



CIENCIAS BIOMÉDICAS

Premio Anual de la Academia de Ciencias de Cuba, 2020

Reposicionamiento del anticuerpo monoclonal humanizado anti-CD6 itolizumab en el tratamiento de pacientes con COVID-19

Tania Crombet Ramos ^{1,4} * <https://orcid.org/0000-0002-2550-7292>
Mayra Ramos Suzarte ¹ <https://orcid.org/0000-0002-9058-3224>
Danay Saavedra Hernández ¹ <https://orcid.org/0000-0002-6614-3819>
Kalet León Monzón ^{1,4} <https://orcid.org/0000-0002-3709-7091>
Julio Betancourt Cervantes ² <https://orcid.org/0000-0001-8515-8226>
Lázaro Filgueira Morilla ² <https://orcid.org/0000-0003-2156-0456>
Carlos J. Hidalgo Mesa ² <https://orcid.org/0000-0003-4705-4519>
Yayquier Díaz Morales ² <https://orcid.org/0000-0003-2512-9516>
Zaima Mazorra Herrera ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3812-1767>
Patricia Lorenzo Luaces ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9164-0238>
Carmen Valenzuela Silva ¹ <https://orcid.org/0000-0002-1082-2089>
Geydi Lorenzo Monteagudo ¹ <https://orcid.org/0000-0002-5959-5665>
Meyán Cepeda Portales ¹ <https://orcid.org/0000-0002-7408-9939>
Armando Caballero López ^{3,4} <https://orcid.org/0000-0001-5308-9297>

¹ Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba

² Hospital Militar Universitario Manuel Fajardo Rivero. Villa Clara, Cuba

³ Hospital Arnaldo Milián Castro. Villa Clara, Cuba

⁴ Titular de la Academia de Ciencias de Cuba

*Autor para la correspondencia: taniac@cim.sld.cu

RESUMEN

Palabras clave

itolizumab; COVID-19; SARS-CoV-2; síndrome de liberación de citocinas; CD6; anticuerpo monoclonal

Introducción: La neumonía COVID-19 puede conducir a un estado hiperinflamatorio. El CD6 es una glicoproteína expresada en linfocitos T maduros que constituye un regulador crucial de la activación de las células T. El itolizumab es un anticuerpo monoclonal que reconoce el CD6. Los datos clínicos en enfermedades autoinmunes indican que reduce múltiples citocinas proinflamatorias. Objetivo: evaluar la seguridad y el impacto de itolizumab sobre la interleucina-6, la función pulmonar y la mortalidad de los pacientes con COVID-19. **Métodos:** Se incluyeron 68 pacientes moderados, severos y críticos en un ensayo de acceso expandido en Cuba. El itolizumab se administró junto con otras terapias incluidas en el protocolo nacional para el SARS-CoV-2. **Resultados:** Todos los pacientes completaron la primera infusión y 41, recibieron 2 dosis. La mediana de edad fue de 68 años y el 94 % era portador de comorbilidades. El itolizumab mejoró la función pulmonar y fue bien tolerado; 3 sujetos tuvieron eventos adversos graves relacionados. La interleucina-6 disminuyó en individuos con niveles altos y no se incrementó en aquellos pacientes con concentraciones más bajas. La tasa de letalidad a los 14 días fue del 4 % y del 18 % para los pacientes moderados y graves. Aunque este estudio no fue aleatorizado, los datos preliminares sugieren que itolizumab redujo la probabilidad de muerte en comparación con los controles. El tiempo de tratamiento, las manifestaciones neurológicas y los biomarcadores como la razón entre neutrófilos y linfocitos, recuento de



neutrófilos y la interleucina-6 se asociaron significativamente con mayor letalidad. Conclusiones. El itolizumab puede interrumpir la cascada inflamatoria y prevenir la morbilidad y mortalidad asociada al COVID-19.

Reprofiling the anti-CD6 antibody for the treatment of patients with COVID-19

ABSTRACT

Introduction: COVID-19 can lead to a hyper-inflammatory state. CD6 is a glycoprotein expressed on mature T-lymphocytes, which is a crucial regulator of the T-cell activation. Itolizumab is an antibody targeting CD6. Clinical data in autoimmune diseases indicate that it lowers multiple cytokines primarily involving the Th1/Th17 pathway. Objective: to preliminarily assess the safety and impact of itolizumab on interleukin-6, pulmonary function and mortality of COVID-19 patients. **Methods:** Sixty-eight moderate, severe and critical patients were included in an expanded-access trial in Cuba. Itolizumab was administered together with other therapies included in the national protocol for SARS-CoV-2. **Results:** All patients completed the first infusion and 41 received 2 doses. Median age was 68 and 94 % have comorbidities. Itolizumab improved the lung function and was well tolerated; 3 subjects had related serious adverse events. Interleukin-6 decreased in individuals with high levels and did not change in those with lower concentration. 14-day lethality rate was 4 % and 18 % for moderate and severe patients. Although this was not a randomized study, preliminary data suggest that itolizumab reduced the death probability in comparison to controls. Time to treatment, neurological manifestations, biomarkers like NLR, neutrophil count and interleukin-6 were significantly associated with higher lethality. **Conclusions.** Itolizumab can disrupt the inflammatory cascade and might prevent the COVID-19 associated morbidity and mortality.

Keywords

itolizumab; COVID-19; SARS-CoV-2; cytokine release syndrome; CD6; monoclonal antibody

INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es una enfermedad respiratoria aguda causada por el coronavirus altamente patógeno SARS-CoV-2. La enfermedad varía desde síntomas mínimos hasta hipoxia significativa con afectación extrapulmonar, que puede ser letal.

