



Impacto de la ruta de inmunización intranasal en el mecanismo de acción farmacológica de la vacuna terapéutica HeberNasvac. Resultados en un modelo murino con el virus de la hepatitis B y en pacientes con hepatitis B crónica

ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). La Habana, Cuba

Otras entidades participantes: Universidad Medica Bangabunduh Sheik Mujib (BSMMU); Dhaka, Bangladesh. Universidad de Ehime (EU); Matsuyama, Japón. Instituto Pasteur (IP); Paris, Francia. Hospital Abel Santamaría (HAS); Pinar del Rio, Cuba

AUTORES PRINCIPALES: Julio Cesar Aguilar Rubido¹, Gerardo Guillen Nieto¹, Eduardo Pentón Arias¹, Sheikh M. Fazle Akbar³, Mamun Al-Mahtab², Marie-Louise Michel⁴, Maryline Bourgine⁴, Yoichi Hiasa³

Otros autores: Guillermo Fernández Maqueira⁵, Osamu Yoshida³, Yadira Lobaina¹, Jorge Aguiar¹, Freya Freyre¹, Ángela Tuero¹, Verena Muzio¹, Magalys Campos¹, Aristides Aguilar¹, Ana Lidia Sánchez⁵

Colaboradores (CIGB): Más de 100 trabajadores de las áreas de IBM, Desarrollo, Producción; Regulaciones; Patentes, Relaciones Internacionales; Clínica; HeberBiotec

Filiación: ¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB); La Habana, Cuba. ²Universidad Medica Bangabunduh Sheik Mujib (BSMMU); Dhaka, Bangladesh. ³Universidad de Ehime (EU); Matsuyama, Japón. ⁴Instituto Pasteur (IP); Paris, Francia. ⁵Hospital Abel Santamaría (HAS); Pinar del Río, Cuba

RESUMEN

Palabras clave

inmunización intranasal; acción farmacológica; vacuna terapéutica; HeberNasvac; modelo murino; seres humanos; virus de la hepatitis B; hepatitis B crónica

La OMS calcula que existen entre 250 y 300 millones de personas infectadas crónicamente por el virus de la hepatitis B (VHB). Cada año muere cerca de 1 millón de personas como consecuencia de la cirrosis hepática y el cáncer de hígado resultante de esta enfermedad crónica. Millones de pacientes sufren secuelas de la enfermedad crónica, como varices esofágicas y resultantes sangramientos digestivos, esplenomegalia, hepatomegalia, entre otras. HeberNasvac, producto que se basa en la inmunogenicidad y el efecto adyuvante e inmunomodulador de los antígenos recombinantes HBsAg y HBcAg tanto por rutas mucosal (IN) como parenteral (SC) se ha registrado como nueva alternativa terapéutica contra la hepatitis B crónica en Cuba, y se realizan acciones para introducir este producto en otros países. En la actualidad, el CIGB trabaja en la caracterización del efecto antiviral de HeberNasvac, así como en el estudio de las variables que impactan en su mecanismo de acción farmacológica, lo que permitirá optimizar el uso futuro de este producto. En la presente propuesta se presenta, por primera vez, un grupo de resultados y las publicaciones relacionadas, donde se revela el impacto de la ruta de administración y la respuesta inducida por esta vía como una importante variable

del mecanismo de acción farmacológica de HeberNasvac. Los resultados obtenidos en estudios realizados en un modelo murino con el VHB esclarecen los resultados obtenidos en la clínica. El estudio a profundidad de la respuesta inmunitaria –de modo especial en el hígado, órgano diana de la infección y del daño tisular en la inmunopatogenia del VHB–, revela que dicho órgano recibe una alta frecuencia de células T efectoras inducidas por la administración intranasal (IN) en ratones. Los estudios en el modelo animal demuestran que únicamente a partir de la inmunización intranasal se genera una fuerte respuesta de células T CD4+ en el hígado, lo que no ocurre a partir de la administración parenteral del producto. Esto refuerza el carácter del hígado como parte integral del sistema inmunitario de mucosas, como se propuso hace varias décadas. Las células T CD4+ tienen un papel central como auxiliaadoras de la respuesta terapéutica de células B y T citotóxicas. El estudio clínico fase III demuestra que la inmunización intranasal es capaz de incrementar significativamente los niveles de transaminasas como consecuencia del incremento de la lisis de hepatocitos que genera la respuesta inmunitaria anti-HBV. Dicha respuesta inmunitaria fue detectada como proinflamatoria en el ensayo clínico fase I-II que empleó igual esquema de inmunización. También se confirma que la inmunización por vía IN sola desencadena una respuesta antiviral de larga duración. Los resultados obtenidos han sido objeto de 4 publicaciones en revistas internacionales arbitradas y 1 patente presentada en Cuba, que apoyan el producto y su uso IN, además de varios logros institucionales del CIGB y un grupo de presentaciones en eventos científicos nacionales e internacionales.

