
<b>Proteína/peptídeo</b>	Após a administração de uma proteína ou peptídeo expressado em células tumorais (TSA ou TAA), as células apresentadoras de antígeno (APCs) apresentarão o complexo peptídico com moléculas Antígeno Leucocitário Humano (HLA) para reconhecimento das células T e indução de resposta imune específica.	Fase I/II: 4	Fase I/II: 287	Fase I/II: 63	419
		Fase III: 53	Fase III: 11	Fase III: 1	

<b>Células tumorais/células dendríticas</b>	Após retirar células tumorais do próprio paciente, elas são clonadas para que expressem os抗ígenos tumorais de interesse e inativadas, sendo administradas novamente no paciente, induzindo a resposta imune. Células dendríticas (DCs) também têm sido amplamente utilizadas, pois são de fácil manipulação genética e ativam a cascata imunológica.	Fase I/II: 355 Fase III: 53	Fase I/II: 706 Fase III: 78	Fase I/II: 173 Fase III: 20	1385
<b>DNA/RNA/vetor viral</b>	A molécula de DNA ou RNA codificando o抗ígeno tumoral de interesse pode ser administrada com adjuvantes ou através de um vetor viral. Uma vez no organismo, adentra as células e estas passam a expressar o TSA/TAA codificado na superfície celular, ativando o sistema imune.	Fase I/II: 86 Fase III: 42	Fase I/II: 92 Fase III: 10	Fase I/II: 27 Fase III: 0	257

Fonte: Números retirados da base de dados [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) em setembro de 2022.

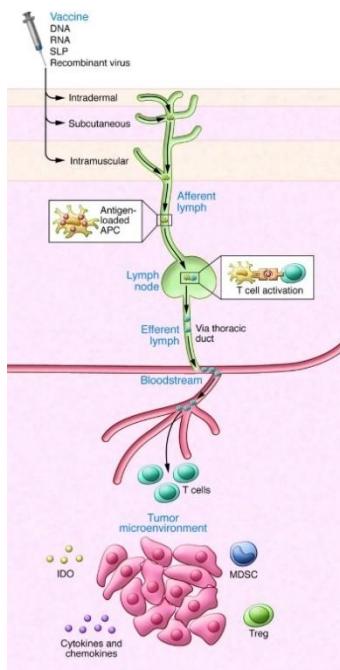
Mesmo através de diferentes mecanismos, cada plataforma de entrega dos TAAS ou TSAs no organismo tem a mesma função: induzir a ativação da cascata imunológica do paciente. Isso se dá através da via tradicional, em que as células apresentadoras de抗ígeno (APCs) reconhecem de maneira inata, apresentam aos linfócitos T CD4+ e estes recrutam os linfócitos citotóxicos T CD8+, como nos mostra o esquema apresentado na Figura 1 (MELIEF et al, 2015).

Em modelos animais, vacinas antitumorais geralmente se mostraram capazes de provocar uma resposta imunológica eficaz, como por exemplo uma vacina celular expressando a proteína HER-2 que, junto com alguns adjuvantes, foi capaz de inibir a metástase de tumor no pulmão em 90% em camundongos (NANNI et al, 2007). Quando chegam para as fases clínicas, os estudos de fase 2 em sua maioria demonstram-se muito promissores, no entanto, na fase 3, a imunogenicidade obtida não costuma ser significativamente diferente em relação aos pacientes do grupo controle, que receberam placebo (HALE, 2012).

Os ensaios clínicos, em sua maioria, são realizados com pacientes em estágio avançado ou com formas agressivas da doença. Isso ocorre porque o principal parâmetro para analisar a eficácia da vacina consiste no aumento do tempo de sobrevida dos pacientes oncológicos em relação ao grupo controle, dado conhecido como Sobrevida Geral. Há maior facilidade e leva-se menos tempo para obter esse tipo de dado com pacientes em estágio mais avançado da doença do que em pacientes nos estágios iniciais (CAMARERO e RUIZ, 2012).

Em sua dissertação, Hale et al (2012) acredita ser esperar muito que as vacinas oncológicas serão capazes de eliminar totalmente grandes tumores sólidos e bem estabelecidos. Tumores apresentam uma grande complexidade química, por isso a escolha de bons alvos terapêuticos é essencial. Eles desenvolveram diversos mecanismos de escape do sistema

imune, como por exemplo o *downregulation* do HLA e a perda de抗ígenos de superfície. Conforme as pesquisas avançam no que diz respeito à relação do câncer com o sistema imune, mais fácil é encontrar soluções para favorecer o sucesso das imunoterapias ativas. Desse modo, muitos ensaios clínicos adotaram a estratégia de utilizar imunoadjuvantes para conseguir contornar esses efeitos (OLIVERA, 2008).



**Figura 1.** Esquema Geral da ativação da resposta imune para qualquer tipo de vacina a ser utilizada. IDO: Indoleamina 2,3-dioxigenase; MDSC: células mieloides supressoras; Treg: células T reguladoras.

Fonte: MELIEF *et al*, 2015.

Outros ensaios clínicos se baseiam na combinação com outras formas de terapia contra o câncer, como por exemplo após a remoção cirúrgica de algum tumor ou após ressecamento por radioterapia ou quimioterapia. Nesses casos, o parâmetro de avaliação da eficácia da vacina é o tempo em que o paciente tratado fica sem a recidiva da doença em relação aos pacientes do grupo controle, fator nomeado Sobrevida Livre de Doença (PEOPLES *et al*, 2008).

Alguns testes também têm sido realizados em pacientes nos estágios iniciais da doença, tendo como parâmetro de avaliação a Sobrevida Livre de Progressão, tempo em que o paciente vive com a doença sem que ela avance. Mesmo com parâmetros secundários sendo utilizados, o dado de maior relevância segue sendo a Sobrevida Geral (CAMARERO e RUIZ, 2012).

Além dos fatores relacionados diretamente ao câncer, como citamos acima, pesquisadores apontam diversas outras hipóteses relacionadas aos tipos de vacina empregados para ajudar a explicar o predominante e constante fracasso das vacinas antitumorais em ensaios clínicos. A Tabela 2 a seguir compila as mais frequentes hipóteses levantadas.

**Tabela 2. Hipóteses levantadas por pesquisadores sobre os fracassos dos ensaios clínicos de fase 3 em relação ao tipo de plataforma usada na vacina.**

TIPO DA VACINA	HIPÓTESES
<b>Peptídeo/proteína</b>	Peptídeos com menos de 15 aminoácidos não são apresentados durante muito tempo aos linfócitos T pelas células dendríticas e as proteínas completas também não são apresentadas de forma eficaz. (MORSE et al, 2021).
<b>Células tumorais autólogas ou CDs</b>	O número de células suficiente para provocar uma resposta imune eficaz é difícil de se obter e existe também o fator que essas células não possuem apenas um antígeno, e a resposta imune pode ficar diluída em alvos de não-interesse. (IGARASHI e SASADA, 2020).
<b>DNA/RNA/vetor viral</b>	Enquanto o DNA não se espalha facilmente para todas as células <i>in vivo</i> , sendo pouco imunogênico (YANG et al, 2014), RNAs se espalham facilmente, mas sofrem degradação rápida. Os vetores virais são imunogênicos, mas uma vez neutralizados pelo sistema imune, não fazem mais efeito em uma segunda dose da vacina (HOLLINGSWORTH e JANSEN, 2019). De modo geral, APCs não reconhecem抗原s expressados nas próprias células tão rapidamente.

Fonte: MORSE et al, 2021; IGARASHI e SASADA, 2020; HOLLINGSWORTH e JANSEN, 2019.

De modo geral, apenas indução de células T específicas contra o antígeno de interesse não é suficiente para determinar a eficácia das vacinas. Fatores como número de células T ativadas e afinidade com o antígeno são o que impactam verdadeiramente os resultados dos ensaios clínicos (HOLLINGSWORTH e JANSEN, 2019).

Alguns autores também reforçam que a abordagem de um único alvo antigênico é falha, devido a capacidade do tumor de diminuir a expressão deles ou devido ao fato de que não existe um único antígeno relevante em suas células. Tumores sólidos quanto mais progredem mais heterogêneos ficam, por isso o uso das vacinas com um único alvo ou como monoterapia são consideradas um sonho quase inalcançável (COPIER et al, 2007).

