



CIENCIAS BIOMÉDICAS

Artículo original de investigación

Reposicionamiento del anticuerpo monoclonal humanizado cubano nimotuzumab en el tratamiento de pacientes con COVID-19

Henry Díaz Londres ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9914-4132>
Jorge Jiménez Armada ² <https://orcid.org/0000-0001-5922-3231>
Aray Hernández Martínez ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9983-4264>
Anselmo A. Abdo Cuza ^{3,7} <https://orcid.org/0000-0001-5573-7382>
Yamilka Hernández Sánchez ² <https://orcid.org/0000-0002-7005-9599>
Aylin Granado Rodríguez ² <https://orcid.org/0000-0002-5874-7049>
Sarahy Sepúlveda Figueroa ¹ <https://orcid.org/0000-0002-1255-1067>
Egda M. Llanez Gregorich ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3967-6799>
Mery L. Torres Lahera ¹ <https://orcid.org/0000-0003-1683-247X>
Francisco Gómez Peire ³ <https://orcid.org/0000-0001-7401-1907>
Teresita Montero González ⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3372-6791>
Yaneth Zamora González ⁵ <https://orcid.org/0000-0003-4170-3565>
Ana L. Añé Kouri ⁶ <https://orcid.org/0000-0003-1426-3162>
Addys González Palomo ⁶ <https://orcid.org/0000-0001-5385-5940>
Mayelin Troche Concepción ⁶ <https://orcid.org/0000-0001-5385-5940>
Loipa Medel Pérez ⁶ <https://orcid.org/0000-0002-7587-3119>
Patricia Lorenzo Luaces Álvarez ⁶ <https://orcid.org/0000-0001-9164-0238>
Daymys Estévez Iglesias ⁶ <https://orcid.org/0000-0003-1351-3975>
Danay Saavedra Hernández ⁶ <https://orcid.org/0000-0002-6614-3819>
Mayra Ramos Suzarte ⁶ <https://orcid.org/0000-0002-9058-3224>
Tania Crombet Ramos ^{6,7*} <https://orcid.org/0000-0002-2550-7292>

¹ Hospital Julio Trigo. La Habana, Cuba

² Hospital Salvador Allende. La Habana, Cuba

³ Centro de Investigaciones Médicas y Quirúrgicas. La Habana, Cuba

⁴ Hospital Luis Díaz Soto. La Habana, Cuba

⁵ Instituto Nacional de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba

⁶ Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba

⁷ Titular de la Academia de Ciencias de Cuba. La Habana, Cuba

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

Revisores^a

Eduardo Pentón Arias
Centro de Ingeniería Genética y
Biotecnología.
La Habana, Cuba

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

a N. del E: En este apartado figuran los nombres de los árbitros que accedieron a revelar su identidad, como expresión de apertura progresiva del proceso de revisión por pares. No aparecen aquellos que optaron por el anonimato.

RESUMEN

Introducción: La lesión pulmonar y el déficit del transductor de señal y el activador de la transcripción 1 (STAT1) inducen la sobreexpresión de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en células infectadas con SARS-CoV-2. **Métodos:** Teniendo en cuenta el papel del EGFR en la inflamación y la fibrosis, se realizó un ensayo de fase I/II para evaluar la seguridad y el efecto del nimotuzumab, un anticuerpo anti-EGFR humanizado, en pacientes con COVID-19 graves y moderados. Los pacientes recibieron otros medicamentos incluidos en el protocolo nacional. El tratamiento consistió en infusiones intravenosas de nimotuzumab, administradas cada 72 h. Antes de iniciar el estudio, la expresión de EGFR se confirmó mediante inmunohistoquímica en 20 muestras de pulmón de sujetos fallecidos por COVID-19. **Resultados:** En el ensayo se incluyeron 41 pacientes (31 graves/10 moderados). La media de edad fue de 62 años y las principales comorbilidades fueron hipertensión, diabetes, enfermedad cardiovascular y obesidad. Recibieron una dosis de nimotuzumab 7 pacientes, 29 recibieron 2 infusiones mientras que 5 sujetos requirieron 3 dosis. El anticuerpo fue seguro. Solo se detectaron 4 eventos adversos en 2 sujetos. Requirieron ventilación mecánica invasiva 8 pacientes. La tasa de recuperación a los 14 días fue del 82,9 %: pacientes moderados 90 % y 80,64 % en pacientes graves. Los marcadores inflamatorios disminuyeron en el tiempo y la concentración de interleucina-6 disminuyó de 46,5 pg/ml a 14,51 pg/ml el día 7. Ninguno de los pacientes evaluados mostró signos de fibrosis en el seguimiento. Tras el uso del nimotuzumab en 1536 pacientes en las condiciones del mundo real, se logró una alta tasa de recuperación en los pacientes graves y moderados (89,4 y 79,4 %, respectivamente), lo cual se compara muy favorablemente con los datos del ensayo fase I/II. Conclusiones, estos resultados sugieren que el nimotuzumab es un anticuerpo seguro que puede reducir la inflamación y evitar la fibrosis en pacientes con COVID-19 graves y moderados. **Palabras clave:** nimotuzumab; COVID-19; SARS-CoV-2; inflamación; fibrosis; EGFR; anticuerpo monoclonal

Repositioning of the Cuban human monoclonal antibody nimotuzumab in the treatment of patients with COVID-19

