



INFORME RESUMEN DEL ESTUDIO CLÍNICO

TITULO

Promotor: Clínica Universidad de Navarra

Número EUDRACT: 2013-003632-71

Código del protocolo: DEND/TIA

Fecha de finalización del ensayo clínico: 3/1/2019

Versión 1 de 04/05/2021

AUTOR DEL RESUMEN DEL INFORME CLÍNICO:

ANA PATIÑO GARCÍA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA

CLÍNICA UNIVERSIDAD DE NAVARRA (CUN)

Universidad de Navarra. 31008 Pamplona (España)

CONFIDENCIAL

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

A. INFORMACIÓN DEL ENSAYO CLÍNICO

IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Título: Inmunoterapia basada en el uso de células dendríticas en tumores sólidos avanzados de niños y adultos jóvenes

Código del promotor: CUN 1368

Número EUDRACT: 2013-003632-71

Otros identificadores, si procede: DEND/TIA

IDENTIFICACIÓN DEL PROMOTOR

Clínica Universidad de Navarra.

Avda. Pío XII, nº 36, 31008 Pamplona, Navarra, España

Punto de contacto público: JP

Punto de contacto científico: IP

DATOS PEDIÁTRICOS REGLAMENTARIOS

NO

CENTROS DE REALIZACIÓN DEL ESTUDIO E INVESTIGADORES PRINCIPALES

Clínica Universidad de Navarra. Departamento de Pediatría

Investigador Principal: Ana Patiño García

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

FASE DE ANÁLISIS DE RESULTADOS

Fecha de estudio: Fecha de inicio del estudio: 19/9/2014

Fecha en la que el último paciente completó el estudio: 3/1/2019

Fechas de análisis de resultados:

Análisis intermedio: no hubo

Análisis final: 18/11/2020

Los datos son finales.

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL ENSAYO CLÍNICO

Resumen sobre:

- **los objetivos del ensayo,**

Objetivo primario

El estudio propuesto tiene como objetivo primario evaluar la seguridad del tratamiento en estudio, mediante la evaluación de los:

- o efectos atribuibles directamente a la obtención y administración celular,
- o acontecimientos adversos durante el tratamiento,
- o fenómenos autoinmunes.

Objetivos secundarios

Como objetivos secundarios se valorará:

El impacto del tratamiento en estudio sobre parámetros clínicos de eficacia

- o Disminución objetiva de las lesiones tumorales
- o Tiempo hasta progresión
- o Supervivencia libre de progresión
- o Supervivencia global
- o Calidad de vida medida según cuestionarios EORTC

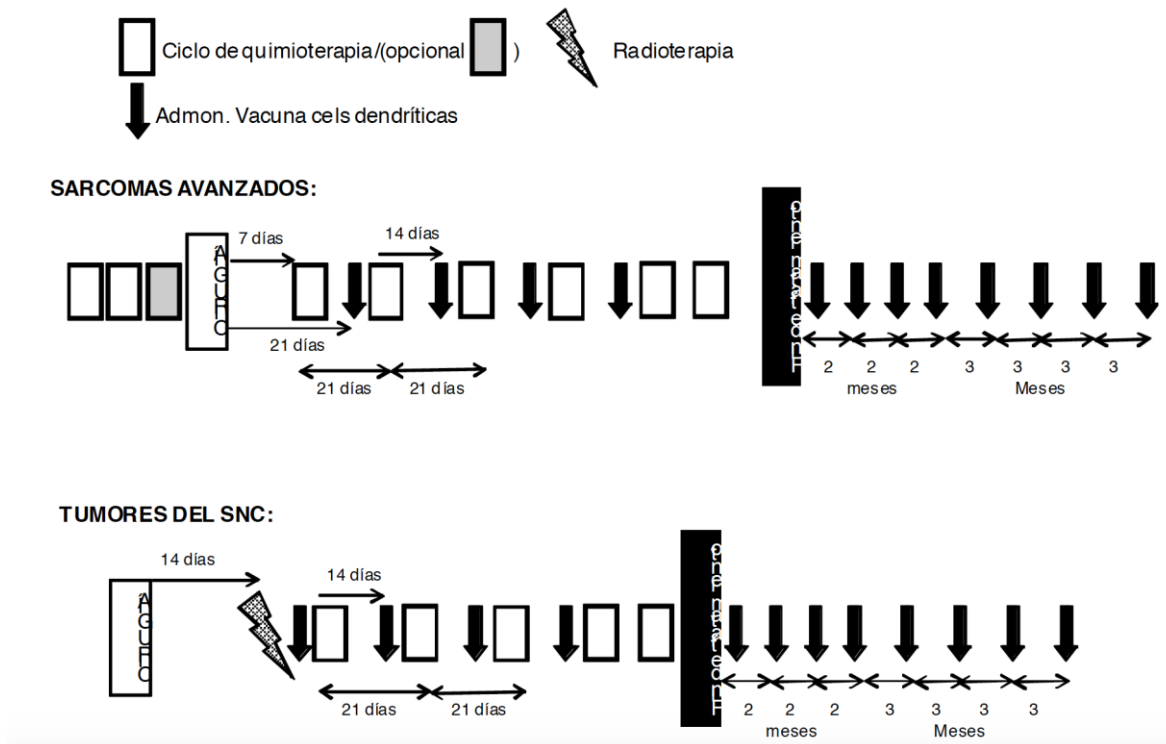
La inmunogenicidad de la vacuna (eficacia biológica) mediante estudios in vitro de la respuesta inmune humoral y celular

- o Respuesta humoral frente células tumorales autólogas/lisados tumorales
- o Respuesta celular (proliferación, producción de citoquinas, citotoxicidad específica)
- o Estudios fenotípicos de las poblaciones de sangre periférica

- **su diseño,**

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

Fig. 1. Protocolo de tratamiento del paciente de acuerdo con el grupo diagnóstico al que pertenezca y aplicación de las vacunas con células dendríticas.



- los antecedentes científicos y la explicación de la justificación para el ensayo (justificación del placebo o del comparador elegido, cuando proceda);

Justificación de la enfermedad en estudio

Osteosarcoma y sarcoma de Ewing

El osteosarcoma (OS) y sarcoma de Ewing (EWS) constituyen los tumores óseos más frecuentes en niños y adolescentes y poseen gran propensión a desarrollar metástasis en más de 80% de los pacientes. A pesar de los esfuerzos llevados a cabo con nuevas modalidades terapéuticas, la supervivencia se mantiene entre el 50-70% en pacientes con un tumor localizado, mientras que es inferior al 30% y 10% en OS y EWS, respectivamente, en pacientes con enfermedad metastásica.

Desde el punto de vista del pronóstico, la presencia de metástasis y la pobre respuesta histológica a la quimioterapia neoadyuvante constituyen los dos principales factores asociados con mal curso clínico. Actualmente, el tratamiento estándar de los sarcomas de alto grado se basa en la resección quirúrgica junto con la poliquimioterapia pre-y posoperatoria.

