

USO DE COMPOSICIONES TERAPÉUTICAS PARA EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON TUMORES DE ORIGEN EPITELIAL

CAMPO DE LA TÉCNICA

- 5 La presente invención se relaciona con las ramas de la Biotecnología y la Medicina. Particularmente se describe el uso de composiciones terapéuticas para el tratamiento de pacientes con tumores de origen epitelial mediante el bloqueo simultáneo del factor de crecimiento epidérmico y la vía de señalización PD1/PD1 ligando.

10 ARTE PREVIO

- La respuesta antitumoral generada por el sistema inmune es regulada negativamente por moléculas llamadas “puntos de control”, entre los cuales destaca el receptor PD1 y su ligando PDL1. Anticuerpos monoclonales (AcM) que bloquean la transmisión de la señal inhibitoria en estos puntos de control (anti-CPI, por sus siglas en inglés: *immune checkpoint inhibitors*) inducen una respuesta antitumoral más eficaz. Hasta diciembre del 2020, siete AcM inhibidores de los puntos de control habían sido aprobados para el tratamiento de numerosos tumores malignos “inmunosensibles”, tales como melanoma, cáncer de pulmón, tumores escamosos de cabeza y cuello, hepatocarcinoma, cáncer urotelial, gástrico, cáncer de mama y tumores colorectales (Ravindranathan D y cols. (2021) *Biology*, 10: 325). Entre los AcM más exitosos se encuentran el nivolumab y el pembrolizumab específicos al PD1 (anti-PD1) y el atezolizumab y durvalumab contra el PDL1. Se ha demostrado que estas terapias son más efectivas en aquellos tumores que: expresan moléculas de PDL1, tienen alta frecuencia de mutaciones y existe un infiltrado de células inmunitarias potencialmente capaces de atacar al tumor si se bloquea la señal inhibitoria (Gibney GT y cols. (2016) *Lancet Oncol.* 17(12): e542-e551). Se han desarrollado además inhibidores de bajo peso molecular contra PD1/PDL1 con resultados alentadores en cuanto al bloqueo de esta vía de señalización sin mostrar efectos adversos relacionadoso con el sistema inmune (Liu Ch y cols. (2021) *Cancer Cell Int.* 21:e1-e17).
- 30 El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es un receptor tirosina quinasa y conocido oncogen (Yarden Y. (2001) *European Journal of Cancer.* 37:S3-S8), que es activado por siete ligandos naturales. Varios estudios han reportado activación diferencial de la cascada de señalización del EGFR, en dependencia del ligando que se une al EGFR. Ligandos como el EGF inducen una señalización que favorece la proliferación tumoral mientras que ligandos de baja afinidad como la anfiregulina promueven diferenciación (Freed DM y cols. (2017) *Cell* 171: 1–13). La activación diferencial de la cascada de señalización en dependencia del ligando puede ser crucial

para dirigir las terapias hacia estas moléculas en contraposición al bloqueo directo del receptor, por ejemplo, con AcM anti-EGFR o inhibidores de la cascada de señalización TKI. Tales diferencias pueden influir en la tolerabilidad/seguridad de los tratamientos, así como en una eficacia clínica mayor o menor en diferentes contextos terapéuticos.

- 5 En este sentido, una modalidad terapéutica que tiene como diana a los ligandos del EGFR, es el uso de composiciones vacunales que induzcan anticuerpos (Acs) específicos contra un ligando bloqueando su interacción con el EGFR. Ejemplo de esta estrategia terapéutica es la vacuna CIMAvax-EGF que genera Acs específicos contra el factor de crecimiento epidérmico (EGF) humano privando al tumor de este importante
- 10 ligando. Numerosos ensayos clínicos en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) inmunizados con CIMAvax-EGF han demostrado que la vacuna es segura e inmunogénica. Desde el punto de vista de la respuesta clínica, la administración de la vacuna ha aumentado significativamente la supervivencia de los pacientes. (Rodríguez PC y cols. (2016) Clin Cancer Res. 22(15):3782- 90).
- 15 Una de las moléculas más importantes involucradas en la señalización a través del EGFR es la GTPasa KRAS. Esta molécula activa, a su vez, múltiples cascadas de señalización involucradas en la tumorigénesis. Aproximadamente el 30% de todos los tumores humanos presentan mutaciones en el gen que codifica para el KRAS, lo que induce cierta activación constitutiva de la cascada del EGF-R independientemente de la
- 20 activación convencional del receptor en la membrana (Fernández-Medarde, A y cols. (2011) Genes and Cancer. 2: 344–358). En algunas de estas neoplasias predomina la mutación en este gen como es el caso del adenocarcinoma de páncreas, presente en el 90% de los tumores. En otros adenocarcinomas como el de colon, está presente en el 40% de los mismos. En el caso de pulmón, la mutación en KRAS esta presente en el
- 25 30% de todos los tumores de pulmón de células no pequeñas, fundamentalmente en la histología de adenocarcinoma (Moore AR y cols. (2020) Nat Rev Drug Discov. 19(8): 533–552).