ABSTRACT

Introduction: Lung injury and STAT1 deficit can induce EGFR overexpression in SARS-CoV2 infected cells. **Methods:** Considering the role of EGFR in inflammation and fibrosis, a Phase I/II trial was done to evaluate the safety and preliminary effect of nimotuzumab, a humanized anti-EGFR antibody, in severe and high-risk moderate patients with COVID-19. Patients were able to receive other drugs included in the national protocol. Treatment consisted on nimotuzumab intravenous infusions, administered every 72 hours. Before launching the study, EGFR expression was confirmed by immunohistochemistry in 20 lung samples from COVID-19 deceased subjects. **Results.** They were included forty-one patients (31 severe/10 moderate) in the trial. The median age was 62 years and the main comorbidities were hypertension, diabetes, cardiovascular disease and obesity. Seven patients received one dose of nimotuzumab, 29 received 2 infusions while 5 subjects required 3 doses. The antibody was very safe. There were only 4 related adverse events in 2 subjects. Eight patients required invasive mechanical ventilation. The 14-day recovery rate was 82,9%. 90% in moderate patients and 80,64 % in severe patients. Inflammatory markers decreased overtime and interleukin-6 concentration diminished from 46,5 pg/ml to 14,51 pg/ml at day 7. None of the evaluated patients showed signs of fibrosis in the follow-up evaluation. After the use of nimotuzumab in 1,536 patients in the real-world scenario, a high recovery rate was achieved in severe and moderate patients (89,4% and 79.4%, respectively), which compares very favorably with the phase I/II trial data. Conclusions, our results suggest that nimotuzumab is a safe antibody that can reduce inflammation and avoid fibrosis in severe and moderate COVID-19 patients at high risk of aggravation.

Keywords: Nimotuzumab; COVID-19; SARS-CoV2; inflammation; fibrosis; EGFR; monoclonal antibody

INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es una patología de evolución gradual caracterizada por diferentes mecanismos moleculares. ⁽¹⁾ Los primeros análisis de pacientes con coronavirus en China sugirieron que el virus podría no ser el único responsable del daño pulmonar, pero que una respuesta inmune hiperreactiva también pudiera contribuir a la patogénesis de la enfermedad. ⁽²⁾

Varios genes del SARS-CoV-2 inducen el déficit del transductor de señal y el activador de la transcripción 1 (STAT1) y la hiperactivación de STAT3. El déficit de STAT1 junto con la lesión pulmonar induce la sobreexpresión de EGFR en las células epiteliales alveolares infectadas. La activación de EGFR conduce a una activación adicional de STAT-3. Además, en las células infectadas con SARS-CoV-2, se establece un círculo de respuesta positiva entre STAT3 y el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1). La regulación positiva de PAI-1 conduce a una coagulopatía caracterizada por trombos intravasculares. ⁽³⁾

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una glicoproteína de membrana con actividad tirosina quinasa, cuya función fisiológica es regular el desarrollo del tejido epitelial y la homeostasis. ⁽⁴⁾ Además, existen numerosas evidencias sobre el papel del EGFR en la fibrosis. Según Venkataran y cols. la señalización del EGFR permanece activa después de la eliminación del virus SARS-CoV, lo que conduce a la fibrosis. ⁽⁵⁾ El EGFR también está presente durante la remodelación patológica del pulmón en pacientes con fibrosis quística avanzada. ⁽⁶⁾ Ishii y cols. informó que el inhibidor de EGFR-tirosina quinasa (TKI) gefitinib previno la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina en un modelo de ratón C57BL/6. ⁽⁷⁾ El tratamiento con gefitinib inhibió la fosforilación del EGFR de fibroblastos y disminuyó la proliferación de fibroblastos. ⁽⁷⁾

El EGFR también se sobreexpresa en carcinomas escamosos o adenocarcinomas de diferente localización. ⁽⁴⁾ El conocimiento del papel del EGFR en los tumores malignos ha avanzado enormemente en los últimos 20 años y se han registrado varios fármacos terapéuticos como TKI y anticuerpos monoclonales (AcM) anti-EGFR para los tumores epiteliales. ⁽⁸⁻¹⁰⁾ El nimotuzumab es un anticuerpo humanizado que reconoce al EGFR. ⁽¹¹⁾ El anticuerpo previene la dimerización del receptor, inhibiendo así la actividad de la tirosina quinasa e interfiriendo con las vías de señalización celular involucradas en la proliferación celular, inflamación, angiogénesis y supervivencia. ^(12,13) El nimotuzumab disminuye la interleucina 6 en ratones xenoinjertados con células tumorales pancreáticas. ⁽¹³⁾ El bloqueo de la señalización del EGFR no es el único mecanismo de acción subyacente a la eficacia de nimotuzumab. Los estudios *in vitro* demostraron que el nimotuzumab puede ejercer sus efectos parcialmente a través de la citotoxicidad

mediada por células y activando células dendríticas y células T CD8 específicas. ^(14,15)

Los resultados de eficacia de nimotuzumab se han reportado en más de 40 ensayos clínicos de fase I a fase III, realizados principalmente en pacientes con tumores en estadio avanzado, incluyendo carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, esófago, nasofaringe, de células no pequeñas de pulmón, páncreas, astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme. ^(14,16-21)

Dado que la lesión pulmonar aguda y la pérdida funcional de STAT1 pueden conducir a la sobreexpresión de EGFR y, en consecuencia, a una mayor activación de STAT3, planteamos la hipótesis de que el bloqueo de EGFR con nimotuzumab pudiera ser una estrategia eficaz para controlar la inflamación y prevenir una respuesta fibrosa excesiva al SARS-CoV-2.

MÉTODOS

La expresión de EGFR se evaluó mediante inmunohistoquímica en muestras de pulmón de pacientes fallecidos con COVID-19. Se obtuvieron 20 fragmentos de pulmón del departamento de patología de los hospitales Luis Díaz Soto y Salvador Allende (La Habana, Cuba). Los fragmentos de tejido se fijaron en formaldehído y se incluyeron en bloques de parafina. Los portaobjetos con secciones de tejido pulmonar se desparafinaron y lavaron en solución tamponada con fosfato y agua destilada. Se bloqueó la actividad peroxidasa endógena y se realizó la reanimación antigénica del EGFR utilizando proteinasa K (Dako, EUA). Las muestras se incubaron con el AcM murino IOR egf/r3 durante una hora. Posteriormente, los cortes se incubaron con peroxidasa de rábano (Dako, EUA) y se reveló la reacción enzimática con tetrahidrocloruro de diaminobencidina (DAB) (Dako, EUA). Las secciones de tejido también se contrastaron con la hematoxilina de Mayer (Dako, EUA). La expresión positiva se definió por la presencia de un color marrón ubicado en la membrana plasmática de las diferentes células. El porcentaje de células positivas por campo histológico se cuantificó en 5 imágenes digitalizadas con una cámara digital DP20 acoplada a un microscopio óptico (Olympus CX31, Japón) a un aumento de 40X.

