
Expertos Invitados

● Nuevas Drogas que Modulan la Respuesta Inmune

Columnista Experto de SIIC
Dr. Martin Braddock

, Leicestershire, Reino Unido

Introducción

El *Strategic Research Institute* (Instituto de Investigación Estratégica) celebró su décimo aniversario en la producción de eventos que han puesto el énfasis en la respuesta inflamatoria al albergar la décima *Cumbre Internacional sobre Descubrimiento y Creación de Drogas para la Inflamación y las Enfermedades Inmunes* en New Brunswick, el 20 y el 21 de marzo de 2006. La reunión consistió en sesiones centrales y dos comisiones simultáneas, y se dedicó al amplio espectro de las aplicaciones de las drogas que modulan la respuesta inmune y que tienen actividad antiinflamatoria en varias enfermedades humanas. Las entidades discutidas incluyeron la psoriasis, queratosis actínica, dermatitis alérgica, artritis reumatoidea (AR), lupus eritematoso sistémico (LES), asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Debido a que en la reunión se trataron todas las etapas del descubrimiento de la droga –desde la identificación del blanco principal, la validación a través de la detección y optimización de los productos de interés biomédico hasta las etapas del proceso clínico temprano y tardío–atrajo una amplia audiencia de clínicos e investigadores universitarios y de la industria farmacéutica. Este artículo describe datos que no se presentaron con anterioridad, o en un caso, amplía la información clínica presentada en marzo de 2006.

Puntos sobresalientes del encuentro

John Mountz, de la University of Alabama at Birmingham, EE.UU., revisó la utilidad de actuar sobre células B en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Recientemente se pensó que el papel de las células B en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes se debía a la formación de autoanticuerpos que pueden iniciar la cascada inflamatoria como consecuencia de su persistencia como inmunoglobulinas o inmunocomplejos.^{1,2} Sin embargo, los resultados de trabajos clínicos en AR y en LES con agentes que actúan sobre las células B, tales como Rituxan (rituximab),^{3,4} en el cual la modificación de la condición ocurre, en algunos casos, independientemente del título de anticuerpos, avalaría la suposición de que las células B tendrían un papel en la activación de las células T.

Los resultados de los ensayos en fase II con Humax-CD20 (ofatumumab) en pacientes con AR fueron presentados por primera vez en público por Mikkel Ostergaard (Hvidovre Hospital, Universidad de Copenhague, Dinamarca). El ofatumumab, elaborado por Genmab,⁵ es un agente completamente humanizado dirigido contra la molécula CD20,⁶ un anticuerpo IgG1k que induce una fuerte citotoxicidad dependiente de anticuerpos y que presuntamente inicia la citotoxicidad mediada por complemento más eficazmente que los primeros anticuerpos anti-CD20. Este fármaco es parte de un programa de anticuerpos monoclonales anti-CD20 para el posible tratamiento intravenoso de pacientes con linfoma no Hodgkin, enfermedad de Crohn, granulomatosis de Wegener, leucemia linfocítica crónica, otros linfomas de células B (entre ellos, linfoma de células del manto) y enfermedades autoinmunes, tales como AR. En agosto de 2005 comenzó un estudio

de fase II en AR. El estudio, aún en marcha, es una investigación a doble ciego, controlada con placebo, aleatorizada y multicéntrica en pacientes que no respondieron previamente a uno o más agentes antirreumáticos que modifican la enfermedad. Los enfermos recibieron dos infusiones de ofatumumab (300, 700 o 1 000 mg) o placebo, con dos semanas de intervalo entre ellas. El estudio incluyó un subestudio A, con tres cohortes, de aumento de la dosis, que tuvo por objetivo primario evaluar la seguridad, y un subestudio B, de cuatro grupos paralelos, de análisis de eficacia. Se presentaron los datos clínicos del subestudio A, que abarcó 39 pacientes (26 tratados con la droga activa, 7 con placebo y 6 que interrumpieron; 4 de 300 mg; 1 de 700 mg y 1 de 1 000 mg). En los pacientes que recibieron placebo, se cuantificó desde el inicio la ACR20, ACR50 y ACR70 (*American College of Rheumatology* 20%, 50%, 70%; un parámetro de eficacia [N del T]). Se obtuvieron los siguientes datos: para la dosis de 300 mg (8 pacientes), ACR20 = 63%; ACR50 = 25%; ACR70 = 13%; para la de 700 mg (9 enfermos), ACR20 = 78%, ACR50 = 44%, ACR70 = 22%; para la de 1 000 mg (9 casos), ACR20 = 78%, ACR50 = 44%, ACR70 = 11%. Los índices totales para las drogas activas fueron ACR20 = 73%, ACR50 = 38%, ACR70 = 15%, total 26 pacientes.