- En tumores como el de páncreas y colon la presencia de mutaciones de KRAS favorece el crecimiento tumoral y la resistencia a terapias (Haigis KM y cols. (2008) Nat Genet. 40:600–8.; Bournet B y cols. (2016) Clin Transl Gastroenterol. 7:e157). Sin embargo, en
- 30 otros, como el caso de los adenocarcinomas de pulmón existen datos controversiales sobre el valor pronóstico de las mutaciones en este gen (Shepherd FA y cols. (2013) J Clin. Oncol. 31 (17): 2173-81; Zer A y cols. (2016) J Thoracic. Oncol. 11 (13):312-23). En tumores avanzados de colon, la presencia de KRAS nativo es un predictor de
- 35 beneficio clínico del tratamiento con los AcM panitumumab y cetuximab específicos al EGFR. Adicionalmente, el uso de nimotuzumab (otro anti-EGFR) combinado con gencitabina proporciona beneficio clínico en pacientes con cáncer de páncreas

avanzado cuyos tumores presentan KRAS nativo (Schultheis B y cols. (2017) Ann. Oncol. 28:2429-35). Sin embargo, el uso de cetuximab para el tratamiento de CPCNP no ha mostrado ventaja clínica en ninguno de los subgrupos de pacientes con mutaciones en la cascada de señalización del EGFR, incluidas en particular el KRAS.

- 5 Por otra parte, la mutación o no de KRAS en los tumores no influye o condiciona, por si sola la respuesta clínica de los pacientes a los AcM anti-PD1/PDL1. En los ensayos clínicos de registro con los AcM anti-PD1/PDL1 en cáncer de pulmón, se observó beneficio clínico significativo para pacientes con tumores KRAS mutados (Borghaei, H y cols. (2015) N Engl J Med. 373(17): 1627–1639; Socinski May cols. (2018) N Engl J
- 10 Med. 378(24):2288-2301). En concordancia con este hallazgo, ensayos clínicos recientes, muestran que la presencia de otras mutaciones de conjunto con mutaciones en KRAS (co-mutaciones) pudieran condicionar una mejor o peor respuesta en los pacientes tratados con AcM anti-PD1/PDL1. En particular, en los adenocarcinomas de pulmón en los cuales el KRAS co-muta con el gen de TP53, derivan en tumores
- 15 inmunogénicos, más sensibles a los CPI, mientras que la co-mutación en STK11 produce un tumor poco inflamado y más resistente a este tipo de terapias (Dong ZY y cols. (2017) Clin Cancer Res 23: 3012–3024; Skoulidis Fy cols. (2018) Cancer Discov; 8: 822–835).

- Dado el éxito de las terapias bloqueadoras de la señalización del EGFR y los CPI varios
- 20 estudios han evaluado el beneficio del tratamiento combinado de ambas aproximaciones en diferentes nichos de tratamiento, con resultados diversos. Varios autores exploraron la conveniencia o no de combinar AcM anti-PD1/PDL1 con terapias TKI que bloquean la señalización aberrante por variantes mutadas del EGFR, en pacientes de cáncer de pulmón. Estos estudios no mostraron ventaja de la combinación
- 25 e incrementaron significativamente la toxicidad (Yang JC y cols. (2019) J Thorac Oncol.;14 (3):553-9; Schoenfeld AJ y cols. (2019) Ann Oncol. 30(5):839-44). Otros autores evaluaron la combinación de necitumumab (otro AcM anti-EGFR) en pacientes de cáncer de pulmón. En este estudio la toxicidad resultó manejable, pero sin evidencia de un efecto clínicamente relevante (Besse B y cols. (2020) Lung Cancer. 142: 63-69).
- 30 En ninguno de estos ensayos, se ha reportado asociación con el estatus de la molécula de KRAS.