⁽¹⁾ La infección viral puede conducir a un estado hiperinflamatorio conocido como síndrome de liberación de citocinas. ⁽¹⁾

En las autopsias de COVID-19, se han encontrado infiltrados linfomonocíticos, donde predominan células T CD3 + sobre monocitos. ⁽²⁾ Ackermann y cols. describieron que los pulmones de pacientes fallecidos con COVID-19 o influenza tienen alta infiltración de linfocitos T. ⁽³⁾

La CD6 es una glicoproteína expresada en la superficie de células T maduras, linfocitos B-1 y células B inmaduras. La CD6 es muy importante para la sinapsis inmunológica entre las células presentadoras de antígeno y los linfocitos T activados. ⁽⁴⁾ La interacción entre CD6 y su ligando principal, ALCAM (CD166), desencadena la proliferación celular y la secreción de citocinas proinflamatorias. ⁽⁵⁾

Aunque los mecanismos exactos que causan la respuesta exagerada contra el SARS-CoV-2 siguen siendo parcial-

mente desconocidos, ⁽⁶⁾ nuestra hipótesis fue que inhibir la activación de los linfocitos T con un anticuerpo antagonista del CD6 podría controlar la inflamación sistémica y reducir la morbilidad y la mortalidad asociadas con la enfermedad.

El itolizumab es anticuerpo monoclonal humanizado (AcM) que reconoce el dominio 1 del CD6 humano, que se generó en el Centro de Inmunología Molecular. ⁽⁷⁾ Este AcM previene la activación y proliferación de las células T. Esta inhibición conduce a una reducción marcada de las citocinas pro-inflamatorias, que involucran las vías Th17 y Th1, incluidas la interleucina (IL) 17A, TNF- α , IL6, interferón (IFN)- γ e IL-2. ⁽⁸⁾ Se ha utilizado ampliamente en pacientes con artritis reumatoide y psoriasis, reduciendo significativamente los niveles séricos de IL-6, TNF- α e IFN- γ . ^(9,10) En un ensayo clínico Fase III en pacientes con psoriasis moderada a grave realizado en la India, el AcM itolizumab fue eficaz y bien tolerado. ⁽¹¹⁾

Debido al potente efecto inmunomodulador del itolizumab, en Cuba se aprobó un protocolo de acceso expandido. En este trabajo, presentamos los resultados de seguridad y evolución clínica de los primeros 68 pacientes moderados, graves y críticos con COVID-19 tratados con itolizumab en 10 hospitales.

El objetivo principal fue evaluar el impacto del itolizumab en la detención del deterioro de la función pulmonar, medido como la proporción de pacientes sin necesidad de aumentar la fracción inspirada de oxígeno (FiO_2) para mantener la saturación y la tasa de pacientes que mejoraron la razón PaO_2/FiO_2 , a los 3 días de la infusión del itolizumab. Los objetivos secundarios fueron los siguientes: tasa de pacientes que necesitaron ventilación mecánica, duración de la ventilación y tasa de mortalidad a los 14 días de la administración del anticuerpo.

MÉTODOS

Se trató de un ensayo abierto, de acceso expandido en el que pacientes cubanos positivos al virus SARS-CoV-2 en la etapa de la enfermedad moderada, grave o crítica, recibieron itolizumab en combinación con otras terapias incluidas en el protocolo nacional para COVID-19. El diagnóstico se confirmó mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR). Adicionalmente los pacientes recibieron otras terapias tales como en lopinavir / ritonavir, cloroquina e IFN α 2b. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: edad ≥ 18 años, neumonía intersticial multifocal, necesidad de oxigenoterapia para mantener la saturación de oxígeno (SaO_2) $> 93\%$ y empeoramiento de la afectación pulmonar. Alternativamente, se prescribió a pacientes que presentaban una de las siguientes condiciones: sibilancias o habla irregular, frecuencia respiratoria superior a 22 inspiraciones/minuto, (presión de oxígeno)

$PaO_2 < 65$ mm Hg, fiebre persistente ≥ 38 °C, triglicéridos > 3 mmol/L, aumento de ferritina, transferasas amino-aspartato (AST) ≥ 30 UI/L, aumento del dímero D, fibrinógeno $< 2,5$ g/L o aparición de manifestaciones neurológicas.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" y por la Agencia Reguladora de Cuba. Todas las investigaciones se llevaron a cabo de conformidad con la Declaración de Helsinki. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes con plena conciencia, antes del tratamiento con itolizumab. Un tutor legal otorgó el consentimiento para los pacientes con trastornos cognitivos. El protocolo fue registrado en el Registro Nacional de Ensayos Clínicos (<http://rpcec.sld.cu/trials/RPCEC00000311-En>).

Los pacientes críticos enfermos se definieron como aquellos que requieren ventilación mecánica o aquellos que tienen insuficiencia respiratoria (presión parcial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno, $PaO_2/FiO_2 < 200$), shock séptico o disfunción multiorgánica. Los individuos graves fueron aquellos que tenían una frecuencia respiratoria > 30 inspiraciones/minuto, $SaO_2 \leq 93\%$, $PaO_2/FiO_2 < 300$ o infil-

trados pulmonares $> 50\%$. Los pacientes moderados tenían evidencias clínicas o imagenológicas infección respiratoria baja y $SaO_2 > 93\%$. Solo se incluyeron en el ensayo pacientes moderados con alto riesgo de agravamiento. Los factores de riesgo de empeoramiento fueron la edad ≥ 65 y las comorbilidades asociadas a la mortalidad por COVID-19: hipertensión, enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad y déficit nutricional.

Para evaluar preliminarmente el impacto del itolizumab en la supervivencia, se seleccionó un grupo control entre los pacientes cubanos con COVID-19, que recibieron el resto de fármacos incluidos en el protocolo nacional, pero no agentes inmunomoduladores, según la base nacional de junio 2020. Para los pacientes graves y críticos, se seleccionaron todos los pacientes tratados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), sin terapias biológicas ($n = 51$). Para la enfermedad moderada, se seleccionaron pacientes con evidencia de enfermedad respiratoria baja y al menos una de las condiciones consideradas de mal pronóstico para COVID-19 ($n = 78$). Se estimó la razón de probabilidades (OR) de muerte para los controles en comparación con los pacientes tratados con itolizumab. Además, se estimó el riesgo de ingreso en UCI para los pacientes moderados con 2 comorbilidades.

