



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS AUTÓLOGOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/19/04)

Título del ensayo

Estudio piloto aleatorizado de fase Ib/IIa, para evaluar la seguridad y la tolerabilidad de células T autólogas que expresan de forma aumentada TCR específicos de NY-ESO-1/LAGE-1a (GSK3377794) solos o en combinación con la terapia anti-PD1 en pacientes HLA-A2+ con cáncer de pulmón no microcítico avanzado o recidivante NY-ESO-1 o LAGE-1a-positivo, de la empresa GlaxoSmithKline R&D.

Características del ensayo

En el ensayo participarán los siguientes centros: START Madrid Group, HM CIOCC (Centro integral Oncológico Clara Campal), Hospital HM Universitario Sanchinarro, START Madrid-FJD, Hospital Fundación Jiménez Díaz, Clínica Universidad de Navarra, Hospital Universitario Vall d'Hebron y Hospital Clínico Virgen de la Victoria.

Los pacientes recibirán una única dosis de 5×10^9 células transducidas (rango: 1×10^9 - 6×10^9) mediante infusión intravenosa. Se espera que participen un total de aproximadamente 4 sujetos.

Se realizarán controles a los 3, 6 y 12 meses de la presencia de linfocitos T modificados genéticamente, así como de la presencia de lentivirus competentes para la replicación. Si las pruebas son negativas durante el primer año, se recogerán muestras y se archivarán durante un máximo de 15 años. Sin embargo si se detectan muestras positivas, el paciente se someterá a seguimiento hasta que las muestras sean negativas.

Organismo Modificado Genéticamente (OMG)

El OMG, NY-ESO-1^{c259}T, consiste en células CD3+T autólogas, que expresan el receptor de células T con afinidad aumentada para NY-ESO-1, antígeno que se expresa en tumores humanos con diferentes tipos histológicos.

La modificación de las células se realiza utilizando un vector de lentiviral pseudotipado derivado de VIH-1, no replicativo que está compuesto de una LTR 5' y una LTR3' a la que se ha eliminado U3 y que porta la señal ψ (psi) de empaquetamiento. El vector también contiene el tracto de poli-purina central (cPPT) y la secuencia de terminación central (CTS), para una mayor eficiencia de transducción, y el elemento de respuesta rev (RRE) para transporte del ARN.

El transgén está formado por cadenas α y β del receptor de linfocitos T (TCR) específico de NY-ESO-1, unidas mediante una secuencia, péptido 2A, para garantizar la expresión equivalente de ambas cadenas, que está dirigida por el promotor EF-1 α .

Para producir el lentivirus, se transfecta una línea celular de empaquetamiento con el plásmido de empaquetamiento, el que contienen el transgen, y el que contienen la información para la proteína Rev y la proteína de la envoltura VSV-G.

Las partículas virales se utilizarán para transducir células T del paciente, preferiblemente CD3+.

Tras la transducción, el transgén se integra de modo estable en el genoma de la célula huésped para dirigir la expresión de NY-ESO-1c259 TCR en la superficie celular.



Los linfocitos T se expanden *in vitro* y se vuelven a infundir en el paciente. El objetivo último del proceso es estimular y expandir la inmunidad potente y específica de antígeno de los linfocitos T.

Evaluación del riesgo para la salud humana, animal y el medio ambiente

Teniendo en cuenta las características específicas del medicamento en investigación, el solicitante considera que la evaluación específica del riesgo ambiental prevista en las *Buenas Prácticas sobre la evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas genéticamente modificadas por medio de vectores retrovirales/lentivirales* es aplicable¹.

Identificación de riesgos potenciales

Las células humanas no pueden proliferar en el medio ambiente ya que solo pueden sobrevivir dentro del cuerpo humano o en condiciones de cultivo *in vitro*. Como consecuencia, como el medicamento en investigación consta de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores lentivirales, los riesgos para el medio ambiente y la salud están relacionados principalmente con la posibilidad de formación de un virus competente para la replicación y la presencia de partículas víricas residuales infecciosas del vector viral en el producto final que podrían liberarse al medio ambiente.

- Presencia de partículas virales libres

Después de añadir el vector viral a las células T es eliminado por distintos procesos de lavado. Además, durante el periodo de expansión de las células T trasducidas, el medio del cultivo celular es reemplazado constantemente, lo cual diluirá cualquier vector remanente. Al final de la fase de expansión, las células son nuevamente lavadas antes de la criopreservación lo que reducirá la cantidad de posibles partículas virales aun presente.

La tasa de reducción durante el proceso de producción ha sido calculado usando la fórmula adaptada del documento *Buenas Prácticas en la evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas genéticamente modificadas por medio de vectores retro/lentivirales*, obteniéndose un resultado que indica que el riesgo de presencia de partículas víricas libres es insignificante.

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

La ausencia de lentivirus competentes en replicación se confirma durante la fabricación del vector. El vector se fabrica y purifica de acuerdo a lo establecido en la “*Guía Adicional de la FDA en Evaluación para Retrovirus Competentes en Replicación en Productos de Terapia Génica Basados en Vectores Retrovirales y Durante el Seguimiento de Pacientes en Ensayos Clínicos Usando Vectores Retrovirales*”, la guía de la EMA sobre el desarrollo y fabricación de vectores lentivirales (CHMP/BWP/2458/03), la Farmacopeas Europea y Americana y el CFR en Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). Además, ya que es teóricamente posible que se generen RCL por recombinación entre el vector de transferencia y elementos endógenos virales en células T, se realizan también análisis de su presencia en el producto final.

¹ https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg-notificaciones-y-autorizaciones/proc_autorizacion.aspx



El producto en investigación (IMP) se almacenará en de cada uno de los centros que participa en el ensayo en áreas de acceso restringido y se preparará en laboratorios con nivel de contención de riesgo biológico 2 o en el mismo lugar de administración. El transporte desde el lugar de preparación al de administración, cuando proceda, se realizará en contenedores para evitar derrames accidentales.

El promotor proporcionará a cada centro formación sobre el estudio, que incluye la recepción, conservación y manipulación del producto. No se requieren medidas especiales para el lugar de administración. Debe utilizarse indumentaria de protección similar a la utilizada en la manipulación de productos celulares o sanguíneos.

En caso de derrame del producto las células perderán la viabilidad rápidamente. Se podrá utilizar solución Hypo-Chlor, lejía o peróxido de hidrógeno al 6%.

Todos los materiales que entran en contacto con el producto (plásticos desechables, agujas, gasas, torundas, etc.) serán tratados como residuos sanitarios infecciosos de categoría III.

Las muestras de los pacientes serán analizadas en distintos laboratorios² 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 7 de junio de 2019

² **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.