#### **4.2 O papel dos adjuvantes**

Para superar os desafios encontrados diante dos vários aspectos abordados anteriormente, o uso de adjuvantes tem se mostrado como a melhor estratégia e está sendo cada vez mais explorada nos ensaios clínicos (MELIEF et al, 2015). Sozinhos, TAAs e TSAs se mostram fracos para induzir a resposta imune adaptativa. Os adjuvantes têm como objetivo

melhorar o recrutamento do linfócito T CD8+ para a região tumoral, seja atraindo e ativando mais células dendríticas para realizar a apresentação do antígeno, bloqueando mecanismos de escape dos tumores ou evitando a morte celular de linfócitos (PASTON et al, 2021).

Os adjuvantes são considerados melhores conforme a sua capacidade de induzir as sinalizações intracelulares necessárias para promover uma resposta imune mais ampla e de qualidade. As combinações de mais de um adjuvante com efeitos sinérgicos ou complementares também vêm sendo testadas, sendo uma estratégia fortemente promissora (BOWEN et al, 2018).

Em 1996, Leach et al descreveu a função importante de moléculas imunorreguladoras como o CTLA-4 e o PD-1. A ativação crescente de linfócitos T faz com que a produção dessas moléculas aumente, com o intuito de evitar uma ativação exacerbada de células citotóxicas circulantes e consequentemente um efeito autoimune indesejado. O desenvolvimento de inibidores para o CTLA-4, PD-1 e entre outros *imunoccheckpoints* abriu portas para a imunoterapia de diversas doenças, evitando a morte celular de T CD8+ e aumentando sua atividade imunológica. Esses inibidores também estão sendo utilizados em ensaios clínicos como adjuvantes (IGARASHI e SASADA, 2020, YUAN et al, 2011).

Um bom adjuvante deve garantir não somente o aumento de células T circulantes nos arredores do tumor, mas também garantir a estabilidade na sinalização das APCs para o linfócito T CD4+, com propriedades agonistas aos coestimuladores ligantes dos receptores de fatores de necrose tumoral (TNF) nos linfócitos ou com capacidade de promover expansão clonal do T CD8+, como a Interleucina-2 (IL-2) (BOWEN et al, 2018).

Um dos adjuvantes mais promissores e utilizados nas pesquisas atuais é o Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF). Esse fator demonstrou ser capaz de recrutar ainda mais células dendríticas no sítio da injeção nos ensaios pré-clínicos, embora nos ensaios de fase 3 ainda sejam poucas as evidências de melhoria clínica (PASTON et al, 2021). Um exemplo disso são os testes com a vacina GVAX: nesta vacina, produzida de células tumorais do paciente de qualquer tipo de câncer são modificadas para secretar GM-CSF. Para câncer de pulmão de células não pequenas, os ensaios até a fase 2 mostraram que quanto maior a secreção do estimulador, melhor o prognóstico dos pacientes. No entanto, os ensaios de fase 3 não demonstraram o mesmo sucesso (NEMUNAITIS et al, 2006).

#### **4.3 Ensaios clínicos de vacinas peptídicas**

Até o momento e segundo a base de dados *clinicaltrials.gov*, cerca de 12 ensaios clínicos de fase 3 foram finalizados com vacinas de proteína ou peptídeos de diversas formas: halogênicos, autólogos, sintéticos ou até complexados. Todos tiveram resultados falhos, e alguns

foram suspensos antes de serem terminados. A maioria desses ensaios foi realizada com um único peptídeo, e grande incógnita para explicar a falta de sucesso é se esse peptídeo é de fato o melhor antígeno para o câncer de interesse ou não (PASTON et al, 2021).

Janssen et al (2003), em um estudo publicado na *Nature*, descobriu que o papel dos linfócitos T CD4+ na indução da memória imunológica em linfócitos T CD8+ era essencial. A molécula de HLA exerce função importante nesse processo. No entanto, muitas vacinas peptídicas são construídas como ligantes de HLA-A2, halotipo que apenas uma parcela das pessoas expressa. Isso prejudica a apresentação linfocitária do TAAS nas pessoas que não expressam HLA-A2 (MELIEF et al, 2015).

Uma vacina com o peptídeo característico de pacientes de câncer de pulmão de células não pequenas, o MUC-1 (Tecemotide), foi testada em grupos de paciente no estágio 3 da doença, após a quimioterapia e concomitante com a quimioterapia. Para os pacientes tratados, a Sobrevida Geral foi de 25,6 meses, enquanto para o grupo placebo foi 22,3. Observou-se que a diferença foi maior entre os pacientes que estavam recebendo a quimioterapia junto com a vacina do que os grupos que receberam quimioterapia prévia, mas estatisticamente a diferença não foi considerada significativa (BUTTS et al, 2014).

Proteínas recombinantes têm sido amplamente testadas, uma vez que sua produção é mais rápida e pode ser feita em larga escala. A vacina GSK2132231A, feita da proteína específica de melanoma avançado MAGE-A3 junto com o estimulador GM-CSF, é um desses casos. Infelizmente, proteínas recombinantes são mais difíceis de serem apresentadas ao linfócito T CD4+ por sua baixa afinidade com o HLA. Nesse caso, os resultados de fase 2 pareciam promissores, mas os ensaios clínicos de fase 3 mostraram que não houve diferença na Sobrevida Livre de Doença, ambos o grupo controle e grupo tratado com 11 meses (DRENO et al, 2018).

Nos ensaios clínicos mais recentes, tem-se explorado o uso de nanopartículas para aumentar a entrega da proteína diretamente nas APCs, através do estudo de mecanismos físico-químicos e afinidade molecular, permitindo com que a resposta imunológica seja mais garantida e a vacina mais eficaz (BOWEN et al, 2018).

#### **4.4 Ensaios clínicos de vacinas celulares**

As vacinas celulares podem ser feitas com células tumorais próprias do paciente ou não, e sua maior vantagem consiste no fato de que não é necessário identificar o antígeno que será alvo do sistema imune. Todavia, células dendríticas também têm sido utilizadas nos ensaios mais recentes. Nesse caso, elas são transfetadas para expressar o antígeno de interesse e acabam sendo mais seguras por não possuírem outros抗ígenos para confundir o sistema imunológico,

e torna-se possível avaliar especificamente a imunogenicidade do alvo escolhido (HOLLINGSWORTH e JANSEN, 2019).

Com relação ao primeiro caso, o exemplo da GVAX citado anteriormente é um dos ensaios mais conhecidos. Um exemplo de vacina de célula dendrítica é a Rocapuldencel-T (antígeno AGS-003) para carcinoma renal metastático. A vacina foi dada juntamente com a terapia convencional para o grupo tratado, e apenas a terapia convencional foi dada ao grupo controle. Surpreendentemente, a média de Sobrevida Geral no grupo controle foi maior do que a do grupo tratado com a vacina (32,4 meses vs. 27,7 meses). A hipótese levantada pelos pesquisadores para explicar esse dado foi a possibilidade da vacina retardar o efeito do tratamento convencional (FINGLIN et al, 2020).

#### **4.5 Ensaios clínicos de vacinas de DNA/RNA**

As vacinas antitumorais de material genético são o enfoque da presente revisão, uma vez que são estas as mais influenciadas pela tecnologia explorada contra a COVID-19. Melief et al (2015) acredita que as vacinas de DNA/RNA e peptídicas constituem o modelo ótimo de desenvolvimento de vacinas oncológicas, pois atendem os principais critérios necessários para o sucesso delas: induzir ambas as respostas T CD4+ e T CD8+ com a mesma potência, através da sinalização celular e da ativação da resposta imune inata comuns aos ácidos nucleicos.

Os ácidos nucleicos podem ser programados para atuar simultaneamente como antígeno e adjuvante, embora atualmente essa vantagem tenha sido pouco explorada e pouco compreendida. Além disso, os plasmídeos vetoriais para carregar o código do antígeno de interesse ainda podem codificar epítópos específicos para as células apresentadoras de antígeno (PASTON et al, 2021).

A vantagem do uso de RNAs em relação as de DNAs está no fato de que o RNA fica apenas no citoplasma, não se incorpora no genoma e por isso previne mutações carcinogênicas. Esse mesmo fator faz com que as chances de eventos adversos sejam ainda menores, porque faz das moléculas mais vulneráveis a degradação (IGARASHI e SASADA, 2020).

Com relação ao uso de vetores virais, sua vantagem consistiria em melhorar a penetração celular dos materiais genéticos carregados. Todavia, a resposta imune inata reconhece o vetor e o neutraliza, fazendo com que uma segunda dose da vacina acabe destruindo o vírus antes que ele cause seu efeito. Nesses casos, sugere-se que a segunda dose seja utilizando um vetor diferente para veicular a molécula de DNA/RNA (HOLLINGSWORTH e JANSEN, 2019).

