

PARTE 1 (DECISIÓN 2002/813/CE DEL CONSEJO)

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

*Para marcar una o varias posibilidades, utilice cruces (es decir, x o X) en el espacio que se proporciona como (.).*

**A. Información de carácter general**

**1. Detalles de la notificación**

- (a) Estado miembro de la notificación España
- (b) Número de la notificación B/ES/19/01
- (c) Fecha del acuse de recibo de la notificación 04/12/2018
- (d) Título del proyecto  
Evaluación de la seguridad y la eficacia de KTE-X19 en pacientes con neoplasias malignas de células B resistentes o recidivantes...
- (e) Período previsto para la liberación: Desde segundo trimestre-2019, hasta segundo trimestre-2021.

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:  
Kite Pharma, Inc.  
2400 Broadway  
Santa Mónica, CA 90404, EE.UU.

**3. Definición del OMG**

**(a) Indíquese si el OMG es:**

- viroide (.)
- virus ARN (.)
- virus ADN (.)
- bacteria (.)
- hongo (.)
- animal
- mamíferos (X)
- insectos (.)
- peces (.)
- otro animal (.) Células T humanas

especifique el phylum y la clase ...

**(b) Identidad del OMG (género y especie)**

Células T CD3+ humanas transducidas con un vector gamma-retroviral deficiente en la replicación (vector PG13 CD19-H3) para expresar un CAR transmembrana.

- (c) **Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A del apartado II del anexo III A**  
Sí

4. **¿Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?**

Sí (X) No

En caso afirmativo, indique el código del país DE, ES, IT, UK

5. **¿Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?**

Sí (X) No

**En caso afirmativo:**

- Estado miembro de la notificación NL
- Número de la notificación B/NL/16/003; B/NL/16/004; B/NL/16/005; B/NL/16/006; B/NL/16/007
- Estado miembro de la notificación DE
- Número de la notificación B/DE/17/PEI2927; B/DE/17/PEI3037; B/DE/17/2858
- Estado miembro de la notificación FR
- Número de la notificación No disponible

Utilice los siguientes códigos de país:

Austria, AT; Bélgica, BE; Alemania, DE; Dinamarca, DK; España, ES; Finlandia, FI; Francia, FR; Reino Unido, GB; Grecia, GR; Irlanda, IE; Islandia, IS; Italia, IT; Luxemburgo, LU; Países Bajos, NL; Noruega, NO; Portugal, PT; Suecia, SE

6. **¿Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?**

Sí (X) No

**En caso afirmativo:**

- Estado miembro de la notificación EE. UU. N.º IND: 16675
- Número de la notificación No procede

7. **Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG.**

No se espera un impacto ambiental, ya que la liberación de células T autólogas transducidas de KTE-X19 se limita a la administración al paciente en hospitales. De acuerdo con la evaluación de riesgos ambientales, KTE-X19 no llegará al medioambiente en general. Se puede concluir que el riesgo general de KTE-X19 para las personas y el medioambiente es insignificante.

**B. Información sobre el organismo receptor o parental del que se deriva el OMG**

1. **Identificación del organismo receptor o parental:**

(a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

(seleccione solo uno)

- viroide
  - virus ARN
  - virus ADN
  - bacteria
  - hongo
  - animal
    - mamíferos
    - insectos
    - peces
    - otro animal humano
- (especifique el phylum y la clase) ...

otros (especifíquense) ...

## 2. Nombre

- (i) orden y/o taxón superior (animales) Homo sapiens
- (ii) Género ...
- (iii) Especie ...
- (iv) Subespecie ...
- (v) Cepa ...
- (vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.) ...
- (vii) Nombre vulgar humano

## 3. Distribución geográfica del organismo

- (a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:  
Sí  No  No se sabe
- (b) Autóctono de otros países de la CE o establecido en ellos:  
(i) Sí , las siguientes preguntas no se aplican a los seres humanos

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

- Atlántico ..
- Mediterráneo ..
- Boreal ..
- Alpino ..
- Continental ..
- Macaronésico ..

- (ii) No
- (iii) No se sabe
- (c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?  
Sí  No
- (d) ¿Se guarda frecuentemente en el país que notifica?

Sí (X)

No

**4. Hábitat natural del organismo**

(a) Si es un microorganismo

agua (.)

suelo, en libertad (.)

suelo, en simbiosis con sistemas radiculares de plantas (.)

en simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas (.)

otros (especifíquense) ...

(b) Si es un animal: hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:  
Humano

**5. (a) Técnicas de detección**

Técnicas comunes de análisis de células sanguíneas

**(b) Técnicas de identificación**

Técnicas comunes de análisis de células sanguíneas

**6. ¿Está clasificado el organismo receptor según las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y/o el medioambiente?**

Sí (.) No (X)

En caso afirmativo, especifíquese

...

**7. ¿Es significativamente patógeno o nocivo de cualquier otra forma (incluidos sus productos extracelulares) el organismo receptor, vivo o muerto?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)

**En caso afirmativo:**

**(a) para cuál de los siguientes organismos: No procede**

humanos (.)

animales (.)

plantas (.)

otros (.)