Se llevó a cabo un ensayo clínico prospectivo, no controlado, abierto, multicéntrico de fase I/II para evaluar la seguridad y el efecto preliminar de nimotuzumab, en pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2, mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR).

Los pacientes pudieron recibir otros tratamientos incluidos en el protocolo nacional para el manejo del COVID-19, incluyendo esteroides, anticoagulantes y antibióticos. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: voluntad expresa del paciente, cualquier sexo o color de piel y edad mayor o igual

a 18 años. Además, los pacientes debían tener una enfermedad grave de acuerdo con una de las siguientes condiciones: saturación de oxígeno (SpO₂) menor que 94 % en el aire ambiente al nivel del mar o necesidad de oxigenoterapia para mantener la SpO₂ mayor que 93 %, pacientes con una razón entre la presión parcial de oxígeno y la fracción de oxígeno inspirado (PaO₂/FiO₂) menor que 300 mm Hg, pacientes con frecuencia respiratoria (FR) mayor que 30 respiraciones/min o pacientes con infiltrados en más del 50 % de ambos campos pulmonares. También se incluyeron los pacientes con síntomas moderados con alto riesgo de empeoramiento. Los síntomas moderados incluyeron fiebre persistente durante 48 h, polipnea (FR > 25 respiraciones/min), cambios en la radiografía o ecografía pulmonar, disminución de la saturación de oxígeno, astenia marcada y cambio en el estado mental. Los pacientes con alto riesgo de agravamiento se definieron como aquellos con edad mayor o igual que 65 años y comorbilidades como diabetes mellitus, hipertensión, enfermedad renal crónica, enfermedad cardiovascular, inmunodeficiencia, obesidad y cáncer. El protocolo se aprobó por los comités de ética de los hospitales participantes y por la Agencia Nacional Reguladora, CECMED. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. El protocolo se incluyó en el registro público cubano de ensayos clínicos (<https://rpcec.sld.cu/ensayos/RPCEC00000369-En>).

El tratamiento consistió en infusiones intravenosas (IV) de nimotuzumab hasta un máximo de 5 dosis, administradas cada 72 h. El número de dosis recomendado fue de 2 para los pacientes moderados y 3 para los sujetos graves. El criterio principal para la interrupción fue la aparición de eventos adversos graves relacionados con el producto en investigación. La dosis de carga fue de 200 mg, mientras que las dosis posteriores del anticuerpo fueron de 100 mg. El nimotuzumab se diluyó en 250 mL de solución salina (0,9 %) y se administró durante 2 h.

Los objetivos del estudio fueron evaluar la seguridad preliminar y el efecto de nimotuzumab en el tratamiento de pacientes graves o moderados con COVID-19. Todos los eventos adversos se recogieron y clasificaron de acuerdo con la frecuencia, intensidad, gravedad, relación causal y consecuencias para el sujeto. Los eventos adversos se clasificaron de acuerdo con los criterios terminológicos comunes para eventos adversos, versión 5.

Las principales variables de eficacia fueron: tasa de pacientes recuperados (egresados del hospital) 14 d después de la primera infusión, tiempo de estadía en la unidad de cuidados intensivos, tasa de pacientes graves que mejoraron la relación PO₂/FiO₂ y tasa de pacientes que requirieron ventilación mecánica después del nimotuzumab. Los valores he-

matológicos, incluyendo el recuento de neutrófilos, linfocitos y plaquetas, se evaluó antes del nimotuzumab y cada 48 h. Se midieron otros parámetros bioquímicos que incluían creatinina, aspartato aminotransferasa (AST), alanina-aminotransferasa (ALT), proteína C reactiva (PCR), ferritina, lactato deshidrogenasa (LDH) y dímero D a lo largo del tiempo. Además, se midió la interleucina 6 (IL-6) y el inhibidor del activador p asminógeno-1 (PAI-1), utilizando un kit de ELISA de IL-6 Quantikine humano (Cat # S6050) (Minneapolis, EUA) y un sistema ELISA cuantitativo del PAI-1 (BE59351) (IBL International GmbH D-22335 Hamburgo). Se midió el PAI-1 en plasma. La evolución de las lesiones pulmonares se midió mediante radiografías seriadas o tomografía axial computarizada (TAC).

Los datos demográficos, comorbilidades, así como las terapias previas y concurrentes se reportan en los 2 grupos de gravedad de la enfermedad. Se utilizó la estadística descriptiva para mostrar las variables cualitativas, mientras que para las variables cuantitativas con distribución normal o no normal se utilizó la media y desviación estándar o la mediana y el rango intercuartílico, respectivamente. Se construyeron curvas de características operativas del receptor (ROC) para correlacionar las variables del laboratorio con la mortalidad por COVID-19. Se calculó la razón de posibilidades (OR) para varias variables independientes, incluyendo los datos demográficos, las comorbilidades y los parámetros de laboratorio por encima del umbral predeterminado para mayor riesgo de mortalidad. Los análisis se realizaron con el software SPSS versión 25 y R.

RESULTADOS

Se detectó expresión de EGFR en las 20 muestras de patología de pacientes fallecidos por COVID-19. Tuvieron más del 60 % de positividad 19 sujetos (95 %), mientras que un caso mostró 25 % de células positivas para EGFR. Las células positivas parecen corresponder morfológicamente a neumocitos de tipo I y II, macrófagos alveolares y fibroblastos. En la figura 1 podemos ver 2 muestras representativas de la expresión de EGFR en el tejido pulmonar de 2 pacientes fallecidos por COVID-19.