- En esta invención se reporta, por primera vez, el uso de una composición terapéutica que combina Acs que bloquean la interacción entre PD1 y PDL1 y una composición vacunal que induce Acs contra el EGF humano autólogo, en pacientes con KRAS nativo.
- 35 Los resultados obtenidos demuestran que la terapia es bien tolerada y beneficia específicamente a los pacientes con tumores que presentan el KRAS nativo. Más aun,

esta terapia, beneficia a pacientes con tumores con baja expresión de PD-L1, los que son poco sensibles a las terapias con AcM anti-PD1/PDL1.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En una realización la presente invención se relaciona con el uso de composiciones terapéuticas para el tratamiento de tumores de origen epitelial. Dichas composiciones se caracterizan porque comprenden una composición vacunal que induce la producción de Acs específicos contra el EGF y un compuesto que bloquea la vía de señalización PD1/PD1 ligando. En particular, se describe el uso de las composiciones terapéuticas antes mencionadas en aquellos tumores de origen epitelial que expresan la forma nativa de la proteína KRAS, preferentemente las que tienen las secuencias descritas en la SEQ ID NO.: 1 y SEQ ID NO.: 2.

Particularmente, las composiciones vacunales que inducen la producción de Acs contra el EGF comprende como principio activo un conjugado entre el EGF humano recombinante y una proteína transportadora. Dicha proteína transportadora se selecciona del grupo que comprende: la toxina B del cólera, toxoide tetánico, KLH y p64k de *Neisseria meningitidis*.

Adicionalmente, las composiciones vacunales que inducen la producción de Acs contra el EGF tienen un adyuvante que se selecciona del grupo que comprende: adyuvante incompleto de Freund, a base de escualeno, de origen sintético, de origen mineral, de origen vegetal, de origen animal, proteicos particulados y liposomas.

El compuesto que bloquea la vía de señalización PD1/PD1 ligando se selecciona del grupo que comprende un Ac anti-PD1 entre los cuales se encuentran el nivolumab, pembrolizumab, MEDI0608 y pidilizumab y un Ac anti-PDL1 los que pueden ser: el atezolizumab, durvalumab, avelumab y MDX-1105.

En una realización de la presente invención, se seleccionan los pacientes determinando la presencia o ausencia de KRAS nativo en una muestra de sus células tumorales. Se seleccionan para el tratamiento aquellos con presencia de KRAS nativo. Entre los tipos de tumor que se tratan están: pulmón, colon...

En una realización adicional, la presente invención se relación con un método para estratificar pacientes en respondedores o no respondedores al tratamiento con las composiciones terapéuticas aquí descritas donde los pacientes se estratifican determinando la presencia o ausencia de KRAS nativo en una muestra de las células tumorales del paciente y aquellos en los que se detecta la presencia de KRAS nativo se considerarán respondedores al tratamiento. Preferentemente, se

considerarán respondedores aquellos pacientes donde sus muestras tumorales tengan niveles de PDL1 están por debajo del 1%.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

KRAS

- 5 Los usos y métodos de la presente invención están previstos para el tratamiento y/o la estratificación de pacientes cuyos tumores epiteliales expresan la proteína humana nativa KRAS. El término nativo se refiere a las isoformas de KRAS humano de origen natural (Uniprot No. de acceso P01116, versión 246 del 7 de abril, 2021). Se prevé que las isoformas de KRAS nativas son aquellas que comprenden las secuencias SEQ ID
- 10 NO.: 1 o SEQ ID No. 2. En particular, las isoformas de KRAS nativas pueden consistir en las secuencias SEQ ID NO.: 1 o a la SEQ ID No. 2.