El estudio, que duró 24 semanas, también mostró una reducción en las células B CD19+ y CD20+ y el seguimiento continúa después del tratamiento. Estos datos, aunque se obtuvieron a partir de un pequeño grupo de enfermos, se consideran muy alentadores y se comparan favorablemente con el rituximab, evaluado en los estudios clínicos DANCER⁵ y REFLEX,⁷ publicados con anterioridad. Peter Schaffer (Celgene Corporation) presentó datos preclínicos y clínicos que avalan el desarrollo del CC-10004.⁹ Este es un inhibidor de la producción de mediadores proinflamatorios¹⁰ (entre ellos, fosfodiesterasa 4, factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), interleuquina 2 (IL-2), interferón gamma (IFN- γ), leucotrienos y óxido nítrico), para el tratamiento potencial de enfermedades inflamatorias como asma, psoriasis y EPOC. Se describió un modelo murino de psoriasis en el cual se trasplantó piel humana normal en ratones con inmunodeficiencia grave combinada, que posteriormente recibieron una inyección de células *natural killer* psoriásicas humanas, 28 días después del trasplante de piel. Otros 14 días más tarde se administró CC-10004 o ciclosporina (5 mg/kg, por vía oral, 2 veces por día); 24 días después se recuperó la piel para análisis histológico. Los injertos se clasificaron según la expresión de los hallazgos psoriásicos. En el grupo tratado con el CC-10004, 2 de 6 expresaron un fenotipo ve+ en comparación con 3 de 6 en el grupo tratado con ciclosporina y 6 de 6 en animales que recibieron vehículo. En el grupo CC-10004, 3 de 6 y 1 de 6 animales tuvieron una recuperación completa o parcial, respectivamente, en comparación con 2 de 6 y 1 de 6, respectivamente, en animales que recibieron ciclosporina. El espesor de la epidermis y la proliferación de queratinocitos se redujeron en un 50% a un 60% en los dos grupos de tratamiento. Recientemente se completó un trabajo abierto, piloto, de un único grupo con CC-10004 en pacientes con psoriasis grave en placas.¹⁰ Diecinueve pacientes fueron tratados con CC-10004 (20 mg, por vía oral, todos los días) durante 29 días, con 28 días de seguimiento. Ocho de los 15 pacientes evaluables (53.3%) alcanzaron el punto primario de actividad farmacodinámica, definido como una reducción superior al 20% en el espesor de la epidermis cutánea. La reducción promedio en los 15 enfermos fue del 20.5% (40% entre los que respondieron positivamente). Se produjeron varios efectos adversos, entre ellos, cefalea, náuseas, mareos, diarrea, artralgia, congestión nasal, faringitis, rinorrea y linfadenopatía; en total, 73.7% de los enfermos presentaron al menos un evento adverso. No se produjo ninguna interrupción del estudio por efectos adversos. En total, 82.4%, 17.6%, 52.9% y 58.8% de los enfermos tuvieron mejoría de los síntomas de la psoriasis, alcanzaron más del 50% del índice PASI, presentaron una mejoría en la valoración global estática del profesional y una reducción en el puntaje del área corporal con psoriasis, respectivamente. Las muestras de piel para biopsia (6 mm) se tomaron de placas blanco al inicio, al día 15 y al día 29 del esquema de tratamiento. También se tomó una biopsia de piel sana al inicio. Se realizaron mediciones de espesor de la epidermis y análisis inmunohistoquímico. De los 15 enfermos evaluables, las células epidérmicas y de dermis CD3+, CD83+ y CD11c+ se redujeron en un 18.6%, 24.9% y 22.6% (en la epidermis) y en un 23.4%, 13.6% y 19.8% (en la dermis), respectivamente, en comparación con los valores basales. El análisis de reacción en cadena de polimerasa por transcripción inversa mostró una reducción del 75.2% en el ARN mensajero de la

sintasa del óxido nítrico inducible en las biopsias de piel y una disminución del 35% en la producción *ex vivo* de FNT- α , en una muestra de sangre tomada después de la primera dosis. Este estudio demostró que el CC-10004 fue seguro y se toleró bien en pacientes con psoriasis grave y que se asocia con disminución de la inflamación de la epidermis y de la dermis después de 29 días de tratamiento.