Segundo a base de dados *clinicaltrials.gov*, até o momento apenas 10 ensaios clínicos de fase 3 foram finalizados com vacinas de material genético, sem apresentar benefício clínico apesar dos ensaios pré-clínicos detectarem linfócitos específicos ao antígeno alvo.

Uma das primeiras vacinas de vetor viral a ser testada foi a PROSTVAC-VF/Tricom. Esse vetor carrega o gene para o PSA, antígeno de câncer de próstata. Na fase 2 dos ensaios clínicos, as pessoas tratadas tiveram 10 meses a mais de Sobrevida Geral que o grupo controle, mas o resultado não se repetiu na fase 3 e o estudo não foi finalizado (KANTOFF, 2016).

Para o câncer de mama triplo negativo, um dos tumores mais agressivos e com pior prognóstico, testes de uma vacina de mRNA se mostraram promissores. Encapsulado em uma nanopartícula lipídica e associado ao anti-CTLA-4, o RNA que codifica o MUC1 teve sucesso nos ensaios pré-clínicos, realizado em camundongos. O grupo dos tratados com a vacina teve maior redução do câncer de mama do que o grupo controle. Ensaios clínicos em humanos ainda estão em andamento (LIU et al, 2018).

Em ensaios clínicos de fase 1 e 2, pacientes de câncer gastrointestinal foram tratados com RNA mensageiro, uma sequência que compunha vários抗ígenos expressados do câncer. Além disso o precursor de HLA-1 também foi utilizado nos ensaios. Novamente, respostas clínicas não foram detectadas, embora fosse possível detectar linfócitos T CD4+ e T CD8+ específicos para os抗ígenos da vacina (CAFRI et al, 2020).

#### **4.6 Aprovação de vacinas para o mercado**

Para qualquer produto farmacológico, biológico ou medicinal, os critérios em relação a regulamentação são sempre em vista de garantir três pontos principais: qualidade, segurança e eficácia (CAMARERO e RUIZ, 2012). Para chegar a uma aprovação de mercado, todas as fases dos testes passaram previamente pelas diretrizes e parâmetros estabelecidos pelo órgão responsável de cada país, como o FDA, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), e o European Medicine Agency (EMA), desde a fase pré-clínica até a fase 3 (CASADEI et al, 2005).

De modo geral, é necessário que a vacina ou qualquer outro produto farmacológico apresente um risco-benefício clínico positivo ao paciente para ser aprovado. E mesmo após a autorização, deve-se garantir que esse risco-benefício se mantenha, através do constante monitoramento e coleta de dados de segurança como o aparecimento de eventos adversos. Para produtos de material genético, o FDA recomenda no mínimo 15 anos de acompanhamento aos pacientes que fizeram uso da vacina (HEELAN, 2015).

Como já apresentado, as vacinas antitumorais abrangem cada vez mais uma multiplicidade de produtos biológicos envolvidos no seu desenvolvimento e composição (desde

material genético, vírus recombinantes, células autólogas, peptídeos, fatores estimulantes, citocinas, etc). Por isso, seu processo de aprovação será naturalmente mais longo. É necessário avaliar as diretrizes específicas de cada produto envolvido além dos critérios gerais de aprovação da vacina (CASADEI et al, 2005; IGARASHI e SASADA, 2020).

- **Qualidade:** para determinação da qualidade, é essencial a apresentação de informações como pureza, potência, esterilidade e estabilidade do produto (CAMARERO e RUIZ, 2012).
- **Segurança:** a fase pré-clínica, 1 e 2 são determinantes para avaliar aspectos de segurança do produto como toxicidade e dosagem ideal. Quando não há modelo animal que se adeque às necessidades do produto em teste, a fase clínica 1 deve ser utilizada com este intuito. (SERABIAN e PILARO, 1999).
- **Eficácia:** começa a ser avaliada na fase 2, buscando o intervalo de tempo ideal entre as doses, e se concretiza nos estudos de fase 3, visando aprovação no mercado. Não adianta somente ter evidências de atividade biológica, é necessário benefício clínico evidente (CASADEI et al, 2005).

É impossível que haja diretrizes e regulamentação prontas para todos os tipos de imunoterapia que vêm crescendo nas pesquisas, porque a tecnologia vem evoluindo muito rápido e as diretrizes são criadas com base nos modelos precedentes. Quando não há um precedente, elas precisam ser desenvolvidas do zero (HEELAN, 2015).

Para vacinas de peptídeos/proteínas, esses critérios são mais simples de serem identificados e avaliados. Preocupa-se mais com a avaliação dos seus adjuvantes do que com os próprios peptídeos. Os maiores desafios hoje em dia estão concentrados nas vacinas celulares e genéticas (HEELAN, 2015). Além de protocolos de produção e controle de qualidade, o FDA tem algumas recomendações específicas para cada etapa de testes dessas vacinas.

#### **4.6.1 Aprovação de Vacinas Celulares**

Determinar aspectos de segurança e eficácia é um enorme desafio para esse tipo de vacina, em decorrência da dificuldade de padronização de seus processos de desenvolvimento. Para que os resultados de eficácia de qualquer vacina sejam consistentes, é necessário que todas as suas etapas de fabricação estejam sob controle e que haja replicabilidade, o que se torna complicado quando a própria matéria-prima é algo que varia de paciente para paciente. Quando não são utilizadas células autólogas, é mais simples de estabelecer meios de diminuir as variações no processo de fabricação (COPIER et al, 2007).

No entanto, seja com células autólogas ou halogênicas, não é simples medir a atividade biológica desses produtos baseadas em suas propriedades, pois elas são complexas e, às vezes, indefinidas. A melhor maneira de o fazê-lo é medir a cada lote e nas primeiras fases dos ensaios (CAMARERO e RUIZ, 2012).

Casadei et al (2005) cita algumas das diretrizes que o FDA exige para a aprovação dos ensaios clínicos dessas vacinas:

- Demonstração da reprodutibilidade de cada lote, evitando ao máximo a variabilidade do produto final;
- Padronização do procedimento de isolamento, cultura e expansão celular;
- Identificação do máximo de antígenos relevantes possíveis nas células;
- Quantificação e justificativa de células contaminantes;
- Controle microbiológico em cada etapa.

#### 4.6.2 Aprovação de Vacinas Genéticas

No caso de vacinas de DNA e RNA, sejam elas com a molécula isolada ou inserida em algum vetor viral, todos os aspectos citados anteriormente também se aplicam, e ainda é incluída a necessidade de diretrizes que visam controlar e garantir a integridade dos ácidos nucleicos utilizados nas vacinas (HINZ et al, 2016).

As vacinas de material genético, em especial as de DNA, já foram apontadas em estudos anteriores como extretamente seguras. Em muitos ensaios clínicos, principalmente nos de vacinas contra HIV-1, os plasmídeos de DNA foram bem tolerados, não apresentaram toxicidade sistêmica e não houve produção de anticorpos contra eles. Deste modo, as diretrizes do FDA e dos órgãos de outros países focam mais nos dados de eficácia para a aprovação de mercado dessas vacinas, e [ana](#) avaliação de segurança dos adjuvantes (YANG et al, 2014).

Essas vacinas também possuem um rápido tempo de produção, sendo as de RNA com tempo recorde. Estudos mostram que elas podem ser desenvolvidas em semanas, pois as etapas são poucas, simples, de fácil padronização e controle (HINZ et al, 2016).

Casadei et al (2005) também cita algumas das exigências do FDA exige para a aprovação dos ensaios clínicos dessas vacinas:

- Genes com menos de 40 pares de base devem ser inteiramente sequenciados antes da fase clínica;
- Genes com mais de 40 pares de base devem ter as sequências inseridas, regiões reguladoras e regiões de toxicidade sequenciadas antes da fase clínica;
- Determinação do nível e tempo de duração da expressão do antígeno *in vivo*;

- Realização dos testes de biodistribuição e potencial de toxicidade antes da fase clínica, a não ser que já existam extensos estudos em relação ao vetor sendo utilizado.

#### **4.6.3 Sipuleucel-T (Provenge): Aprovação de vacina contra câncer de próstata**

A vacina Sipuleucel-T foi a primeira vacina aprovada pelo FDA em 2010, nos EUA, e posteriormente na Europa. Ela consiste em uma vacina celular para pacientes com câncer de próstata, em que APCs autólogas são retiradas do sangue periférico do paciente e transfetadas *in vitro* com o antígeno prostático tumoral PAP. Nessa vacina, o antígeno tumoral foi fusionado ao GM-CSF, fator estimulante das células da resposta imune inata (KANTOFF et al, 2010).