Los eventos adversos se clasificaron de acuerdo con los Criterios Comunes de Toxicidad, versión 5. El hemograma completo se realizó al inicio del estudio y luego a diario, hasta 168 h después de la administración de itolizumab. Se evaluaron otros parámetros bioquímicos como proteína C reactiva, triglicéridos, fibrinógeno, ferritina, AST y el dímero D. En 30 pacientes, la IL-6 se cuantificó en suero antes y 48 h después de la administración del itolizumab. La concentración de IL-6 se midió usando un kit de ELISA *Quantikine* (R&D Systems, Minneapolis, EUA).

El tratamiento consistió en una infusión intravenosa de 200 mg de itolizumab diluidos en 200 ml de cloruro de sodio. Los pacientes pudieron recibir una segunda dosis del anticuerpo, si aún presentaban signos de dificultad respiratoria. La duración de la infusión fue de al menos 2 h. El producto de investigación se almacenó de 2 °C a 8 °C.

Se analizaron las características demográficas y clínicas según los grupos de gravedad de la enfermedad. El poder discriminativo de varios biomarcadores con respecto a la gravedad de la enfermedad y la mortalidad se evaluó mediante análisis de curvas operativas del receptor (ROC). Se estimó la razón de probabilidad de mortalidad para varias variables independientes que incluyeron los datos demográficos, comorbilidades y los parámetros de laboratorio. Los análisis se realizaron con el software SPSS versión 25 y R.

RESULTADOS

Sesenta y ocho (68) pacientes confirmados con SARS-CoV-2 (30 hombres y 38 mujeres) con enfermedad moderada, grave o crítica, se incluyeron en el ensayo de acceso expandido con itolizumab, en 10 hospitales cubanos entre el 4 de abril y el 13 de mayo de 2020.

Los pacientes severos y críticos recibieron tratamiento con itolizumab en la unidad de cuidados intensivos (UCI). De los 45 pacientes graves o críticos, 25 tenían ventilación mecánica en el momento del tratamiento. Los individuos moderados de alto riesgo se trataron en la sala general del hospital.

La Tabla 1 muestra los datos demográficos y las comorbilidades de la población seleccionada. En general, la mediana de edad fue de 68 años (29-100) y el 94 % de los sujetos tenían al menos una comorbilidad (Tabla 1). Las condiciones concomitantes asociadas más frecuentes fueron la hipertensión (66,2 %), enfermedad cardiovascular (33,8 %) y diabetes mellitus (32,4%). La mayoría de los pacientes moderados de alto riesgo (82,6 %) ingresaron al estudio después de un evento de transmisión local en un hogar de ancianos. Esta población de la tercera edad se caracterizó por una alta prevalencia de demencia y déficit nutricional. La mayoría de los pacientes recibió tratamiento con lopinavir/ritonavir, cloroquina e IFN α 2b antes de ingresar al ensayo. Solo el 66 % de los pacientes de la UCI recibió anticoagulantes y el 55 % de los pacientes críticos se mantuvo con IFN α 2b, a pesar del empeoramiento de la enfermedad.

El tiempo entre los primeros síntomas y el itolizumab fue de 10 días para los pacientes críticos, de 7,5 días para los graves y de 1 día para los enfermos moderados. Todos los pacientes completaron la primera infusión de itolizumab, 41 (60,3 %) recibieron 2 dosis, mientras que 3 pacientes (4,4 %) recibieron 3 dosis del AcM. Después de 72 h, el 83,3 % de los enfermos graves y el 63,6 % de los pacientes críticos no necesitaron intensificación de la fracción de oxígeno inspirada (FiO $_2$) para mantener la saturación de oxígeno. Además, el 83,3 % de los pacientes graves y el 55 % de los críticos mejoraron significativamente el índice PaO $_2$ /FiO $_2$. La Figura 1 muestra las radiografías de tórax de 2 pacientes representativos que muestran una pronta recuperación radiológica después de la administración del AcM.

Solo 8 pacientes de los 43 no ventilados en el momento del ingreso al ensayo requirieron ventilación mecánica adicional. Después del itolizumab, la mediana de duración de la ventilación fue de 8 días para los casos críticos y de 1 día para los casos graves. Solo 4 de los 23 pacientes moderados de alto riesgo requirieron ingreso en la UCI después de la administración de itolizumab. Tres de estos 4 individuos se recuperaron con éxito.

En total, 24 pacientes (1 moderado, 3 graves y 20 críticos) fallecieron. La tasa de letalidad a los 14 días fue del 4,3 %, 18,7 % y 69 % para los individuos moderados, graves y críticos. El riesgo de mortalidad de los pacientes controles con el mismo grado de severidad de la enfermedad, pero que no recibieron fármacos inmunomoduladores, se comparó con la serie de pacientes tratados con itolizumab. Ambos grupos fueron homogéneos en términos demográficos y de las comorbilidades significativas, excepto por el déficit nutricional y la obesidad que fueron más frecuentes en los individuos tratados con itolizumab. En el caso de los sujetos moderadamente enfermos, se compararon los pacientes tratados y controles portadores de al menos 2 comorbilidades consideradas factores de mal pronóstico para COVID-19.

