

# Seguridad e inmunogenicidad demostradas de la inmunoterapia activa específica empleando VEGF como antígeno en pacientes con tumores sólidos avanzados

## Autoría principal

Jorge V. Gavilondo Cowley<sup>1</sup>, Francisco Hernández-Bernal<sup>1</sup>, Marta Ayala Avila<sup>1</sup>, Ana V. de la Torre<sup>2</sup>.

## Otros autores

Josué de la Torre<sup>3</sup>, Yanelys Morera Díaz<sup>1</sup>, Mónica Bequet Romero<sup>1</sup>, Javier Sánchez<sup>1</sup>, Carmen M. Valenzuela<sup>1</sup>, Y. Martín<sup>2</sup>, Katty-Hind Selman Housein<sup>3</sup>, A. Garabito<sup>2</sup>, O.C. Lazo<sup>1</sup>.

## Colaboradores

C. Bermúdez<sup>1</sup>, R. Hernández<sup>1</sup>, I. Campa<sup>1</sup>, E. García<sup>1</sup>, A. Herrera<sup>1</sup>, G. Melo<sup>1</sup>, I. Raíces<sup>1</sup>, K. Cruz<sup>1</sup>, P. López-Saura<sup>1</sup>, L. Pérez<sup>1</sup>, A. Musacchio<sup>1</sup>, M. Pérez<sup>1</sup>, G. R. Hernández<sup>1</sup>, S. Padrón<sup>1</sup>, L. Trimiño<sup>1</sup>, A. I. Sánchez<sup>1</sup>, D. Pérez<sup>1</sup>. E.L. de Armas<sup>2</sup>, E. Ibañez<sup>2</sup>, L. J. López<sup>2</sup>, A. I. Zamora<sup>2</sup>, R. Ortiz<sup>2</sup>, E. Cárdenas<sup>2</sup>, U. Vázquez<sup>2</sup>, B. Hernández<sup>2</sup>, T. Bartomeu<sup>2</sup>, R. M. Moya<sup>2</sup>, M. Hurtado<sup>2</sup>, L. Borrero<sup>3</sup>, A. M. González<sup>3</sup>, O. Díaz<sup>3</sup>, K. Aroche<sup>3</sup>, M. Catalá<sup>3</sup>, M. Izquierdo<sup>3</sup>, J. Piñero<sup>3</sup>, O. Ramírez<sup>3</sup>, Y. Cruz<sup>3</sup>, J. A. Jordán<sup>3</sup>, M. Mesa<sup>3</sup>, R. González<sup>4</sup>, Y. González<sup>4</sup>, J. Agüero<sup>4</sup>, R. Llanes<sup>4</sup>, D. Quincoses<sup>4</sup>, J. L. Soriano<sup>5</sup>.

## Entidades ejecutoras principales

<sup>1</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana.

<sup>2</sup>Hospital "Celestino Hernández", Santa Clara, Villa Clara.

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas, La Habana.

## Entidades participantes

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", La Habana.

<sup>5</sup>Hospital Clínico Quirúrgico Universitario "Hermanos Ameijeiras", La Habana.

## Autor para correspondencia

Jorge V. Gavilondo Cowley

Laboratorio de Inmunoterapia de Cáncer, Depto. de Farmacéuticos. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

Ave 31 e/ 158 y 190, Cubanacán, Playa, La Habana 10600, Cuba

Telef.- 2716022 ext 7120;

email: jorge.gavilondo@cigb.edu.cu

## Aporte científico de cada autor al resultado

- ✓ **Jorge V. Gavilondo Cowley** (13%): Jefe del proyecto CIGB-247; diseño de protocolo clínico; preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; presentación del ensayo en el taller de inicio; control de resultados de laboratorio; análisis de resultados de laboratorio y generales; elaboración del informe final del ensayo clínico y defensa de resultados; seguimiento de resultados post-ensayo, escritura de la publicación y de las respuestas a los revisores de la revista; presentaciones de resultados en eventos internacionales.
- ✓ **Francisco Hernández Bernal** (11%): Monitor principal del ensayo; diseño de protocolo clínico; preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; presentación del ensayo en el taller de inicio; control de resultados clínicos;

análisis de resultados clínicos; elaboración del informe final del ensayo clínico y defensa de resultados; seguimiento de resultados post-ensayo, colaboración en la escritura de la publicación.