Después de la demostración de la expresión de EGFR en los pulmones de fallecidos con COVID-19, se realizó un ensayo clínico utilizando el AcM anti-EGFR nimotuzumab. Entre el 19 de mayo y el 19 de junio de 2021, se incluyeron 41 pacientes (31 graves y 10 moderados) en 3 hospitales de La Habana. En total, se incluyeron 23 pacientes del sexo masculino y 18 del sexo femenino (tabla 1). La mediana de edad fue de 62 años (32-83) años y las principales comorbilidades fueron hipertensión, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular y obesidad (tabla 1). La mayoría de los pacientes recibieron el

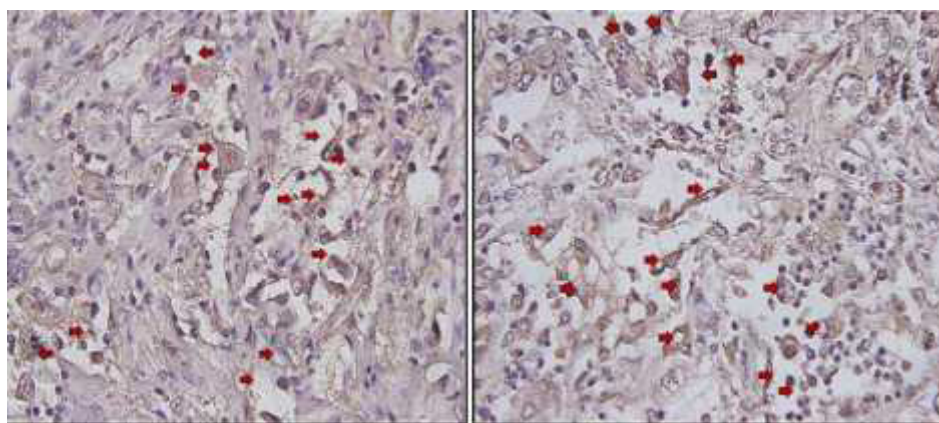


Fig. 1. Imágenes microscópicas representativas de la expresión de EGFR en el tejido pulmonar de 2 pacientes fallecidos por COVID-19. Las flechas rojas muestran las células positivas, incluyendo neumocitos, macrófagos alveolares y fibroblastos.

Tabla 1: Datos demográficos y comorbilidades de los pacientes al inicio del estudio

Datos Demográficos Frec. 31		Pacientes graves		Pacientes Moderados		Total	
		%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.
		100	10	100	41	100	
Sexo	Femenino	13	41,9	5	58,1	18	43,9
	Masculino	18	58,1	5	50,0	23	56,1
Color de piel	Blanca	3	30,0	17	54,8	20	48,8
	Mestiza	4	40,0	8	25,8	12	29,3
	Negra	2	20,0	3	9,7	5	12,2
	ND	1	10,0	3	9,7	4	9,8
Edad	Media \pm DE	59,8 \pm 15		59,5 \pm 12		59,7 \pm 14	
	Mediana \pm RI	62 \pm 26		61 \pm 18		62 \pm 22	
	min; máx	32-83		35-74		32-83	
Pacientes con al menos 1 comorbilidad		27	87,1	7	70,0	34	82,9
Pacientes con 2 o más comorbilidades		15	48,4	5	50,0	20	48,8
Hipertensión		19	61,3	6	60,0	25	61,0
Enfermedades cardiovasculares		5	16,1	1	10,0	6	14,6
Diabetes mellitus		11	35,5	5	50,0	16	39,0
Asma bronquial		4	12,9	0	0	4	9,7
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)		1	3,2	0	0	1	2,4
Obesidad		5	16,1	1	10,0	6	14,6
Accidente vascular encefálico		1	3,2	0	0	1	2,4
Hipertiroidismo		0	0	2	20,0	2	4,8
Hipotiroidismo		0	0	1	10,0	1	2,4
Cáncer		1	3,2	0	0	1	2,4
Pericarditis		2	6,4	0	0	2	4,8
Artritis reumatoide		0	0	1	10,0	1	2,4

AcM nimotuzumab de forma concomitante con heparina de bajo peso molecular, esteroides y antibióticos (tabla 2). Un pequeño grupo de pacientes también recibió CIGB-258, un péptido con propiedades inmuno-reguladoras (tabla 2).⁽²²⁾

Todos los pacientes que ingresaron al ensayo con una afección grave fueron tratados en la unidad de cuidados intensivos (UCI), mientras que los pacientes moderados recibieron nimotuzumab en la sala convencional del hospital. El intervalo de tiempo entre el inicio de los síntomas y el tratamiento con nimotuzumab fue de 8,5 d (de 3 a 49) días, mientras que, para los pacientes graves, el intervalo de tiempo entre el ingreso en la UCI y el nimotuzumab fue de 3 d (de 0 a 9) días.

Recibieron una sola dosis de nimotuzumab 7 pacientes (17,07 %), recibieron 2 infusiones 29 (70,7 %) mientras que 5 sujetos (12,19 %) requirieron 3 dosis del anticuerpo. El nimotuzumab fue muy seguro. Solo hubo 4 eventos adversos relacionados en 2 de los 41 pacientes (4,87 %). Un paciente grave tuvo un temblor de grado 1, mientras que otro paciente grave tuvo escalofríos, dolor de cabeza y temblores de grado 2. Los eventos se clasificaron como posiblemente relacionados con nimotuzumab y se presentaron después de la primera infusión del anticuerpo. No se detectaron eventos adversos relacionados de grado 3 o 4.