- El término "KRAS nativo" generalmente también abarca, polipéptidos de KRAS que tienen mutaciones relativas a la secuencia de referencia mostradas en la SEQ ID NO: 1 (KRAS4A) o en la SEQ ID No. 2 (KRAS4B) y además abarca polipéptidos los cuales
- 15 comparten un cierto grado de identidad con las secuencias de aminoácidos mostradas en la SEQ ID NO: 1 (KRAS4A, Uniprot No. de acceso P01116-1) o SEQ ID No. 2 (KRAS4B, Uniprot No. de acceso P01116-2) como aquí se describe. Más específicamente, KRAS nativo incluye los polipéptidos de KRAS que tengan al menos un 80%, 85%, 90%, 95% o 100% de identidad con SEQ ID NO.: 1 (KRAS4A) o SEQ ID
- 20 No. 2 (KRAS4B). En particular, las isoformas 4A y 4B se abarcan por el término "KRAS humano nativo". Preferiblemente, "KRAS nativo" no comprende una mutación en su secuencia de aminoácidos en comparación a las SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2 respectivamente. Los términos KRAS nativo y KRAS salvaje son utilizados en la presente invención intercambiabilmente y se refieren a las isoformas de KRAS de
- 25 origen natural aquí descritas.

Composiciones terapéuticas

- La presente invención se refiere, a composiciones terapéuticas para el tratamiento del cáncer dirigidas particularmente a bloquear el blanco EGF y la vía de señalización PD1/PD1 ligando. La presente invención describe el uso efectivo de la combinación de
- 30 compuestos contra el PD1 o su ligando PDL1, con agentes que reducen las concentraciones del EGF; en una subpoblación de pacientes con tumores de origen epitelial, en especial aquellos tumores que típicamente responden a la inmunoterapia.
- Entre los compuestos contra el PD1 o su ligando se encuentran los AcM anti-PD1 que se emplean en la presente invención son todos aquellos que se unen específicamente
- 35 al receptor de superficie celular PD1 y bloquean la vía inhibitoria PD1/PDL1. Entre

dichos AcM anti-PD1 se encuentran: el nivolumab descrito en la patente US 8,008,449), el pembrolizumab que se describe en las patentes US 8,354,509 y US 8,900,587, el MEDI0608 (US 8,609,089), el pidilizumab (US 8,686,119) y el cemiplimab.

Los AcM anti-PDL1 que se emplean en la presente invención son todos aquellos que se unen específicamente al PDL1 y bloquean la vía inhibitoria PD1/PDL1. Entre dichos AcM anti-PDL1 se encuentran: atezolizumab descrito en la patente US 8,217,149, el durvalumab (US 8,779,108), el avelumab que se describe en la patente US 9,624,298 y MDX-1105 (US 7943743).

Adicionalmente, inhibidores de bajo peso molecular que suprimen la interacción PD1/PDL1 se pueden combinar con los agentes que reducen las concentraciones del EGF, según la presente invención. Entre dichos inhibidores se encuentran: BMS1166, BMS202 y CA-170.

Los agentes que reducen las concentraciones del EGF proporcionadas en la presente invención son todas aquellas composiciones vacunales que inducen la producción de Acs específicos contra el EGF humano autólogo que bloquean la interacción con el receptor de EGF, los cuales contribuyen a disminuir y/o eliminar los niveles de EGF sérico. Ejemplos de dichas composiciones vacunales lo constituyen todas aquellas que comprenden como principio activo un conjugado entre el EGF humano recombinante (EGFhr) y una proteína transportadora. Dicha proteína transportadora puede ser: la toxina B del cólera, el toxoide tetánico, KLH y P64k de *Neisseria meningitidis*, sin restringirse a estas. Adicionalmente, dichas composiciones vacunales poseen un adyuvante que se selecciona de los siguientes: adyuvante incompleto de Freund, adyuvantes a base de escualeno, de origen sintético, de origen mineral, de origen vegetal, de origen animal, adyuvantes proteicos particulados y liposomas.

