

Demostración de la seguridad, inmunogenicidad y eficacia del candidato vacunal terapéutico HeberNasvac y nuevos aportes a la caracterización de las poblaciones de pacientes con Hepatitis B Crónica.

Autoría principal

Julio Cesar Aguilar¹, Jorge Aguiar¹, Eduardo Pentón¹, Gerardo Guillen¹, Verena Muzio¹, Yadira Lobaina¹, Luis Herrera Martinez¹, Mamun Al Mahtab², Salimur Rahman², Helal Uddin², Ruksana Raihan², Fazle Akbar³, Flor Pujol⁴, Carmen L. Loureiro⁴.

Otros autores

Freya Freire¹, Daymir García¹, Yamila León¹, Magalys Campos¹, Arístides Aguilar¹, Elías Nelson¹, Matilde López¹, Yanet Terrero¹, Karelía Cosme¹, Dania Bacardí¹, José Suarez¹, José García¹, Mariela Vázquez¹, Ricardo Silva¹, Mabel Izquierdo¹, Yamila Martínez¹, Dinorah Torres¹, Sakirul Khan², Shahina Tabassun², Afsalum Nessa², Munira Jahan², Shamin Kabir², Mohammed Kamal², Chowdury Mohammad², Yoichi Hiasa³, Osamu Yoshida³, Morikazu Onji³, Masanori Ave³, Bunzo Matsuura³, Shiyi Chen³.

Entidad ejecutora principal

¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) , Cuba.

Entidades participantes

²Universidad de Ciencias Médicas de Dhaka Sheikh Mujib (BSMMU), Bangladesh.

³Ehime University, Matsuyama, Japón.

⁴Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

Autor para correspondencia

Julio Cesar Aguilar Rubido.

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).

Ave. 31 entre 158 y 190, Cubanacán, Playa. Aptdo. postal 6162. La Habana, CUBA.

Fax: 214764, 218070, 336008.

Correo electrónico: julio.aguilar@cigb.edu.cu

Aporte científico de cada autor al resultado

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología CIGB:

El CIGB participó en el diseño, patente, desarrollo del producto y desarrollo clínico de HeberNasvac, producción del candidato vacunal cumpliendo GMP, monitoreo, preparación de documentos y caracterización de las poblaciones infectadas con la hepatitis B crónica, tanto en Cuba como en Bangladesh.

- ✓ **Julio Cesar Aguilar** (5%): Diseño, trabajo experimental, preparación de manuscritos, caracterización de pacientes.
- ✓ **Jorge Aguiar** (5%): Diseño, discusión y experimentos, caracterización de pacientes.
- ✓ **Eduardo Pentón** (5%): Diseño experimental, preparación y revisión de manuscritos.
- ✓ **Gerardo Guillen** (5%): Diseño experimental y revisión de manuscritos.
- ✓ **Verena Muzio** (5%): Diseño experimental y revisión de manuscritos.
- ✓ **Yadira Lobaina** (5%): Trabajo experimental.

- ✓ **Luis Herrera Martinez (5%):** Dirección general del proyecto y desarrollo de negociaciones.
- ✓ **Freya Freire (1%):** Diseño experimental y preparación de manuscritos.
- ✓ **Daymir García (1%):** Trabajo experimental.
- ✓ **Yamila León (1%):** Trabajo experimental.
- ✓ **Magalys Campos (1%):** Revisión de manuscritos, asuntos regulatorios.
- ✓ **Arístides Aguilar (1%):** Estudios clínicos.
- ✓ **Elías Nelson (1%):** Desarrollo del producto.
- ✓ **Matilde López (1%):** Desarrollo del producto.
- ✓ **Yanet Terrero (1%):** Desarrollo del producto.
- ✓ **Karelia Cosme (1%):** Estudios toxicológicos.
- ✓ **Dania Bacardí (1%):** Estudios toxicológicos.
- ✓ **José Suarez (1%):** Desarrollo del producto.
- ✓ **José García (1%):** Desarrollo del producto.
- ✓ **Mariela Vázquez (1%):** Propiedad intelectual.
- ✓ **Ricardo Silva (1%):** Desarrollo de negociaciones.
- ✓ **Mabel Izquierdo (1%):** Controles de calidad.
- ✓ **Yamila Martinez (1%):** Controles de calidad.
- ✓ **Dinorah Torres (1%):** Desarrollo de técnicas analíticas.