De los 41 pacientes tratados con nimotuzumab 8 (1 moderado y 7 graves) (19,5 %) requirieron ventilación mecánica

invasiva (VMI). El tiempo promedio entre el nimotuzumab y el uso de VMI fue de 3,6 d. Se recuperaron 34 pacientes de 41 (82,92 %) 14 días después de comenzar con el anticuerpo. Según la gravedad de la enfermedad, 9 de 10 pacientes moderados (90 %) se recuperaron, mientras que 25 de 31 pacientes graves (80,64 %) egresaron en los primeros 14 días. El tiempo de estancia media en la UCI de los sujetos gravemente enfermos fue de 9 días.

En el séptimo día de tratamiento, el 76,2 % de los sujetos con enfermedad grave mejoró la relación PO₂/FiO₂. Hubo una reducción significativa en el área afectada de ambos campos pulmonares en el momento del alta, según la prueba de rangos pareadas de Wilcoxon. Además, se adquirieron imágenes seriadas de TAC. La figura 2 muestra imágenes seriadas de 3 pacientes antes del tratamiento con nimotuzumab, en el momento del alta y de 30 días a 60 días después de la hospitalización. Ninguno de los pacientes evaluados mostró signos de fibrosis en el seguimiento.

Los marcadores inflamatorios que incluyen PCR, ferritina, LDH, relación entre neutrófilos y linfocitos (NLR) y dímero D disminuyeron con el tiempo. Se realizaron curvas ROC para establecer la correlación entre los parámetros de laboratorio al inicio del estudio y la probabilidad de muerte en los pacientes graves. Los pacientes con valores de PCR por encima de 118,54 mg/L, LDH por encima de 333 U/L, recuento absoluto

Tabla 2. Terapia previa y concurrente

Terapias previas						
	Pacientes graves		Pacientes moderados		Total	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
Interferón alfa recombinante	12	38,7	6	60,0	18	43,9
Heparina de bajo peso molecular (BPM)	15	48,4	4	40,0	19	46,3
Esteroides	23	74,2	3	30,0	26	63,4
Antibióticos	26	83,9	10	100	36	97,8
CIGB-258	12	38,7	4	40,0	16	39,02
Terapias concurrentes						
	Pacientes graves		Pacientes moderados		Total	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
Interferón alfa recombinante	0	0	3	30,0	3	7,3
Heparina BPM	30	96,8	4	40,0	34	82,9
Esteroides	28	90,3 %	3	30 %	31	75,6 %
Antibióticos	30	96,8 %	10	100 %	40	97,6 %
CIGB-258	12	38,7 %	1	10%	13	31,7 %

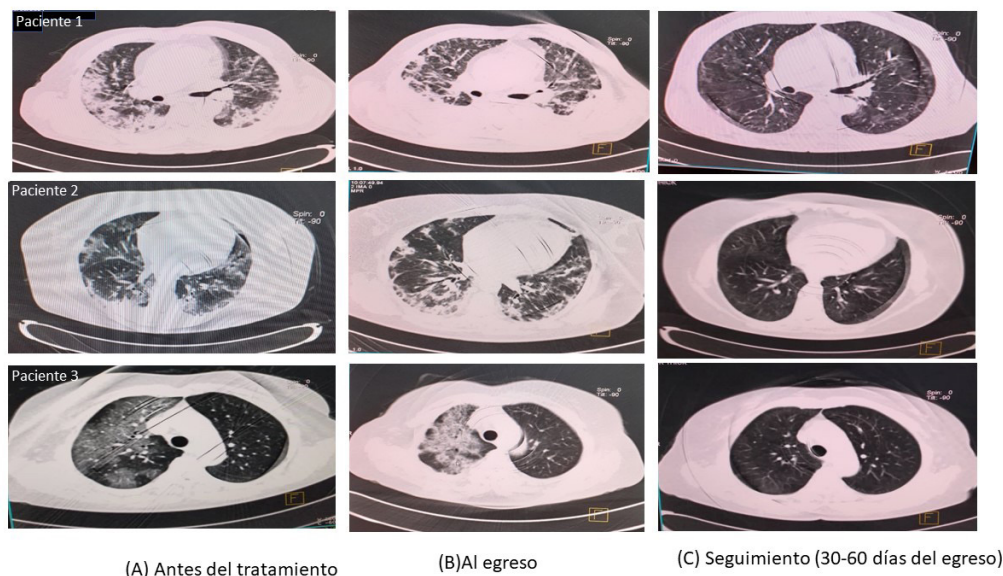


Fig. 2. Tomografía axial computarizada (TAC) de tórax de 3 pacientes tratados con nimotuzumab. Imágenes secuenciales al ingreso (columna A), al alta (columna B) y seguimiento (30-60) días después del alta. A y B: áreas extensas de opacidades en vidrio deslustrado, consolidación del espacio aéreo en la fase exudativa y disminución de los volúmenes pulmonares en las fases organizativa y fibrótica. C (seguimiento): Los 3 pacientes mostraron resolución de las lesiones inflamatorias pulmonares y ningún signo de fibrosis.

de leucocitos por encima de $8,95 \times 10^9/L$ y ferritina por encima de $490,5 \mu\text{g/L}$ tenían más probabilidades de morir. Sorprendentemente, los biomarcadores asociados con el mayor riesgo de letalidad fueron la $\text{LDH} \geq 333 \text{ U/L}$ (OR 11,25 [IC 95 % 1,15; 110,5]) y el recuento absoluto de leucocitos $\geq 8,95 \times 10^9/L$ (OR 9,33 [IC 95 % 0,96; 90,9]).