25 **Métodos de identificación y/o selección de pacientes**

Para evaluar si un determinado paciente pertenece o no a la población de pacientes a tratar con las composiciones terapéuticas reclamadas en la presente invención se pueden utilizar técnicas de experimentación rutinarias conocidas. Por ejemplo, para determinar si un tumor de origen epitelial expresa o no KRAS nativo, normalmente se obtiene una muestra de tumor del paciente que se va a evaluar, y se obtiene la secuencia de ácido nucleico KRAS respectivamente, de la muestra se amplifica y se somete a secuenciación. Alternativamente, se puede utilizar la reacción en cadena de la polimerasa para detectar la presencia de mutaciones en el gen KRAS.

Otro método está relacionado con muestras de plasma o suero en las que las células tumorales circulantes con oncogen KRAS, pueden detectarse utilizando *microarrays* de membrana. A este respecto, una mutación positiva de KRAS en plasma o suero sugiere

una mutación de KRAS en el tumor, mientras que la ausencia de una mutación de KRAS en el plasma o suero no necesariamente prueba la ausencia de una mutación similar en el tejido epitelial tumoral.

Adicional o alternativamente, la expresión de KRAS de tipo salvaje se puede determinar detectando polipéptidos KRAS de tipo nativo y/o mutados en la muestra de tumor; por ejemplo, mediante el uso de Acs específicos que se unen a epítomos específicos para KRAS de tipo nativo o mutante, respectivamente. Se prevé que los pacientes con tumores de origen epitelial que expresan KRAS de tipo nativo se seleccionen para el tratamiento, mientras que los pacientes que expresan KRAS mutado, no se seleccionan para el tratamiento.

Los pacientes con tumores epiteliales que expresan KRAS mutado y, en particular, KRAS que tienen una o más mutaciones como se establece en esta solicitud, son menos respondedores o no responden al tratamiento con las composiciones terapéuticas descritas en esta invención. Por tanto, la presente invención también proporciona un método para la estratificación de pacientes con tumores epiteliales. "Estratificación", cuando se utiliza en este documento, significa clasificar a los pacientes con tumores epiteliales en aquellos que pueden beneficiarse del tratamiento con las composiciones terapéuticas de la presente solicitud y aquellos que pueden no beneficiarse. Los pacientes cuyos tumores epiteliales no expresan KRAS nativo y, en particular, los pacientes cuyos tumores epiteliales expresan KRAS mutados, probablemente no se benefician (respondan) del tratamiento con las composiciones terapéuticas descritas en la presente invención.

De lo contrario, los pacientes cuyos tumores epiteliales expresan KRAS nativo como se define en el presente documento, se benefician (responden) al tratamiento tal como se describe en esta invención. Dicho KRAS nativo tiene preferiblemente una secuencia correspondiente a SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2.

El término "responder" en el contexto del método de tratamiento proporcionado en esta solicitud significa que un paciente, o un tumor, muestra una respuesta completa o una respuesta parcial o una estabilización de la enfermedad, después de administrar las composiciones terapéuticas descritas en la presente invención; de acuerdo a los Criterios de Respuesta para uso en Ensayos Clínicos que prueban inmunoterapéuticos (del inglés iRECIST). El término "no respondedor" de acuerdo a la presente invención se refiere a aquellos pacientes que muestran una enfermedad progresiva después de la administración de dichas composiciones terapéuticas. iRECIST se describe en: Seymour L y cols. RECIST working group (2017) Lancet Oncol. 18(3):e143-e152.

En la presente invención también se proporciona un método para seleccionar un paciente o la población de pacientes a tratar. Esto se logra determinando la presencia o

ausencia de KRAS mutado y/o de tipo nativo en una muestra del tumor epitelial de cada paciente. Los pacientes en cuyas muestras de tumor se detecta KRAS mutado y/o no se detecta KRAS de tipo nativo no se consideran elegibles para el tratamiento, mientras que los pacientes en cuyas muestras de tumor se detecta KRAS de tipo nativo y/o no se detectan mutantes de KRAS se consideran elegibles, por lo tanto, se seleccionan para el tratamiento de acuerdo con la invención.

Además, como se describió anteriormente, la invención permite proporcionar un método para el pronóstico de si un paciente que padece cáncer de origen epitelial responderá o no al tratamiento con las composiciones terapéuticas descritas en la presente invención.