Tras la quimioterapia neoadyuvante, se establece el grado de necrosis con el que se estratifica a los pacientes en buenos (>90% necrosis) y malos respondedores (=90% necrosis). El factor más decisivo y determinante asociado con pronóstico desfavorable es la presencia de metástasis, tanto las clínicamente detectadas al diagnóstico como las recidivas tras la resección quirúrgica. Sin terapia quimioadyuvante más del 50% de los pacientes tratados sólo con cirugía desarrollan metástasis en los 6 meses siguientes y más del 80% recidivan en los 2 años tras el diagnóstico. La diseminación metastásica ocurre con frecuencia en estadios tempranos por vía hematogena, en 15-30% de forma local en el esqueleto ("skip metastasis") y en el 95% los pacientes mueren con metástasis

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

pulmonares. Tanto éstos como los que presentan metástasis extrapulmonares, poseen un pronóstico devastador.

Tumores del SNC

Los tumores del SNC son el segundo tumor en frecuencia y la principal causa de muerte por cáncer en este grupo de edad. Los niños con estos tumores tienen un pronóstico nefasto, pese a los nuevos regímenes de tratamiento y herramientas de diagnóstico, además, debido al propio tumor y a la terapia contra el mismo, los supervivientes tienen serias secuelas neurológicas, cognitivas y psicosociales. El tratamiento estándar para los tumores del SNC de alto grado o bajo grado parcialmente resecaos incluye radiación adyuvante y poliquimioterapia, lo que ha mejorado sustancialmente la supervivencia de los meduloblastomas, pero no la de los gliomas malignos y otros tumores propios de los niños, que recidivan tras el tratamiento.

Justificación del tratamiento experimentalInmunoterapia

Hay evidencias claras de la implicación del sistema inmune en el desarrollo y en el control de los tumores. De hecho, una respuesta inmune dirigida contra antígenos presentes en las células tumorales puede ser un mecanismo para eliminar células tumorales residuales. Sin embargo, con frecuencia los tumores son capaces de crecer porque desarrollan mecanismos que les permiten evadir la vigilancia del sistema inmune, que además en muchos pacientes con cáncer no funciona de forma adecuada. Por eso la inmunoterapia, que podemos definir como una manipulación del sistema inmune del paciente para hacerlo más competente, puede convertirse en una alternativa terapéutica útil.

Inmunoterapia activa con vacunas

El objetivo de la inmunoterapia activa con vacunas es crear una potente respuesta celular contra los antígenos expresados en las células tumorales. Estos antígenos asociados a tumor pueden incluirse en vacunas que se administran a los pacientes.

El primer paso para desarrollar una respuesta inmune eficaz es la presentación adecuada de los antígenos tumorales. Las células dendríticas son las células presentadoras de antígeno profesionales. Son células que juegan un papel crítico en la inducción y en la regulación de la respuesta inmune y por ello, las vacunas de células dendríticas se están convirtiendo en la alternativa de inmunoterapia activa más prometedora. Las células dendríticas se localizan principalmente en los tejidos y representan una pequeña proporción (aproximadamente un 0,5%) del total de los leucocitos de sangre periférica. Hay que distinguir básicamente dos tipos de células dendríticas, las células dendríticas inmaduras, especializadas en la captación y presentación de antígenos y las maduras, que son células que, tras un proceso de diferenciación terminal, se convierten en células especializadas en estimular a células T.

Las células dendríticas maduras aumentan la expresión de moléculas de adhesión y moléculas de coestimulación y son capaces de secretar citoquinas inflamatorias, que serán cruciales para el desarrollo de la respuesta inmune, y quimioquinas que reclutarán otras células dendríticas, monocitos y linfocitos. Finalmente, la maduración dará a las células dendríticas la capacidad para migrar de los tejidos hasta las áreas T de los órganos linfoides, donde activarán a células T. La activación de las células T implicará una expansión clonal y una diferenciación hacia células efectoras (citotóxicas y/o productoras de citoquinas) y hacia células memoria. Además de activar la respuesta T (respuesta celular), las células dendríticas también interaccionan con las células B (respuesta humoral) y con las células del sistema inmune innato. Las células dendríticas directamente pueden inducir proliferación de células B, cambio de clase de inmunoglobulinas y diferenciación a células plasmáticas secretoras de anticuerpos o a células memoria.

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

También, por mecanismos no bien conocidos, pueden activar células NK y células NK-T. Todo esto supone una compleja y completa activación del sistema inmune que permite obtener una respuesta inmune potente y duradera.

En los pacientes con tumores el número y la función de las células dendríticas puede estar disminuido. Por tanto, generarlas in vitro y administrarlas en forma de vacunas puede ser una estrategia útil. En la actualidad existen numerosos protocolos para generar células dendríticas in vitro a partir de monocitos de sangre periférica. Se espera que estas células dendríticas generadas in vitro ejerzan los mismos efectos que las células dendríticas propias de un individuo sano, es decir, que activen el sistema inmune de forma potente y duradera frente al antígeno elegido.

Un punto crucial en la preparación de las vacunas es la adecuada elección del antígeno contra el que se va a inducir la respuesta inmune. La ventaja de utilizar lisados tumorales es que evita la necesidad de identificar el antígeno contra el que hay que inducir la respuesta; además, permite emplear una amplia gama de antígenos presentes en el tumor y por tanto, se podría generar una respuesta inmune multivalente. Esto disminuiría la posibilidad de recurrencia del tumor con variantes que pierden la expresión del antígeno contra el que va dirigida la respuesta. Además, se espera que las proteínas de los lisados tumorales sean internalizadas y gracias al fenómeno de presentación cruzada los péptidos derivados de ellas se presenten en moléculas MHC-I y MHC-II. De todo lo dicho anteriormente, se deduce que las células dendríticas maduras pulsadas con lisados tumorales pueden ser las útiles para la preparación de vacunas.

En los ensayos clínicos en marcha con vacunas de células dendríticas, es importante señalar que, en voluntarios sanos, los efectos adversos no han pasado de reacciones inflamatorias locales leves en la zona de inyección subcutánea y de cuadros de febrícula y malestar general, todos ellos reversibles.

Numerosos estudios demuestran también que combinar vacunas contra el cáncer y quimioterapia puede producir un efecto sinérgico que mejore el control de la enfermedad, favoreciendo la respuesta inmunológica por depleción de células T reguladoras y aumentando la magnitud y la duración de la respuesta inmune generada por la vacuna.

- las **medidas de protección de los sujetos de ensayo adoptadas** (tutela del CEIm, protección de datos, prevención de posibles efectos adversos esperados, existencia de un comité independiente de monitorización de datos de seguridad),

Buena práctica clínica

El estudio se desarrollará de acuerdo con la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) en relación con la buena práctica clínica y los requisitos reglamentarios correspondientes. El investigador estará familiarizado con el uso correcto del fármaco del estudio según se describe en el protocolo. Los documentos clínicos esenciales se conservarán para demostrar la validez del estudio y la integridad de los datos recopilados. Los archivos principales se deben determinar al comienzo del estudio, mantener durante el transcurso de dicho estudio y conservar de acuerdo con las normativas que correspondan.