Se evaluó la concentración sérica de interleucina 6 (IL-6) en 28 pacientes, 21 clasificados como graves y 7 como moderados. La concentración media en el momento de la inclusión en el ensayo clínico fue de $47,11 \text{ pg/ml}$ para pacientes graves y $37,25 \text{ pg/ml}$ para pacientes moderados. No se encontraron diferencias significativas al comparar estos niveles según el estado del paciente (prueba de Mann Whitney; $p > 0,05$). En el día 7, la IL-6 aumentó en 6 pacientes de los 25 (24 %), mientras que disminuyó o se estabilizó en el resto. Globalmente, la concentración media de IL-6 disminuyó de $46,5 \text{ pg/ml}$ a $14,51 \text{ pg/ml}$ en el día 7. Los niveles de PAI-1 en plasma se evaluaron sólo en 14 pacientes debido a la limitación del sistema de cuantificación. En particular, el PAI-1 estaba elevado en los 14 pacientes (valores de referencia $4\text{-}43 \text{ ng/ml}$). El nivel medio de PAI-1 al inicio del tratamiento fue de $80,11 \text{ ng/ml}$ y se redujo a $69,28 \text{ ng/ml}$ en el día 7 de tratamiento. Tras este resultado, se incluyó el AcM nimotuzumab en el protocolo cubano de manejo de la COVID-19. Más de 6000 pacientes cubanos se trataron con el AcM y se logró recoger información de seguridad

y de tasa de recuperación de 1536 paciente de 21 hospitales. El nimotuzumab mantuvo el perfil de seguridad reportado en el ensayo clínico fase I/II. No se reportaron eventos adversos serios relacionados con el producto. Solamente se reportaron eventos adversos en 28 de los 1536 pacientes (1,8 %), fundamentalmente en la primera dosis. En estas condiciones del mundo real, se logró una alta tasa de recuperación en los pacientes moderados y graves (89,4 % y 79,4 %, respectivamente), lo cual se compara muy favorablemente con los datos del ensayo fase I/II.

DISCUSIÓN

Los síntomas de COVID-19 son extremadamente variables, desde hipoxia mínima a significativa, con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) e insuficiencia multiorgánica, que podría ser fatal.⁽¹⁾

Este ensayo clínico evaluó por primera vez el efecto de usar una droga anti-EGFR en el escenario COVID-19. Así mismo, se demostró la sobreexpresión de EGFR en el tejido pulmonar de pacientes fallecidos con SARS-CoV2. Este hallazgo valida aún más el enfoque de bloquear EGFR como una herramienta para reducir la inflamación, la hipofibrinólisis y para prevenir o revertir la fibrosis.

El nimotuzumab fue muy seguro. Las reacciones adversas coinciden con otras que se observan comúnmente en los

estudios clínicos de cáncer e incluyen principalmente fatiga, náuseas, vómitos, escalofríos, anorexia y fiebre. ^(16,20,23) Otros fármacos antiinflamatorios recientemente recomendados como tratamiento a la COVID-19 como tocilizumab o baricitinib, si provocan reacciones adversas graves como otitis externa, bacteriemia y absceso pulmonar ⁽²⁴⁾ o reacciones adversas de grado 3 o 4 como hiperglicemia, anemia, disminución del recuento de linfocitos e insuficiencia renal aguda, respectivamente. ⁽²⁵⁾

El estudio mostró las evidencias iniciales de que el nimo-tuzumab en combinación con otros fármacos, incluidos los esteroides, reduce los marcadores inflamatorios, incluyendo la IL-6. La IL-6 es una citocina pleiotrópica que tiene un papel central en la respuesta inmune y en la inflamación. ⁽²⁶⁾ Cabe destacar que en nuestra serie no se encontraron diferencias entre pacientes moderados y graves en cuanto a la concentración de IL-6. Los niveles de IL-6 no aumentaron en el 86 % de los pacientes después de bloquear EGFR junto con esteroides. Otras moléculas que tienen como diana la vía de señalización de IL-6/IL-6R, como el tocilizumomab o el baricitinib, tienen efecto clínico significativo cuando se combinaron con esteroides. ^(24,27)

También se obtuvieron datos preliminares del impacto de la terapia combinada sobre los niveles de PAI-1. El PAI-1 estaba elevado en todos los pacientes evaluados. Anteriormente, se había demostrado que el PAI-1 aumentaba en el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda y, en particular, en la COVID-19. ⁽²⁸⁾ En particular, Cugno y cols, no encontraron diferencias en la concentración de PAI-1 entre pacientes con enfermedad leve, moderada o grave. ⁽²⁹⁾ Además de las células endoteliales, las células senescentes alveolares tipo II secretan PAI-1 y promueven un fenotipo profibrótico. ⁽³⁰⁾ Según Alberti y cols, la activación del EGFR desencadena la coexpresión de IL-6 y PAI-1 a través de la activación transcripcional de NF- κ B, ⁽³¹⁾ mientras que Kang y otros autores, señalan que la vía de IL-6 incrementa la secreción de PAI-1, durante la tormenta de citocinas. ⁽³²⁾ Nuestro hallazgo inicial sobre la reducción de PAI-1 podría atribuirse a la inhibición directa del EGFR o al descenso de IL-6.

En nuestro conjunto de datos, el 19,5 % de los 41 pacientes necesitaron ventilación mecánica después de nimo-tuzumab, mientras que el 82,9 % egresaron antes del día 14. La tasa de recuperación fue del 80,6 % y del 90 % para los pacientes graves y moderados de alto riesgo, respectivamente. Estas cifras se comparan favorablemente con otros medicamentos anti-inflamatorios, que obtuvieron autorización de uso de emergencia para COVID-19.