Como se ha expuesto anteriormente, la ausencia o presencia de KRAS mutado y/o de tipo nativo en una muestra de tumor del paciente puede evaluarse usando métodos conocidos en la técnica. La expresión de KRAS mutado en el tumor epitelial indica que el paciente o el tumor epitelial, no responderá al tratamiento, mientras que la expresión de KRAS de tipo nativo en el tumor epitelial, indica que el paciente tiene una alta probabilidad de responder al tratamiento con las composiciones terapéuticas descritas en la presente invención.

En una realización adicional preferida de la invención, los pacientes respondedores al tratamiento serán los que expresen KRAS nativo y a su vez niveles de PDL1 por debajo del 1% medidos por técnicas inmunohistoquímicas en muestras de tumor.

Métodos de tratamiento

Entre los tipos de cáncer que se pueden tratar con la composición terapéutica que se describe en la presente invención se encuentran sin limitarse a: CPCNP, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma urotelial, cáncer colo-rectal, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de cuello uterino, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células renales, carcinoma de endometrio, cáncer de mama, carcinoma escamoso de piel.

Adicionalmente, la invención incluye neoplasias refractarias o recurrentes cuyo crecimiento se puede inhibir usando la combinación de la invención.

La administración de las composiciones vacunales que comprenden al EGF como principio activo se realizará preferentemente por vía intramuscular, las primeras 4 dosis cada 14 días y las restantes, cada 28 días, con un rango de tiempo permisible de 3 días. El rango de dosis en el que se emplearán dichas composiciones comprenderá entre 20-70 $\mu\text{L/kg}$ de peso o 20-70 μg de proteínas totales por kilogramo de peso o hasta 5 mg de proteínas totales, siendo más recomendable 30-60 $\mu\text{g/kg}$. La etapa de tratamiento tendrá una duración mínima de 6 meses, seguida de una etapa de mantenimiento que puede variar en frecuencia y dosis de acuerdo a los resultados obtenidos y se puede

optimizar teniendo en cuenta el título de A generados y la mejoría y/o estabilización de los síntomas clínicos, siempre que se garantice una reducción de las concentraciones de EGF sérico. Dichas concentraciones de EGF sérico se pueden medir por cualquiera de los juegos diagnósticos disponibles comercialmente para este fin.

- 5 Los AcM anti-PD1 y anti-PDL1 se administrarán en las dosis y esquemas recomendados para cada caso. En el caso de los AcM anti-PD1 se administrarán en un rango de dosis entre 100-500 mg de proteínas totales por vía intravenosa con una frecuencia de entre dos a seis semanas. Los anti-PDL1 se administrarán por vía intravenosa en un rango entre 600-1800 mg de proteínas totales con una frecuencia de entre dos a cinco
- 10 semanas. La administración de la vacuna y los AcMs se ajustará de forma que coincida la acción de bloquear la señalización PD1/PD1L y la inhibición de la señalización mediada por EGF. Siguiendo este principio la administración puede ser concomitante o secuencial. En particular, la administración de la composición vacunal puede solaparse con los esquemas de administración de los Acs.
- 15 La presente invención queda aún más elaborada con los siguientes ejemplos y dibujos. Sin embargo, estos ejemplos no deberían ser interpretados como una limitación del ámbito de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- Figura 1.** Título de Acs anti-EGF en el suero en pacientes tratados con CIMAvax-EGF y el AcM nivolumab.

Figura 2. Niveles de EGF en el suero de pacientes tratados con CIMAvax-EGF y el AcM nivolumab.

Figura 3. Supervivencia acumulada de pacientes tratados con CIMAvax-EGF y nivolumab en el tiempo, en pacientes con tumores KRAS nativo y KRAS mutado.

- 25 **Figura 4.** Supervivencia acumulada de pacientes tratados con CIMAvax-EGF y nivolumab en el tiempo, para pacientes con tumores PD-L1<1%, que son KRAS nativo o KRAS mutado.