Los controles con enfermedad moderada no tratados con itolizumab tuvieron 3,2 veces más riesgo de ingresar en la UCI (OR 3,2; IC del 95 %: 0,9; 11,4) y 6,9 veces más riesgo de muerte (OR 6,9; IC del 95 %: 0,8; 50) que los pacientes tratados con itolizumab. El riesgo de morir de los pacientes graves del grupo control fue 3,85 veces mayor que el de los pacientes tratados con itolizumab (OR 3,85; IC del 95 %: 1,02; 14,3). En los pacientes críticos, el riesgo de morir fue 1,8 veces mayor en los controles que no recibieron itolizumab (OR 1,8 95 % CI 0,4; 8,3). Dado que el IFN α 2b pudo haber exacerbado la tormenta de citocinas, se realizó un análisis separado para los pacientes críticos que interrumpieron este tratamiento al agravarse. Los pacientes críticos del grupo control tuvieron un riesgo de muerte 6,2 veces mayor que los individuos críticos tratados con itolizumab: (OR 6,2 IC del 95 %: 0,9; 38,5).

En 30 pacientes, se determinaron las concentraciones séricas de interleucina 6 (IL-6) al ingresar al ensayo. El nivel de IL-6 fue significativamente mayor en pacientes críticos en comparación con pacientes graves o moderados. La concentración media de IL-6 fue 478,5 pg/mL para los críticos, 31,6 pg/mL para los graves y 19,1 pg/mL para los individuos moderados con alto riesgo de agravamiento. Se trazó una curva ROC para evaluar el valor predictivo de IL-6 sobre la gravedad. En nuestro conjunto de datos, la concentración de IL-6 que se asoció con la gravedad fue de 27,4 pg/mL. Se realizó una evaluación de la concentración de IL-6 antes y 48 h después de itolizumab en 23 pacientes con muestras. Los pacientes se agruparon considerando el punto de corte predeterminado para la gravedad de la enfermedad: 13 pacientes tenían niveles por encima de 27,4 pg/mL mientras que 10 pacientes tenían niveles más bajos de IL-6. Los pacientes por encima del umbral de corte tuvieron una mediana de 116,3 pg/mL y 78,8 pg/mL, antes y después del itolizumab. En este subconjunto "altamente inflamado", la concentración de IL-6 se redujo significativamente (Wilcoxon P = 0,028) después del tratamiento

Tabla 1. Características demográficas y enfermedades concomitantes según grupos de severidad

Características	Críticos		Severos		Moderados		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
	29	100	16	100	25	100	70	100	
Sexo	Femenino	11	37,9	12	75,0	16	64,0	39	55,7
	Masculino	18	62,1	4	25,0	9	36,0	31	44,3
Color de la piel	Blanco	19	65,5	9	56,3	15	60,0	43	61,4
	Mestizo	9	31,0	4	25,0	3	12,0	16	22,9
	Negra	1	3,4	3	18,8	4	16,0	8	11,4
	ND					3	12,0	3	4,3
Edad	Media ± DE	67,4 ± 14,0		66,9 ± 22,5		71,2 ± 17,7		68,7 ± 17,4	
	Mediana ± RI	66,0 ± 26,0		81,5 ± 39,0		75,0 ± 23,0		68,0 ± 30,0	
	min; max	(44; 92)		(29; 90)		(28; 100)		(28; 100)	
Pacientes con 1 comorbilidad	29	100,0	16	100,0	21	84,0	66	94,3	
Hipertensión	20	69,0	10	62,5	16	64,0	46	65,7	
Demencia	5	17,2	8	50,0	11	44,0	24	34,3	
Enfermedad cardiovascular	11	37,9	4	25,0	8	32,0	23	32,9	
Diabetes mellitus	12	41,4	4	25,0	6	24,0	22	31,4	
Asma bronquial	8	27,6	4	25,0	2	8,0	14	20,0	
Desnutrición	1	3,4	1	6,3	10	40,0	12	17,1	
Insuficiencia renal	6	20,7	3	18,8	0	0,0	9	12,9	
EPOC	4	13,8	--	--	5	20,0	9	12,9	
Obesidad	4	13,8	2	12,5	1	4,0	7	10,0	
Tabaquismo	1	3,4	3	18,8	2	8,0	6	8,6	
Hipotiroidismo	3	10,3	1	6,3	--	--	4	5,7	
Cáncer	4	13,8	--	--	--	--	4	5,7	

con el AcM anti-CD6. En contraste, la mediana de la concentración de IL-6 para los sujetos por debajo del límite fue de 13,8 pg/mL. La mediana de IL-6 post-tratamiento en el grupo de "inflamación baja" fue de 15,9 pg/mL. Los niveles de IL-6 antes y después de itolizumab no fueron significativamente diferentes. Concluimos que los niveles de IL-6 disminuyeron después del itolizumab en pacientes con altas concentraciones, mientras que no se incrementaron en pacientes con niveles iniciales bajos. El anticuerpo fue bien tolerado.

Globalmente, 22 de 68 pacientes (31,4 %) tuvieron eventos adversos (relacionados o no), mientras que solo 10 enfermos (14,3 %) desarrollaron eventos adversos relacionados. Veintiséis (26) eventos adversos de 84 (31 %) se clasificaron como posible o probablemente relacionados con el itolizumab. Los eventos adversos relacionados más frecuentes, leves o moderados consistieron en escalofríos, hipotensión, fiebre, taquicardia e hipoxia. Tres pacientes (4,3 %) tuvieron eventos adversos graves relacionados. Los eventos graves

consistieron en hiperreactividad de las vías respiratorias, fiebre, hipotensión, exantema, escalofríos, hipoxia, *shock* y cianosis, y se clasificaron como posiblemente relacionados con itolizumab. La hipoxia y el *shock* provocaron la muerte de un paciente, mientras que los eventos restantes se controlaron después de disminuir la velocidad de infusión o con antihistamínicos. Los 3 pacientes con eventos graves estaban ventilados y recibiendo lopinavir/ritonavir, cloroquina e IFNα2b.