El estudio RECOVERY que evaluó el AcM anti-IL-6R tocilizumab frente a la terapia convencional, reclutó a 4116 pa-

cientes, que en su mayoría requerían ventilación no invasiva u oxígeno. Casi todos los pacientes recibieron corticosteroides. La tasa de recuperación fue del 62 % frente al 58 % en pacientes que requerían ventilación no invasiva y del 81 % frente al 77 % en pacientes que solo necesitaban oxígeno. ⁽²⁴⁾ No se observó ningún efecto significativo sobre la ventilación posterior y, globalmente, el 31 % de los pacientes con tocilizumab progresaron a soporte respiratorio. ⁽²⁴⁾ En otro estudio doble ciego en 438 sujetos con infiltrados pulmonares bilaterales e hipoxemia (COVACTA), la tasa de mortalidad fue del 19,7 % frente al 19,4 % para tocilizumab o placebo. ⁽³³⁾ La incidencia de ventilación mecánica entre los pacientes no ventilados al inicio del estudio fue del 27,9 % (tocilizumab) frente al 36,7 % (placebo). ⁽³³⁾ Recientemente, un inhibidor de Janus Kinase (JAK), baricitinib, mostró beneficio clínico en pacientes hospitalizados. Un estudio aleatorizado de 1033 pacientes (67 % de casos moderados y 33 %, graves) comparó remdesivir más baricitinib frente a remdesivir más placebo. ⁽²⁵⁾ La incidencia de muerte o ventilación fue menor en el grupo experimental que en el grupo control (22,5 % frente a 28 %). ⁽²⁵⁾ El segundo ensayo de Marconi y cols., comparó baricitinib más la terapia convencional vs. la terapia convencional en 1525 pacientes. La proporción de pacientes que progresaron a oxígeno de alto flujo, ventilación no invasiva o invasiva o muerte fue del 27,8 % en el grupo de baricitinib y del 30,5 % en el grupo de placebo. ⁽²⁷⁾

Finalmente, nuestro estudio encontró una reducción significativa de las áreas pulmonares afectadas y no se detectaron signo de fibrosis en aquellos sujetos evaluados de 30 d a 60 d después del alta. Un meta-análisis reciente en 250 351 supervivientes demostró que el 65 % de los pacientes tenían un aumento en el requerimiento de oxígeno, mientras que las anomalías en las imágenes del tórax persistieron en el 62,2 % de todos los supervivientes hasta 6 meses después de la recuperación. ⁽³⁴⁾

En resumen, nuestros resultados sugieren que el nimo-tuzumab es un anticuerpo seguro que puede reducir IL-6, PAI-1 y evitar la fibrosis en pacientes graves y moderados con COVID-19. A pesar del mal pronóstico de los pacientes, la tasa de ventilación fue inferior al 20 % y la tasa de recuperación fue alta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atal S, Fatima Z. IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19: A Promising Therapy? *Pharmaceut Med.* 2020;34(4):223-31.
2. Lippi G, Sanchis-Gomar F, Henry BM. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): the portrait of a perfect storm. *Ann Transl Med.* 2020;8(7):497.

3. Matsuyama T, Kubli SP, Yoshinaga SK, Pfeffer K, Mak TW. An aberrant STAT pathway is central to COVID-19. *Cell Death Differ.* 2020;27(12):3209-25.
4. Mendelsohn J, Baselga J. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *Semin Oncol.* 2006;33(4):369-85.
5. Venkataraman T, Coleman CM, Frieman MB. Overactive Epidermal Growth Factor Receptor Signaling Leads to Increased Fibrosis after Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *J Virol.* 2017;91(12).
6. Hardie WD, Bejarano PA, Miller MA, Yankaskas JR, Ritter JH, Whittsett JA, *et al.* Immunolocalization of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor in lungs of patients with cystic fibrosis. *Pediatr Dev Pathol.* 1999;2(5):415-23.
7. Ishii Y, Fujimoto S, Fukuda T. Gefitinib prevents bleomycin-induced lung fibrosis in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(5):550-6.
8. Lee HJ, Jeong GH, Li H, Kim MS, Kim JS, Park SJ, *et al.* Efficacy and safety of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) monotherapy for advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer: systematic review and meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021;25(20):6232-44.
9. Parseghian CM, Napolitano S, Loree JM, Kopetz S. Mechanisms of Innate and Acquired Resistance to Anti-EGFR Therapy: A Review of Current Knowledge with a Focus on Rechallenge Therapies. *Clin Cancer Res.* 2019;25(23):6899-908.
10. Popescu C, Mazilu L, Suceveanu AI, Grigorescu A. How specific molecular-targeted agents can make obsolete a 'one size fits all' approach in EGFR-mutated NSCLC treatment (Review). *Exp Ther Med.* 2021;22(4):1150.
11. Mateo C, Moreno E, Amour K, Lombardero J, Harris W, Pérez R. Humanization of a mouse monoclonal antibody that blocks the epidermal growth factor receptor: recovery of antagonistic activity. *Immunotechnology.* 1997;3(1):71-81.
12. Crombet-Ramos T, Rak J, Pérez R, Viloria-Petit A. Antiproliferative, antiangiogenic and proapoptotic activity of h-R3: A humanized anti-EGFR antibody. *Int J Cancer.* 2002;101(6):567-75.
13. Zhou C, Zhu L, Ji J, Ding F, Wang C, Cai Q, *et al.* EGFR High Expression, but not KRAS Status, Predicts Sensitivity of Pancreatic Cancer Cells to Nimotuzumab Treatment In Vivo. *Curr Cancer Drug Targets.* 2017;17(1):89-97.
14. Mazorra Z, Chao L, Lavastida A, Sánchez B, Ramos M, Iznaga N, *et al.* Nimotuzumab: beyond the EGFR signaling cascade inhibition. *Semin Oncol.* 2018;45(1-2):18-26.
15. Mazorra Z, Lavastida A, Concha-Benavente F, Valdes A, Srivastava RM, Garcia-Bates TM, *et al.* Nimotuzumab Induces NK Cell Activation, Cytotoxicity, Dendritic Cell Maturation and Expansion of EGFR-Specific T Cells in Head and Neck Cancer Patients. *Front Pharmacol.* 2017;8:382.
16. Crombet Ramos T, Mestre Fernández B, Mazorra Herrera Z, Iznaga Escobar NE. Nimotuzumab for Patients With Inoperable Cancer of the Head and Neck. *Front Oncol.* 2020;10:817.
17. Crombet T, Osorio M, Cruz T, Roca C, del Castillo R, Mon R, *et al.* Use of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody h-R3 in combination with radiotherapy in the treatment of locally advanced head and neck cancer patients. *J Clin Oncol.* 2004;22(9):1646-54.
18. de Castro Junior G, Segalla JG, de Azevedo SJ, Andrade CJ, Grabarz D, de Araujo Lima Franca B, *et al.* A randomised phase II study of chemoradiotherapy with or without nimotuzumab in locally advanced oesophageal cancer: NICE trial. *Eur J Cancer.* 2018;88:21-30.
19. Liang R, Yang L, Zhu X. Nimotuzumab, an Anti-EGFR Monoclonal Antibody, in the Treatment of Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Control.* 2021;28:1073274821989301.
20. Perez R, Moreno E. EGFR-targeting therapy as an evolving concept: learning from nimotuzumab clinical development. *Chin Clin Oncol.* 2014;3(1):5.
21. Qu L, Wang JH, Du JX, Kang P, Niu XQ, Yin LZ. Use of nimotuzumab combined with cisplatin in treatment of nasopharyngeal carcinoma and its effect on expressions of VEGF and MMP-2. *Clin Transl Oncol.* 2021;23(7):1342-9.
22. Hernández-Cedeno M, Venegas-Rodríguez R, Pena-Ruiz R, Bequet-Romero M, Santana-Sánchez R, Pentón-Arias E, *et al.* CIGB-258, a peptide derived from human heat-shock protein 60, decreases hyperinflammation in COVID-19 patients. *Cell Stress Chaperones.* 2021;26(3):515-25.
23. Pérez R, Moreno E, Garrido G, Crombet T. EGFR-Targeting as a Biological Therapy: Understanding Nimotuzumab's Clinical Effects. *Cancers (Basel).* 2011;3(2):2014-31.
24. Group RC. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2021;397(10285):1637-45.
25. Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, Tomashek KM, Wolfe CR, Ghazaryan V, *et al.* Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(9):795-807.
26. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol.* 2021;33(3):127-48.
27. Marconi VC, Ramanan AV, de Bono S, Kartman CE, Krishnan V, Liao R, *et al.* Efficacy and safety of baricitinib for the treatment of hospitalised adults with COVID-19 (COV-BARRIER): a randomised, double-blind, parallel-group, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2021.
28. Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, Chowdary P, Mutch NJ. Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(7):1548-55.
29. Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, Griffini S, Grovetti E, Torri A, *et al.* Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity. *J Autoimmun.* 2021;116:102560.
30. Rana T, Jiang C, Liu G, Miyata T, Antony V, Thannickal VJ, *et al.* PAI-1 Regulation of TGF-beta1-induced Alveolar Type II Cell Senescence, SASP Secretion, and SASP-mediated Activation of Alveolar Macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020;62(3):319-30.
31. Alberti C, Pinciroli P, Valeri B, Ferri R, Ditto A, Umezawa K, *et al.* Ligand-dependent EGFR activation induces the co-expression of IL-6 and PAI-1 via the NFkB pathway in advanced-stage epithelial ovarian cancer. *Oncogene.* 2012;31(37):4139-49.
32. Kang S, Tanaka T, Inoue H, Ono C, Hashimoto S, Kioi Y, *et al.* IL-6 trans-signaling induces plasminogen activator inhibitor-1 from vascular endothelial cells in cytokine release syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(36):22351-6.
33. Rosas IO, Brau N, Waters M, Go RC, Hunter BD, Bhagani S, *et al.* Tocilizumab in Hospitalized Patients with Severe Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med.* 2021;384(16):1503-16.