La OMS calcula que existen entre 250 y 300 millones de personas infectadas crónicamente por el VHB. Como consecuencia de la cirrosis hepática y el cáncer de hígado resultante de esta enfermedad crónica cerca de 1 millón de personas mueren cada año y otro importante número sufren importantes secuelas como las varices esofágicas con sangramientos digestivos, las descompensaciones hepáticas, los fallos hepáticos, entre otras [1].

Los tratamientos actuales son capaces de contener la replicación viral durante el tratamiento, pero tienen importantes limitaciones para lograr mantener el control viral cuando cesa la terapia o para “resolver” las principales variables serológicas como la eliminación del HBeAg y del HBsAg y la seroconversión a anti-HBe/HBsAg. Por esto es posible considerar que no se obtienen respuestas definitivas o sostenidas. Otras limitaciones que considerar son los importantes eventos adversos relacionados con el empleo de las terapias actuales.

El interferón pegilado (PegIFN) es considerado por muchos como el tratamiento más efectivo para contener la progresión del daño hepático, pero solo un 30 % de los casos se benefician de avances serológicos como la seroconversión del HBeAg y un 10 % en la seroconversión del HBsAg al cabo de 5 años. Sin embargo, el empleo de este producto se asocia al desarrollo de eventos adversos severos de naturaleza psiquiátrica y, con más frecuencia, al desarrollo de síntomas semejantes a los que se producen durante la gripe [2]. Por su parte los análogos de nucleós(t)idos (NUC) han demostrado una alta eficacia para la supresión viral durante el tratamiento,

pero se asocian a frecuentes descompensaciones hepáticas producidas durante las recaídas virales que suceden al cese de la terapia o durante el tratamiento irregular con NUC. En estudios recientes se considera que el tratamiento con NUC, aun cuando controla al virus, no evita la progresión de las principales variables clínicas, entre ellas la cirrosis, el carcinoma hepatocelular y la muerte cuando se compara con el tratamiento inmunomodulador (PegIFN) [3].

Descripción de los resultados

HeberNasvac es una vacuna terapéutica recientemente registrada en Cuba, un producto que se basa en la inmunogenicidad y el efecto adyuvante e inmunomodulador de los antígenos recombinantes HBsAg y HBcAg (figura 1). Dicha vacuna terapéutica se administra a pacientes con hepatitis B crónica, tanto por ruta intranasal (IN) como subcutánea (SC). Dicho producto ha sido registrado recientemente como una nueva alternativa terapéutica contra la hepatitis B crónica en Cuba. En la actualidad se realizan acciones para introducir este producto en otros países [3, 4]. Los trabajos que se presentan nutren y consolidan el Registro Sanitario de este producto.

Entre los objetivos del presente trabajo está la caracterización del efecto antiviral de HeberNasvac, así como en el estudio de las variables que impactan en su mecanismo de acción inmunofarmacológica. Dicho objetivo permitirá optimizar la eficacia de este producto con nuevos desarrollos clínicos y la obtención de formulaciones más potentes.

