



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/25/03)

Título del ensayo

Ensayo clínico de fase I de terapia con células CART para la leucemia linfoblástica aguda refractaria/recidivante con necesidades insatisfechas en niños, adolescentes y adultos jóvenes: estudio de viabilidad y seguridad (REALL_CART), del promotor Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz.

Características del ensayo

Este ensayo tiene como objetivo determinar en paralelo dentro de cohortes independientes:

- 1- La seguridad y viabilidad de CART-19/22 autólogo en niños, adolescentes y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda refractaria/recidivante CD19+/- CD22+/- . Rama A de ensayo.
- 2- La seguridad y viabilidad del CART-NKG2D T alogénico en niños, adolescentes y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda refractaria/recidivante. Rama B del ensayo.

El producto en investigación CART-NKG2D del estudio se está utilizando actualmente en el ensayo clínico B/ES/23/16.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario La Paz.

Organismos modificados genéticamente

-El OMG CART45RA-NKG2D son células T de memoria de donante haploideéntico que se modifican genéticamente por medio de un vector lentiviral 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 del receptor NKG2D para su reconocimiento específico y lisis de las células tumorales. Los ligandos del receptor NKG2D (NKG2DL) se expresan en la mayoría de los 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.

El vector lentiviral es un vector pseudotipado con la glucoproteína de la envoltura del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), no replicativo, que contiene las secuencias del receptor antigénico quimérico con especificidad anti-NKG2DL.

Se utiliza la línea celular empaquetadora HEK293T/17 para la producción del vector lentiviral mediante la transfección de estas células con los plásmidos que contienen las secuencias necesarias para la formación de las partículas víricas y el plásmido de transferencia que contiene la secuencia del receptor quimérico.

-El OMG CART 19/22 consiste en células T CD3 autólogas y diferenciadas, que se modifican genéticamente mediante un vector lentiviral sin capacidad de replicación para que expresen un receptor de antígeno quimérico dual en tándem anti-CD19 y anti-CD22.

La modificación genética de los linfocitos T CD3 conducirá a la expresión en su superficie de un receptor antígeno quimérico dual que reconocerá específicamente células tumorales de leucemia linfoblástica aguda que expresan los antígenos CD19 y/o CD22. Se espera que el OMG, tras



reconocer específicamente a su diana, prolifere para crear clones de ataque frente al tumor eliminando así el tumor del paciente.

Las células T CD3 autólogas se obtendrán por aféresis no movilizadas obtenidas de pacientes con leucemia linfoblástica aguda refractaria/recidivante y se infundirán de nuevo de forma autóloga a estos mismos pacientes.

El vector lentiviral es un vector pseudotipado con la glucoproteína de la envoltura del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), no replicativo, que contienen las secuencias de receptores antigénicos quimérico con especificidad anti-CD19/CD22.

Se utiliza la línea celular empaquetadora HEK293T para la producción del vector lentiviral mediante la transfección de estas células con los plásmidos que contienen las secuencias necesarias para la formación de las partículas víricas y el plásmido de transferencia que contiene la secuencia del receptor quimérico.

Evaluación y gestión del riesgo

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

Tanto en el caso de CART-NKG2D, como el CART 19/22, para la minimización del riesgo de presencia de lentivirus competentes en replicación, la presencia del elemento autoinactivador LTR 3', junto con la separación 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 (infectivas) (RCL) en cada lote de vector fabricado.

En el caso de CART-NKG2D el método usado para detectar los RCL consiste en una PCR específica para VSV-G y *psi*. Los resultados de los lotes analizados muestran la ausencia de RCL.

En el caso de CART 19/22 el análisis de la presencia de RCL se base en la detección de p24 de VIH-1 mediante ELISA. En los lotes analizados no se ha detectado presencia de RCL.

Por otra parte, durante la obtención del material de partida para la producción de células CART se excluyen donantes positivos para HIV.

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

La determinación de partículas virales se realiza en el sobrenadante del producto terminado mediante cuantificación absoluta o relativa mediante PCR empleando cebadores específicos de la secuencia del virus. Se ha establecido el criterio de aceptación para cuantificación relativa y "no detectable" si se realiza una cuantificación absoluta. Los lotes analizados cumplieron con las especificaciones.

-Medidas de control

La descongelación y reconstitución de cada medicamento en investigación previa a su administración al paciente, se realiza por personal cualificado. La descongelación se realiza en condiciones controladas a 37°C, en cámara seca, durante un tiempo que dependerá del volumen del producto, en la misma bolsa en la que está acondicionado. No hay trasvase o transferencia a otro envase, no hay lavado previo a la infusión para eliminar la solución de criopreservación, no se mezcla ni se diluye con otros reactivos o soluciones.



El producto descongelado, es transportado de forma inmediata intrahospitalariamente hasta la planta de hospitalización donde está ingresado el paciente. Para el transporte, cada lote acondicionado en su bolsa, se introduce en un sistema de embalaje que asegura unas condiciones de temperatura ambiente.

Todo el personal trabajará bajo el Sistema de Calidad JACIE para el Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos que incluye el manejo de productos de terapia celular. Así mismo, el Hospital La Paz tiene la designación nacional por el Ministerio de Sanidad como Centro para el uso y administración de medicamentos CART en pacientes infantiles, por lo que el personal implicado tiene experiencia en el almacenamiento, transporte y administración de este tipo de medicamentos basados en células modificadas genéticamente.

El personal utilizará 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 procedimiento interno del Sistema de Calidad JACIE para la unidad de hospitalización, describe las actividades relacionadas con el mantenimiento y saneamiento de la unidad de hospitalización de los pacientes tras el tratamiento. Se aplica a todo el personal (médicos, enfermeras y Servicios de Soporte) del hospital que atiende a un paciente dentro de la Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos (TPH). Comienza antes del ingreso del paciente en la habitación y finaliza tras el alta del paciente, dejando la habitación preparada para un nuevo ingreso.

Las medidas fundamentales para mantener el nivel de bioseguridad son:

1. Mantenimiento correcto de la instalación de climatización y de la diferencia de presiones entre habitaciones y áreas adyacentes (aire filtrado con filtros de alta eficacia HEPA).
2. Limpieza de superficies según los procedimientos de limpieza establecidos, con distinta periodicidad y descontaminación con luz UV en determinadas situaciones.
3. Circulación y disciplina del personal: establecimiento de flujos de personal y materiales tanto para los familiares/cuidadores como para los profesionales sanitarios, procedimientos de vestimenta específicos e higiene de manos protocolizada.
4. Aislamiento apropiado de las zonas que lo precisen, especialmente ante situaciones de remodelación u obras.

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 14 de marzo de 2025.