



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS AUTÓLOGOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/30)

Título del ensayo

Estudio de fase 3, multicéntrico, aleatorizado, sin enmascaramiento, para comparar la eficacia y la seguridad del bb2121 frente a las triterapias convencionales en sujetos con mieloma múltiple recidivante y refractario (MMRR) (KarMMa-3), de la empresa Celgene Corporation.

Características del ensayo

En el ensayo clínico participarán la Clínica Universitaria de Navarra y el Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

En el estudio clínico bb2121-MM-003, participarán aproximadamente 254 pacientes. Se controlará a los pacientes durante un mínimo de 24 meses tras la perfusión del medicamento. Posteriormente, se solicitará a los pacientes que se incorporen a un protocolo aparte de seguimiento a largo plazo durante un total de 15 años tras la perfusión del medicamento.

Organismo Modificado Genéticamente (OMG)

El OMG, bb2121, consiste en una población de linfocitos T autólogos enriquecida que contiene células transducidas con el vector anti-BCMA02 CAR LVV que codifica para el receptor CAR del antígeno de maduración de células B humanas (BCMA).

Vector, CAR anti-BCMA02 LVV, se basa en el lentivirus VIH-1. Los vectores lentivirales utilizados son de tercera generación (se utilizan 4 plásmidos para su producción lo que aumenta su seguridad), mejorados (contienen secuencias que mejoran su expresión como cPPT, tracto central de polipurina, y el elemento de respuesta a Rev, RRE), autoinactivantes (deleciones en la LTR por lo que una vez integradas no son activas) y pseudotipados (la proteína de la envuelta usada para empaquetar es la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular VSV-G).

Las partículas víricas pseudotipadas se obtienen mediante cotransfección de 4 plásmidos en células 293T (vector transferente, vectores empaquetadores que codifican para rev y gag-pol y el vector que codifica para la envuelta VSV-G).

El gen terapéutico, CAR anti-BCMA02, es un receptor quimérico, constituido por una proteína con varios dominios. El dominio extracelular de reconocimiento del antígeno, el dominio bisagra CD8 α , un dominio transmembranario (CD8 TM) y los dominios de señalización intracelulares coestimulador CD137 (4-1BB) y cadena CD3-zeta.

Las células mononucleares de sangre periférica se obtienen mediante leucaféresis. Las células se cultivan en medios que contienen interleuquina (IL) -2 y se activan. Estas células se transducen, *ex vivo*, con el vector anti-BCMA02 CAR LVV y se analiza cada lote de producto para detectar la presencia de lentivirus competentes para la replicación.



Identificación de riesgos potenciales

-Estabilidad fenotípica y genotípica

Como el provirus se integra de forma estable en la célula T receptora, no es capaz de movilizarse. El transcrito de ARN empaquetado en el vector lentiviral del CAR anti-BMCA02 es estable y no tiene la capacidad de replicarse. El nivel de expresión del CAR en la superficie de las células T variará en función de la cantidad de copias del gen incorporadas al cromosoma de las células T y de otros factores no relacionados con el vector. El medicamento bb2121 ha demostrado responder eficazmente al BCMA si el 10 % de las células T expresan el CAR anti-BCMA.

-Presencia de partículas virales libres

Durante el proceso de fabricación de bb2121 las partículas libres de vector lentiviral anti-BCMA02 que no se incorporan en las células T autólogas se degradan rápidamente en el cultivo celular. Teniendo en cuenta la semivida corta esperada (menos de 10 horas) de las partículas de vector lentiviral en las condiciones de cultivo, se calcula que el factor de reducción de las partículas de vector lentiviral anti-BCMA02 activas durante el cultivo celular será de $3,18 \times 10^6$ veces. Las etapas de lavado después de la cosecha se han diseñado para producir una dilución adicional de >2.000 veces. En conjunto, se calcula que el factor de reducción acumulativo de partículas de vector lentiviral libres activas durante todo el proceso de fabricación de bb2121 será de $6,36 \times 10^9$ veces. Se calcula que la cantidad teórica de partículas infecciosas presentes en el medicamento bb2121 será de 0,31, que es inferior a una partícula en un lote del medicamento. Por tanto se considera que el riesgo de presencia de partículas libres en el producto final es insignificante.

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

El bb2121 se fabrica mediante expansión y transducción de las células del paciente con un vector lentiviral que se fabrica utilizando un sistema de fabricación de tercera generación. El riesgo de recombinación y de replicación *in vivo* se minimiza al eliminar los genes auxiliares necesarios para la replicación viral *in vivo*, reduciendo la homología de las propias secuencias y separando los plásmidos de empaquetamiento/envoltura/transferencia. Hasta la fecha, no se ha comunicado ningún acontecimiento de RCL asociado a los sistemas de fabricación de lentivirus de tercera generación.