Consideraciones éticas

El estudio se desarrollará de acuerdo con los principios éticos de la Declaración de Helsinki en su última revisión y con la legislación vigente. El CEIC examinará toda la documentación correspondiente al estudio con el objetivo de proteger los derechos, seguridad y bienestar de los pacientes. El estudio sólo se realizará en los centros para los que se haya obtenido

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

la aprobación por parte del CEIC. El promotor hará entrega al CEIC del protocolo, el consentimiento informado, la publicidad (si procede), la información por escrito facilitada a los pacientes, las actualizaciones relacionadas con la seguridad, los informes de progreso anuales y cualquier modificación de estos documentos. Dado que el estudio incluirá menores de edad, se pondrá en conocimiento del Ministerio Fiscal.

Comité ético de investigación clínica (CEIC)

Este estudio solo podrá iniciarse después de obtenerse el dictamen favorable por escrito del CEIC de Navarra y la aprobación de la AEMPS.

Guías y documentos básicos

Este estudio se realizará de acuerdo con “Note for Guidance on Good Clinical Practice” (CPMP/ICH/135/95 del 1 de mayo de 1996), Real Decreto 223/2004 de febrero de 2004 y la Declaración de Helsinki, versión revisada en Fortaleza (Brasil), 2013.

Hoja de información y consentimiento

Una vez explicado el estudio a los candidatos y sus familiares, se obtendrá el consentimiento informado por escrito del paciente o de su tutor o representante legal, según corresponda, antes de hacer efectiva su participación en el estudio. El método de obtención y documentación del consentimiento informado y su contenido debe estar de acuerdo con la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) en relación con la buena práctica clínica y todos los requisitos reglamentarios correspondientes.

Dado que el estudio se va a realizar fundamentalmente en menores de edad, deberá obtenerse el consentimiento de los padres y el asentimiento del menor. La explicación a los niños deberá hacerse en un lenguaje adecuado a su nivel de desarrollo, en todos los casos se tendrá en cuenta su deseo y se reflejará este en la documentación clínica. Si los niños son mayores de 12 años deberán expresar su consentimiento, hecho que quedará reflejado en la documentación clínica.

El investigador (o persona delegada) firmará y fechará también el formulario de consentimiento. El investigador archivará el Formulario de Consentimiento original firmado en el Archivo del Investigador del centro.

Se informará a los candidatos y sus familias de que la participación en el estudio es voluntaria y puede retirarse en cualquier momento sin perjuicio de su asistencia médica posterior. También se solicitará su consentimiento para el acceso a los datos identificados con el fin de conseguir los objetivos del estudio, en las condiciones que se comentan en el apartado siguiente.

Ni la Hoja de Información al Paciente ni el Consentimiento Informado pueden modificarse sin el acuerdo del Comité Ético de Investigación Clínica y del promotor.

Un ejemplar del Formulario de Consentimiento Informado firmado por todas las partes debe estar en poder del paciente.

Confidencialidad de los pacientes

Con el fin de respetar la privacidad de los pacientes, en todos los documentos que vayan a ser enviados fuera del centro, como cuadernos de recogida de datos, registros de contabilidad del fármaco del estudio, informes y comunicaciones del estudio, se identificará a los pacientes por un número de paciente. El investigador facilitará a los inspectores y posibles auditores o colaboradores designados por el promotor y a las autoridades

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

reguladoras el acceso a los registros médicos originales identificados de los pacientes de modo que puedan verificar los datos reunidos en los cuadernos de recogida de datos y auditar el proceso de recopilación de datos.

Se mantendrá la confidencialidad y no se hará pública la identidad de los pacientes en la medida que lo permitan las leyes y normativas pertinentes (Ley 14/1999 y su reglamento posterior Real Decreto 1720/2007).

Póliza de seguro

El promotor ha suscrito una póliza de seguros que cubre, en sus términos y condiciones, la responsabilidad legal por daños ocasionados a las personas participantes y derivados de esta investigación, realizada estrictamente en conformidad tanto con el protocolo científico como con la legislación vigente.

– la adecuación de la terapia de base;

Como se ha comentado, se trata de un estudio de seguridad, en pacientes con tumores infantiles tratados con la **pauta estándar** en cada caso, a los que se administrará una vacuna confeccionada a partir de células autólogas pulsadas con antígenos de tumores también autólogos. El origen tanto de las células dendríticas como de los antígenos con los que pulsan las células minimiza la posibilidad de reacciones frente a productos biológicos.

– información sobre **seguimiento a largo plazo**,

Tras la finalización del tratamiento, se continuará el seguimiento periódico del paciente durante un periodo de 3 años. No se considera necesario un seguimiento a largo plazo debido a que, dado el estadio y gravedad de estos pacientes, de superarse ese período se habría, al menos, duplicado la expectativa media de supervivencia global.

– los **métodos estadísticos** aplicados.

Se realiza un análisis principalmente descriptivo de las diferentes variables, tanto en frecuencia global como por paciente, ya que el número de pacientes reclutados no permite hacer análisis estadísticos al uso. De hecho, en los estudios epidemiológicos al uso, no se calculan curvas de supervivencia cuando el número de casos presente en las cohortes es inferior a 15.

POBLACIÓN DEL ENSAYO

Información sobre el número de sujetos incluidos en el ensayo clínico, diferenciando, cuando proceda en

– número en el Estado miembro implicado,

España, n=6

3 varones, 3 mujeres

Intervalo de edad entre 4 y 21 años.

DISPOSICIÓN DE LOS SUJETOS DEL ENSAYO

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

- **Fase de reclutamiento:** los pacientes se seleccionaron en las consultas de Pediatría y Neurocirugía de la Clínica Universidad de Navarra. Se reclutaron pacientes entre el 30-09-14 (primer paciente) y el 30-10-17 (último paciente). Los fallos de screening fueron dos pacientes con tumores del SNC que resultaron ser de bajo grado, criterio de exclusión fijado por el ensayo.
- **Fase de inclusión:**
- Todos los pacientes cumplían los criterios de inclusión y carecían de todos los criterios de exclusión.

Criterios de inclusión

- Consentimiento informado otorgado por el paciente o su representante legal, en el caso de pacientes menores de edad.
- diagnóstico de sarcoma metastásico o recidivado o tumor de alto grado del SNC.
- Edad de 3 a 40 años.
- Recibir el tratamiento estándar para su enfermedad, en el que se incluye la realización de cirugía.
- Ser capaz de cumplir con todos los requerimientos del ensayo clínico.
- Disponibilidad de tumor adecuado y posibilidad de conseguir células dendríticas.
- Desarrollo de suficiente cantidad de células dendríticas maduras para iniciar el tratamiento. **En todos los pacientes se obtuvo suficiente tejido tumoral para generar las vacunas y suficientes células dendríticas para iniciar la vacunación.**
- Test de embarazo negativo. **Realizado y negativo en las 3 pacientes mujeres.**

Criterios de exclusión:

- Toxicidad o insuficiencia hepática, renal o medular que desaconsejen la participación del paciente en el estudio, según el criterio del investigador.
- Mujeres embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes diagnosticados de otras neoplasias, salvo carcinoma de células basales escamosas de piel, carcinoma cervical in situ adecuadamente tratado u otros tumores tratados de forma curativa sin recidiva durante 3 o más años.
- Pacientes que precisen medicación inmunosupresora.
- Infección activa por VIH, hepatitis B (HbsAg positivo), hepatitis C o sífilis.
- Contraindicación absoluta para recibir los restantes tratamientos estándar para el cáncer que padece (quimioterapia, cirugía, radioterapia)

Medicamentos en investigación utilizados, las pautas de tratamiento:

Medicamento de investigación: vacuna de células dendríticas pulsadas contra antígenos tumorales propios del tumor del paciente.