Esse tratamento é destinado a pacientes cujo câncer já está tão avançado que não responde mais aos tratamentos que visam abaixar a testosterona. Mesmo com baixos níveis de andrógenos, o tumor continua avançando. Esses pacientes são denominados como pacientes com câncer de próstata resistentes à castração (MELIEF et al, 2015).

Embora os resultados mostrem que o tempo de progressão da doença não diminuiu, a Sobrevida Geral dos pacientes que fizeram o uso da vacina aumentou de uma média de 12,2 meses para 21,7 meses. Comparado às outras terapias existentes no mercado, como a mitoxantrona, esse resultado confere à vacina uma vantagem de 3 meses de sobrevida (KANTOFF et al, 2010).

A Sipuleucel-T foi categorizada como tratamento de nível 1, ou seja, altamente recomendado. Todavia, seu custo é alto e os benefícios ao paciente são limitados, o que gera controvérsias sobre seu uso. Atualmente, há diversos outros ensaios clínicos em andamento com o uso dessa vacina em combinação com outros tratamentos já existentes (THOMAS e PRENDERGAST, 2016).

#### **4.6.4 T-VEC: Aprovação de vacina contra o melanoma metastático**

A vacina T-VEC é uma vacina que usa do vírus Herpes simples tipo 1, cuja ação natural constitui a lise celular das células da derme. Esse vírus possui comportamento ideal para ação oncolítica em tumores nesta região que não respondem mais aos outros tratamentos convencionais, como o melanoma metastático. Nessa vacina, o vírus também sofreu modificação genética para expressar o fator GM-CSF, com o intuito de atrair células dendríticas e aumentar a ação imune na região tumoral (ANDTBCKA et al, 2015).

Essa vacina possui um mecanismo de ação diferente daqueles já apresentados anteriormente. Ela não carrega um antígeno tumoral específico, mas é injetada diretamente no

local do tumor e inicia sua ação local através da lise. O rompimento das células tumorais causa uma grande liberação de substâncias antigênicas, gerando assim um efeito sistêmico e atraindo mais células imunes ao local (FERRUCCI et al, 2021).

Sendo administrada geralmente a cada duas semanas, os resultados observados nos pacientes que fizeram o uso da vacina foram promissores diante dos resultados do grupo controle, que por sua vez receberam apenas o GM-CSF. A Sobrevida Geral aumentou de 18,9 meses para 23,3 meses, mas o dado que mais determinou seu benefício clínico e consequente aprovação pelo FDA foi a taxa de resposta durável (DRR), definida pela proporção de pacientes que apresentam contínua e constante diminuição do tumor por no mínimo 6 meses de tratamento. No grupo controle, apenas 2,1% dos pacientes apresentaram resposta durável, enquanto nos pacientes que receberam a T-VEC a taxa foi de 16,3% (DEMARIA e BISULIC, 2019).

Estudos com a T-VEC seguem sendo realizados, e hoje em dia há evidências de que o mecanismo de ação da vacina é capaz de induzir linfócitos T específicos ao melanoma (MORSE et al, 2021). Apesar de estar disponível em diversos países, como Estados Unidos, Alemanha, França, Reino Unido e outros, seu uso ainda não é disseminado devido à falta de programas de acesso em contraste com o alto custo da vacina (FERRUCCI et al, 2021).

#### **4.7 Vacinas contra COVID-19**

Em dezembro de 2019, os primeiros casos do que viria a se tornar uma pandemia de coronavírus começaram a surgir na China. O vírus SARS-COV-2 era o responsável pelo desencadear de uma síndrome respiratória aguda grave que tiraria muitas vidas e teria impacto na estrutura social e econômica a nível mundial. A doença foi chamada de COVID-19 e, em meio a tantas incertezas, o mundo científico uniu esforços para tentar compreendê-la e buscar meios de combatê-la o mais rápido possível (RAHMAN e ISLAM, 2021).

Na corrida por soluções, entender a fisiopatologia desse vírus e identificar alvos terapêuticos era essencial. Em meio a tentativas de construção de novas moléculas, reposicionamento de fármacos já existentes no mercado e o desenvolvimento de vacinas, as últimas foram as que ganharam mais destaque. Geralmente, o tempo de desenvolvimento e aprovação de mercado de uma nova vacina dura em média de 10-15 anos. Todavia, a concentração de esforço mundial no desenvolvimento das imunoterapias, juntamente com as experiências prévia do universo acadêmico com os vírus SARS e MERS, o desenvolvimento de plataformas de mRNA modificados e os avanços em tecnologia de nanopartículas, geraram

avanços no que diz respeito à velocidade de produção e início de testes clínicos, levando menos de 16 semanas para que os testes em humanos se iniciassem (AL KHAMES AGA et al, 2021).

Em dezembro de 2020, o FDA aprovou as primeiras vacinas contra o coronavírus: Pfizer-BioNTech COVID-19 e Moderna COVID-19. Não somente o FDA, mas os órgãos reguladores de diversos países preveem a possibilidade de aprovação de mercado para vacinas com resultados incompletos, principalmente resultados que se referem a dados de longo prazo. Isso acontece em situações emergenciais, em que os benefícios para a saúde pública são maiores que os riscos oferecidos. Para isso acontecer, no mínimo o risco-benefício da vacina deve estar claramente estabelecido e os dados faltantes devem ser apresentados no futuro (HINZ et al, 2016; SILVEIRA et al, 2020).

Hoje, segundo dados da OMS, são 11 as vacinas aprovadas em pelo menos 1 país, conforme apresentado na Tabela 3. Além disso, em seu último relatório publicado em outubro de 2022, há atualmente 172 vacinas em desenvolvimento contra a COVID-19 já em fases de ensaios clínicos, e 199 vacinas em fase pré-clínica. Dessas vacinas em fase clínica, 86 utilizam a plataforma de ácidos nucleicos em várias formas (DNA, RNA, vetor viral replicante, vetor viral não replicante, e vetor viral combinado com outros抗ígenos), o que corresponde a 50% dos ensaios clínicos. Nenhuma vacina de DNA foi aprovada até o momento desta revisão.

As vacinas de ácido nucleico aprovadas para uso emergencial foram as primeiras vacinas desse tipo de plataforma que conseguiram chegar ao mercado. O抗ígeno viral utilizado como alvo dessas vacinas é a proteína Spike, proteína estrutural encontrada na superfície do coronavírus (FIOLET et al, 2021).

**Tabela 3. Vacinas contra COVID-19 aprovadas em pelo menos 1 país.**

PLATAFORMA	Vacinas Aprovadas	Número de países que aprovaram	Média países que aprovaram
Proteína (2 aprovações)	Serum Institute of India COVOVAX (Novavax formulation)	6	26
	Nuvavax (Novavaxovid)	40	
Ácido nucleico (6 aprovações)	RNA	Moderna (Spikevax)	93
		Pfizer/BioNTech (Comirnaty)	
	Vetor viral	CanSino (Convidecia)	
		Janssen J&J (Jcovid)	
		Oxford/Astrazeneca (Vaxzevria)	

	Serum Institute of India Covishield (Oxford/Astrazeneca formulation)	49	
Vírus inativado (3 aprovações)	Baharat Biotech (Covaxin)	14	54
	Sinopharm (Covilo)	93	
	Sinovac (CoronaVac)	56	

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2022.

#### 4.7.1 mRNA e os últimos avanços no uso em vacinas

As vacinas de RNA mensageiro são muito mais rápidas de serem produzidas do que as vacinas de vírus atenuado, pois são feitas em um sistema enzimático livre de células, em uma reação que dura muito menos tempo do que as vacinas convencionais. Seu mecanismo é o mesmo descrito para as vacinas de RNA oncológicas, portanto são desenvolvidas sem necessitar de complexos mecanismos celulares, além de serem mais baratas, mais flexíveis à adaptação para o caso de variantes e mais seguras (VERBEKE et al, 2021).

Em comparação com as vacinas de DNA, elas também são preferíveis por garantir menos riscos de segurança ao paciente, uma vez que o RNA mensageiro não precisa interagir com o genoma celular humano para expressar a proteína codificada. A molécula realiza sua função diretamente do citoplasma, sem adentrar o núcleo. Outra vantagem dessa característica é que a duração da expressão do antígeno nas vacinas de mRNA é menos duradoura do que quando moléculas de DNA são usadas, por serem degradadas facilmente. Enquanto as vacinas de DNA, por sua vez, podem provocar meses de expressão antigênica e gerar um efeito negativo na eficácia da vacina, levando ao desgaste dos linfócitos T (RAHMAN e ISLAM, 2021).