- ✓ **Marta Ayala Ávila** (11%): 2<sup>da</sup> jefa del Proyecto CIGB-247; diseño de protocolo clínico; preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; presentación del ensayo en el taller de inicio; control de resultados de laboratorio; análisis de resultados de laboratorio y clínicos; elaboración del informe final del ensayo clínico; seguimiento de resultados post-ensayo, colaboración en la escritura de la publicación; presentaciones de resultados en eventos nacionales e internacionales.
- ✓ **Ana V. de la Torre** (11%): Investigadora Clínica Principal a cargo del ensayo clínico y responsable de coordinación del ensayo en el Hospital Celestino Hernández; diseño de protocolo clínico; preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; reclutamiento y atención directa de pacientes; control de resultados clínicos; análisis de resultados clínicos; colaboración en la elaboración del informe final del ensayo clínico; seguimiento de resultados post-ensayo.
- ✓ **Josué de la Torre** (9%): Investigador responsable de coordinación del ensayo en el CIMEQ; diseño de protocolo clínico; reclutamiento y atención directa de pacientes; control de resultados clínicos; análisis de resultados clínicos; seguimiento de resultados post-ensayo.
- ✓ **Yanelys Morera Díaz** (6%): Preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; investigador responsable de los estudios de inmunología referentes a la actividad biológica de los anticuerpos circulantes en los pacientes vacunados durante el ensayo y posterior a este; colaboración en la elaboración del informe final del ensayo clínico; colaboración en la escritura de la publicación.
- ✓ **Mónica Bequet Romero** (6%): Preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; investigador responsable de los estudios de inmunología referentes a la respuesta celular periférica en los pacientes vacunados durante el ensayo y posterior a este; colaboración en la elaboración del informe final del ensayo clínico; colaboración en la escritura de la publicación.
- ✓ **Javier Sánchez Ramírez** (6%): Preparación de materiales escritos para presentación de solicitud de ensayo clínico al CECMED; investigador responsable de los estudios de inmunología referentes a la detección de anticuerpos específicos circulantes en los pacientes vacunados, y los niveles de VEGF en suero y plasma, durante el ensayo y posterior a este; colaboración en la elaboración del informe final del ensayo clínico; colaboración en la escritura de la publicación.
- ✓ **Carmen M. Valenzuela** (5%): Diseño de protocolo clínico; análisis estadístico de resultados; colaboración en elaboración del informe final del ensayo clínico.
- ✓ **Yenima Martín** (6%): Reclutamiento y atención directa de pacientes; control de resultados clínicos; análisis de resultados clínicos; seguimiento de resultados post-ensayo.
- ✓ **Katty-Hind Selman Housein** (6%): Reclutamiento y atención directa de pacientes; control de resultados clínicos; análisis de resultados clínicos; seguimiento de resultados post-ensayo.
- ✓ **Aracelys Garabito** (6%): Reclutamiento y atención directa de pacientes; control de resultados clínicos; análisis de resultados clínicos; seguimiento de resultados post-ensayo.
- ✓ **Odalys C. Lazo** (4%): Monitor del ensayo; control de resultados clínicos.

## Resumen

**Antecedentes.** Entre las nuevas estrategias de desarrollo de medicamentos anti-angiogénicos para el cáncer y otras enfermedades, la inmunoterapia activa específica es una línea de trabajo con intensa investigación, una de cuyas posibles ventajas está en el bajo perfil de toxicidad de estos tipos de tratamiento. Solo unos pocos candidatos vacunales han llegado a ensayo clínico, y estos han estado basados en el uso de células endoteliales completas y antígenos representativos de receptores del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGFA) humano. CIGB-247 es un preparado vacunal desarrollado en el CIGB basado en un antígeno recombinante representativo de la isoforma 121 del VEGF-A humano, combinado con un adyuvante de origen bacteriano (VSSP, producido en el CIM). En estudios preclínicos, CIGB-247 demostró inhibir el crecimiento tumoral y la metástasis en ratones, e inducir en ratón, en ratas, conejos y primates no humanos anticuerpos IgG que bloquean el VEGF-A, así como y respuestas celulares contra las células tumorales y del estroma tumoral que secretan este factor, en todos los casos con un excelente perfil de seguridad.