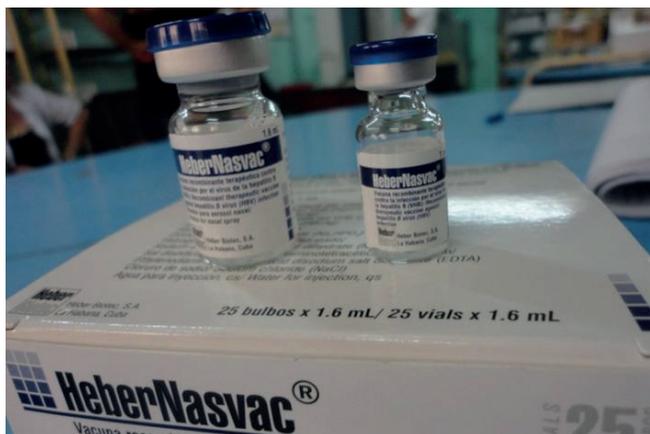


Fig. 1. HeberNasvac: 2018 se introduce en Cuba como tratamiento de los pacientes con hepatitis B crónica.

En la presente propuesta se presenta, por primera vez, un grupo de resultados que revelan el impacto de la respuesta inmunitaria inducida por la vacuna HeberNasvac a partir de su administración intranasal y los mecanismos celulares que median dicho comportamiento. Específicamente, los resultados revelan que la administración nasal de este producto es una importante variable en el mecanismo de acción de HeberNasvac. Como resultado de la experiencia clínica y en el modelo animal que se presenta se establece una base de conocimiento que permite avalar a dicho producto como la primera vacuna terapéutica que se registra para el tratamiento de la hepatitis B crónica y, al mismo tiempo, como la primera vacuna terapéutica que emplea la ruta nasal a nivel internacional.

En particular, los resultados de los estudios clínicos fase II y III demuestran el impacto significativo de la inmunización por la ruta intranasal en la respuesta inmunitaria inducida en linfocitos de sangre periférica [5], que a su vez se asocia a una reducción significativa de los niveles del VHB tras la vacunación intranasal. La reducción viral se asocia temporalmente al incremento de las transaminasas (ALT) en sangre, que resulta de la lisis de hepatocitos que produce esta inmunoadactivación, lo que trae como consecuencia la liberación de las transaminasas al torrente sanguíneo. Dicho efecto no se apreció en el grupo control que empleó el tratamiento establecido (PegIFN), el cual produce una activación inespecífica de la respuesta inmunitaria [6].

Los resultados obtenidos en estudios realizados en un modelo murino con VHB se complementan, esclarecen y permiten comprender los resultados obtenidos en la clínica. El estudio a profundidad de la respuesta inmunitaria –de modo especial en el hígado, órgano diana de la infección y del daño

tisular en la inmunopatogenia del VHB–, revela que en dicho órgano se acumula una alta frecuencia de células T. Los estudios en dicho modelo animal demuestran que únicamente a partir de la inmunización intranasal se genera una fuerte respuesta de células T CD4+ en el hígado, lo que no ocurre a partir de la administración parenteral del producto [7]. Esto refuerza el carácter del hígado como parte integral del sistema inmunitario de mucosas, como propusieron hace varias décadas quienes observaron el patrón de recirculación de la IgA intestinal vía hígado. Sin embargo, en este caso se trata de la primera prueba en la respuesta inmunitaria celular [7].

Las células T CD4+ desempeñan un papel central como auxiliaadoras de la respuesta terapéutica de células B y T citotóxicas. El estudio clínico fase III demuestra que la inmunización intranasal es capaz de incrementar significativamente los niveles de transaminasas como consecuencia del incremento de la lisis de hepatocitos que genera la respuesta inmunitaria anti-HBV, y dicha respuesta inmunitaria fue detectada como proinflamatoria en el ensayo clínico fase I-II que utilizó igual esquema de inmunización [5].

El estudio de los pacientes tratados con HeberNasvac durante los estudios clínicos de fase I permitió el seguimiento de dichos pacientes por un período de 5 años. En todos los pacientes que recibieron la vacuna por la vía IN se redujeron a indetectables o muy bajos (1 caso) los niveles del virus, y en los que comenzaron con serología HBeAg(+) se eliminó este antígeno de la sangre en el transcurso del seguimiento. Tomando todos estos resultados de conjunto, se puede sostener que la inmunización por vía IN desencadena una respuesta antiviral potente y de larga duración.