Todavia, há dois grandes desafios presentes no desenvolvimento de qualquer vacina de RNA que são determinantes para sua eficácia: a tendência do RNA ser degradado pelas RNases do plasma sanguíneo, e o reconhecimento das moléculas de RNA como estranhas antes que elas adentrassem as células para expressar a proteína, o que geraria uma resposta imune inata às moléculas. Impurezas presentes na vacina também podem gerar o mesmo efeito. A grande novidade foi como os fabricantes das vacinas contra a COVID-19 conseguiram superar esses desafios com o emprego de novas abordagens tecnológicas (PARK et al, 2021).

Os primeiros ensaios clínicos de fase 3 mostraram que para vacina da Pfizer/BioNTech, a BNT162b2, a eficácia foi de 95% para a prevenção de COVID-19 após 2 doses da vacina em pacientes maiores de 16 anos. Além disso, foi observado que a cada 10 casos severos da doença evidenciados no estudo, 9 eram de pacientes que fizeram uso de placebo (POLACK et al, 2020). Para a vacina mRNA-1273, da Moderna, a eficácia foi de 94,1% após 2 doses em pacientes

maiores de 18 anos. Todos os casos severos observados foram de pacientes do grupo placebo (BADEN et al, 2020).

Ambas as vacinas possuem racionais muito semelhantes no seu desenvolvimento, e tiveram sucesso ao contornar os desafios mencionados anteriormente para garantir a eficácia. Estudos prévios demonstram que para que o sistema imune não reconheça o próprio RNA como estranho, esse RNA sofre modificações em seus nucleotídeos para que as células imunes possam distingui-lo dos que não são próprios. Por isso, uma boa estratégia para que o RNA presente na vacina não cause reação imune inata antes de ser absorvido pelas células é inserir sequências de nucleotídeos também modificadas nos mesmos padrões (VERBEKE et al, 2021; PARK et al, 2021).

Foi exatamente essa estratégia que a Pfizer/BioNTech e a Moderna adotaram. Suas vacinas de RNA mensageiro codificantes para a proteína Spike tiveram as partes de dupla fita removidas e os nucleotídeos de uridina substituídos pela pseudouridina, um derivado que faz com que os receptores inatos do sistema imune (Toll-like receptors - TLRs) não reconheçam a molécula. Além disso, o RNA foi encapsulado por nanopartículas lipídicas ionizáveis, que além de estabilizar quimicamente a molécula também promovem a captação endossomal através da formação de ligações éster com os fosfolipídios da membrana plasmática. A junção desses dois fatores colaborou para que mais RNA penetrasse as células, mais proteína fosse expressa e a eficácia da vacina garantida (PATEL et al, 2022).

As duas vacinas de vetores virais aprovadas e mais utilizadas mundialmente também apresentam mecanismos semelhantes entre si. Ambas as vacinas AZD1222, da Oxford/AstraZeneca, e Ad26.COV2.S, da Janssen (J&J), utilizam um adenovírus não replicante como plataforma para entregar o RNA que codifica a proteína Spike para as células do paciente, promovendo assim sua expressão endógena. A diferença entre elas é que para a da Janssen, o adenovírus usado é de humanos, e para a da Oxford/AstraZeneca, o adenovírus é de chimpanzé (FORNI e MANTOVANI, 2021).

Os primeiros ensaios clínicos de fase 3 demonstraram que com uma única dose, após 28 dias de administração, a vacina da Janssen apresentava 66% de eficácia contra casos moderados e 85% contra casos graves em pacientes acima de 18 anos (SADOFF et al, 2021). Já a vacina da Oxford/AstraZeneca, com duas doses, apresentou eficácia de 70,4% em pacientes também maiores de 18 anos. Resultados também mostram que quando se administra uma primeira dose baixa e uma segunda dose padrão, a eficácia sobe para 90%. Esses resultados ainda estão sendo melhor analisados (VOYSEY et al, 2021).

Os números obtidos excederam o mínimo exigido pela aprovação do FDA em situações emergenciais, cuja eficácia mínima deve ser de 50% na prevenção da infecção por COVID-19. Embora outros tipos de vacinas também tenham atingido esse valor, os resultados de eficácia não foram tão expressivos quanto as das vacinas de ácidos nucleicos. A CoronaVac, por exemplo, é uma vacina de vírus inativado que apresentou eficácia de 62,3% após a administração de duas doses em adultos acima de 18 anos (FIOLET et al, 2021).

Todas as vacinas aprovadas foram consideradas seguras, apresentando eventos adversos comuns e não-graves como fadiga, dor de cabeça, dor no corpo e febre (AL KHAMES AGA et al, 2021). Os parâmetros de durabilidade de eficácia e segurança à longo prazo não são o foco da presente revisão, no entanto, diversos estudos complementares já estão em andamento com o objetivo de avaliar essas questões.

#### **4.7.2 Aceitação pública de novas tecnologias**

Um estudo foi realizado nos Estados Unidos com a finalidade de avaliar a aceitação pública das vacinas contra COVID-19 em desenvolvimento ou já no mercado. No mundo todo, 72% das pessoas se mostraram dispostas a tomar as vacinas caso elas fossem consideradas seguras e eficazes, mas essa taxa varia muito com a cultura, a formação, a idade das pessoas, dentre outros fatores. Há uma certa resistência da população em relação a tecnologias novas e inovadoras, e muitos não confiam devido ao tempo curto em que as vacinas foram desenvolvidas (YASMIN et al, 2021).

Kaplan e Milstein (2021) comprovaram em seu estudo que conforme a taxa de benefício das vacinas aumentavam, hipoteticamente, maior também era a aceitação das pessoas para tomarem a primeira dose. O fator condicional determinante para que as vacinas fossem bem aceitas era a ocorrência de eventos adversos severos. Nos EUA, até o momento 80,5% da população tomou a primeira dose segundo a Our World in Data, e apenas 68,7% se vacinaram completamente. No Brasil, 88,2% da população tomou a primeira dose e 81,1% está completamente vacinado.

## **5. DISCUSSÃO**

Observar a correlação histórica existente nos avanços das vacinas antivirais e seus reflexos no desenvolvimento de vacinas antitumorais é essencial para compreender o patamar em que os estudos se encontram hoje, e consequentemente ter a capacidade de inferir como

será daqui para frente. Isso fica evidente conforme as análises feitas por McNeel (2018), principalmente no que é referente à revolucionária descoberta dos antígenos específicos como grandes potenciais indutores de resposta imunológica.

Por muitos anos, a principal tecnologia empregada nas vacinas antivirais era a do vírus inativado, e até hoje muitas vacinas de sucesso são fabricadas da mesma forma. No entanto, a descoberta dos chamados “alvos terapêuticos” pode ampliar a especificidade da resposta e garantir ainda mais segurança e eficácia, além de abranger novos vírus que antes não tiveram vacinas de sucesso, como o HIV. Essa nova perspectiva quando aplicada na corrida de desenvolvimento de vacinas antitumorais foi um divisor de águas, afinal, nenhuma terapia oncológica tinha proposto um mecanismo tão específico até então. Como demonstrado nesta revisão, inúmeras vacinas antitumorais tiveram resultados positivos nos ensaios pré-clínicos, chegando até mesmo a diminuir o tamanho de tumores em camundongos como nos mostrou, por exemplo, Liu et al (2018) com câncer de mama triplo negativo.

Sabe-se que a escolha dos antígenos corretos é essencial para o sucesso de uma vacina, no entanto, os resultados pré-clínicos mostram que alvos incorretos não são os casos das vacinas sendo testadas. Mesmo assim, quando se trata da fase clínica, o mesmo padrão sempre se repete. O sucesso dura até no máximo a fase 2 e, após isso, apenas duas conseguiram atingir o benefício clínico em fase 3 suficiente para receberem aprovação de mercado (T-VEC e Provenge).

Na Tabela 1, é simples de visualizar esses números. Seja qual for a plataforma utilizada, dos ensaios clínicos finalizados nas fases I e II, apenas 22,8% prosseguiram para ensaios de fase III (seja em andamento ou finalizados). E de todos os 249 ensaios clínicos de fase III iniciados, apenas 2 demonstraram benefício clínico significativo.