Universidad de Ciencias Médicas de Dhaka Sheikh Mujib (BSMMU), Bangladesh:

Científicos de esta institución de Bangladesh llevaron a cabo 2 de los 4 estudios clínicos desarrollados con el producto HeberNasvac como investigadores principales. Participaron en la compilación de los resultados y en la elaboración de los reportes de estudios clínicos. Participaron en la caracterización de los pacientes con Hepatitis B Crónica.

- ✓ **Mamun Al Mahtab (5%):** Estudios clínicos
- ✓ **Salimur Rahman (5%):** Estudios clínicos
- ✓ **Helal Uddin (5%):** Estudios clínicos
- ✓ **Ruksana Raihan (5%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Sakirul Khan (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Shahina Tabassun (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Afsalum Nessa (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Munira Jahan (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Shamin Kabir (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Mohammed Kamal (1%):** Estudios de caracterización de pacientes
- ✓ **Chowdury Mohammad (1%):** Estudios de caracterización de pacientes

Ehime University, Matsuyama, Japón:

Este centro participó en la evaluación de la respuesta inmune inducida por HeberNasvac en pacientes inmunizados en Bangladesh.

- ✓ **Fazle Akbar (5%):** Estudios clínicos, diseño, trabajo experimental.
- ✓ **Yoichi Hiasa (1%):** Trabajo experimental.

- ✓ **Osamu Yoshida (1%): Trabajo experimental.**
- ✓ **Morikazu Onji (1%): Trabajo experimental.**
- ✓ **Masanori Ave (1%): Trabajo experimental.**
- ✓ **Bunzo Matsuura (1%): Trabajo experimental.**
- ✓ **Shiyi Chen (1%): Trabajo experimental.**

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela:

Este centro participó en la caracterización de los genotipos virales prevalentes en Cuba y en el entrenamiento de personal del CIGB que se formó en la tecnología del genotipaje.

- ✓ **Flor Pujol (5%): Diseño experimental y trabajo de laboratorio y publicación.**
- ✓ **Carmen L. Loureiro (5%): Trabajo de laboratorio y publicación.**

Resumen

Antecedentes: La infección crónica por el VHB (HBC) es una de las principales causas de mortalidad a nivel internacional debido a la evolución a formas avanzadas de dicha enfermedad necroinflamatoria, entre ellas la cirrosis y el cáncer del hígado. Se estima en aproximadamente 300-350 millones los portadores crónicos del Virus de la Hepatitis B (VHB). HeberNasvac es un candidato vacunal terapéutico obtenido y desarrollado por el CIGB, que se basa en la administración intranasal y subcutánea de la combinación de los antígenos de superficie y de la cápsida del VHB en pacientes con HBC.

Planteamiento del problema: El objetivo del trabajo que se propone como premio anual de la ACC ha sido la evaluación clínica de HeberNasvac como alternativa segura, eficaz y competitiva respecto a los tratamientos convencionales para la HBC. En paralelo profundizar en la caracterización de la población afectada por la hepatitis B crónica en cuanto a variables virológicas, serológicas, bioquímicas e histológicas. El problema planteado ha sido resuelto a partir de la evaluación del candidato vacunal en 4 estudios clínicos en Cuba y Bangladesh, y la caracterización fenotípica y genotípica de la infección crónica por el VHB en ambos países.

Entre los **resultados** de la evaluación de HeberNasvac, se demostró una seguridad y eficacia superiores respecto al tratamiento con Interferón pegilado, terapia actual, reconocida a nivel mundial para esta enfermedad. En paralelo se caracterizaron las poblaciones de pacientes con hepatitis B crónica de Cuba y de Bangladesh, países en los que se desarrollaron los estudios clínicos. Todos los estudios realizados fueron aprobados por los correspondientes comités de ética, cumpliendo los principios establecidos para la investigación en seres humanos. El Estudio Clínico de eficacia fue desarrollado en Bangladesh en los últimos tres años. Dicho estudio ha sido auditado por la autoridad regulatoria cubana (CECMED) y cuenta con el certificado de Buenas Prácticas Clínicas extendido por dicha autoridad luego de una auditoría realizada al sitio clínico, laboratorios y documentación en Bangladesh. Adicionalmente, el CECMED ha revisado el Reporte Final del estudio clínico de eficacia y ha enviado su conformidad con el mismo, lo que abre las puertas al registro de este novedoso producto en el 2015. Los resultados clínicos han sido expuestos en los principales eventos de la temática

(EASL, APASL y AASLD), recibiendo reconocimientos en Estados Unidos y en la India. Los resultados se incluyen en 4 publicaciones y 4 reportes de estudios clínicos.

