



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS T MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/17/04)

Título del ensayo

Tratamiento expandido de CTL019 para pacientes pediátricos/adultos jóvenes diagnosticados de leucemia aguda linfoblástica en recaída/refractaria.

Características del ensayo

Novartis Farmacéutica S.A presenta una solicitud para realizar el estudio de un tratamiento expandido de CTL019 para pacientes pediátricos/adultos jóvenes diagnosticados de leucemia aguda linfoblástica en recaída/refractaria

El tratamiento adoptivo con células T es un método particular que implica la manipulación genética de receptores de células T (TCRs) para unirlos a antígenos específicos presentes en células tumorales. Estos TCRs modificados, conocidos como receptores de antígenos quiméricos (CARs), permiten que el sistema inmunitario se dirija específicamente a las células tumorales.

El ensayo se realizará en el Hospital San Juan de Déu. Se reclutarán aproximadamente 55 pacientes entre los 3 años de edad en el momento de la selección y los 21 años de edad en el momento del diagnóstico inicial.

CTL019 se fabrica en el Centro de Fabricación de Terapia Génica y Celular de Novartis, se suministra en bolsa de criopreservación y se administrará mediante infusión intravenosa, directamente desde la bolsa o transfiriendo el contenido a una jeringa. La máxima dosis que un paciente puede recibir es de 2.5×10^8 células transducidas viables por dosis.

Características del OMG

Células T autólogas modificadas genéticamente para unirlos a la proteína de superficie CD19 cuya expresión se limita a las células B y a sus precursoras.

Las células T se obtienen del paciente mediante leucaféresis y son modificadas genéticamente utilizando un vector lentiviral rdLVV (LVV deficiente para la replicación), integrativo, basado en vectores retrovirales de tercera generación, que no contiene los genes requeridos para la replicación y que contiene la secuencia genética que codifica para la expresión del receptor antigénico quimérico (murino/humano) para CD19.

Bajo el control del promotor EF1 α , el transgen está constituido por una secuencia líder CD8 α , un fragmento monocatenario de anticuerpo murino (anti- CD19scFv), una región bisagra y transmembrana CD8, y un dominio de señalización 4-1BB (CD137) y CD3 (TCR ζ) que media la activación de las células T de forma independiente al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH):

Para producir la partícula viral pseudotipada, con la envuelta del virus de la estomatitis vesicular, y portadora del transgen, se transfectan varios plásmidos (que codifican para las proteínas estructurales



del virus), entre los que se incluye el plásmido que contiene el transgen, en una línea de celular de empaquetamiento, HEK293T.

Una vez el receptor CAR se expresa en la superficie de las células T, se puede identificar mediante citometría de flujo (FACS) y mediante PCR cuantitativa (qPCR).

Identificación de riesgos potenciales

-Presencia de partículas virales libres

Cualquier vector lentiviral libre no integrado se considera eliminado y/o inactivado durante el proceso de fabricación del CTL019. La eliminación/inactivación está basada en los tres mecanismos siguientes:

1. Los vectores lentivirales pseudotipados (VSV-G) pierden el 90% de su actividad cuando se cultivan a 37°C durante 48 horas. El proceso de fabricación del CTL019 incluye una etapa de incubación de al menos 8 días a 37°C.
2. Los vectores lentivirales pseudotipados (VSV-G) se inactivan por el sistema del complemento en el suero humano. Se ha publicado que la incubación a 37°C en suero humano al 80% durante una hora inactiva el 98% de las partículas lentivirales. El medio de cultivo utilizado durante la expansión de las células CTL019 contiene suero humano.
3. Otro aspecto es el factor de dilución/eliminación teórico durante el proceso de fabricación. Las células se lavan y se expanden varias veces. Se estima que el proceso de fabricación tiene un factor de dilución acumulativo teórico de 1.370% en el peor de los casos.

En conclusión, el vector viral de partida es efectivamente desactivado y/o eliminado durante el proceso de fabricación del CTL019. La cantidad de partículas virales residuales en el producto es prácticamente cero por lo que no se realizará ningún test en la liberación del producto para confirmar la ausencia de partículas lentivirales libres.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (RCL)

Comparado con el virus parental, el rdLVV en la forma pro-viral no se puede ensamblar para formar nuevas partículas virales una vez se ha integrado en el genoma de la célula huésped final, a menos que ocurra algún proceso de recombinación/complementación con secuencias retrovirales endógenas humanas del huésped (HERVs). Se necesitaría que hubiera homología entre las secuencias del vector y las HERVs. El vector solo contiene una porción limitada del genoma del lentivirus, las LTRs y la señal ψ (psi) de empaquetamiento. Esta porción limitada de secuencias lentivirales hace que la recombinación con HERVs sea improbable.

Por otra parte, la línea celular HEK 293 utilizada como célula de empaquetamiento estable para la producción de vectores, se caracteriza por la segregación de las secuencias virales necesarias para el empaquetamiento en plásmidos distintos. Esta aproximación permite la reducción del riesgo de producción de RCL dado que serían necesarios tres eventos de recombinación para la generación de una RCL.