Las células dendríticas son las células presentadoras de antígeno profesionales. Son células que juegan un papel crítico en la inducción y en la regulación de la respuesta

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

inmune. Las células dendríticas se localizan principalmente en los tejidos y representan una pequeña proporción (aproximadamente un 0,5%) del total de los leucocitos de sangre periférica. Las células dendríticas maduras aumentan la expresión de moléculas de adhesión y moléculas de coestimulación y son capaces de secretar citoquinas inflamatorias, que serán cruciales para el desarrollo de la respuesta inmune, y quimioquinas que reclutarán otras células dendríticas, monocitos y linfocitos. Finalmente, la maduración dará a las células dendríticas la capacidad para migrar de los tejidos hasta las áreas T de los órganos linfoides, donde activarán a células T. La activación de las células T implicará una expansión clonal y una diferenciación hacia células efectoras (citotóxicas y/o productoras de citoquinas) y hacia células memoria. Además de activar la respuesta T (respuesta celular), las células dendríticas también interactúan con las células B (respuesta humoral) y con las células del sistema inmune innato. Todo esto supone una compleja y completa activación del sistema inmune que permite obtener una respuesta inmune potente y duradera.

En los pacientes con tumores el número y la función de las células dendríticas puede estar disminuido. Por tanto, generarlas *in vitro* y administrarlas en forma de vacunas puede ser una estrategia útil. Se espera que estas células dendríticas generadas *in vitro* ejerzan los mismos efectos que las células dendríticas propias de un individuo sano, es decir, que activen el sistema inmune de forma potente y duradera frente al antígeno elegido.

Un punto crucial en la preparación de las vacunas es la adecuada elección del antígeno contra el que se va a inducir la respuesta inmune. La ventaja de utilizar lisados tumorales es que evita la necesidad de identificar el antígeno contra el que hay que inducir la respuesta; además, permite emplear una amplia gama de antígenos presentes en el tumor y por tanto, se podría generar una respuesta inmune multivalente. Esto disminuiría la posibilidad de recurrencia del tumor con variantes que pierden la expresión del antígeno contra el que va dirigida la respuesta. Además, se espera que las proteínas de los lisados tumorales sean internalizadas y gracias al fenómeno de presentación cruzada los péptidos derivados de ellas se presenten en moléculas MHC-I y MHC-II.

Pauta: en este ensayo, hemos decidido administrar a los pacientes 12 vacunas a intervalos crecientes: 4 cada tres semanas, 4 bimensuales y 4 trimestrales.

Descriptiva y resultados de los pacientes del ensayo:

Paciente DENDTIA01: Mujer de 19 años con osteosarcoma de fémur derecho, tratado en otro centro. Presenta recidiva local y múltiples metástasis pulmonares.

El 16/10/2014 se obtiene muestra tumoral para preparación de las vacunas y se realiza la leucoaféresis el 06/11/2014, tras comprobar que el material tumoral es adecuado para la preparación de las vacunas. El proceso de producción se completa con éxito y se preparan 14 dosis de vacunas. El 5/12/2014, la paciente recibe la primera dosis de vacuna en combinación con el tratamiento de quimioterapia previsto para su enfermedad. Ese mismo día se realiza un TAC en el que se informa signos compatibles con enfermedad a controlar evolutivamente. Esta paciente sólo recibió un total de 3 vacunas (cada 3 semanas) y se excluyó del estudio por progresión de la enfermedad.

La vacuna no produjo ningún efecto adverso ni toxicidad. No se han realizado estudios *in vitro* de respuesta inmune y no se ha detectado DTH tras la administración de ninguna de

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

las dosis de la vacuna.

Paciente DENDTIA02: Mujer de 17 años con osteosarcoma condroblástico periosteal de tercio distal de antebrazo derecho. Viene a nuestro centro en situación de quinta recidiva local por cirugía atípica en primera instancia.

La paciente recibió 7 vacunas dentro del ensayo clínico (tras progresión se sacó del ensayo clínico y se continuó la vacunación fuera de ensayo clínico). Se sacó muestra para valorar respuesta inmune antes de la primera dosis y antes de la cuarta dosis (la siguiente estaba prevista antes de la pre-9ª pero había salido del ensayo clínico)

En esta paciente se ha documentado respuesta inmune tras la administración de las vacunas, a pesar de que esta respuesta inducida no ha sido suficiente para evitar la recaída de la enfermedad. Se ha detectado, considerándose respuesta:

1) DTH positiva: desde la administración de la 3ª dosis, la paciente refiere enrojecimiento, induración, picor y sensación de calor en el lugar de administración de la vacuna

Figura 1: DTH observada 24 horas después de la administración de la sexta dosis de vacuna



2) Modificaciones en las subpoblaciones de sangre periférica después de la administración de las vacunas. Se han recogido muestras para estudiar la respuesta inmune antes de la primera administración de vacuna y 15 días después de la administración de la cuarta dosis. En estas muestras de sangre periférica se han realizado estudios fenotípicos para determinar la frecuencia de distintas poblaciones linfocitarias. Los resultados obtenidos han sido los siguientes (Figura 2):

2.1. Aumento del porcentaje de células T activadas (tanto CD4 como en CD8) en la muestra post-vacunación (Figura 2a)

2.2. Disminución del porcentaje de células T vírgenes (tanto CD4 como CD8) en la muestra post-vacunación (Figura 2b)

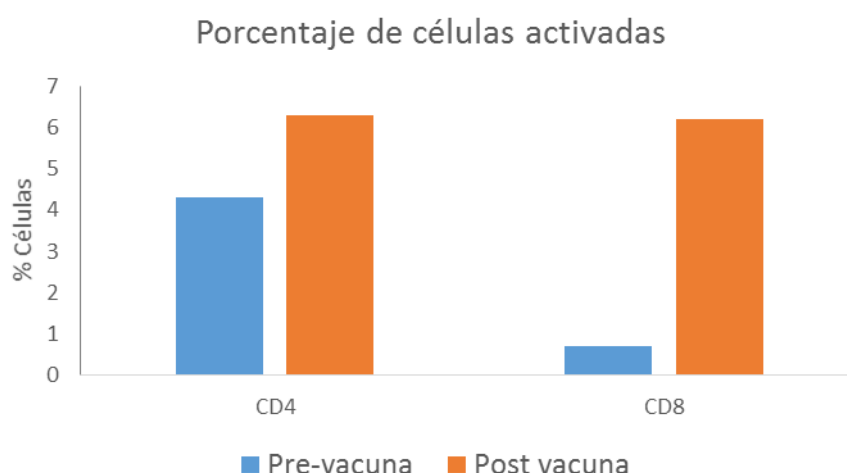
UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

2.3. Aumento del porcentaje de células T memoria efectoras (tanto CD4 como CD8) en la muestra post-vacunación (Figura 2b)

2.4. No se ha detectado aumento de células efectoras en sangre periférica, quizás porque esta población habría que buscarla en el tumor (Figura 2b)