Conclusiones: Se demuestra el efecto terapéutico y la seguridad de HeberNasvac, resultado pionero en el escenario de las enfermedades infecciosas crónicas. Tanto la eficacia como la seguridad de HeberNasvac fue competitivamente superior a la terapia con el Interferón pegilado, de amplio reconocimiento internacional. Estos resultados abren la puerta a un nuevo tipo de producto en una enfermedad que constituye una de las principales causas de muerte a nivel internacional y se ha generado un conocimiento que puede aplicarse en el escenario de las enfermedades infecciosas de curso crónico donde aun no existen vacunas terapéuticas. Se amplió el margen de caracterización de las poblaciones infectadas por el VHB de Bangladesh y Cuba. Este producto ha sido negociado con dos compañías, una francesa y otra rusa. La negociación de este producto ha permitido ingresos económicos importantes en el orden de los millones de dólares así como el reconocimiento científico internacional del producto y el acceso a estudios clínicos en 9 países del sudeste de Asia, en Rusia y otros países de la antigua Unión Soviética cuyo costo corre por las contrapartes.

Comunicación Corta

Antecedentes: Las vacunas preventivas contra la infección por el Virus de la Hepatitis B han resultado seguras y efectivas^{1,2,3}. Sin embargo, aquellos pacientes que ya se encuentran crónicamente infectados por el VHB no reciben ningún beneficio de la inmunización con dichas vacunas y continúan siendo el principal reservorio de la enfermedad a nivel mundial. Se estima en aproximadamente 300-350 millones los portadores crónicos de este virus⁴. De acuerdo a la historia natural de la infección crónica por el VHB, entre un 20 y un 40 por ciento de estos pacientes desarrollan formas avanzadas de la infección crónica, entre ellas la cirrosis, el cáncer de hígado y otras complicaciones asociadas como las varices esofágicas, esplenomegalia, ascitis, entre otras. Este cuadro tiene un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes, así como en la economía personal y nacional⁵.

Hasta la fecha hay dos tipos fundamentales de terapia para la hepatitis B crónica (HBC): el tratamiento con Interferón- α y la terapia con análogos de nucleótido o nucleósido. Ambos tratamientos tienen importantes limitaciones, la terapia con Interferón- α (o su variante pegilada) combina las propiedades antivirales e inmunostimulatorias del Interferón, lo cual resulta en una supresión sostenida de la replicación del VHB en sólo un tercio de los pacientes. Los antivirales conducen a una rápida y casi absoluta disminución de la replicación del VHB, pero detener el tratamiento conduce a frecuentes recaídas virológicas que se asocian a exacerbaciones de las transaminasas. Estas y otras limitaciones de ambas terapias antivirales resaltan la necesidad de encontrar alternativas terapéuticas⁶. Este es el escenario en el que se desarrolla la vacunación terapéutica.

Problema a resolver: Durante más de 15 años el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) se ha involucrado en el desarrollo de una vacuna terapéutica contra la infección crónica por dicho virus que sea competitiva en cuanto a seguridad y

eficacia respecto a los tratamientos actuales de esta enfermedad. A diferencia de la vacuna preventiva, que busca una inmunidad capaz de evitar la infección, una vacuna terapéutica debe estimular al sistema inmune de modo que se subviertan los mecanismos inmunopatogénicos y se pueda controlar al virus que puede replicarse en el hospedero a niveles de hasta 10^{13} partículas virales por mL de sangre.

El **objetivo** del presente trabajo ha sido la evaluación clínica del candidato vacunal terapéutico HeberNasvac como alternativa segura y eficaz en comparación con los tratamientos convencionales para dicha enfermedad. En paralelo se propuso ampliar la caracterización de la población afectada por la hepatitis B crónica en Cuba y Bangladesh en cuanto a variables virológicas, serológicas, bioquímicas e histológicas.

Resultados: El trabajo propuesto a premio Anual de la ACC resulta novedoso porque se demuestran por primera vez la seguridad, inmunogenicidad y eficacia de HeberNasvac, un candidato vacunal terapéutico contra la Hepatitis B Crónica, uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. En este trabajo se incluyen los estudios de rigor necesarios durante el desarrollo clínico del producto. Adicionalmente, en paralelo con el desarrollo clínico del producto, se realizaron estudios virológicos, serológicos, bioquímicos e histológicos que constituyen un aporte a la caracterización de la infección crónica por el VHB en las poblaciones donde se desarrollaron los estudios clínicos de este producto.