Se evaluó el recuento de neutrófilos, linfocitos y plaquetas antes de itolizumab y luego diariamente durante una semana. En el momento de la inclusión, el recuento de neutrófilos se correlacionó con la gravedad: pacientes moderados ($3,7 \times 10^9/L$), graves ($5,4 \times 10^9/L$) y críticos ($10,8 \times 10^9/L$). Los recuentos de neutrófilos no aumentaron significativamente en los siguientes 7 días. En el momento de la admisión al ensayo, la tasa de pacientes con linfopenia grado 1 fue del 13 % para los pacientes moderados y graves frente al 43 % de los pacientes críticos. Una semana después de itolizumab, la pro-

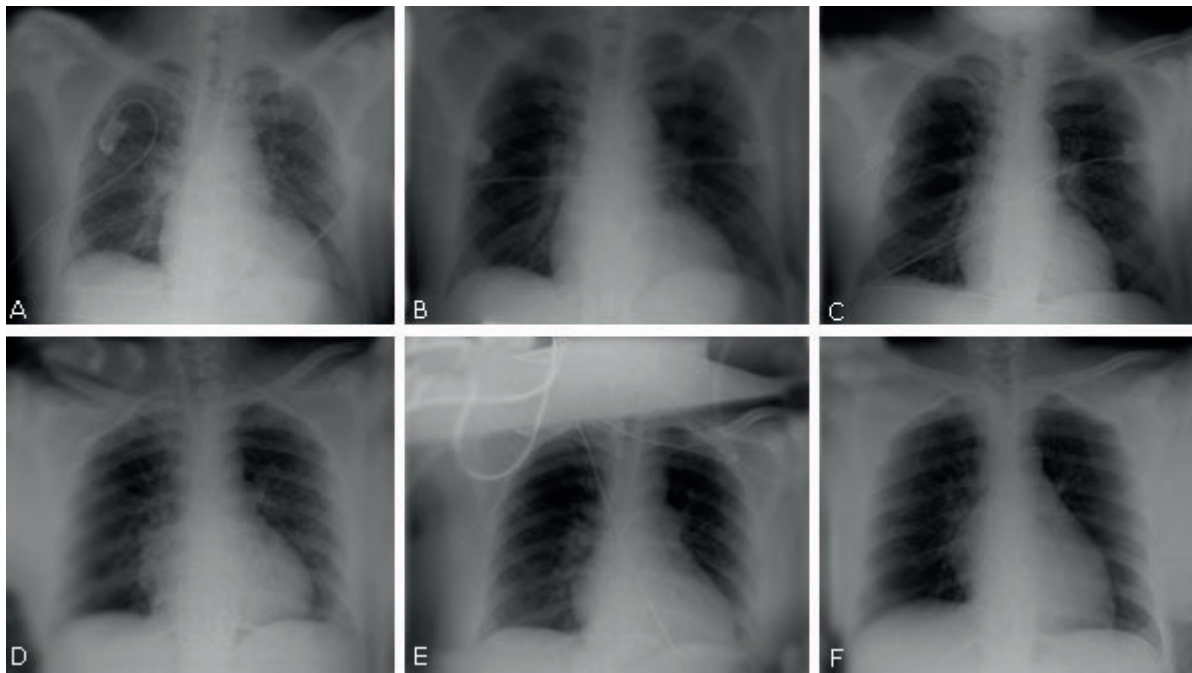


Fig. 1. Las radiografías de tórax en serie muestran una recuperación significativa en 2 pacientes con COVID después del tratamiento con itolizumab.

Tabla 2. Valores predictivos de severidad o mortalidad en COVID-19 según las curvas ROC de triglicéridos, *aspartato aminotransferasa* (AST), dímero D, interleucina 6 (IL6), recuento absoluto de leucocitos (ALC), neutrófilos, proporción de neutrófilos a linfocitos (NLR) y proporción de plaquetas a linfocitos (PLR)

Severidad							
	Área	Sig.	95% CI		Sensibilidad	Especificidad	Valor de corte
Triglicéridos	0,756	0,003	0,617	0,896	78,6 %	65,0 %	1,24 mmol/L
AST	0,858	0,000	0,749	0,966	82,8 %	85,0 %	20,5 IU/L
Dímero-D	0,783	0,009	0,603	0,964	80,0 %	78,6 %	1,35 µg/ml
IL6	0,828	0,002	0,683	0,973	71,4 %	73,9 %	27,4 pg/mL
ALC	0,838	0,000	0,740	0,936	82,9 %	70,8 %	6,55 x10 ⁹ /L
Neutrófilos	0,840	0,000	0,735	0,945	94,7 %	70,8 %	4,34 x10 ⁹ /L
NLR	0,799	0,000	0,685	0,913	70,6 %	82,6 %	4,91
PLR	0,673	0,029	0,524	0,823	75,8 %	69,6 %	135,0
Mortalidad							
	Área	Sig.	95% CI		Sensibilidad	Especificidad	Valor de corte
AST	0,802	0,000	0,667	0,937	83,3 %	71,0 %	22,1 IU/L
Dímero-D	0,742	0,035	0,515	0,969	80,0 %	63,2 %	1,35 µg/mL
IL6	0,770	0,033	0,527	1,000	71,4 %	73,9 %	53,4 pg/mL
ALC	0,727	0,003	0,592	0,863	72,7 %	65,1%	7,60 x 10 ⁹ /L
Neutrófilos	0,765	0,001	0,636	0,895	81,0 %	65,9 %	5,57 x 10 ⁹ /L
NLR	0,894	0,000	0,804	0,984	82,4 %	85,0 %	8,85
PLR	0,711	0,014	0,556	0,866	81,3 %	60,0 %	146,2

porción de sujetos con linfopenia de grado 2 fue de 0,11 % y 20 % para individuos moderados, graves y críticos. El recuento de plaquetas estuvo dentro del rango normal en todos los enfermos.