Embora o racional por de trás das vacinas antivirais e antitumorais sejam os mesmos, comparar os diferentes resultados é incoerente. Vírus são organismos menos complexos do que tumores, com menos antígenos semelhantes aos próprios e mais imunogênicos. Além disso, é importante lembrar que vacinas antivirais têm a finalidade de induzir a memória imunológica mais do que ação citotóxica T CD8+ e sinalização T CD4+, como é o caso das tumorais.

De forma geral, os resultados nos mostram que os desafios encontrados para o sucesso dos ensaios clínicos em vacinas antitumorais têm mais relação com a complexidade existente no microambiente tumoral do que com o mecanismo de ação das vacinas de fato. Além disso, o set up dos ensaios clínicos também não favorece a visualização de um benefício clínico relevante, uma vez que os pacientes selecionados estão em sua maioria em fases avançadas da doença,

em que os tumores param de expressar抗ígenos e é mais difícil para que as células imunes penetrem seu ambiente, conforme o estudo de Hale et al (2012) evidenciou.

Os adjuvantes têm exercido grande diferença nos ensaios clínicos, o que possibilitou a aprovação da Sipuleucel-T (Provenge) após o ensaio conduzido por Kantoff et al (2010). Todavia, sozinhos não são suficientes para fazer com que todas essas vacinas cheguem ao mercado, visto que já têm sido empregados há algum tempo e o cenário permanece estagnado por uma década. A vacina T-VEC, por sua vez, não parte do princípio de identificar um抗ígeno alvo do tumor, e sim da ação oncolítica do vírus da herpes no local onde é administrado, sendo considerada um caso especial e à parte.

Com relação às plataformas, Melief et al (2015) demonstraram que a vacina ideal depende não somente de抗ígenos e adjuvantes, mas também de plataformas capazes de induzir tanto T CD4+ quanto T CD8+ na mesma intensidade, como fazem as vacinas de RNA/DNA.

Em contraste, uma vez que as vacinas de material genético são apontadas como as mais promissoras pelos autores, é curioso que haja muito menos ensaios clínicos relacionados a elas do que aos outros tipos de plataforma como demonstra a Tabela 1: 287 contra 1385 das vacinas celulares e 419 das peptídicas. Uma vez que são vacinas mais fáceis, rápidas e econômicas de produzir, as razões para esse baixo número podem estar relacionadas com questões como a falta de pesquisas pré-clínicas suficientes para melhor compreensão dos mecanismos endógenos dos ácidos nucleicos.

Do outro lado, na corrida das vacinas contra a COVID-19, foram as de RNA mensageiro que saíram em disparo, afinal, a velocidade de produção era considerada um fator importante no período de emergência mundial. Com o tempo recorde de desenvolvimento, é inevitável que vários holofotes fiquem direcionados ao mesmo local. Os impactos foram causados não somente no que diz respeito à diminuição da mortalidade por coronavírus na sociedade, mas também impactos tecnológicos, regulatórios e sociais, que podem se estender às imunoterapias de diversas outras doenças, como também o câncer.

### **5.1 Impactos tecnológicos**

Enquanto diversos autores, demonstrados na Tabela 2, reforçam que a dificuldade desses tipos de vacina está na degradação do RNA antes de adentrar a célula do paciente, as vacinas contra o COVID-19 propuseram uma tecnologia que visava melhor a entrega dessas moléculas. Uma tecnologia reproduzível, que poderá ser utilizada por qualquer outra vacina de RNA para diversas outras doenças com pouco custo.

Patel et al (2022) mostrou que a tecnologia empregada pelas vacinas da Pfizer/BioNTech e Moderna diminuiu a resposta inata das células imunes às moléculas e impediam sua destruição antes que realizassem sua ação citoplasmática, através de mecanismos de engenharia genética pouco explorados anteriormente. Se empregados da maneira correta nas vacinas de RNA para tumores, é possível utilizar da mesma técnica para melhorar a expressão de TAAS e TSAs nas células do paciente e consequentemente uma ativação eficaz da cascata imunológica.

Além disso, a fabricação dessas vacinas não exige o uso de um patógeno infeccioso, o que diminui a quantidade de processos de purificação envolvidos.

### **5.2 Impactos regulatórios**

Em sua tese, Heelan (2015) reforça que um único precedente no mercado faz a diferença e abre muitas portas para a regulamentação e aprovação dessa classe de imunoterapias pelos órgãos reguladores de cada país. As vacinas contra COVID-19, principalmente as da Pfizer/BioNTech e da Moderna, foram as primeiras vacinas de mRNA a chegarem no mercado, por isso já derrubaram inúmeras barreiras e obstáculos regulatórios relacionados às vacinas de ácidos nucleicos. O desenvolvimento prévio de diretrizes específicas, estabelecimento de padronizações e protocolos prévios torna mais simples a aprovação de futuros candidatos vacinais.

Além disso, a comunidade científica e as indústrias farmacêuticas estão mais alinhadas a respeito das inovações promovidas pelas novas tecnologias em vacinas de ácidos nucleicos. Uma vez que a perspectiva de uso em outras doenças é promissora, parceiros públicos e privados fazem sua parte para criar um ambiente regulatório mais favorável no desenvolvimento dessas vacinas.

### **5.3 Impactos sociais**

Embora boa parte da população tenha se mostrado resistente às novas tecnologia empregada nas vacinas contra COVID-19, as taxas de vacinação atingiram o esperado ao redor do mundo. Mesmo assim, muitas pessoas ainda se questionam sobre a velocidade com que essas vacinas foram desenvolvidas, no entanto, a presente revisão demonstra que a rápida velocidade esteve relacionada com a tecnologia empregada e pesquisas anteriores, e não com negligência da qualidade, segurança e eficácia. Em uma futura aplicação como imunoterapia oncológica, é possível que as pessoas já estejam habituadas com as novas tecnologias.

No entanto, a revisão nos mostrou que existe um fator que impede com que pacientes de melanoma metastático e câncer de próstata utilizem as vacinas antitumorais já aprovadas nos

Estados Unidos. Esse fator é o preço dessas vacinas. Isso acontece porque tanto a vacina T-VEC e a Provenge são fabricadas com tecnologia celular e possuem custo mais alto. Já as vacinas de DNA/RNA, que não utilizam organismos infecciosos na sua produção e envolvem menos etapas de purificação, são menos custosas.

O destaque e enfoque que as vacinas contra COVID-19 deram para a tecnologia das vacinas de ácidos nucleicos deverá aumentar o número de pesquisas e ensaios clínicos com aplicação para tumores, e o futuro aumento desse tipo de vacina no mercado poderá favorecer as populações com menos recursos financeiros a ter acesso a imunoterapias seguras e de qualidade, em relação aos tratamentos de alto custo existentes para câncer atualmente.

## 6. CONCLUSÃO

O avanço tecnológico promovido pela crise global de saúde nos últimos dois anos vai reverberar em inúmeros outros campos de pesquisa clínica, principalmente nas imunoterapias. Previvamente a isso, a imunoterapia do câncer já vem há alguns anos se mostrando muito promissora, principalmente para pacientes que não respondem às terapias convencionais. As vacinas antitumorais, por sua vez, têm sido amplamente testadas e batalham para conseguir mostrar benefícios clínicos significativos, uma vez que tumores são sistemas complexos, heterogêneos e de difícil penetração.

As vacinas de ácidos nucleicos são consideradas as mais promissoras, por serem seguras e eficazes, além de apresentar um custo de produção mais baixo. Nenhuma vacina desse tipo já havia sido aprovada no mercado até a pandemia de COVID-19, que promoveu a comercialização das vacinas de RNA mensageiro por laboratórios como Pfizer/BioNTech, Moderna, Oxford/AstraZeneca e Janssen. Essas vacinas mostraram o potencial existente no uso de ácidos nucleicos como indutores da resposta e memória imunológica, e abriram portas para impulsionar o desenvolvimento de vacinas de RNA/DNA antitumorais.

Seus impactos são, de forma geral, extremamente positivos. Historicamente, as vacinas antitumorais se mostram como um reflexo dos avanços das vacinas antivirais, e as perspectivas futuras são que tanto no âmbito tecnológico, quanto regulatório e social, as tecnologias das vacinas contra COVID-19 possam fornecer novas estratégias e alternativas, incentivar, permitir e favorecer o desenvolvimento de vacinas de ácidos nucleicos de qualidade, com benefício clínico e acessíveis aos pacientes oncológicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, Delman KA, Spitler LE, Puzanov I, Agarwala SS, Milhem M, Cranmer L, Curti B, Lewis K, Ross M, Guthrie T, Linette GP, Daniels GA, Harrington K, Middleton MR, Miller WH Jr, Zager JS, Ye Y, Yao B, Li A, Doleman S, VanderWalde A, Gansert J, Coffin RS. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol.* 2015 Sep 1;33(25):2780-8.