En el grupo de trabajos que se incluyen en la presente propuesta de premio se incluyen aquellos estudios en los que el producto fue empleado como monoterapia, tanto en voluntarios sanos como en pacientes, en Cuba y en Bangladesh, países que fueron los polígonos para la demostración de la seguridad, inmunogenicidad y eficacia del candidato vacunal.

HeberNasvac se basa en la combinación de los antígenos de superficie y de la capsida del VHB. Este producto es original y ha sido patentado por el CIGB entre los años 1998 y 2001, con dos patentes que cubren el uso nasal y parenteral del candidato vacunal. Dichas patentes, en la actualidad se encuentran aprobadas en los principales mercados, lo que ha permitido que este producto haya sido negociado con dos compañías, una de ellas de Francia y otra de Rusia, las que se encuentran apoyando la extensión de los resultados clínicos obtenidos hasta la actualidad con nuevos usos del producto en combinación con otras terapias en el mercado.

En total se han realizado 4 estudios clínicos, el primero y el segundo de ellos en voluntarios sanos y en pacientes previamente tratados con Interferón Pegilado, dichos estudios mostraron la seguridad del producto en desarrollo y dieron evidencias preliminares de eficacia e inmunogenicidad cuando HeberNasvac se administró por la ruta nasal.

Un tercer estudio demostró la seguridad, inmunogenicidad y eficacia preliminares del producto vacunal terapéutico en desarrollo. Este estudio se desarrolló como parte de una colaboración con la Universidad de Ciencias Médicas Sheikh Mujib (BSMMU), de

Dhaka, Bangladesh. Dicho estudio, publicado por la revista *Hepatology International*, Órgano Oficial de la Sociedad Asia Pacífico de Estudios del Hígado, constituye la primera evidencia de eficacia de un candidato vacunal terapéutico que incluye a los antígenos de superficie y de la cápsida del VHB en el campo de la infección crónica por el VHB. En este estudio un grupo de 20 pacientes que no habían sido tratados con antelación fueron inmunizados y en ellos se evidenció una caída acentuada de la carga viral y una normalización generalizada y sostenida de las transaminasas luego del fin de las inoculaciones, sumando evidencias a la seguridad de HeberNasvac reportada en los estudios clínicos previos.

En el estudio de mayores proporciones que se realizó con el candidato vacunal, se compararon la eficacia y la seguridad de la vacuna terapéutica HeberNasvac con el Interferón pegilado. Este estudio culminó oficialmente a mediados del 2014 y fue inspeccionado por las autoridades regulatorias cubanas durante su desarrollo, certificándose el cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas. Adicionalmente, las autoridades regulatorias cubanas mostraron su conformidad con el documento de Reporte Final de este estudio clínico enviado a mediados del 2014 al CECMED. Se adjunta a la presente propuesta la copia del Reporte y la carta de conformidad de la autoridad regulatoria cubana. El Reporte Final incluye el certificado de Buenas Prácticas Clínicas extendido a este estudio luego de que se realizara una inspección al sitio clínico, los laboratorios y la documentación del estudio.

En este estudio se decidió evaluar la eficacia y seguridad de HeberNasvac empleando como grupo control al tratamiento con Interferón Pegilado. El tratamiento con interferón o su variante pegilada es reconocido internacionalmente como la única terapia de carácter temporalmente limitado o finito que existe para esta infección crónica, es el tratamiento más costoso de los existentes en la actualidad⁷. En este estudio se empleó el mismo esquema de inmunización evaluado en el EC Fase I-II y se incluyeron pacientes que no estaban siendo tratados con ninguna otra terapia específica contra la Hepatitis B. Los resultados encontrados demostraron la superioridad del tratamiento con HeberNasvac respecto al Interferón Pegilado. Es importante resaltar que el tratamiento con Interferón (pegilado o sin pegilar), cuenta con un aval de más de 20 años en el estado del arte y elementos de eficacia que lo hacen superior al tratamiento con los antivirales, entre ellos la mayor negativización y seroconversión del HBeAg, del HBsAg y una respuesta antiviral postratamiento inexistente en los tratamientos antivirales.

La superioridad de HeberNasvac con respecto a los resultados obtenidos en pacientes con Interferón Pegilado estuvo dada por la mayor proporción de pacientes que reducen el nivel de carga viral por debajo de los límites de detección del sistema cuantitativo empleado (250 copias/mL) a las 24 y 48 semanas de concluidos ambos tratamientos. Adicionalmente, se evidenció una superioridad en el efecto antiviral de HeberNasvac en cuanto a la reducción de la media de los niveles de carga viral. Se evidenció un efecto superior en cuanto a la negativización y seroconversión sostenida del antígeno “e” y niveles comparables de normalización de las transaminasas entre ambos grupos.