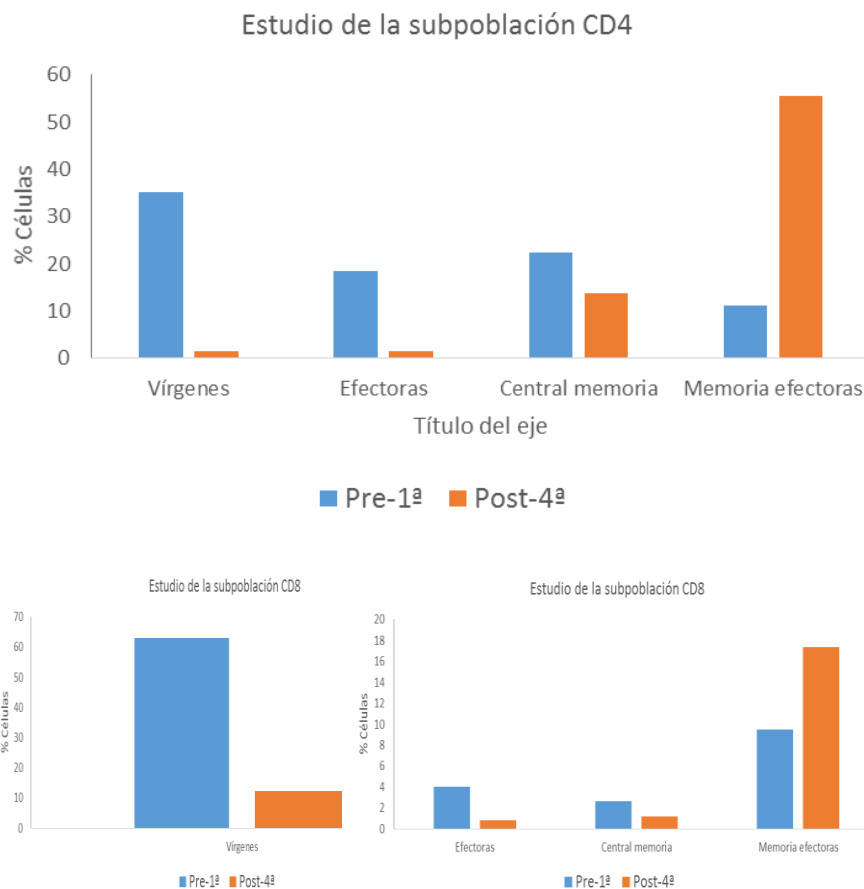
Figura 2: Cambios fenotípicos en sangre periférica después de la vacunación

a) Porcentaje de células activadas, definido como células T que expresan HLA-DR



b) Estudio de subpoblaciones CD4 y CD8: Todos los porcentajes se refieren al total de las células CD4+ o CD8+ (hay que señalar que estos datos son diferentes a los incluidos en la memoria del 27 de octubre porque en esa memoria los datos no estaban referidos al total de las CD4+ o CD8+ sino a las CD4+ CD45RA+ o CD4+CD45RO+ o CD8+CD45RA+ o CD8+CD45RO+ según correspondiera a la población analizada.

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS



3) Aumento de la producción de citoquinas en células CD4+ y CD8+ y de la actividad citotóxica de células NK tras la administración de las vacunas

3) Estudios funcionales para valorar la respuesta inmune inducida tras la vacunación. Con las muestras de sangre periférica obtenidas antes de la primera dosis y después de la cuarta dosis de vacuna, se han realizado estudios funcionales para valorar la respuesta inmune inducida tras la vacunación. Los resultados obtenidos han sido los siguientes (Figuras 3 y 4):

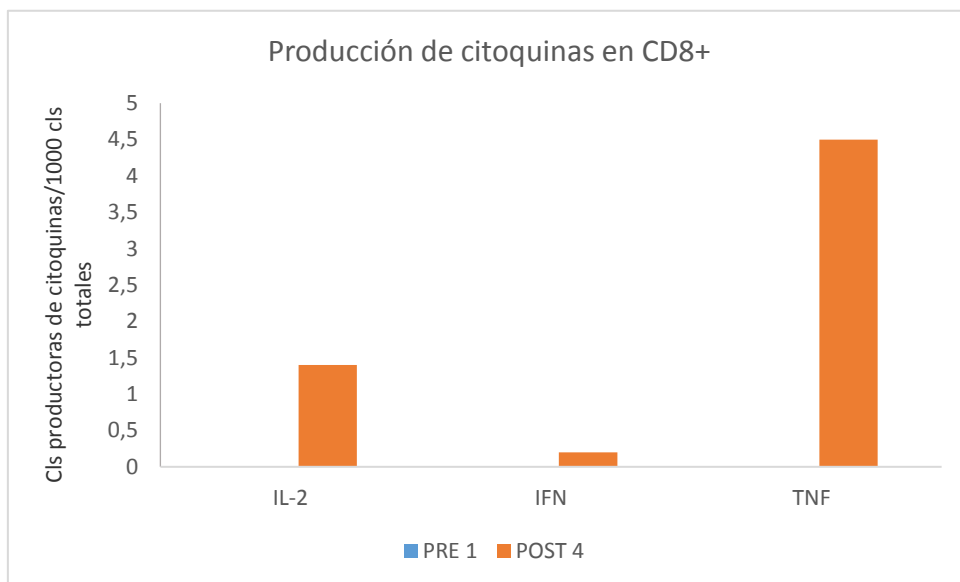
3.1. Aumento del número de células CD8+ productoras de IL-2, IFN-gamma y TNF-alpha y del número de células CD4+ productoras de IFN-gamma y TNF-alpha tras la vacunación con células dendríticas (Figura 3a y 3b)

Se ha estudiado la capacidad de las células de sangre periférica para producir citoquinas tras estimulación de los PBMC con CD pulsadas con el lisado tumoral. Como vemos en la Figura 3, cuando se estudia la producción de citoquinas mediante citometría de flujo en células CD4+ y en células CD8+, en muestras obtenidas antes y después de las vacunas, se observa un discreto aumento de la producción de IL-2, IFN-gamma y TNF-alpha en