Se empleó el análisis ROC para definir puntos de corte predictivos de la gravedad y la mortalidad de varios biomarcadores de laboratorio. La Tabla 2 muestra el valor predictivo de triglicéridos, AST, dímero D, IL-6, recuento absoluto de leucocitos (ALC), neutrófilos, razón entre neutrófilos y linfocitos (NLR) y razón entre plaquetas y linfocitos (PLR) para la gravedad o mortalidad por COVID-19.

Además, se estimó la razón de probabilidades de muerte para varias variables independientes, incluidas las características demográficas, las comorbilidades importantes y los parámetros de laboratorio (Tabla 3). En el análisis de regresión logística univariado, el tiempo entre los síntomas y el itolizumab, el inicio de las manifestaciones neurológicas, AST, dímero D, recuento de neutrófilos, NLR, PLR e IL-6 se asociaron significativamente con mayor probabilidad de muerte. La única comorbilidad asociada con una probabilidad de muerte significativamente mayor fue la enfermedad renal crónica. El biomarcador asociado con el mayor riesgo de muerte fue el NLR.

DISCUSIÓN

Los síndromes de liberación de citocinas comprenden un grupo de trastornos con diversas etiologías que resultan en una inflamación exuberante, disfunción múltiple de órganos o incluso la muerte.⁽¹²⁾

El papel de las células T activadas en la patogenia de COVID-19 no se comprende completamente. Tras la activación, los linfocitos T secretan citocinas como IL-6, IFN γ , IL-21, IL-17 que estimulan la respuesta inmune innata y adaptativa contra el virus.⁽¹³⁾

El CD6 es un regulador crucial de la activación de las células T.⁽¹⁴⁾ El itolizumab es un anticuerpo no depletante que reconoce CD6.⁽⁸⁾ Los datos clínicos indican que el anticuerpo actúa directamente sobre células T y reduce múltiples citocinas y factores de transducción que involucran principalmente las vías Th1 y Th17.⁽⁸⁾ Nuestra hipótesis de trabajo fue que el uso de un anticuerpo anti-CD6 podría reducir la concentración de varias citocinas proinflamatorias, lo que representa una ventaja en comparación con los anticuerpos bloqueadores de una sola citocina. La administración de itolizumab también puede favorecer un fenotipo de regulador en vez de efector.⁽¹⁵⁾

El itolizumab se administró a 68 pacientes con COVID-19 en combinación con otros fármacos incluidos en el protocolo cubano. Nuestra serie tuvo un pronóstico muy desfavorable: el 37 % tenía más de 80 años y todos, excepto 4 individuos, tenían enfermedades predictivas de mal pronóstico. Las co-

morbilidades y la edad exacerban las manifestaciones de la enfermedad, aumentando la susceptibilidad al daño endotelial y la desregulación del síndrome metabólico.⁽¹⁷⁾ El itolizumab fue bien tolerado y solo se constataron eventos graves relacionados en el 4,2 % de los pacientes. No se observaron cambios importantes en el recuento de linfocitos, más allá del curso natural de la enfermedad.⁽¹⁸⁾ Los eventos adversos más comunes fueron similares a los encontrados previamente en enfermedades autoinmunes.^(8,11)

Tabla 3. Análisis univariado de riesgo morir para variables demográficas, clínicas y de laboratorio

		Odds ratio	IC 95 %	
Generales	Edad (> 65)	1,520	0,539	4,289
	TimeSintT1 (>7)	6,429	2,096	19,718
	Manifestaciones neurológicas	6,154	1,345	28,154
Comorbilidades	HTA	0,587	0,208	1,658
	DM	1,905	0,668	5,433
	Cardiopatía	1,703	0,603	4,811
	EPOC	0,905	0,205	3,994
	Cáncer	1,909	0,252	14,488
	Enfermedad renal crónica	3,333	0,837	13,277
	Asma	1,500	0,452	4,981
	Obesidad	1,429	0,292	6,987
	Desnutrición	0,309	0,062	1,547
Otros tratamientos	IFN	1,278	0,468	3,489
	EPO	0,702	0,214	2,301
	Esteroides	1,905	0,668	5,433
	Fraxiheparina	0,514	0,168	1,578
	Cloroquina	0,333	0,052	2,150
	Vitaminas	0,789	0,285	2,188
Valores iniciales de laboratorio	Triglicéridos (>1.35)	1,467	0,444	4,846
	ASAT (>22.1)	11,667	2,696	50,490
	ASAT (>46)	17,500	3,167	96,705
	Dímero D (>1.35)	6,857	1,124	41,827
	Leucocitos totales (>7.60)	5,744	1,826	18,065
	Neutrófilos (>5.57)	9,563	2,648	34,532
	NLR (>8.22)	30,800	6,460	146,853
PLR (>171.6)	3,771	1,085	13,108	
IL-6 (>53.4)	4,504	0,412	50,000	

La IL-6 es la principal citocina responsable del síndrome hiperinflamatorio en COVID-19. ^(1, 19) El AcM itolizumab redujo esta citocina en individuos con concentraciones muy altas y previno el aumento de IL-6 en pacientes moderados con alto riesgo de inflamación. Está documentado que la ablación de IL-6 puede deprimir la respuesta de las células B y retrasar la respuesta antiviral. ⁽¹⁶⁾ En nuestra serie, la carga viral fue negativa en todos los pacientes clínicamente recuperados, lo que sugiere que el itolizumab no inhibió la respuesta inmune adaptativa.

El anticuerpo mejoró la función pulmonar de los pacientes graves y críticos. Aunque este no fue un estudio controlado y aleatorizado, los datos preliminares sugieren que el itolizumab redujo la probabilidad de muerte en comparación con los controles que no lo recibieron. La administración de itolizumab en pacientes ancianos con 2 o más comorbilidades, también evitó el ingreso en la UCI. ⁽¹⁷⁾ En individuos críticos, el impacto de itolizumab fue mayor que en sujetos que interrumpieron IFN α 2b al momento del empeoramiento. La administración del IFN de tipo I después del día 10 de los síntomas, podría haber activado aún más el sistema inmune innato, ^(20, 21) contrarrestando el efecto antiinflamatorio del anticuerpo. Nuestra serie, corresponde al inicio de la epidemia en Cuba. En consecuencia, solo dos tercios de los pacientes críticos recibieron anticoagulación. En adición, muchos pacientes críticos se incluyeron después de haber estado en régimen de ventilación mecánica invasiva durante más de 72 h.