Desde el punto de vista de seguridad, el tratamiento con la vacuna terapéutica HeberNasvac fue seguro y no se relacionó a eventos adversos severos, serios o inesperados. La gran mayoría de los eventos adversos generados por la vacunación fueron ligeros en intensidad, desaparecieron con mayor rapidez y requirieron un número inferior de tratamientos específicos comparados con los reportados durante el tratamiento con el Interferón pegilado. También fue inferior el número total de eventos adversos, su frecuencia de aparición por pacientes. El patrón de eventos adversos hematológicos durante el tratamiento con el interferón pegilado evidencio una reducción característica en los niveles de neutrófilos, plaquetas y conteos de leucocitos totales, sin embargo en el caso del grupo vacunado no se observaron estas tendencias.

Durante el periodo de tiempo que demoró el desarrollo clínico de HeberNasvac se pudo realizar un grupo de estudios que permitieron un mejor conocimiento de las poblaciones en estudio. De este modo, se encontró una superioridad en la proporción de pacientes negativos al HBeAg en las poblaciones de Cuba y Bangladesh no obstante a que se han encontrado diferentes genotipos virales circulando en ambos países. En el caso de Bangladesh también se han desarrollado estudios en los que se evaluaron los niveles de expresión de antígeno HBcAg en los hepatocitos de un grupo de pacientes y se correlacionó esta variable con otras variables serológicas, virológicas y bioquímicas. Todos estos estudios permiten profundizar en las características de la infección crónica en las poblaciones en las que el producto vacunal ha sido empleado.

Conclusiones: El candidato vacunal HeberNasvac resultó seguro e inmunogénico en voluntarios sanos inmunizados por la ruta IN, mostró evidencias preliminares de seguridad, inmunogenicidad y eficacia en estudios clínicos de Fase I y Fase I/II desarrollados en pacientes cubanos y de Bangladesh y demostró una seguridad y eficacia superiores al Interferón Pegilado en un EC de eficacia Fase III. Un grupo de estudios virológicos, serológicos, bioquímicos e histológicos desarrollados durante la selección de los pacientes para los EC en curso y futuros han permitido una caracterización a profundidad de las poblaciones infectadas con el VHB en Cuba y en Bangladesh, evidenciando semejanzas en cuanto a la proporción de pacientes con serología HBeAg negativa y diferencias en cuanto a los genotipos virales circulantes.

Referencias

- [1] FitzSimons D, Hendrickx G, Vorsters A, Van Damme P. Hepatitis B vaccination: a completed schedule enough to control HBV lifelong? Milan, Italy, 17-18 November 2011. *Vaccine*. 2013 Jan 11;31(4):584-90.
- [2] Mendy M, Peterson I, Hossin S, Peto T, Jobarteh ML, Jeng-Barry A, Sidibeh M, Jatta A, Moore SE, Hall AJ, Whittle H. Observational study of vaccine efficacy 24 years after the start of hepatitis B vaccination in two Gambian villages: no need for a booster dose. *PLoS One*. 2013;8(3):e58029.
- [3] ul-Haq N, Hasnain SS, Umar M, Abbas Z, Valenzuela-Silva C, Lopez-Saura P. Immunogenicity of 10 and 20 microgram hepatitis B vaccine in a two-dose schedule. *Vaccine*. 2003 Jul 4;21(23):3179-85.

- [4] Tarocchi M, Polvani S, Marroncini G, Galli A. Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcino-genesis. *World J Gastroenterol*. 2014 Sep 7;20(33):11630-40.
- [5] Karahasanoğlu FB, Asan A, Sacar S, Turgut H. Costs of treatment, follow-up, and complications of chronic hepatitis B and hepatitis C infections. *Balkan Med J*. 2013 Dec;30(4):375-81.
- [6] Grimm D, Heeg M, Thimme R. Hepatitis B virus: from immunobiology to immunotherapy. *Clin Sci (Lond)*. 2013 Jan;124(2):77-85. Review.
- [7] Wiens A, Lenzi L, Venson R, Pedroso ML, Correr CJ, Pontarolo R. Economic evaluation of treatments for chronic hepatitis B. *Braz J Infect Dis*. 2013 Jul-Aug;17(4):418-26.