



EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/01)

Título del ensayo

Evaluación de la seguridad y de la eficacia de axicabtagene ciloleucel, Yescarta, en pacientes con neoplasias malignas de linfocitos B, refractarias o recidivantes de la empresa Kite Pharma Inc.

Características del ensayo

Administración y seguimiento

La infusión de axicabtagene ciloleucel y el seguimiento correspondiente se harán en el Institut Catala d'Oncologia de l'Hospitalet, Servicio de Hematología; en el Hospital Clinic de Barcelona, Servicio de Hematología y en el Hospital Universitario de Salamanca, Servicio de Hematología.

El producto se infundirá directamente de la bolsa que contiene el producto y a través de una vía intravenosa, sin paso de dilución intermedio. Cada bolsa de infusión contiene una suspensión de linfocitos T CAR anti-CD19 en aproximadamente 68 ml, para administrar una dosis deseada de $2,0 \times 10^6$ linfocitos T CAR anti-CD19/kg de peso corporal (intervalo: $1,0 \times 10^6 - 2,4 \times 10^6$ linfocitos/kg), con un máximo de $2,0 \times 10^8$ linfocitos T CAR anti-CD19.

Aunque se considera que el riesgo de formación de virus competentes para la replicación (RCR) es despreciable, se analizará su presencia en muestras de sangre de los pacientes tratados obtenidas a los 3, 6 y 12 meses desde la administración del producto y una vez al año durante 15 años como máximo, si da positivo en los meses 3, 6 o 12.

Características del Organismo modificado genéticamente (OMG)

Axicabtagene ciloleucel, está formado por linfocitos T autólogos genéticamente modificados/transducidos *ex vivo* con un vector retroviral de replicación deficiente (Vector PG13-CD19-H3) para que expresen CAR anti-CD19 en la superficie celular y que, por lo tanto, actúen sobre los linfocitos B malignos que expresan antígenos CD19.

El vector que se utiliza es un vector retroviral híbrido con las proteínas accesorias gag-pol del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV) y la envoltura del virus de la leucemia del gibón (GALV). El genoma del virus contiene la información genética para el receptor CAR anti-CD19 y las secuencias de repetición terminales largas (LTR) del virus de las células madre murinas (MSCV) y una secuencia de empaquetamiento para mejorar la concentración retroviral. El receptor CAR anti CD19 está constituido por un dominio de unión específica a CD19 formado por un fragmento variable monocatenario (scFv) derivado de anticuerpos específico para el antígeno diana CD19, los dominios activadores derivados de los linfocitos T humanos CD3-zeta y CD28, y los dominios transmembrana y de bisagra del CD28 humano.



Identificación de riesgos potenciales

-Presencia de partículas virales libres

Varios aspectos contribuyen a la eliminación del vector residual durante el proceso de fabricación: Su inestabilidad a 37 °C, su inactivación por el medio de cultivo celular o por unión a las superficies de producción, y eliminación por pasos de lavado.

El vector que no haya infectado a un linfocito T tras el paso de transducción se reducirá mediante un paso de lavado celular, perderá su infectividad durante el crecimiento y la expansión celulares por degradación, y finalmente será eliminado del proceso de fabricación mediante lavados en la recolección del cultivo antes de la formulación final. Se ha obtenido una reducción de la proteína p30 de la cubierta del vector de >4 log.

-Riesgo de formación de partículas competentes para la replicación (RCR).

Los retrovirus humanos son distintos de los murinos, por lo que es muy poco probable que se recombinen con retrovirus endógenos en los linfocitos T.

El vector PG13-CD19-H3 no codifica en su genoma ninguno de los elementos necesarios para el crecimiento y la replicación virales, por lo que su replicación es defectuosa. De esta forma se reduce al mínimo el riesgo de que se produzcan RCR, puesto que para que se genere un RCR funcional se necesitan varios acontecimientos de recombinación independientes. No se han detectado ejemplos de RCR en los ensayos clínicos realizados hasta ahora con vectores retrovirales similares, con replicación defectuosa. Se ha monitorizado la presencia de RCR en la sangre de los pacientes tratados en los ensayos clínicos con axicabtagene ciloleucel. Hasta ahora ninguna muestra ha dado positivo para RCR.

El promotor del ensayo clínico ha evaluado múltiples lotes de producto final para analizar la presencia de RCR. Hasta ahora, los resultados obtenidos han sido negativos.

Sobre la base de la abundancia de datos disponibles, el promotor propone que la purificación de los lotes de las células utilizadas para obtener las partículas víricas y de los lotes del vector PG13-CD19-H3 es suficiente y adecuado para garantizar la seguridad de los pacientes, y que la evaluación de RCR en el producto axicabtagene ciloleucel terminado no supone un paso de seguridad adicional para el paciente.