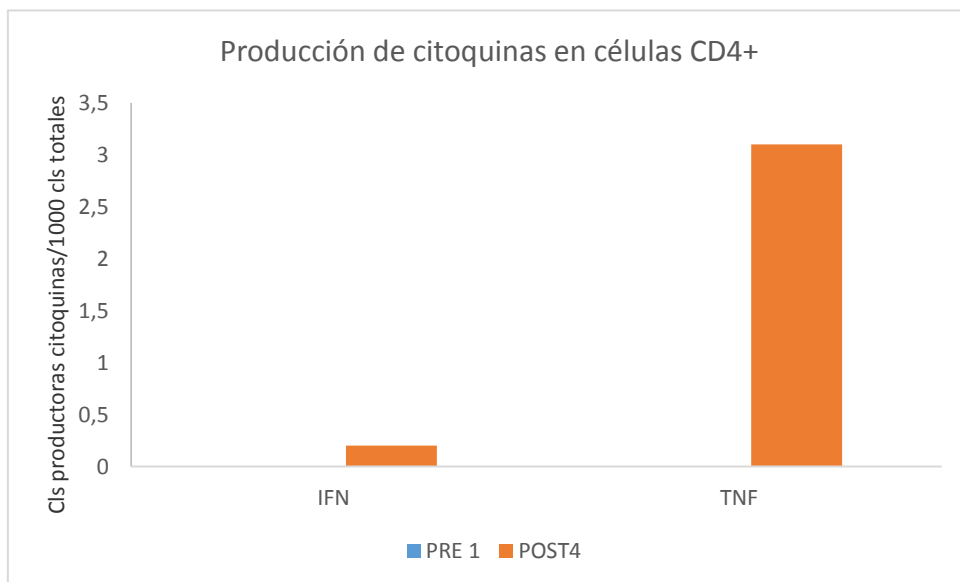
UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

células CD8+ (Figura 3a) en las muestras obtenidas después de la cuarta vacuna (IL-2: 0 vs 1.4, IFN-gamma: 0 vs 0.2, TNF-alpha: 0 vs 3.1) y un aumento de IFN-gamma y TNF-alpha en las CD4+ (IFN-gamma 0 vs 0.2, TNF-alpha 0 vs 3.1) (Figura 3b). En todos los casos el porcentaje se expresa en células productoras de citoquinas por cada 1000 células totales.

a)



b)



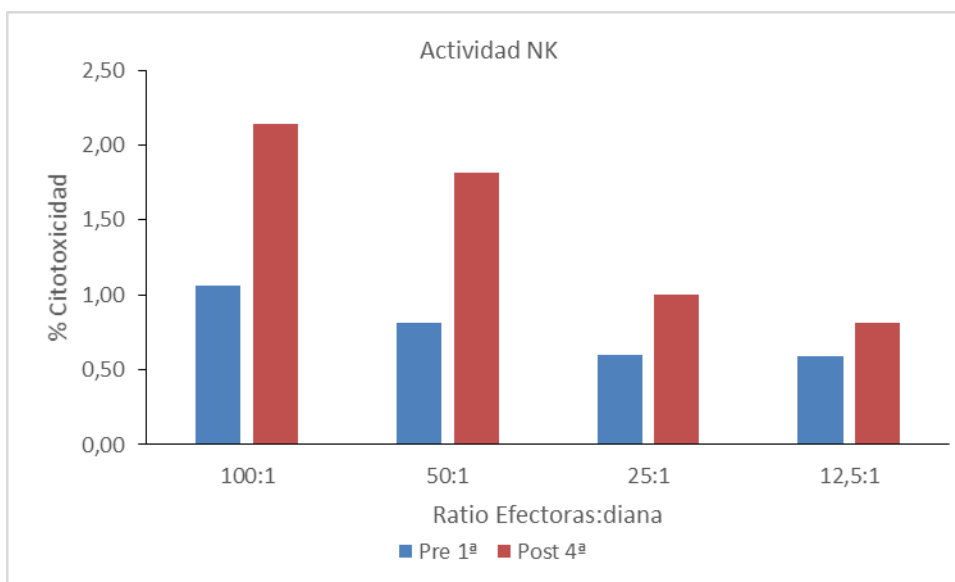
UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

Figura 3: Estudio de la producción de citoquinas intracelulares mediante citometría de flujo.
a) Producción de citoquinas en células CD8+, b) Producción de citoquinas en células CD4+

3.2. Aumento de la actividad NK tras la administración de las vacunas de células dendríticas (Figura 4)

Se ha estudiado la actividad de las células NK, que son células muy importantes en la respuesta antitumoral, mediante un ensayo de liberación de ^{51}Cr utilizando como células diana las células K562, que son células diana de células NK. Detectamos un aumento de la actividad NK en las muestras obtenidas después de la cuarta dosis con respecto a las obtenidas antes de las vacunas (Figura 4).

a) Actividad citotóxica mediada por células NK expresada en porcentaje de células diana lisadas



Paciente DENDTIA03:

Se administraron 4 vacunas cada tres semanas y el 29/06/2016 el paciente fue excluido por progresión de la enfermedad. Por tanto, solo obtuvimos dos muestras para valorar respuesta inmune (pre1 y pre4)

Como en el paciente anterior, se ha realizado un estudio fenotípico y un estudio funcional de respuesta inmune en muestras de sangre periférica obtenidas antes de la primera dosis de vacuna y después de la cuarta.

Los resultados obtenidos han sido los siguientes:

1. Modificaciones en las subpoblaciones de sangre periférica después de la administración de las vacunas (Figura 5)

1.1. Aumento de las células activadas (considerando células activadas las que expresan HLA-DR) tanto en la subpoblación CD4 como en la CD8+

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

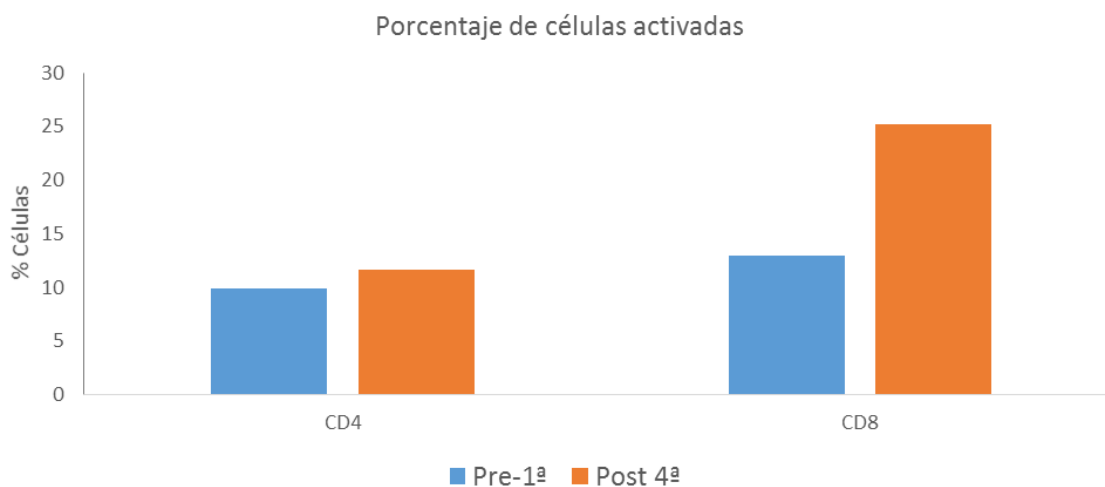
1.2. Disminución de las células vírgenes tanto en la subpoblación CD4 como en la CD8+, aunque más evidente en la población CD8+