**Problema a resolver y Objetivos del trabajo.** Una vez producida la información preclínica necesaria (incluyendo estudios toxicológicos agudos y crónicos), y establecidos los procedimientos de producción escalada y en condiciones GMP para el antígeno vacunal, el objetivo era realizar el primer estudio en humano de la vacuna, para el cual no existen precedentes mundiales. Se preparó la documentación requerida y se presentó el expediente y solicitud de ensayo clínico Fase I al CECMED (denominado CENTAURO). El ensayo se diseñó atendiendo primeramente a obtener datos sobre la seguridad del producto, a tres dosis de antígeno diferentes (50, 100 y 400 ug de antígeno) y manteniendo constante la cantidad de VSSP. Como variable secundaria se definió la inmunogenicidad, medida por la presencia o no en sangre de anticuerpos IgG anti-VEGF y la capacidad de estos de bloquear la interacción entre VEGF-A y su receptor principal (VEGFR2 o KDR). La tercera prueba de respuesta inmune propuesta fue la detección de la presencia en sangre periférica de células mononucleares capaces de producir o no interferón gamma en respuesta a la estimulación *in vitro* con VEGF. En el estudio se incluirían 30 pacientes con tumores muy avanzados de diferentes localizaciones, sin posibilidad de otro tratamiento oncoespecífico y la mayoría con predicción de unos seis meses de vida. El esquema de vacunación incluiría 8 inmunizaciones (una semanal) y una re-inmunización en la semana 12, para terminar el ensayo en la semana 16 con la evaluación de seguridad, respuesta inmune y evolución de los pacientes. Una vez terminado el ensayo, y sobre la base de los datos de seguridad y bajo criterio de los facultativos encargados, los pacientes podían continuar la vacunación de forma mensual.

**Resultados.** El ensayo realizado entre 2011 y 2012 demostró que la vacuna CIGB-247 fue segura, con solo efectos adversos grado 1 y 2 mayormente en el sitio de la inyección. La vacuna CIGB-247 rompió la tolerancia al VEGF y fue inmunogénica según las tres pruebas realizadas, a todos los niveles de dosis ensayados, con una clara tendencia a un mayor número de pacientes con respuestas inmunes, y estas más tempranas y más mantenidas, según aumentaba la dosis. La vacunación crónica no provocó otros efectos adversos o efectos indeseables desde el punto de vista

inmunológico, viéndose por el contrario un beneficio para algunos pacientes. Aunque el ensayo no fue diseñado para obtener información de efecto, 11 de los 30 pacientes seguían vivos al menos un año después de la inclusión, a pesar de no haber recibido otro tratamiento oncoespecífico, dos de ellos con respuesta completa y varios con enfermedad estable. Una vez transcurridos dos o más años de la inclusión, tiempo durante el cual se han mantenido bajo inmunización mensual, 9 pacientes siguen vivos, con entre 31 y 35 meses de sobrevida acumulada. Se mantiene la presencia de anticuerpos específicos y bloqueadores para el VEGF-A.

**Conclusiones.** Se concluyó que la vacuna fue segura e inmunogénica, aspectos estos incluidos en el Informe Final aceptado por CECMED. Gracias a estos resultados, primeros a nivel mundial con una vacuna de este tipo, ha podido continuar el desarrollo clínico de CIGB-247. En este sentido, se diseñó, propuso, aprobó y ejecuto con éxito un segundo ensayo Fase I (b) (denominado CENTAURO-2), donde se valoraron aspectos adicionales de dosis y adyuvancia, y se discuten estudios de efecto (Fase II) en localizaciones tumorales específicas y en pacientes con enfermedades en etapas más tempranas.