Al Khames Aga QA, Alkhaffaf WH, Hatem TH, Nassir KF, Batineh Y, Dahham AT, Shaban D, Al Khames Aga LA, Agha MYR, Traqchi M. Safety of COVID-19 vaccines. *J Med Virol.* 2021 Dec;93(12):6588-6594.

Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, Diemert D, Spector SA, Roushabel N, Creech CB, McGettigan J, Khetan S, Segall N, Solis J, Brosz A, Fierro C, Schwartz H, Neuzil K, Corey L, Gilbert P, Janes H, Follmann D, Marovich M, Mascola J, Polakowski L, Ledgerwood J, Graham BS, Bennett H, Pajon R, Knightly C, Leav B, Deng W, Zhou H, Han S, Ivarsson M, Miller J, Zaks T; COVE Study Group. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021 Feb 4;384(5):403-416.

Bowen WS, Srivastava AK, Batra L, Barsoumian H, Shirwan H. Current challenges for cancer vaccine adjuvant development. *Expert Rev Vaccines.* 2018 Mar;17(3):207-215.

Butts C, Socinski MA, Mitchell PL, Thatcher N, Havel L, Krzakowski M, Nawrocki S, Ciuleanu TE, Bosquée L, Trigo JM, Spira A, Tremblay L, Nyman J, Ramlau R, Wickart-Johansson G, Ellis P, Gladkov O, Pereira JR, Eberhardt WE, Helwig C, Schröder A, Shepherd FA; START trial team. Tecemotide (L-BLP25) versus placebo after chemoradiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer (START): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014 Jan;15(1):59-68.

Cafri, Gal; Gartner, Jared J.; Zaks, Tal; Hopson, Kristen; Levin, Noam; Paria, Birman C.; Parkhurst, Maria R.; Yossef, Rami; Lowery, Frank J.; Jafferji, Mohammad S.; Prickett, Todd D.; Goff, Stephanie L., McGowan, Christine T.; Seitter, Samantha; Shindorf, Mackenzie L.; Parikh, Anup; Chatani, Praveen; Robbins, Paul F. and Rosenber, Steven A. *mRNA vaccine-induced neoantigen-specific T cell immunity in patients with gastrointestinal cancer.* 2020, American Society for Clinical Investigation. Volume 130 n11.

Camarero, Jorge e Ruiz, Sol. *Cancer immunotherapy products.* Human Vaccines & Immunotherapeutics 8:9, 1354-1359; September 2012.

Casadei J, Streicher HZ, Greenblatt JJ. Clinical trial design and regulatory issues for therapeutic cancer vaccines. *Cancer Treat Res.* 2005;123:351-68. doi: 10.1007/0-387-27545-2\_15. PMID: 16211878.

Chakraborty C, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS. From COVID-19 to Cancer mRNA Vaccines: Moving From Bench to Clinic in the Vaccine Landscape. *Front Immunol.* 2021 Jul 7;12:679344. doi: 10.3389/fimmu.2021.679344. PMID: 34305909; PMCID: PMC8293291.

Copier J, Ward S, Dagleish A. Cell based cancer vaccines: regulatory and commercial development. *Vaccine.* 2007 Sep 27;25 Suppl 2:B35-46. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.06.041. PMID: 17916462.

Dreno B, Thompson JF, Smithers BM, Santinami M, Jouary T, Gutzmer R, Levchenko E, Rutkowski P, Grob JJ, Korovin S, Drucis K, Grange F, Machet L, Hersey P, Krajsova I, Testori A, Conry R, Guillot B, Kruit WHJ, Demidov L, Thompson JA, Bondarenko I, Jaroszek J, Puig S, Cinat G, Hauschild A, Goeman JJ, van Houwelingen HC, Ulloa-Montoya F, Callegaro A, Dizier B, Spiessens B, Debois M, Brichard VG, Louahed J, Therasse P, Debruyne C, Kirkwood JM. MAGE-A3 immunotherapeutic as adjuvant therapy for patients with resected, MAGE-A3-positive, stage III melanoma (DERMA): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018 Jul;19(7):916-929.

Ferrucci, P.F.; Pala, L.; Conforti, F.; Cocorocchio, E. *Talimogene Laherparepvec (T-VEC): An Intralesional Cancer Immunotherapy for Advanced Melanoma.* *Cancers* 2021, 13, 1383.

Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosn J, Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2022 Feb;28(2):202-221. doi: 10.1016/j.cmi.2021.10.005. Epub 2021 Oct 27. PMID: 34715347; PMCID: PMC8548286.

Figlin RA, Tannir NM, Uzzo RG, Tykodi SS, Chen DYT, Master V, Kapoor A, Vaena D, Lowrance W, Bratslavsky G, DeBenedette M, Gamble A, Plachco A, Norris MS, Horvatinovich J, Tcherepanova IY, Nicolette CA, Wood CG; ADAPT study group. Results of the ADAPT Phase 3 Study of Rocabulgencel-T in Combination with Sunitinib as First-Line Therapy in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2020 May 15;26(10):2327-2336.

Forni G, Mantovani A; COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ.* 2021 Feb;28(2):626-639. doi: 10.1038/s41418-020-00720-9. Epub 2021 Jan 21. PMID: 33479399; PMCID: PMC7818063.

Hale, Diane F; Clifton, G Travis; Sears, Alan K; Vreeland, Timothy J; Shumway, Nathan; Peoples, George E; Mittendorf, Elizabeth A. *Cancer vaccines: should we be targeting patients with less aggressive disease?* Expert Rev. Vaccines 11(6), 721–731 (2012).

Heelan BT. Regulatory considerations for clinical development of cancer vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(11):3409-14. doi: 10.4161/21645515.2014.982999. PMID: 25625933; PMCID: PMC4514046.

Hinz T, Kallen K, Britten CM, Flamion B, Granzer U, Hoos A, Huber C, Khleif S, Kreiter S, Rammensee HG, Sahin U, Singh-Jasuja H, Türeci Ö, Kalinke U. The European Regulatory Environment of RNA-Based Vaccines. *Methods Mol Biol.* 2017;1499:203-222. doi: 10.1007/978-1-4939-6481-9\_13. PMID: 27987152.

Hollingsworth RE, Jansen K. Turning the corner on therapeutic cancer vaccines. *NPJ Vaccines.* 2019 Feb 8;4:7. doi: 10.1038/s41541-019-0103-y. PMID: 30774998; PMCID: PMC6368616.

Igarashi Y, Sasada T. Cancer Vaccines: Toward the Next Breakthrough in Cancer Immunotherapy. *J Immunol Res.* 2020 Nov 17;2020:5825401. doi: 10.1155/2020/5825401. PMID: 33282961; PMCID: PMC7685825.

Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, Redfern CH, Ferrari AC, Dreicer R, Sims RB, Xu Y, Frohlich MW, Schellhammer PF; IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2010 Jul 29;363(5):411-22. doi: 10.1056/NEJMoa1001294. PMID: 20818862.

Kaplan RM, Milstein A. Influence of a COVID-19 vaccine's effectiveness and safety profile on vaccination acceptance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Mar 9;118(10):e2021726118. doi: 10.1073/pnas.2021726118. PMID: 33619178; PMCID: PMC7958192.

Krugman S. Viral hepatitis type B: prospects for active immunization. *Dev Biol Stand.* 1975;30:363-7. PMID: 1204971.

Leach D. R., Lrimmel M. F., Allison J. P. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996;271(5256):1734–1736. doi: 10.1126/science.271.5256.1734.

Liu, Lina; Wang, Yuhua; Miao, Lei; Liu, Gi; Musetti, Sara; Li, Jun; Huang, Leaf. *Combination Immunotherapy of MUC1 mRNA Nano-vaccine and CTLA-4 Blockade Effectively Inhibits Growth of Triple Negative Breast Cancer.* Molecular Therapy Vol. 26 No 1 January 2018, The American Society of Gene and Cell Therapy.

Mannan, Sonia. *Cancer vaccine clinical trials.* Future Medicine. Immunotherapy (2016) 8(11), 1263–12.

McNamara Megan A., Nair Smita K., and Holl Eda K. *RNA-Based Vaccines in Cancer Immunotherapy*. Journal of Immunology Research. Volume 2015.