Los estudios de larga duración realizados a los pacientes inmunizados durante el estudio clínico fase I muestran una ausencia de progresión de la fibrosis, y un mantenimiento de los niveles de fibrosis en el rango de moderados a bajos [8]. En el caso de los pacientes tratados con HeberNasvac que se enrolaron en el estudio de fase III se pudo apreciar un bajo nivel de progresión de la fibrosis con respecto a los pacientes tratados con el interferón pegilado del grupo control.

Impacto científico, social o económico

Los resultados que respalda la presente propuesta han sido objeto de 3 publicaciones internacionales durante el 2018 (Plos One y Antiviral Research y EAJHG), 1 aplicación de patente presentada en Japón de conjunto con la contraparte Japonesa, que apoyan el producto y su uso IN, así como un capítulo de libro, 4 artículos de revisión y reporte firmado por autores del CIGB con otras instituciones internacionales de

prestigio, de Francia Alemania y Canadá [3,9-12]. En ellos se resaltan las características de HeberNasvac, sus resultados clínicos y farmacológicos, así como la situación actual de los tratamientos contra la infección crónica por VHB, lo que refleja la competitividad de HeberNasvac. Esta propuesta se asocia además a logros institucionales del CIGB y que han sido documentados en presentaciones en eventos científicos nacionales e internacionales. Los avales se adjuntan al final de la propuesta.

Las publicaciones que resultaron de los resultados clínicos, las presentaciones científicas, los artículos de revisión, reportes de eventos y logros, en su conjunto, permitieron soportar el registro farmacéutico que se obtuvo para este producto en Cuba, que es el principal impacto social para el país. El año en curso ha sido el que inicia la introducción de HeberNasvac en la práctica clínica en Cuba, donde ya existen más de 180 pacientes que han comenzado el tratamiento, y todos se encuentran involucrados como parte de un estudio de fase IV, donde en el que deben incluirse 300 pacientes antes de finalizar el año. Está transcurriendo satisfactoriamente la introducción del producto en cuanto a eventos adversos, y el producto ha resultado seguro, con buena retención por parte de los pacientes que inician el tratamiento.

Es importante resaltar que, además del aspecto social, dichos pacientes se benefician de un tratamiento que es superior a los tratamientos actuales, lo que conduce a un ahorro por concepto de importación de antivirales específicos. Por otra parte, el empleo de este producto abarca un grupo grande de pacientes que no cuentan con una alternativa terapéutica, como los portadores inactivos del VHB, para los que no se recomiendan los tratamientos actuales.

El impacto económico de los resultados estaría adicionalmente relacionado con la posibilidad de contar con un nuevo producto en la cartera de productos y negocios del CIGB. En la actualidad se puede considerar que el producto ha recibido beneficios gracias a negociaciones de proyectos con Francia, Rusia y China, por valor de varios millones de dólares. Existen negociaciones pendientes en mercados importantes como Japón.

Hoy se desarrollan estudios clínicos en Japón empleando una formulación más potente que emplea un mucoadhesivo, patente presentada de conjunto directamente en la oficina de patentes de Japón [13]. En ese país ya se han tratado más de 50 pacientes con hepatitis B crónica y 10 personas sanas. El empleo del producto en Japón se realiza solo por vía IN a partir precisamente de los resultados que se exponen en la presente propuesta. Se tienen informaciones, que se adjuntan

entre los avales de la presente propuesta, relacionadas con la seguridad y la respuesta inmunitaria de los pacientes en Japón. Los resultados serán presentados en el evento de la Sociedad Americana de Estudios del Hígado, a celebrarse en noviembre del 2018 en San Francisco, EE. UU.

Existen acuerdos para el desarrollo de este producto en mercados competitivos de Rusia, donde existe la aprobación de inicio de un ensayo clínico fase III pendiente de comenzar, y en Alemania, donde se cuenta con un proyecto para el estudio de nuevas formulaciones.