### **Comunicación Corta**

Los detalles principales del resultado que se presenta aparecen recogidos en la publicación referida en el acápite 4, lugar donde también hemos adicionado algunos otros datos que permiten que el revisor conozca sobre el seguimiento clínico y de inmunología humoral de los pacientes descritos en el artículo, un año después de haberse publicado este. Por todo ello hemos considerado innecesario hacer una descripción del resultado restringida a cuatro cuartillas y más bien remitir al revisor a que revise detalladamente el artículo. En su lugar, para este acápite, hemos valorado como más importante recalcar los aspectos de originalidad (primera vez que se prueba en humanos una preparación de este tipo), impacto científico (los resultados sientan el precedente de seguridad e inmunogenicidad necesarios para continuar desarrollando esta preparación vacunal), y social (beneficio a un grupo importante de pacientes sin otras opciones de tratamiento), que justifican la aplicación a premio de la ACC 2014.

La vacuna terapéutica CIGB-247, que emplea como antígeno el Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF) humano, se inserta en el marco de dos tendencias importantes del tratamiento moderno del cáncer y, de forma más general, de varias importantes enfermedades crónicas del hombre. Primero, la vacuna tiene que ver con la inhibición de la neo-angiogénesis; a partir de los descubrimientos y postulados de Folkman<sup>1</sup>, la inhibición de la angiogénesis patológica se ha convertido en una amplia plataforma de desarrollo de fármacos, que abarca desde el cáncer (donde la neo-angiogénesis es vital tanto para la progresión del tumor primario como para su diseminación metastásica) hasta las degeneraciones maculares retinianas, pasando por los estados inflamatorios, y los autoinmunes. La vacuna CIGB-247 propone como diana el VEGF, Por otro lado, nuestro producto candidato es un procedimiento de inmunoterapia activa (específica), una de las formas más estudiadas hoy en día en la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de enfermedades humanas con productos biotecnológicos, constituyendo ya un por ciento apreciable de las nuevas

moléculas en desarrollo y ensayo clínico y solo superado por los anticuerpos monoclonales terapéuticos<sup>2</sup>.

La mayor novedad de la vacuna terapéutica CIGB-247 es que es la primera en su clase diseñada con VEGF como antígeno que se ensaya en el hombre. Actúa diferente a otras drogas anti-angiogénicas, cuyo modo de acción está limitado a afectar la interacción VEGF/receptor y donde se emplean en altas dosis farmacológicas, que producen frecuentemente efectos adversos graves y limitan su uso crónico. El perfil de seguridad de agentes dirigidos contra el VEGF tales como el Bevacizumab (el anticuerpo humanizado anti-VEGF desarrollado por Genentech y comercializado bajo el nombre comercial de Avastin®) incluyen la perforación intestinal, eventos trombo embólicos, embolismo pulmonar, hipertensión, hemorragias gastrointestinales y cerebrales o accidentes, como los eventos adversos más severos<sup>3</sup>. También se han descrito la toxicidad renal, incluyendo hipertensión más proteinuria y micro-angiopatías glomerulares<sup>4</sup>. Las toxicidades hematológicas son la anemia, neutropenia, trombocitopenia, así como la neutropenia febril<sup>5</sup>. Finalmente, se ha reportado un riesgo incrementado de fallo cardíaco congestivo en pacientes de cáncer de mama tratados con antraciclinas y radioterapia<sup>6</sup>. El artículo que se propone como centro de esta solicitud a premio demuestra el altísimo perfil de seguridad de la vacuna CIGB-247, lo que permite sin dudas continuar su desarrollo clínico y re-afirma las diferencias respecto a otros productos anti-angiogénicos.

Gracias a las características del antígeno recombinante que se emplea en la vacuna, donde el VEGF humano se ha mutado en residuos específicos y se produce como una proteína de fusión asociada a un dominio inmunogénico, así como debido a su empleo en combinación con un fuerte adyuvante (VSSP) de innegables propiedades que favorecen la respuesta inmune, la vacuna terapéutica CIGB-247 es capaz de romper la tolerancia a este auto-antígeno y se produce una respuesta de anticuerpos tipo IgG específicos. El artículo que se presenta en opción al premio es la primera publicación mundial que aparece de que este efecto, antes visto solo en otras especies experimentales, también se obtiene en humanos.