EJEMPLOS

- Ejemplo 1. La administración combinada de CIMAvax-EGF y el AcM anti-PD1 nivolumab es segura e induce una potente respuesta de Acs anti-EGF humano.**

En un ensayo clínico de fase I/II, en el Roswell Park Comprehensive Cancer Center, de Buffalo, Nueva York (NCT02955290), se utilizó una composición terapéutica que comprende la composición vacunal CIMAvax-EGF, con el AcM anti-PD1 nivolumab, para el tratamiento de pacientes avanzados de CPCNP.

Este estudio tuvo una Fase I de escalado de dosis y una fase II de evaluación de eficacia. En total, se incluyeron 29 pacientes con CPCNP metastásico. El nivolumab se usó a la dosis de 240 mg cada 2 semanas, por vía intravenosa. La composición vacunal CIMAvax-EGF se utilizó a una dosis de 2,4 mg por vía intramuscular cada 2 semanas

5 durante la fase de inducción (4 dosis), seguida de inyecciones mensuales en la fase de mantenimiento. Los primeros 6 pacientes recibieron la mitad de la dosis de CIMAvax-EGF (1,2 mg).

El perfil de seguridad fue favorable y no se constataron reacciones adversas graves relacionadas con la terapia aplicada. CIMAvax-EGF indujo una buena respuesta en

10 todos los pacientes, definida por un título de Acs anti-EGF igual o mayor que 1: 4000 (dilución del suero (Figura 1).

También se constató en los pacientes tratados con CIMAvax-EGF y el AcM nivolumab una rápida reducción de la concentración de EGF en el suero de los pacientes, medido por ELISA (Human EGF Quantikine ELISA Kit, R&D Systems) (Figura 2).

15 La mediana de supervivencia global para los 29 pacientes tratados fue de 10.36 meses. La tasa de supervivencia global al año fue de 44%.

Ejemplo 2. La administración combinada de CIMAvax-EGF y el AcMant anti-PD1 nivolumab beneficia significativamente a los pacientes con KRAS nativo.

Se realizó, en el ensayo descrito en el Ejemplo 1, un análisis estratificando los pacientes,

20 de acuerdo a la presencia o no de mutaciones en el gen de KRAS en el tumor. La presencia o no de mutaciones y el número de copias del gen KRAS, se verificó utilizando un ensayo de secuenciación de nueva generación que utiliza la secuenciación de DNA basado en PCR multiparamétrico. De forma sorprendente, la supervivencia de los pacientes con KRAS nativo, fue significativamente superior a la de los pacientes con

25 KRAS mutado (Figura 3).

La mediana de supervivencia fue de 22.06 meses en los pacientes con KRAS nativo y de 10.26 meses en los pacientes con KRAS mutado. La tasa de supervivencia al año fue de 69 % en los pacientes con KRAS nativo y de 37% en los pacientes con KRAS mutado

30 Adicionalmente, los pacientes portadores de tumores con KRAS nativo tuvieron una mejora significativa en la tasa de control de la enfermedad (pacientes con al menos estabilización de la enfermedad según criterio irRECIST (Seymour L y cols. RECIST working group (2017) Lancet Oncol. 18(3):e143-e152), tras la terapia combinada. En los pacientes con KRAS nativo, la tasa de control de la enfermedad tras la combinación de

35 CIMAvax-EGF y nivolumab fue de 56.3 % en comparación con 12.5 % en los pacientes con tumores que contienen mutaciones de KRAS.

La supervivencia observada con la terapia combinada en los pacientes con KRAS nativo es clínicamente relevante, pues acorde a la literatura la estratificación según mutaciones de KRAS no influye en la supervivencia de pacientes tratados solamente con el AcM nivolumab. En estos pacientes de CPCNP avanzado, la monoterapia con nivolumab
5 resultó en una mediana de supervivencia de 11.2 meses y 10 meses, en pacientes con KRAS mutado o nativo, respectivamente (Passiglia F y cols. (2019) Br J Cancer 120(1):57-62).