Durante la fabricación de CTL019 o posteriormente, después de la introducción en el paciente de células transducidas con el vector, se puede generar lentivirus competentes para la replicación. No obstante:

- La leucaféresis autóloga del paciente que se utiliza como material de partida se analiza para determinar ausencia de VIH, HBV y HCV y los pacientes que presenten algún resultado positivo se excluirán del estudio.
- Es muy poco probable un RCL resultante de la fabricación por el propio diseño del vector y porque, previamente a la administración de CTL019 al paciente, se realizan ensayos para la detección de RCL.

La capacidad de transferencia génica debido a la formación de RCL por co-infección accidental con VIH post-administración es poco probable ya que las deleciones y cambios en la secuencia viral del vector, específicamente en los LTRs, disminuye las secuencias homólogas con el VIH silvestre que no permite que se pueda producir la recombinación homóloga.

-Riesgo de transferencia genética

La probabilidad de transferencia genética horizontal es insignificante, ya que (i) las células T no transfieren genes horizontalmente, (ii) los procedimientos rigurosos de control de calidad del vector y de las células receptoras evitan la presencia de contaminantes microbianos que podrían transmitirse a los pacientes y de ellos al medioambiente, (iii) el virus integrado en las células T, no será capaz de recombinarse con secuencias de vectores retrovirales endógenos humanos dada la ausencia de secuencias de homología.

Lo mismo ocurriría en el caso poco probable de infección de los pacientes por VIH tras la administración.

Respecto a la posible presencia de partículas virales libres en el producto, estas se inactivarían por el complemento del suero humano del paciente. Incluso en el caso de que la partícula infecciosa sobreviviera el tiempo suficiente para infectar una célula, el vector es deficiente para la replicación y únicamente se podría integrar una vez y no podría haber diseminación posterior.

-Patogenicidad

El vector utilizado para la preparación de las células T genéticamente modificadas es un vector lentiviral deficiente para la replicación, basado en vectores retrovirales de tercera generación. La mayor parte de la secuencia nativa del VIH-1 (aproximadamente el 85%) se ha eliminado, salvo las LTRs y la señal de empaquetamiento.

Las células CTL019 no producen virus infecciosos ni patogénicos. Existe una clara evidencia de que las células T transducidas no pueden ser fuente para transducciones posteriores ya que el vector se integra en el cromosoma de las células T sin transferir secuencias codificantes derivadas del virus.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación



La posibilidad de supervivencia, establecimiento y diseminación del vector es insignificante teniendo en cuenta que es un vector no replicativo y la práctica ausencia de partículas virales libres en el producto CTL019.

Por otra parte, fuera del huésped, las células CTL019 son sensibles y rápidamente eliminadas tanto por inactivación física (deshidratación y calor) como por desinfectantes (disolventes de lípidos y detergentes suaves).

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

Todo el personal sanitario implicado en la manipulación y administración del CTL019 será formado acorde al protocolo del estudio y toda la documentación de soporte.

CTL019 no se transmite por el aire pero puede ser transmitido por inyección accidental o contacto con la piel. Si el personal médico se expusiera al CTL019 de forma accidental su sistema inmune eliminaría dichas células.

-Control y tratamiento de residuos

Novartis proporcionará una “Hoja Resumen de Seguridad” con información para la manipulación segura del producto CTL019, medidas a tomar en caso de derrames accidentales, equipo de protección personal, primeros auxilios, descontaminación y gestión de residuos.

Eliminación o la desactivación de los organismos modificados genéticamente

Tras la administración de CTL019, los materiales utilizados durante la inyección (ej. guantes, gasas) se eliminarán de acuerdo a los requerimientos locales regionales institucionales o, al menos, siguiendo las siguientes guías:

- Residuos sólidos: Todo el material que haya estado en contacto con CTL019 deben manipularse y eliminarse como residuo potencialmente infeccioso de acuerdo con los procedimientos del hospital.
- Residuos líquidos: Los líquidos que contienen CTL019 pueden ser inactivados con una solución de cloro (20-25 %) diluida 1/10 (2 % concentración final) durante 2 minutos y luego ser eliminados en el fregadero. La solución de cloro debe ser fresca, al menos se debe renovar cada 24 horas.

-Seguimiento

Los pacientes se seguirán hasta 15 años tras la infusión del CTL019 según las guías de las autoridades sanitarias. Bajo el protocolo de seguimiento a largo plazo, se realizarán evaluaciones bianuales o anuales en todos los pacientes que hayan recibido el producto CTL019 tal y como recomienda la FDA y la EMA de acuerdo a las guías relevantes. Todos los pacientes que completen el estudio o que discontinúen prematuramente tras la administración de CTL019 pasarán, automáticamente, a este protocolo de seguimiento a largo plazo (se les proporcionará hojas de consentimiento o asentimiento específicas para este protocolo).



Una o dos veces al año, el paciente irá al hospital para un examen físico y registro de historia clínica, prestando especial atención a las características que puedan estar relacionadas con eventos asociados al vector lentiviral. Además, se extraerán muestras de sangre para evaluar los puntos de seguridad finales, persistencia del vector CTL019 y RCL.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata 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 23 de febrero de 2017