El producto ha entrado en el mercado cubano, donde comienza su comercialización. Cuenta además con la aprobación de las autoridades regulatorias de Bangladesh, y está a la espera de definición con respecto a qué compañía que se encargará de su comercialización en ese país. Se han establecido negocios y acuerdos de codesarrollo con China y otras naciones que aceptan el registro sanitario cubano para el inicio de los trámites comerciales.

Referencias bibliográficas

1. WHO Global Report 2017. <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>, Consulta realizada el 30 de octubre del 2018.
2. Pegasys: Product Insert. https://www.accessdata.fda.gov/drug-satfda_docs/label/2011/103964s5204lbl.pdf, Consulta realizada el 30 de Octubre del 2018.
3. Aguilar Rubido Julio Cesar, Boctor Kerstina H. The 26th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2017). *Biotechnol Apl [Internet]*. 2017 Mar [citado 2018 Oct 30]; 34(1): 1511-1520.
4. Centro para el Control de Medicamentos (CECMED). Resumen de las Características del Producto HeberNasvac. https://www.cecmeced.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/biologicos/rcp_hebernasvac.pdf, Consulta realizada el 30 de octubre del 2018.
5. Al-Mahtab M, Akbar SM, Aguilar JC, Uddin MH, Khan MS, Rahman S. Therapeutic potential of a combined hepatitis B virus surface and core antigen vaccine in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Int*. 2013 Oct;7(4):981-9. doi: 10.1007/s12072-013-9486-4.
6. Al Mahtab M, Akbar SMF, Aguilar JC, Guillen G, Penton E, Tuero A, Yoshida O, Hiasa Y, Onji M. Treatment of chronic hepatitis B naïve patients with a therapeutic vaccine containing HBs and HBc antigens (a randomized, open and treatment controlled phase III clinical trial). *PLoS One*. 2018 Aug 22;13(8):e0201236. doi: 10.1371/journal.pone.0201236.
7. Bourguine M, Crabe S, Lobaina Y, Guillen G, Aguilar JC, Michel ML. Nasal route favors the induction of CD4(+) T cell responses in the liver of HBV-carrier mice immunized with a recombinant hepatitis B surface- and core-based therapeutic vaccine. *Antiviral Res*. 2018 May;153:23-32. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.02.019.
8. Fernández GF, Sánchez AL, Jerez E, Anillo LE, Freyre F, Aguilar JA, Leon Y, Cinza Z, Díaz PA, Figueroa N, Muzio V, Guillen G, Lobaina

- Y, Aguilar A, Pentón E, Aguilar JC. Euroasian J. Hepato-gastroenterol. 2018, Jul-Dec. In press.
9. Aguilar, JC and Lobaina Y. "Immunotherapy for Chronic Hepatitis B using HBsAg-based Vaccine Formulations: From Preventive Commercial Vaccines to Therapeutic Approach Julio Cesar Aguilar" *Euroasian J Hepatogastroenterol.* 4,2 (2014): 92-97.
10. Mf Akbar S, Al-Mahtab M, I Khan S. Nature of Host Immunity during Hepatitis B Virus Infection and designing Immune Therapy. *Euroasian J Hepatogastroenterol.* 2018;8(1):42-46.
11. Aguilar JC, Van de Klundert M, Michel ML. Book Chapter: Chronic Hepatitis B Treatment: *Statu Quo* and New Developments in Hepatitis: A Global Health Concern. 2017. ISBN: 978-93-87500-05-1. www.openaccessebooks.com, Consulta realizada el 30 de octubre del 2018.
12. Aguilar-Rubido Julio C, van de Klundert Maarten AA, Michel Marie-Louise. The International Liver Congress™, Amsterdam, the Netherlands 2017. *Biotechnol Apl* [Internet]. 2017 Jun [citado 2018 Oct 30]; 34(2): 2511-2521.
13. Rhinovaccination System of Hepatitis B Vaccine. Japanese patent application Number: 2018-107797. Date of filling June 6th, 2018. Applicants: Toko Yahohin Kogyo Co. Ltd. National University Corporation Ehime University and Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA

Dr. Julio Cesar Aguilar Rubido. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). La Habana, Cuba. Correo electrónico: julio.aguilar@cigb.edu.cu