Concluimos que es mejor utilizar el itolizumab antes que los pacientes lleguen al estado crítico o al comienzo del mismo. En esta etapa de esta enfermedad, las consecuencias de la hiperinflamación, incluyendo la trombosis microvascular o macrovascular, la membrana hialina y la lesión alveolar, pueden ser irreparables. ⁽⁶⁾ La inflamación sistémica también puede haber afectado de manera irreversible a los glomérulos, el corazón o el hígado. ⁽²²⁾

Dado que la inmunomodulación oportuna es crucial, es necesario identificar los pacientes que tienen más riesgo de progresar a una forma grave de la enfermedad. En nuestro estudio, los biomarcadores asociados con mayor probabilidad de muerte fueron el cociente NLR, la transferasa amino-aspartato, el recuento de neutrófilos y la IL-6. NLR, un marcador inflamatorio sistémico reconocido, ⁽²³⁾ se asoció con la mayor letalidad.

Para controlar la tormenta de citocinas asociada con COVID-19, se han evaluado otros fármacos antiinflamatorios. En un gran metaanálisis de 7 ensayos aleatorizados en pacientes críticos, la mortalidad a los 28 días fue menor entre los pacientes que recibieron corticosteroides en comparación con los tratados con la atención de soporte o placebo.

⁽²⁴⁾ El riesgo absoluto de muerte fue del 32 % con corticosteroides vs. 40 % con placebo o terapia de soporte. La dexametasona redujo la mortalidad a los 28 días en pacientes con ventilación mecánica invasiva o que recibían oxigenoterapia.

⁽²⁵⁾ Sin embargo, la mortalidad no disminuyó en pacientes sin oxígeno suplementario. ⁽²⁶⁾ El efecto mayor se observó en pacientes ventilados. A diferencia de la dexametasona, el efecto de itolizumab fue mayor en pacientes moderados y graves.

Por otro lado, el AcM tocilizumab, que reconoce el receptor de IL6, no logró reducir la mortalidad de los pacientes graves con COVID-19 en el ensayo Fase III de registro. Los resultados aún no se han publicado. ⁽²⁷⁾

En resumen, el anticuerpo itolizumab fue bien tolerado, redujo significativamente los niveles de IL-6 o impidió la secreción excesiva de citocinas proinflamatorias. La mayoría de los pacientes mostraron mejoría de la función ventilatoria y egresaron rápidamente de las unidades de cuidados intensivos. Recientemente concluyó un ensayo aleatorizado de 30 pacientes con COVID-19 moderado y grave en la India ⁽¹⁵⁾. Según los datos iniciales, todos los pacientes asignados al grupo de itolizumab se recuperaron, mientras que solo se recuperó el 70 % de los pacientes controles. ⁽²⁸⁾

Conclusiones

La administración oportuna del itolizumab guiada por biomarcadores, puede interrumpir la cascada hiperinflamatoria y prevenir la morbilidad y la mortalidad relacionadas con el síndrome de liberación de citocinas.

Agradecimientos

Expresamos nuestra gratitud al resto de los médicos, enfermeras y personal de la salud en general que trataron a los pacientes con COVID-19 y participaron en este estudio de acceso expandido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atal S, Fatima Z. IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19: A Promising Therapy? *Pharmaceut Med*. 2020.
2. Aguiar D, Lobrinus JA, Schibler M, Fracasso T, Lardi C. Inside the lungs of COVID-19 disease. *Int J Legal Med*. 2020;134(4):1271-4.
3. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020.
4. Santos RF, Oliveira L, Carmo AM. Tuning T Cell Activation: The Function of CD6 At the Immunological Synapse and in T Cell Responses. *Curr Drug Targets*. 2016;17(6):630-9.
5. Dogra S, Uprety S, Suresh SH. Itolizumab, a novel anti-CD6 monoclonal antibody: a safe and efficacious biologic agent for ma-