McNeel DG. Therapeutic Cancer Vaccines: How Much Closer Are We? *BioDrugs*. 2018 Feb;32(1):1-7. doi: 10.1007/s40259-017-0257-y. PMID: 29285731; PMCID: PMC5815920.

Melief CJ, van Hall T, Arens R, Ossendorp F, van der Burg SH. Therapeutic cancer vaccines. *J Clin Invest*. 2015 Sep;125(9):3401-12. doi: 10.1172/JCI80009. Epub 2015 Jul 27. PMID: 26214521; PMCID: PMC4588240.

Morse MA, Gwin WR 3rd, Mitchell DA. Vaccine Therapies for Cancer: Then and Now. *Target Oncol*. 2021 Mar;16(2):121-152. doi: 10.1007/s11523-020-00788-w. Epub 2021 Jan 29. PMID: 33512679; PMCID: PMC7845582.

Nanni P, Nicoletti G, Palladini A, Croci S, Murgo A, Antognoli A, Landuzzi L, Fabbi M, Ferrini S, Musiani P, Iezzi M, De Giovanni C, Lollini PL. Antimetastatic activity of a preventive cancer vaccine. *Cancer Res*. 2007 Nov 15;67(22):11037-44. Erratum in: *Cancer Res*. 2007 Dec 15;67(24):12034. PMID: 18006850.

Neek M, Kim TI, Wang SW. Protein-based nanoparticles in cancer vaccine development. *Nanomedicine*. 2019 Jan;15(1):164-174. doi: 10.1016/j.nano.2018.09.004. Epub 2018 Oct 4. PMID: 30291897; PMCID: PMC6289732.

Nemunaitis J., Jahan T., Ross H., et al. Phase 1/2 trial of autologous tumor mixed with an allogeneic GVAX® vaccine in advanced-stage non-small-cell lung cancer. *Cancer Gene Therapy*. 2006;13(6):555–562. doi: 10.1038/sj.cgt.7700922.

Olivera J. Finn. *Cancer Immunology*. *N Engl J Med* 2008; 358:2704-2715. June 19, 2008. DOI: 10.1056/NEJMra072739

Park JW, Lagniton PNP, Liu Y, Xu RH. mRNA vaccines for COVID-19: what, why and how. *Int J Biol Sci*. 2021 Apr 10;17(6):1446-1460. doi: 10.7150/ijbs.59233. PMID: 33907508; PMCID: PMC8071766.

Paston SJ, Brentville VA, Symonds P, Durrant LG. Cancer Vaccines, Adjuvants, and Delivery Systems. *Front Immunol*. 2021 Mar 30;12:627932. doi: 10.3389/fimmu.2021.627932. PMID: 33859638; PMCID: PMC8042385.

Patel R, Kaki M, Potluri VS, Kahar P, Khanna D. A comprehensive review of SARS-CoV-2 vaccines: Pfizer, Moderna & Johnson & Johnson. *Hum Vaccin Immunother*. 2022 Dec 31;18(1):2002083. doi: 10.1080/21645515.2021.2002083. Epub 2022 Feb 7. PMID: 35130825; PMCID: PMC8862159.

Peoples GE, Holmes JP, Hueman MT et al. Combined clinical trial results of a HER2/neu (E75) vaccine for the prevention of recurrence in high-risk breast cancer patients: US Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02. *Clin. Cancer Res*. 14(3), 797–803 (2008).

Peter J. DeMaria, MD, \*, Marijo Bilusic, MD, PhD. *Cancer Vaccines*. *Hematol Oncol Clin N Am* 33 (2019) 199–214.

Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Pérez Marc G, Moreira ED, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA, Roychoudhury S, Koury K, Li P, Kalina WV, Cooper D, French RW Jr, Hammitt LL, Türeci Ö, Nell H, Schaefer A, Ünal S, Tresnan DB, Mather S, Dormitzer PR, Şahin U, Jansen KU, Gruber WC; C4591001 Clinical Trial Group. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020 Dec 31;383(27):2603-2615.

Rahman MA, Islam MS. Early approval of COVID-19 vaccines: Pros and cons. *Hum Vaccin Immunother*. 2021 Oct 3;17(10):3288-3296. doi: 10.1080/21645515.2021.1944742. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34283001; PMCID: PMC8437465.

Sadoff J, Gray G, Vandebosch A, Cárdenas V, Shukarev G, Grinsztejn B, Goepfert PA, Truyers C, Fennema H, Spiessens B, Offergeld K, Scheper G, Taylor KL, Robb ML, Treanor J, Barouch DH, Stoddard J, Ryser MF, Marovich MA, Neuzil KM, Corey L, Cauwenberghs N, Tanner T, Hardt K, Ruiz-Guiñazú J, Le Gars M, Schuitemaker H, Van Hoof J, Struyf F, Douoguih M; ENSEMBLE Study Group. Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2021 Jun 10;384(23):2187-2201.

Serabian, M.A. and A.M. Pilaro. 1999. Safety assessment of biotechnology-derived pharmaceuticals: ICH and beyond. *Toxicol Pathol* 27: 27–31.

Silveira MM, Moreira GMSG, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life Sci*. 2021 Feb 15;267:118919. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118919. Epub 2020 Dec 19. PMID: 33352173; PMCID: PMC7749647.

Steffen Rausch, Christian Schwentner, Arnulf Stenl & Jens Bedke (2014). *mRNA vaccine CV9103 and CV9104 for the treatment of prostate cancer*. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 10:11, 3146-3152. Sunil Thomas, Prendergast George C., *Vaccine Design: Methods and Protocols*. Volume 1: Vaccines for Human Diseases, Methods in Molecular Biology, vol. 1403.

Thomas, S., Prendergast, G.C. (2016). Cancer Vaccines: A Brief Overview. In: Thomas, S. (eds) *Vaccine Design. Methods in Molecular Biology*, vol 1403. Humana Press, New York, NY

Verbeke R, Lentacker I, De Smedt SC, Dewitte H. The dawn of mRNA vaccines: The COVID-19 case. *J Control Release*. 2021 May 10;333:511-520.

Yang B, Jeang J, Yang A, T C Wu & Chien-Fu Hung (2014) *DNA vaccine for cancer immunotherapy*. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 10:11, 3153-3164.

Yasmin F, Najeeb H, Moeed A, Naeem U, Asghar MS, Chughtai NU, Yousaf Z, Seboka BT, Ullah I, Lin CY, Pakpour AH. COVID-19 Vaccine Hesitancy in the United States: A Systematic Review. *Front Public Health*. 2021 Nov 23;9:770985. doi: 10.3389/fpubh.2021.770985. PMID: 34888288; PMCID: PMC8650625.

Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, Angus B, Baillie VL, Barnabas SL, Bhorat QE, Bibi S, Briner C, Cicconi P, Collins AM, Colin-Jones R, Cutland CL, Darton TC, Dheda K, Duncan CJA, Emary KRW, Ewer KJ, Fairlie L, Faust SN, Feng S, Ferreira DM, Finn A, Goodman AL, Green CM, Green CA, Heath PT, Hill C, Hill H, Hirsch I, Hodgson SHC, Izu A, Jackson S, Jenkin D, Joe CCD, Kerridge S, Koen A, Kwatra G, Lazarus R, Lawrie AM, Lelliott A, Libri V, Lillie PJ, Mallory R, Mendes AVA, Milan EP, Minassian AM, McGregor A, Morrison H, Mujadidi YF, Nana A, O'Reilly PJ, Padayachee SD, Pittella A, Plested E, Pollock KM, Ramasamy MN, Rhead S, Schwarzbold AV, Singh N, Smith A, Song R, Snape MD, Sprinz E, Sutherland RK, Tarrant R, Thomson EC, Török ME, Toshner M, Turner DPJ, Vekemans J, Villafana TL, Watson MEE, Williams CJ, Douglas AD, Hill AVS, Lambe T, Gilbert SC, Pollard AJ; Oxford COVID Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*. 2021 Jan 9;397(10269):99-111.

Yuan J, Ginsberg B, Page D, Li Y, Rasalan T, Gallardo HF, Xu Y, Adams S, Bhardwaj N, Busam K, Old LJ, Allison JP, Jungbluth A, Wolchok JD. CTLA-4 blockade increases antigen-specific CD8(+) T cells in prevaccinated patients with melanoma: three cases. *Cancer Immunol Immunother*. 2011 Aug;60(8):1137-46. doi: 10.1007/s00262-011-1011-9. Epub 2011 Apr 5. PMID: 21465316; PMCID: PMC3654853.