



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS HUMANAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/16)

Título del ensayo

Ensayo fase I de células T de memoria que expresan un receptor de antígeno quimérico ANTI-NKG2D en niños, adolescentes y adultos jóvenes con sarcoma avanzado, del promotor Servicio de Hemato-Oncología Infantil, Hospital Universitario La Paz.

Características del ensayo

El medicamento se administrará mediante infusión intravenosa. La dosis del medicamento en investigación dependerá del peso del paciente. En un lote de fabricación se obtiene una cantidad de células CART45RA-NKG2D variable (entre 1.000 y 3.000x10⁶ células). Cada lote se divide en diferentes alícuotas/bolsas que contienen la cantidad de células necesaria para administrar un rango de dosis de entre 1 y 15 millones células/kg paciente). Estas bolsas serán administradas en diferentes infusiones según el esquema de administración de dosis del Ensayo Clínico.

En el ensayo participará el Hospital Universitario La Paz.

Organismo modificado genéticamente

El OMG (CART45RA-NKG2D) son células T de memoria de donante haploidéntico (*Homo sapiens*) que se modifican genéticamente por medio de un vector lentiviral, pseudotipado con la glicoproteína del virus de la estomatitis vesicular (VSV) y sin capacidad de replicación, para que expresen un receptor quimérico dirigido contra el antígeno ANTI-NKG2D.

La modificación genética conducirá a la expresión en la superficie de las células transducidas del receptor NKG2D (receptor quimérico antigénico-CAR) para su reconocimiento específico y lisis de las células tumorales.

Los ligandos del receptor NKG2D (NKG2DL) se expresan en la mayoría de tumores y células inmunosupresoras del microambiente tumoral y su expresión en tejidos sanos es limitada, por lo que constituyen una diana terapéutica adecuada para el tratamiento del cáncer. Las interacciones entre NKG2D y sus ligandos son esenciales para el reconocimiento y eliminación de las células tumorales.

Organismo donante

Se utilizarán células T de memoria procedentes de donantes emparentados con el antígeno leucocitario humano (HLA). Se realizará una evaluación completa del estado de salud del donante y una evaluación detallada de sus antecedentes médicos. Se utilizará la tipificación del antígeno HLA para emparejar a pacientes y donantes. Se seleccionará un donante haploidéntico. Los donantes deben dar negativo en las siguientes enfermedades serológicas e infecciosas: VIH (Human Immunodeficiency Virus), hepatitis B (VHB) y C (VHC), sífilis. Además, en caso de que puedan tener una infección activa u otras condiciones médicas graves serán excluidos como donantes. Se



tendrá en cuenta como criterio de exclusión cualquier otra condición que, en opinión del investigador, pueda interferir con la evaluación de la eficacia y/o seguridad del ensayo.

Modificación genética

El vector viral se obtiene mediante la trasducción de la línea celular HEK293T/17 utilizando cuatro plásmidos que codifican para la glicoproteína de la cápside, las proteínas de empaquetamiento y el receptor quimérico.

El vector lentiviral se utiliza para la modificación de las células (linfocitos T CD45RA-) a través del sistema cerrado CliniMACS Prodigy.

El inserto está compuesto *por el dominio externo de reconocimiento NKG2D, el dominio transmembrana CD8, el dominio de coestimulación 4-1BB y el dominio de citotoxicidad CD3ζ.*

Evaluación del riesgo

-Ausencia de partículas de virus competentes para la replicación en el producto terminado

Para la minimización del riesgo de replicación competente en la producción de lentivirus, la presencia del elemento autoinactivador LTR 3', que impide la autoreplicación, junto con la separación de *tat* en un vector empaquetador y la división de las regiones codificantes de proteínas virales en 3 vectores en lugar de 2, aseguran la mínima probabilidad de replicación de las partículas virales generadas. No obstante, se realiza la detección de partículas lentivirales competentes en replicación (RCL) en cada lote clínico fabricado de vector viral.

La detección de RCL se realiza mediante la amplificación por PCR de secuencias específicas presentes en genes necesarios para el ensamblaje de los virus, y, por lo tanto, imprescindibles para su replicación. Los resultados muestran la ausencia de VSVG en todas las muestras, y por tanto se confirma la ausencia de RCL.

No se realiza el análisis de las células transducidas para detectar la presencia de RCL.

-Presencia de partículas residuales de vectores virales infecciosos en el producto terminado

La determinación de las partículas virales infecciosas residuales en las células transducidas CAR45RA-NKG2D se realiza mediante qPCR utilizando *primers* específicos para el gen de la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular. Los resultados de tres lotes analizados indicaron que no había partículas residuales del vector.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

El transporte intrahospitalario hasta la planta de hospitalización donde se realiza la administración al paciente que se encuentra ingresado se realizará utilizando recipientes cerrados tanto si se administra fresco, es decir, inmediatamente después de su liberación, como si se administra congelado.

Las instrucciones y detalles para el adecuado manejo y reconstitución del lote de células CART45RA-NKG2D se entregan al personal implicado en el ensayo clínico.

El personal encargado de la reconstitución/descongelación del medicamento en investigación, así como el personal de enfermería de la planta de hospitalización donde se realiza la infusión al paciente del medicamento, utilizarán equipos de protección individual: guantes de nitrilo (no látex) y gafas antisalpicadura y realizan higiene de manos antes y después de la utilización de guantes.



El centro hospitalario dispone de procedimientos normalizados de trabajo que recogen las actuaciones si se produce un derrame o contacto con piel y mucosas de forma accidental.

Una vez se ha infundido todo el producto, se desecha todo el material (bolsa de infusión y sistema de lavado) así como los materiales que hayan estado en contacto con el medicamento en investigación (residuos sólidos y líquidos), en un envase rígido para la segregación de residuos biosanitarios especiales (clase III).

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 7 de noviembre de 2023