El descubrimiento y la aplicación tópica de oligonucleótidos antifactores nucleares de tipo κ B (NFKBD) para tratar enfermedades inflamatorias crónicas fueron presentados por Rolf Ehrhardt y M. Dajee (Corgentech Inc., presentación oral y en póster) con datos generados a partir de un modelo murino de dermatitis tópica. En ese modelo, inducido por antígenos de ácaros del polvo (AAP), los animales fueron inyectados con AAP y 11 días después de la inyección recibieron NFKBD (0.25, 1.0%) o betametasona (BMV, 0.1%, 2 veces por día). Se obtuvo hasta un 50% de reducción en el espesor auricular con este régimen de tratamiento. Con los oligonucleótidos NFKBD (de señuelo en comparación con oligonucleótidos sin sentido) se observó una reducción específica en el número de células cebadas, eosinófilos y CD4+; el NFKBD fue captado por los queratinocitos, las células de Langerhans, las células cebadas, los macrófagos y las células T, a juzgar por la localización de la fluorescencia. Se vio que el NFKBD específicamente disminuye la producción de un número de mediadores proinflamatorios, entre ellos, IL-1 β ; IL-4, IL-5, IL-13, IL-12, IL-6, IL-17 e IL-23; FNT- α e IFN- γ ; proteína inflamatoria de macrófagos (MIP) 2 α y molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). También se vio que el tratamiento inhibe la proliferación de las células epidérmicas y dérmicas según la marcación de Ki67 y que induce la apoptosis celular según el ensayo Tunnel. Se demostró que el NFKBD no induce atrofia de piel en los ratones tratados con la droga (1%, 2 veces por día, durante 14 días) en comparación con los ratones tratados con BMV, según el contenido de colágeno. Más aun, en un grupo de animales que recibieron el esquema de la droga durante 11 días y en los que luego se interrumpió el tratamiento, no se observó recurrencia de la enfermedad en los que habían recibido NFKBD, a diferencia de los tratados con BMV, en los que el cese de la terapia se acompañó de un aumento del espesor auricular de alrededor de un 25%.

Se completaron dos estudios clínicos en fase I/II con NFKBD en pacientes con dermatitis atópica o eccema. Ambos trabajos incluyeron pacientes con eccema leve a moderado y fueron investigaciones multicéntricas aleatorizadas, a doble ciego y controladas con placebo. El primer estudio, realizado en los Estados Unidos, incorporó alrededor de 75 pacientes; el otro trabajo, llevado a cabo en Australia y Suiza, abarcó aproximadamente 120 enfermos. En ambos ensayos se efectuaron evaluaciones médicas periódicas de las áreas a tratar para determinar la magnitud de la gravedad de los síntomas; los pacientes realizaron mediciones del prurito.

El punto primario de análisis en estos estudios fue establecer la seguridad y el perfil de tolerancia del NFKBD. La revisión preliminar de los datos disponibles de seguridad indica que la aplicación tópica de este agente en el espectro de dosis evaluado en los dos estudios es segura y que se toleró bien cuando se aplicó en la dosis más eficaz del 0.25%. En estos trabajos se realizó análisis exploratorio de eficacia para determinar el efecto antiinflamatorio de la droga y, en ambos estudios, la dosis más baja estudiada fue la más eficaz. Los datos clínicos sugieren que Corgentech necesita investigar dosis más bajas del NFKBD para establecer con certeza su beneficio clínico en el tratamiento del eccema.