Las diferencias principales que tiene la vacuna terapéutica CIGB-247 respecto al Bevacizumab, son el espectro policlonal de los anticuerpos que se desarrollan y el hecho de que los títulos de anticuerpos anti-VEGF crecen discretamente con la inmunización progresiva y solo se estabilizan temporalmente con re-inmunizaciones crónicas. De esta forma, se logra un nivel mínimo de anticuerpos terapéuticos, siendo la cantidad de IgG anti-VEGF en sangre inferior a la concentración a la que se lleva por ejemplo, luego de la inyección de un bolo de Bevacizumab. Esta es quizás la razón principal por la cual la vacuna CIGB-247 tiene un excelente perfil de seguridad. Por otro lado, la permanencia de esta respuesta (comparable con una terapia “metronómica”), es el mecanismo principal por el cual los autores de este trabajo consideramos que, a pesar de los títulos discretos de anticuerpos específicos, la vacuna puede no obstante estar ejerciendo un efecto anti-angiogénico. El reporte de que los anticuerpos que se producen luego de la vacunación son capaces de bloquear la interacción VEGF/receptor 2, es un importante indicador a tener en cuenta en el futuro como

posible marcador sustituto de efecto. Si bien los anticuerpos no bloqueadores pueden contribuir a una menor biodisponibilidad del VEGF, el bloqueo puede ser el mecanismo más relacionado con lo que se ha descrito para otras drogas anti-angiogénicas, como el Bevacizumab.

En el caso específico de la posible aplicación de la vacuna terapéutica CIGB-247 en el escenario de los tumores malignos del hombre, esta preparación posee propiedades adicionales que no tienen otros productos anti-angiogénicos. En modelos animales el grupo que propone este resultado como premio había demostrado que la vacuna podía activar de forma específica la inmunidad celular y causar la muerte directa de células tumorales (mediada por linfocitos CD8+) que producen VEGF. Este mecanismo es mucho más difícil de demostrar en humanos, pero el artículo describe las evidencias que se obtuvieron en el ensayo clínico de que CIGB-247 también puede activar específicamente a células inmunes a producir interferón gamma. En este caso, también es el primer reporte en su tipo en el hombre.

Finalmente, aunque el ensayo no fue diseñado para obtener información de efecto, 11 de los 30 pacientes seguían vivos al menos un año después de la inclusión, a pesar de no haber recibido otro tratamiento oncoespecífico, dos de ellos con respuesta completa y varios con enfermedad estable.

Una vez transcurridos dos o más años de la inclusión, tiempo durante el cual se han mantenido bajo inmunización mensual, 9 pacientes siguen vivos, con entre 31 y 35 meses de sobrevida acumulada, dos de ellos con respuesta completa, uno con respuesta parcial y otros cinco con enfermedad estabilizada.

Los resultados obtenidos en el ensayo CENTAURO marcan una pauta especial en el desarrollo clínico acelerado de la vacuna CIGB-247, pues permitieron el diseño, propuesta, aprobación y ejecución con éxito un segundo ensayo Fase I (b) (denominado CENTAURO-2), donde se valoraron aspectos adicionales de dosis y adyuvancia, así como el comienzo del diseño de estudios de efecto (Fase II) en localizaciones tumorales específicas y en pacientes con enfermedades en etapas más tempranas.

## Referencias

- [1] Folkman J. (2007) Nat Rev Drug Discov 6(4):273.
- [2] Medicines in development. Biologics. Report 2013. America's Biopharmaceutical Research Companies. <http://www.phrma.org>
- [3] Taugourdeau-Raymond, S. et al. (2012) Eur J Clin Pharmacol 68(7):1103.
- [4] Beuzeboc, P. et al. (2012) Bull Cancer. 99(3):309.
- [5] Schutz, F.A. et al. (2011) Eur J Cancer 47(8):1161.
- [6] Choueiri, T.K. et al. (2011) J Clin Oncol 29(6):632.