-Genotoxicidad

El efecto deseado de la transferencia génica mediada por retrovirus es la integración, pero se ha considerado que existe un riesgo de mutagénesis por la inserción, lo que puede provocar anomalías en la regulación de la expresión génica y la consiguiente transformación maligna. Aunque el riesgo de mutagénesis por inserción es una posibilidad conocida, solo se ha observado en el contexto de lactantes con SCID (inmunodeficiencia combinada grave) ligada al cromosoma X tratados mediante una transferencia génica mediada por un vector retroviral en los linfocitos CD34+ de la médula ósea. En caso de transferencia génica mediada por un vector retroviral a linfocitos T maduros, no se han observado indicios de mutagénesis por inserción ni de efectos tóxicos a largo plazo en múltiples ensayos clínicos realizados con productos a base de linfocitos T manipulados genéticamente. Aunque se considera que el riesgo de mutagénesis por inserción es extremadamente bajo, los pacientes del ensayo clínico serán objeto de seguimiento por si presentan acontecimientos adversos relacionados con la terapia génica a largo plazo.



-Riesgo de transferencia genética

Una vez que el vector PG13-CD19-H3 se ha integrado en el cromosoma del linfocito T, se convierte en parte integral de este mientras vive la célula transducida. Aunque la forma integrada del retrovirus es de naturaleza irreversible, los linfocitos T que contienen al vector que se ha integrado en la cromatina no persisten mucho tiempo en el paciente tratado. Aunque los linfocitos T CAR anti-CD19 se dividen durante su vida, que es finita, no dispersan al vector PG13-CD19-H3 ni transmiten retrovirus.

Dado que el vector se incuba con los linfocitos T activados de los pacientes *ex vivo*, y que el vector extracelular que no haya entrado (y que no se haya integrado) en los linfocitos T es eliminado, solo hay un mínimo de partículas virales de replicación deficiente e infecciosas, que se consideran insuficientes para pasar al semen y para llegar efectivamente a las células germinales tras la infusión del producto. Por eso se considera que el riesgo de transmisión a una estirpe germinal es insignificante.

Axicabtagene ciloleucel no contiene promotores bacterianos que permitan la expresión del transgén en dichos microorganismos y no contiene ninguna función que puede conferir específicamente a los microorganismos una ventaja o una desventaja selectivas.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Para que las células sanguíneas humanas sobrevivan se precisa una compleja combinación de medios especiales, temperatura y CO₂. Las condiciones ambientales fuera del huésped (el cuerpo) son sustancialmente diferentes y no son adecuadas para su supervivencia (temperatura, pH, UV y la variación de las condiciones biofísicas y bioquímicas). Se considera que los linfocitos T son células frágiles que no sobreviven fuera del huésped.

El vector se incuba con los linfocitos T activados del paciente *ex vivo* y el retrovirus extracelular que no haya entrado (y que no se haya integrado) en los linfocitos T es eliminado e inactivado antes de la infusión de axicabtagene ciloleucel. No se conocen mecanismos que permitan que el vector PG13-CD19-H3 se propague a partir del producto. Aún en el caso de una exposición hipotética al medio ambiente del vector PG13-CD19-H3, la vida media de los retrovirus es relativamente corta a 37 °C, a 27 °C y a 17 °C, (salvo que se congelen por debajo de -80 °C), con un promedio de vida de aproximadamente 2 a 4 horas a 37 °C.

Axicabtagene ciloleucel y las posibles partículas de vector retroviral residuales que queden son sensibles a los métodos habituales de inactivación que se aplican a los microbios, y a muchos desinfectantes viricidas, como el hipoclorito sódico al 1 %, el glutaraldehído al 2 %, el formaldehído y el etanol. El calor (>50 °C durante 1 minuto), la radiación UV y los pH bajos y altos también son viricidas. Se ha demostrado una reducción de la infectividad del 86 % a pH 4 y del 99,9 % a pH 10 utilizando el virus relacionado con el virus xenotrópico de la leucemia murina (como ejemplo de γ -retrovirus murino obtenido en el laboratorio).

-Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

Para que haya exposición debe haber una infusión directa de axicabtagene ciloleucel. Las únicas personas inmunodeprimidas que participarán en la administración de axicabtagene ciloleucel serán los pacientes. Si el sistema inmunitario funciona bien, eliminará rápidamente el producto procedente de una inyección accidental. La simple exposición por contacto con la sangre de los pacientes tratados no transmite el OMG, puesto que este es rápidamente inactivado en condiciones ambientales.



-Manipulación, control y tratamiento de residuos

El tratamiento con axicabtagene ciloleucel se llevará a cabo por profesionales sanitarios con experiencia y familiarizados con las características del producto, que hayan recibido formación sobre los procedimientos y las normas de higiene relativas a la seguridad y a la manipulación de materiales infecciosos. Se utilizarán equipos de protección personal para evitar que el personal médico que intervenga en la administración del producto se vea expuesto al producto. El promotor facilitará información adecuada sobre la manipulación y la conservación seguras al médico responsable, de acuerdo al manual del producto en investigación.

Los residuos sólidos (la bolsa IV, las sondas IV y los demás componentes que hayan estado en contacto con el producto, guantes, etc) se eliminarán como residuos biopeligrosos.

El responsable del ensayo clínico informará a los pacientes participantes en el ensayo clínico que no podrán donar sangre, órganos, tejido ni células para trasplante.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Autoridad Competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad.

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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. 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 31 de mayo de 2018