En el ensayo estadounidense, en el cual los pacientes recibieron uno de tres niveles de dosis o placebo, la dosis más baja de 0.25% casi alcanzó significado estadístico ($p = 0.059$) en el análisis del puntaje combinado de eccema (designado como el punto primario de evaluación) hacia el día 22, a pesar del pequeño número de enfermos ($n: 23$). Al día 22 también se constató una disminución estadísticamente significativa en el cambio desde el inicio en el puntaje sintomático total ($p = 0.035$) y en la escala de excoriación ($p = 0.007$) en el grupo tratado con la dosis de 0.25%. En el seguimiento de dos semanas luego de la interrupción de la droga, el patrón de eficacia sostenida en estos parámetros y en este grupo de dosis más baja sugiere un posible efecto modificador sobre la enfermedad o una acción de cicatrización cutánea.

Se presentaron los resultados de un estudio en fase I/II, multicéntrico, aleatorizado, a doble ciego y controlado con placebo del NFKBD que evaluó la seguridad y la tolerancia de la aplicación de la

droga en la piel de pacientes adultos con dermatitis. El estudio abarcó aproximadamente 85 enfermos aleatorizados en paralelo a uno de tres tratamientos activos con la droga en concentración de 0.25%, 0.50% o 1.0% o a un grupo control. Los enfermos aplicaron el fármaco dos veces por día, durante 21 días en las áreas afectadas de la piel que fueron evaluadas hasta 28 días después de completado el tratamiento. Se constató que el NFKBD fue seguro y que mostró una reducción significativa, dependiente de la dosis y con todas las dosis en el índice combinado de gravedad sintomática que incluye eritema, excoriación, induración y pápulas y liquenificación. Más aun, el NFKBD (0.25%) se asoció con una disminución estadísticamente significativa del eritema hacia los días 14 y 22, a juzgar por el médico. La observación de una eficacia sostenida en el puntaje de excoriación podría sugerir una actividad modificadora sobre la enfermedad, indicadora de mejor función de barrera. El ensayo en fase I/II llevado a cabo en múltiples centros de Australia y Suiza completó la incorporación de alrededor de 120 pacientes en diciembre de 2005.

El descubrimiento y la utilidad de los antagonistas duales de los receptores de quimiocinas CCR2 y CCR5 fueron discutidos por Wolfgang Miltz (Novartis Pharma). La proteína quimiotáctica 1 de monocitos (MCP-1), un ligando del CCR2, como blanco terapéutico representa un abordaje atractivo para numerosas enfermedades inflamatorias.¹¹ Se utilizaron derivados benzotienos de HTS para crear benzoxepinas de segunda generación, las cuales, tras la optimización y modelamiento por homología contra el receptor CCR2, se emplearon para sintetizar el NIBR-177. El NIBR-177 tiene una capacidad de unión en el orden nanomolar para receptores CCR2 de rata, ratón y humano y para CCR5 del hombre. En un modelo murino de migración de monocitos, el NIBR-177 (en dosis de 1, 3 y 10 mg/kg, por vía oral, una hora antes de la administración del ligando quimiotáctico MCP-1) se asoció con inhibición dependiente de la dosis de la quimiotaxis de monocitos en la cavidad peritoneal (6%, 52% y 79% con dosis de 1, 3 y 10 mg/kg, respectivamente). En un modelo de artritis en rata inducido por adyuvante (AIA), el NIBR-177 (en dosis de 30 mg/kg/día por vía oral, desde el día 0 hasta el día 17 después de la inyección de *M. tuberculosis* en el día 0) produjo la inhibición del 47% del edema articular en comparación con una supresión del 83% lograda con dexametasona (0.1 mg/kg).