34. Groff D, Sun A, Ssentongo AE, Ba DM, Parsons N, Poudel GR, *et al.* Short-term and Long-term Rates of Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review. JAMA Netw Open. 2021;4(10):e2128568.

Recibido: 14/06/2022

Aprobado: 03/10/2022

Agradecimientos

Los autores están muy agradecidos a todos los médicos, enfermeras y personal en general que trabajan con pacientes hospitalizados con COVID-19.

Conflictos de intereses

Actualmente, 9 autores trabajan para el Centro de Inmunología Molecular, la institución que generó y patentó originalmente el nimotuzumab. El resto de los autores no mantienen ninguna relación comercial o económica que pueda tomarse como un potencial conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Tania Crombet, Mayra Ramos, Danay Saavedra
Curación de datos: Mayelín Troche, Loipa Medel, Patricia Lorenzo-Luaces
Análisis formal: Tania Crombet, Patricia Lorenzo Luaces, Danay Saavedra, Mayra Ramos
Investigación: Henry Díaz, Jorge Jiménez, Aray Hernández, Anselmo A. Abdo, Yamilka Hernández, Aylin Granado, Sarahy Sepúlveda, Egda M. Llenez, Mery L. Torres, Francisco Gómez, Teresita Montero, Yaneth Zamora, Ana L. Añé, Addys González, Danay Saavedra
Administración del proyecto: Mayra Ramos, Tania Crombet
Recursos: Daymys Estévez

Software: Mayelín Troche, Loipa Medel, Patricia Lorenzo-Luaces
Supervisión: Tania Crombet, Mayra Ramos
Redacción del borrador original: Tania Crombet, Mayra Ramos, Anselmo Abdo
Redacción (Revisión y edición): Tania Crombet

Ensayo Clínico

El protocolo fue aprobado por los comités de ética de los hospitales participantes y por la Agencia Nacional Reguladora, CECMED. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. El protocolo fue incluido en el registro público de ensayos clínicos (<https://rpcec.sld.cu/ensayos/RPCEC00000369-En>).

Financiamiento

Este estudio se financió por el Ministerio Cubano de Salud Pública y el Centro de Inmunología Molecular.

Cómo citar este artículo

Díaz Londres H, Jiménez Armada J, Hernández Martínez A, Abdo Cuza AA *et al.* Reposicionamiento del anticuerpo monoclonal humanizado cubano nimotuzumab en el tratamiento de pacientes con COVID-19. AnAcadCiencCuba [internet] 2022 [citado en día, mes y año];13(2):e1263. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1263>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2023.