Cada lote del vector lentiviral se analiza utilizando un análisis de cultivo para detectar la replicación viral. Los análisis para detectar RCL incluyen análisis de las células durante la producción (1×10^8 células) y del vector lentiviral purificado conforme a la guía de la FDA y la Directriz de la UE sobre desarrollo y fabricación de vectores lentivirales.

Además, ningún paciente VIH+ será expuesto a bb2121. Los pacientes se someten a pruebas de detección antes de entrar en el estudio clínico de bb2121. No se elabora ningún producto a partir de pacientes VIH-positivos, eliminando así la posibilidad de recombinación del vector lentiviral con el VIH.

-Riesgo de transferencia genética

Una vez transducidas las células CD34+ con el vector lentiviral el material genético de interés quedará integrado en el genoma de la célula, a la vez que las LTRs del lentivirus se inactivarán, perdiendo así su capacidad de replicación dentro de la célula. Las restantes células del cuerpo no se



verán afectadas por las células terapéuticas puesto que no se prevé la transmisión de material genético de las células transducidas a otras células u organismos de ecosistemas adyacentes.

El OMG no es viable en condiciones ambientales no controladas ni en otros seres humanos, ya que el sistema inmunitario lo eliminaría rápidamente debido a la incompatibilidad del antígeno leucocitario humano (HLA, por *human lymphocyte antigen*).

-Mutagénesis insercional

El provirus terapéutico se inserta en forma estable en el genoma de los linfocitos T del sujeto, y codifica el gen terapéutico CAR.

Al contrario de lo que sucede con las células madre hematopoyéticas (CMH) modificadas genéticamente *ex vivo*, el potencial de mutagénesis insercional y/o de carcinogenicidad se considera insignificante para los linfocitos T del CAR, en función de su diferenciación terminal y de la extensa experiencia clínica obtenida hasta la fecha con el seguimiento a largo plazo de los pacientes tratados con otros productos de linfocitos T del CAR. En la mayoría de los informes publicados hasta la fecha se han utilizado vectores retrovirales gamma, que tienen preferencia por un sitio de integración con mayor probabilidad de estar asociada a la transformación celular que el sistema de vector lentiviral que se utilizará en este estudio clínico.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Tanto el vector lentiviral terapéutico como la célula transducida tienen unas características biológicas que impiden su multiplicación y/o dispersión fuera del paciente trasplantado. No pueden sobrevivir fuera del individuo y la proliferación de la célula transducida para reconstituir la hematopoyesis del paciente solo ocurrirá en el paciente y no podrá multiplicarse fuera de este (células autólogas).

El hecho de que CAR anti-BCMA02 esté pseudotipado con la glicoproteína VSV-G confiere mayor estabilidad en el medio exterior, a la vez que lo inactivan con facilidad la mayoría de los desinfectantes y antisépticos, como está bien documentado para el VIH de tipo salvaje. Además, los vectores lentivirales pseudotipificados con VSV-G son rápidamente inactivados por el complemento del suero humano.

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

Los posibles efectos sobre la salud humana son inexistentes ya que tanto el vector lentiviral como las células modificadas no pueden sobrevivir fuera del organismo receptor. Únicamente en el momento del trasplante de las células modificadas, el personal implicado debe seguir las normas estrictamente para evitar que un posible resto del vector lentiviral pudiese entrar en contacto con el sistema sanguíneo del trabajador. El contacto con la piel no implica riesgo alguno, aunque tampoco ocurrirá ya que el trabajador estará protegido ante posibles exposiciones innecesarias.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El medicamento bb2121 será enviado en una caja sellada y un embalaje aprobados por la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Todo el embalaje irá etiquetado de acuerdo con la normativa relativa a mercancías peligrosas. El producto se recibe y se almacena en el centro que participa en el ensayo. Se descongelará el día de la infusión, al lado de la cama del paciente en una unidad de trasplantes/de cuidados intensivos de hematología. Si se requiere ajuste de dosis se realizará en cabina de bioseguridad de clase II.

El producto será administrado por personal formado que llevará la indumentaria protectora apropiada.



Cualquier resto del medicamento y el equipo relacionado, así como los residuos, se eliminarán como residuo biológico, categoría III.

Disponen de un manual de recepción, preparación y administración del medicamento y una hoja de seguridad.

Las muestras de los pacientes serán analizadas en distintos laboratoriosⁱ a los que serán transportadas de forma segura para evitar derrames accidentales.

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 17 de mayo de 2019

ⁱ **Los laboratorios en los que se analicen muestras clínicas de pacientes deben cumplir, como mínimo, con los requisitos del nivel de bioseguridad 2.**

Documento de apoyo:

- Manual de seguridad en el laboratorio de la OMS. 2005
- Guía Técnica para la evaluación y la prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo. 2014
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo
- Real Decreto 178/2004, del 3 de enero