**Ejemplo 3. La administración combinada de CIMAvax-EGF y el Ac anti-PD1 nivolumab beneficia significativamente a los pacientes con tumores KRAS nativo
10 y PDL1<1%.**

Dado los antecedentes conocidos en la literatura de menor respuesta a la monoterapia con AcM anti-PD1 en pacientes con baja expresión de PDL1 en el tumor, el análisis del ejemplo 2 se repitió para los pacientes cuyos tumores no expresaban PDL1 (PDL1<1%). La expresión de PDL1 fue determinada usando el ensayo 28-8 de pharmDx para la
15 determinación de PDL1.

Sorprendentemente se observó que la estratificación de los pacientes según las mutaciones en KRAS diferenció nuevamente la supervivencia de los pacientes. La mediana de supervivencia fue de 22.06 meses en los pacientes con KRAS nativo y 10.26 meses en los pacientes con KRAS mutado. La tasa de supervivencia al año fue muy
20 alta, 80 % en los pacientes con KRAS nativo (Figura 4).

USO DE COMPOSICIONES TERAPÉUTICAS PARA EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON TUMORES DE ORIGEN EPITELIAL

REIVINDICACIONES

5

1. Uso de una composición terapéutica para el tratamiento de tumores de origen epitelial, caracterizada porque comprende una composición vacunal que induce la producción de anticuerpos (Acs) específicos contra el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y un compuesto que bloquea la vía de señalización PD1/PD1 ligando.
2. Uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde los tumores de origen epitelial expresan la forma nativa de la proteína KRAS humana.
3. Uso de acuerdo a la reivindicación 2, donde la forma nativa de KRAS se caracteriza por tener la secuencia que se selecciona del grupo que comprende la SEQ ID NO.: 1 y SEQ ID NO.: 2.
4. Uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde la composición vacunal que induce la producción de Ac contra el EGF comprende como principio activo un conjugado entre el EGF humano recombinante y una proteína transportadora.
5. Uso de acuerdo a la reivindicación 4, donde la proteína transportadora se selecciona del grupo que comprende:
 - toxina B del cólera,
 - toxoide tetánico,
 - KLH y
 - p64k de *Neisseria meningitidis*.
6. Uso de acuerdo a la reivindicación 5, donde la composición vacunal adicionalmente tiene un adyuvante que se selecciona del grupo que comprende:
 - adyuvante incompleto de Freund,
 - a base de escualeno,
 - de origen sintético,
 - de origen mineral,
 - de origen vegetal,
 - de origen animal,
 - proteicos particulados y
 - liposomas.

7. Uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde el compuesto que bloquea la vía de señalización PD1/PD1 ligando se selecciona del grupo que comprende:
 - un Ac anti-PD1 y
 - un Ac anti-PDL1.
- 5 8. Uso de acuerdo a la reivindicación 7, donde el Ac anti-PD1 se selecciona del grupo que comprenden: nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, MEDI0608 y pidilizumab.
9. Uso de acuerdo a la reivindicación 8, donde el Ac anti-PDL1 se selecciona del grupo que comprenden: atezolizumab, durvalumab, avelumab y MDX-1105.
- 10 10. Uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-9 donde los pacientes se seleccionan determinando la presencia o ausencia de KRAS nativo en una muestra de las células tumorales del paciente, siendo los pacientes con presencia de KRAS nativo los seleccionados para el tratamiento.
- 15 11. Uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para el tratamiento de tumores que se seleccionan del grupo que comprende: cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma urotelial, cáncer colo-rectal, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de cuello uterino, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de
- 20 Merkel, carcinoma de células renales, carcinoma de endometrio, cáncer de mama, carcinoma escamoso de piel.
12. Un método para la estratificación de pacientes en respondedores o no respondedores al tratamiento con una composición terapéutica que comprende un compuesto que bloquea al factor de crecimiento epidérmico y un Ac que bloquea la vía de señalización PD1/PD1 ligando donde el paciente se selecciona determinando la presencia o ausencia de KRAS nativo en una muestra de las células tumorales del paciente.
- 25 13. El método de acuerdo a la reivindicación 12, donde los pacientes en los que en sus muestras tumorales se detecta la presencia de KRAS nativo se consideran respondedores al tratamiento.
- 30 14. El método de acuerdo a la reivindicación 13, donde en las muestras tumorales de los pacientes los niveles de PD-L1 están por debajo del 1%.