1.3. Aumento de las células memoria efectoras tanto en la subpoblación CD4 como en la CD8+

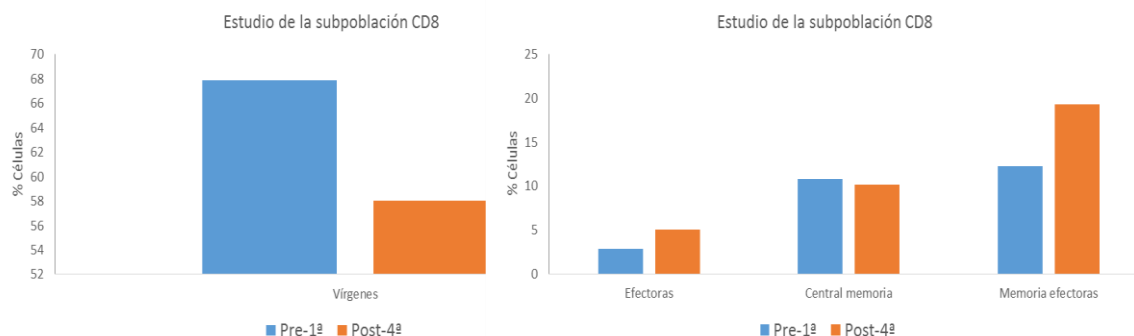
1.4. Ligero aumento de células efectoras en la subpoblación CD8+

Figura 5: Cambios fenotípicos en sangre periférica después de la vacunación

a) Porcentaje de células activadas, definido por la expresión de DR



b) Estudio de subpoblaciones CD4 y CD8: Todos los porcentajes se refieren al total de las células CD4+ y CD8+



UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

Estudio funcional de respuesta inmune en muestras de sangre periférica obtenidas antes de la primera dosis de vacuna y después de la cuarta

En ninguno de los análisis realizados se ha detectado activación de respuesta inmune específica de las células dendríticas pulsadas con el lisado tumoral tras la vacunación con células dendríticas.

Paciente DENDTIA04:

El paciente se excluyó del estudio por progresión de la enfermedad antes de la administración de la cuarta vacuna.

En este paciente no se han hecho estudios fenotípicos ni estudios funcionales de respuesta inmune porque solo se dispone de una muestra de sangre periférica obtenida antes de la administración de la primera dosis de vacuna. En el ensayo está previsto recoger muestras para estos estudios después de la administración de la cuarta dosis de vacuna y en este paciente, la cuarta dosis no se llegó a administrar.

Paciente DENDTIA05:

En este paciente no se han hecho estudios fenotípicos ni estudios funcionales de respuesta inmune porque solo se dispone de una muestra de sangre periférica obtenida antes de la administración de la primera dosis de vacuna (solo recibió 2 dosis)

Paciente DENDTIA06:

Le administramos 9 dosis

Se realizó un estudio fenotípico de respuesta inmune en muestras de sangre periférica obtenidas antes de la primera dosis de vacuna y después de la cuarta. No se realizaron estudios funcionales

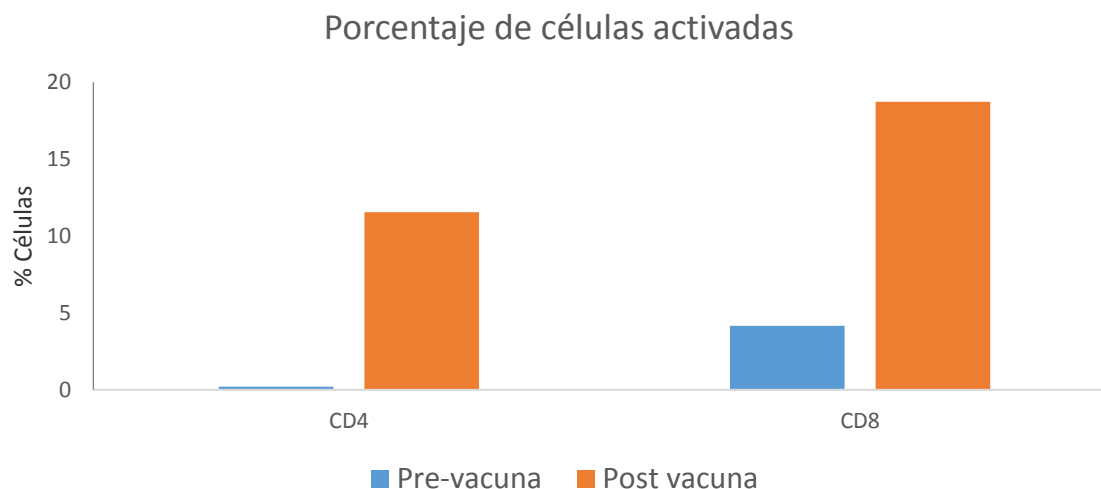
Los resultados obtenidos han sido los siguientes:

3. Modificaciones en las subpoblaciones de sangre periférica después de la administración de las vacunas (Figura 6)
 - 3.1. Aumento de las células activadas (considerando células activadas las que expresan HLA-DR) tanto en la subpoblación CD4 como en la CD8+
 - 3.2. No se observan cambios en la distribución de las distintas poblaciones (Naive, central memoria, efectora memoria o efectora) ni en CD4+ ni en CD8+
 - 3.3. No se observan cambios en la expresión de PD1
 - 3.4. No se observan cambios en el porcentaje de células T reguladoras

Figura 6: Cambios fenotípicos en sangre periférica después de la vacunación

- a) Porcentaje de células activadas, definido por la expresión de DR

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS



– **Fase de tratamiento y seguimiento:**

Sólo hay un grupo de tratamiento y los 6 pacientes han participado, por tanto, en el mismo grupo de tratamiento. Se adjunta a continuación una tabla en que se describen las vacunas recibidas por los 6 pacientes incluidos en el ensayo. Los pacientes recibieron un mínimo de 2 vacunas y un máximo de 7.

	C2 V2	C2 V3	C2 V4	C2 V5	C2 V6	C2 V8	C2 V9	C2 V10	C2 V11	C2 V13	C2 V14	C2 V15	C2 V16
PACIENTE	Leucoaféresis	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna	Vacuna
DENDTIA1	X	X	X										
DENDTIA2	X	X	X	X	X	X	X						
DENDTIA3	X	X	X										
DENDTIA4	X	X	X										
DENDTIA5	X	X	X										
DENDTIA6	X	X	X	X	X	X	X	X					

En todos los casos, el motivo de la retirada del paciente del ensayo fue la presencia de progresión de la enfermedad evidenciada por una prueba radiológica en la visita correspondiente.

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

B. CARACTERÍSTICAS BASALES

Se han incluido 6 pacientes:

- **3 varones, 3 mujeres**
- **Intervalo de edad entre 4 y 21 años.**
- **3 tumores del SNC (GBM, glioma difuso y PNET) y 3 osteosarcomas**
- **Todos los pacientes estaban en recaída de su enfermedad, estadio IV, ya que se trata de un criterio de inclusión del ensayo.**

C. CRITERIOS DE VALORACIÓN

Variables de medida de seguridad:

Dado que se trata de un ensayo Fase I, la variable principal es la tolerancia al tratamiento considerando tres situaciones:

- Efectos atribuibles directamente a la obtención y administración celular.
 - Acontecimientos adversos generales durante el tratamiento
 - Fenómenos autoinmunes.
- En todos los pacientes se realizaron pruebas específicas para valorar los fenómenos autoinmunes; todas las pruebas, que incluían las siguientes, resultaron normales:
- Factor reumatoide.
 - Anticuerpos anti nucleares extractables
 - Anticuerpos anti tiroglobulina
 - Anticuerpos anti tiroideos
 - Anticuerpos anti nucleares
 - Anticuerpos anti mitocondriales
 - Anticuerpos anti músculo liso
 - Anticuerpos microsomaes hígado/riñón

RESULTADOS RELACIONADOS CON LOS EFECTOS ADVERSOS:

- Los parámetros hematológicos de todos los pacientes en todas las visitas estaban dentro del rango para su edad y en ningún caso resultaron un factor limitante para el tratamiento o evidencia de toxicidad por el mismo:
- Hemoglobina, media de 11,83 a 12,8 gr/dL.
 - Hematocrito, media de 34,9 a 37,8
 - VCM (volumen corpuscular medio), media de 84,75 a 89,9
 - Leucocitos totales: media de 5,15 a 8,95
 - Neutrófilos: media de 3,4 a 6,32
 - Eosinófilos: media de 0,07 a 0,17
 - Basófilos: media de 0,02 a 0,04
 - Linfocitos: media de 1,19 a 1,87
 - Monocitos: media de 0,24 a 0,59
 - Eritrocitos. media de 3,98 a 4,31
 - Plaquetas: media de 215mil a 366mil
 - HCM: media de 27,8 a 49,6.