Clare Murray (AstraZeneca) describió el mecanismo de acción de una nueva clase de compuestos inmunomoduladores. Se vio que estos nuevos agentes inducen un bloqueo del transportador monocarboxilato MCT1 en linfocitos T.¹² La investigación con derivados de 1-isobutil-3-metil-1,6-dihidro-pirolo[3,4-d]pirimidina-2,4-dionas se inició después de la publicación de un trabajo de un grupo en Sterling Winthrop sobre la pesquisa de inhibidores de la transcripción del NFAT destinada a identificar compuestos que actúan por un mecanismo diferente al del FK506 y al de la ciclosporina. Los estudios iniciales de AstraZeneca evaluaron centros heterocíclicos alternativos e identificaron un derivado, el AR-C117977, con excelente potencia contra la proliferación primaria de células T humanas y de ratones, apto para ser evaluado en modelos *in vivo*. El AR-C117977 (4 mg/kg por vía subcutánea) fue eficaz en el modelo murino de artritis inducida por colágeno (AIC). En el modelo murino de aloinjerto heterotópico de corazón, realizado en colaboración con investigadores de la Universidad de Malmö, el AR-C117977 (3 mg/kg sc o 100 mg/kg por vía oral) retrasó el rechazo en más de 100 días, en comparación con la ciclosporina (10 mg/kg por vía oral) que demoró el rechazo en 21 días, en promedio. Después de demostrar la eficacia en modelos inmunes *in vitro* e *in vivo* se utilizó una estrategia de marcación de fotoafinidad y de caracterización proteómica para identificar el blanco molecular de compuestos como el transportador monocarboxilasa MCT1 (SLC16A1). El MCT1 es un miembro de la familia MCT, supuestamente con 12 regiones transmembrana, y los MCT1-4 están involucrados en el transporte ligado a protones de lactato y de otros monocarboxilatos a través de la membrana plasmática. Estudios posteriores demostraron que una variedad de compuestos relacionados se unían al MCT1 humano expresado en levaduras con una potencia similar para inhibir la proliferación de linfocitos T, lo cual confirma que el MCT1 es el blanco molecular. Los compuestos mostraron al menos 10 veces más selectividad para el MCT1 en comparación con el MCT2 y no demostraron actividad funcional contra el MCT3 y el MCT4. Los linfocitos T en proliferación requieren glucólisis aeróbica para obtener ATP y precursores de la biosíntesis de nucleótidos para poder dividirse rápidamente, como ocurre durante una respuesta inmune frente a un antígeno. La expresión de la proteína MCT1

aumenta en células T activadas, coincidentemente con la demanda de un incremento del flujo de lactato producido por la vía glucolítica. La inhibición del MCT1 durante la activación de los linfocitos T se asocia con acumulación de lactato y con una inhibición intensa y selectiva de la fase muy rápida de división celular. Sin embargo, muchos estadios de la activación linfocitaria, como la producción de citoquinas, la señalización o la mayoría de las funciones fisiológicas, no requieren la actividad de MCT1. Estos estudios identificaron una nueva clase de compuestos inmunomoduladores con un nuevo mecanismo de acción y brindarán herramientas potentes y selectivas para facilitar la investigación acerca del papel del MCT1 en el metabolismo y la función de los linfocitos T.

BIBLIOGRAFÍA

1. Park YW, Pryshep S, Seyler TM et al. B cells as a therapeutic target in autoimmune diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2005; 9:431-445.
2. Edwards JCW, Cambridge G. C-cell targeting in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2006; 6:394-403.
3. Pescovitz MD. Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody: history and mechanism of action. *Am J Transplant* 2006; 6:859-866.
4. Looney RJ. B cell-targeted therapy for rheumatoid arthritis. *Drugs* 2006; 66:625-639.
5. www.genmab.com.
6. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A et al. The efficacy and safety of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment. Results of a phase IIb randomised, double blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis & Rheumatism* 2006; 54:1390-1400.
7. Cohen SB, Greenwald M, Dougados MR et al. Efficacy and safety of rituximab in active RA patients who experienced an inadequate response to one or more anti-TNF therapies (REFLEX study). *ACR* 2005; abstract 1830.
8. Khobzaoul M, Gutke HJ, Burnet M. CC-10004. *Curr Opin Invest Drugs* 2005; 6:518-525.
9. Molostvov G, Morris A, Rose P et al. The effects of selective cytokine inhibitory drugs (CC-10004 and CC-1088) on VEGF and IL-6 expression and apoptosis in myeloma and endothelial cell co-cultures. *Brit J Haematol* 2004; 124:366-375.
10. Gottlieb AB, Malaviya R, Rohane P, Jones M. et al. Biological activity of CC-10004 in patients with severe plaque-type psoriasis. 64th Annual Meeting of the American Academy of Dermatology 2006; p34.
11. Dawson J, Miltz W, Mir AK, Wiessner. Targeting monocyte chemoattractant protein-1 signalling in disease. *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7:35-48.
12. Murray CM, Hutchinson R, Bantick JR, et al. Monocarboxylate transporter MCT1 is a target for immunosuppression. *Nature Chem Biol* 2005; 1:371-376.