- nagement of psoriasis. *Expert Opin Biol Ther.* 2017;17(3):395-402.
6. Lippi G, Sanchis-Gomar F, Henry BM. COVID-19: unravelling the clinical progression of nature's virtually perfect biological weapon. *Ann Transl Med.* 2020;8(11):693.
 7. Osorio LM, García CA, Jondal M, Chow SC. The anti-CD6 mAb, IOR-T1, defined a new epitope on the human CD6 molecule that induces greater responsiveness in T cell receptor/CD3-mediated T cell proliferation. *Cell Immunol.* 1994;154(1):123-33.
 8. Hernández P, Moreno E, Aira LE, Rodríguez PC. Therapeutic Targeting of CD6 in Autoimmune Diseases: A Review of Cuban Clinical Studies with the Antibodies IOR-T1 and Itolizumab. *Curr Drug Targets.* 2016; 17(6):666-77.
 9. Aira LE, Hernandez P, Prada D, Chico A, Gomez JA, Gonzalez Z, et al. Immunological evaluation of rheumatoid arthritis patients treated with itolizumab. *MAbs.* 2016;8(1):187-95.
 10. Aira LE, López-Requena A, Fuentes D, Sánchez L, Pérez T, Urquiza A, et al. Immunological and histological evaluation of clinical samples from psoriasis patients treated with anti-CD6 itolizumab. *MAbs.* 2014;6(3):783-93.
 11. Krupashankar D, Dogra S, Kura M, Saraswat A, Budamakuntla L, Sumathy T, et al. Efficacy and safety of itolizumab, a novel anti-CD6 monoclonal antibody, in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase-III study. 2014;71(3):484-92.
 12. Sumathy T, et al. Efficacy and safety of itolizumab, a novel anti-CD6 monoclonal antibody, in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase-III study. 2014; 71(3): 484-92.
 13. Miossec P. Understanding the cytokine storm during COVID-19: Contribution of preexisting chronic inflammation. *Eur J Rheumatol.* 2020.
 14. Ghnewa YG, Fish M, Jennings A, Carter MJ, Shankar-Hari M. Goodbye SIRS? Innate, trained and adaptive immunity and pathogenesis of organ dysfunction. *Med Klin Intensivmed Notfmed.* 2020;115(Suppl 1):10-4.14.
 15. Ma C, Wu W, Lin R, Ge Y, Zhang C, Sun S, et al. Critical Role of CD6highCD4+ T Cells in Driving Th1/Th17 Cell Immune Responses and Mucosal Inflammation in IBD. *J Crohns Colitis.* 2019;13(4): 510-24.
 16. Loganathan S, Athalye SN, Joshi SR, Eoobt. Itolizumab, an anti-CD6 monoclonal antibody, as a potential treatment for COVID-19 complications. 2020.16. Gubernatorova EO, Gorshkova EA, Polinova AI, Drutskaya MS. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020;53:13-24.
 17. Poor HD, Ventetuolo CE, Tolbert T, Chun G, Serrao G, Zeidman A, et al. COVID-19 critical illness pathophysiology driven by diffuse pulmonary thrombi and pulmonary endothelial dysfunction responsive to thrombolysis. *Clin Transl Med.* 2020.
 18. He R, Lu Z, Zhang L, Fan T, Xiong R, Shen X, et al. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. *J Clin Virol.* 2020;127:1043-61.
 19. Grifoni E, Valoriani A, Cei F, Lamanna R, Gelli AMG, Ciambotti B, et al. Interleukin-6 as prognosticator in patients with COVID-19. *J Infect.* 2020;81(3):452-82.
 20. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host Microbe.* 2016;19(2):181-93.
 21. Channappanavar R, Fehr AR, Zheng J, Wohlford-Lenane C, Abrahante JE, Mack M, et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J Clin Invest.* 2019;129(9):3625-39.
 22. Nunes Duarte-Neto A, de Almeida Monteiro RA, da Silva LFF, Malheiros D, de Oliveira EP, Theodoro Filho J, et al. Pulmonary and systemic involvement of COVID-19 assessed by ultrasound-guided minimally invasive autopsy. *Histopathology.* 2020.
 23. Dolan RD, Lim J, McSorley ST, Horgan PG, McMillan DC. The role of the systemic inflammatory response in predicting outcomes in patients with operable cancer: Systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7(1):16717.24. Group WHOREAfC-TW, Sterne JAC, Murthy S, Diaz JV, Slutsky AS, Villar
 24. J, et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA.* 2020.
 25. Group RC, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med.* 2020; Jul 17.
 26. Waterer GW, Rello J. Steroids and COVID-19: We Need a Precision Approach, Not One Size Fits All. *Infect Dis Ther.* 2020.
 27. Malgie J, Schoones JW, Pijls BG. Decreased mortality in COVID-19 patients treated with Tocilizumab: a rapid systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clin Infect Dis.* 2020.
 28. Rathi S, Kalantri S, Sijjome. Ethics of clinical research and practice in India during the Covid-19 pandemic. 2020; 5(3).

Recibido: 25/05/2021

Aprobado: 10/08/2021

Conflicto de intereses

Nueve autores trabajan en el Centro de Inmunología Molecular, el centro que generó y patentó el anticuerpo monoclonal itolizumab. El resto de los autores no mantienen ninguna relación comercial o financiera que pueda constituir un potencial conflicto de intereses.

Contribución de los autores

- Conceptualización: Tania Crombet Ramos, Mayra Ramos Suzarte, Danay Saavedra Hernández
- Curación de datos: Patricia Lorenzo Luaces Álvarez, Carmen Valenzuela Silva, Geidy Lorenzo Monteagudo, Meylán Cepeda Portales
- Análisis formal: Tania Crombet Ramos, Mayra Ramos Suzarte, Danay Saavedra Hernández, Armando Caballero López, Kalet León Monzón, Julio Betancourt Cervantes, Lázaro M. Filgueira Morilla, Carlos J Hidalgo Mesa, Yayquier Díaz Morales, Zaima Mazorra Herrera, Geidy Lorenzo Monteagudo, Meylán Cepeda Portales

- Investigación: Armando Caballero López, Julio Betancourt Cervantes, Lázaro M. Filgueira Morilla, Carlos J Hidalgo Mesa, Yaqvier Díaz Morales, Danays Saavedra
- Metodología: Mayra Ramos Suzarte, Danay Saavedra Hernández, Geidy Lorenzo Monteagudo, Meylán Cepeda Portales
- Administración del proyecto: Tania Crombet Ramos
- Recursos: Kalet León Monzón
- Software: Patricia Lorenzo Luaces Álvarez
- Supervisión: Mayra Ramos Suzarte
- Validación: Patricia Lorenzo Luaces Álvarez
- Redacción: Tania Crombet Ramos, Mayra Ramos Suzarte, Danay Saavedra Hernández

- Redacción - revisión y edición: Tania Crombet Ramos, Mayra Ramos Suzarte, Danay Saavedra Hernández

Financiación

Esta investigación se financió por el Centro de Inmunología Molecular y por el Ministerio de Salud Pública de Cuba.

Cómo citar este artículo

Crombet Ramos T, Ramos Suzarte M, Saavedra Hernández D, León Monzón K *et al.* Reposicionamiento del Anticuerpo Monoclonal humanizado anti-CD6 itolizumab en el tratamiento de pacientes con COVID-19. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba [internet] 2021[citado en día, mes y año];11(3): e1036. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1036>