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

- CHCM: media de 32,67 a 34,65.
- Igualmente, los parámetros **bioquímicos** de todos los pacientes en todas las visitas registradas, estaban dentro del rango para su edad y en ningún caso resultaron un factor limitante para el tratamiento o evidencia de toxicidad por el mismo (se indican los valores que están fuera del rango de normalidad *):
 - Glucosa, media de 88,5 a 101
 - Creatinina, media de 0,55 a 0,77
 - AST/GOT, media de 16 a 23,17
 - ALT/GPT, media de 17 a 30
 - Fosfatasa alcalina, media de 91,25 a 142,5
 - Bilirrubina, media de 0,23 a 0,5
 - Velocidad de sedimentación, media de 4,33 a 36*. Un paciente presentó una velocidad de 36 mm/h, siendo el límite superior de 29.
 - LDH, media de 175,5 a 265,67.
- En todos los pacientes que se iba a realizar cirugía para la obtención de tumor para generar la vacuna se realizaron estudios virológicos de hepatitis B (identificándose un portador), hepatitis C, VIH, y sífilis.

Variable clínica principal: supervivencia libre de progresión y supervivencia global. Dado que sólo se trata de 6 pacientes, no tiene significado estadístico representar los datos ni analizarlos estadísticamente.

Variables clínicas secundarias: calidad de vida

Los datos de calidad de vida se recogen a través de encuestas o mediante preguntas dirigidas en la exploración por parte del personal del Dpto de Pediatría en cada visita de ensayo.

D. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE ACONTECIMIENTOS ADVERSOS.

Se procee a enumerar los Acontecimientos adversos recopilados durante el desarrollo del ensayo clínico. Dichos acontecimientos han sido documentados y comunicados en el DSUR del PEI 09-033.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

DENDTIA01	lesiones de micropápulas pruriginosas ESI. 20/10/14-25/10/14, leve, no relacionado
DENDTIA02	Uñero 24/11/2014, leve, recuperado, no relacionado
DENDTIA02	malestar general, 2/12/2014, leve, no relacionado



UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

DENDTIA02	Fiebre, 2/12/2014, leve, resulelo, no relacionado
DENDTIA02	induración y enrojecimiento en brazo izdo, 29/12/2014, leve, resuelto, relacionado con el procedimiento de la administración de la vacuna.
DENDTIA02	induración y enrojecimiento en brazo izdo, 19/01/2015, leve, resuelto, relacionado con el procedimiento de la administración de la vacuna
DENDTIA02	induración y enrojecimiento en brazo izdo, 09/02/2015, leve, resuelto, relacionado con el procedimiento de la administración de la vacuna
DENDTIA02	induración y enrojecimiento en brazo izdo, 08/04/2015, leve, resuelto, relacionado con el procedimiento de la administración de la vacuna
DENDTIA02	induración y enrojecimiento en brazo izdo, 09/06/2015, leve, resuelto, relacionado con el procedimiento de la administración de la vacuna
DENDTIA03	cefalea 18/02/2016, leve, resuelto, no relacionado
DENDTIA03	Odinofagia, 18/02/2016, no relacionado
DENDTIA03	dolor abdominal, 20/02/2016, leve
DENDTIA03	Tos, fecha desconocida, leve
DENDTIA03	Febrícula, marzo 2016, leve, resuelto
DENDTIA03	infección de vías respiratorias altas, 03/04/2016, leve
DENDTIA03	dolor abdominal, 11/04/2016, leve
DENDTIA03	Odinofagia, 13/05/2016, leve
DENDTIA03	infección de verruga, 21/06/2016, leve
DENDTIA04	Vómitos, 07/09/2016, leve, resuelto, no relacionado
DENDTIA04	parestias en ESD y ESI, 08/09/2016, leve,
DENDTIA04	inmovilidad en pie derecho, 08/09/2016, leve
DENDTIA04	fallo en memoria a corto plazo, 29/09/2016, leve
DENDTIA04	Cefalea, 03/10/2016-04/10/2016, leve

UNIDAD CENTRAL DE ENSAYOS CLÍNICOS

DENDTIA06	picor de garganta, 02/12/2017, leve
DENDTIA06	Rozadura, 08/12/2017, leve
DENDTIA06	Vómitos, 11/12/2017, leve
DENDTIA06	Cefalea, 11/12/2017-12/12/2017, leve
DENDTIA06	Catarro, 15/12/2017, leve
DENDTIA06	Pulpitis, 27/12/2017-03/01/2018, leve
DENDTIA06	Paroniquia, 27/12/2017-03/01/2018, leve
DENDTIA06	Uña encarnada, 27/12/2017-03/01/2018, leve
DENDTIA06	Prurito, 15/01/2018, leve
DENDTIA06	Infección en dedo de pie, 16/01/2018, leve
DENDTIA06	Ansiedad, 11/04/2018, leve

ACONTECIMIENTO ADVERSO GRAVE.

No ha habido acontecimientos adversos graves en el ensayo clínico DEND/TIA.

E. INFORMACIÓN ADICIONAL

Modificaciones globales sustanciales.

En el ensayo DEND/TIA no se han realizado modificaciones sustanciales.

Interrupciones globales y reanudaciones.

No procede.

Limitaciones, valorando las fuentes de sesgos potenciales e imprecisiones y advertencias.

En el DEND/TIA no se han realizado desviaciones graves al protocolo. De haber errores y sesgos potenciales, deberían de estar en la base de datos, fruto de errores no identificados y no corregidos durante la monitorización del estudio. Durante la fase de análisis estadístico, se localizaron varios errores en diversas variables que con posterioridad fueron corregidos, monitorizados y tenidos en cuenta los valores correctos para el análisis estadístico.



Declaración del solicitante con respecto a la exactitud de la información presentada.

Los abajo firmantes suscriben que el presente estudio se realizó de acuerdo con el protocolo aprobado y cumpliendo las normas de Buena Práctica Clínica.

El presente resumen del informe contiene toda la información relevante del estudio y refleja de forma completa y precisa los datos generados durante el mismo.

Investigador principal

Ana Patiño García

Firma

Fecha 04/05/21

Representante del promotor.
CUN

Firma

Fecha