**(b) aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A del apartado II del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE**

El OMG se deriva de células T autólogas aisladas de sangre periférica de pacientes.

La producción, tanto del vector retroviral deficiente en la replicación como de KTE-X19 (OMG), tiene lugar en EE. UU., fuera del estado miembro concernido. Solo el producto final (KTE-X19) que contiene las células T CAR anti-CD19 diseñadas (modificadas genéticamente) entra en el estado miembro en cuestión. Las células T autólogas modificadas genéticamente no pueden sobrevivir fuera del paciente del que se derivaron las células. Las células no son patógenas y no persisten ni se replican en el ambiente ni en otros organismos.

Los pacientes se someterán a la prueba de VIH, Hep B y Hep C antes de la leucaféresis y se excluirán del ensayo clínico si el resultado es positivo. Además, se indica al sitio de aféresis que lleve a cabo evaluaciones de serología viral adicionales según las pautas locales. Sin embargo, las células T autólogas del paciente deben manipularse como agentes potencialmente infecciosos sobre la base de que la selección previa de patógenos transmitidos por la sangre no es exhaustiva y no puede excluir completamente la posibilidad de que tales agentes estén presentes.

**8. Información sobre reproducción: No aplicable para células T humanas**

- (a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No procede  
...
- (b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: No procede  
...
- (c) Vía de reproducción: Sexual .. Asexual ..
- (c) Factores que afectan a la reproducción:  
...

**9. Capacidad de supervivencia**

**(a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo:**

- (i) endosporas (.)
- (ii) quistes (.)
- (iii) esclerocios (.)
- (iv) esporas asexuales (hongos) (.)
- (v) esporas sexuales (hongos) (.)
- (vi) huevos (.)
- (vii) pupas (.)
- (viii) larvas (.)
- (ix) otros (especifíquense) ...

**(b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia:**

La supervivencia de las células T humanas requiere una compleja combinación de medios especiales, temperatura y CO<sub>2</sub>. Las condiciones medioambientales fuera del hospedador (el cuerpo) son sustancialmente diferentes y no permitirán su supervivencia (temperatura, pH, UV y un cambio en las condiciones biofísicas y bioquímicas).

**10. (a) Vías de diseminación**

Las células T humanas solo pueden transmitirse entre individuos mediante inyección. No es posible la diseminación en el ambiente debido a la inactivación rápida y la falta de una ruta de entrada natural al cuerpo.

**(b) Factores que afectan a la diseminación**

El sistema inmunológico de personas distintas del donante eliminará el producto de las células T (las células T modificadas genéticamente específicas del paciente).

**11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental cuya liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación) se ha notificado ya ..., B/././...**

**C. Información sobre la modificación genética**

**1. Tipo de modificación genética**

- (i) Inserción de material genético  (X)
- (ii) Eliminación de material genético  (.)
- (iii) Sustitución de una base  (.)
- (iv) Fusión celular  (.)
- (v) Otro (especifíquese) ...

**2. Resultado previsto de la modificación genética**

KTE-X19 es una nueva inmunoterapia adoptiva experimental contra el cáncer en la que se modifican genéticamente células T autólogas para que expresen un CAR transmembrana anti-CD19 que se une a CD19 en la superficie celular de las células B malignas. La célula T modificada con CAR se activa tras la interacción con la diana CD19, lo que provoca la eliminación de la célula maligna CD19.

**3. (a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?**

Sí  (X)                      No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

(b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí  (X)                      No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

**4. Si ha respondido afirmativamente a la pregunta 3(b), aporte la información siguiente**

**(a) Tipo de vector**

- plásmido  (.)
- bacteriófago  (.)
- virus  (X)
- cósmido  (.)
- elemento de transposición  (.)
- otros (especifíquense) ...

**(b) Identidad del vector**

Vector gamma-retroviral deficiente en la replicación: Vector de empalme-gag basado en el virus de las células madre murinas (MSGV1) denominado vector PG13-CD19-H3.

**(c) Gama de receptores del vector**

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), ambas contenidas y producidas en la estirpe celular de ratón PG13.

El segmento principal que contiene el transgén es MSGV1, que utiliza las secuencias de repetición terminales largas (LTR) del virus de las células madre murinas (MSCV) y una

región gag ampliada y un sitio de empalme para mejorar la concentración retroviral y la expresión del transgén en diferentes tipos de células (Hughes y cols. 2005). Este segmento principal es compatible con las proteínas accesorias retrovirales del MoMLV. El vector PG13-CD19-H3 producido en la estirpe celular PG13 tiene una amplia gama de hospedadores, como las células de ratas, hámsters, ganado bovino, gatos, perros, monos y seres humanos (Miller et al. 1991)

**(d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable**

Sí (X) No

Resistencia a los antibióticos (.)

otros (especifíquense) El vector codifica el CAR anti-CD19 que se expresa en la superficie de la membrana de las células T transducidas. La expresión del CAR en la superficie celular puede detectarse por citometría de flujo de las células T transducidas, que le confiere un fenotipo identificable.

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: No procede

...

**(e) Fragmentos constituyentes del vector**

El segmento principal que contiene las secuencias del CAR es MSGV1, que utiliza las secuencias de repetición terminales largas (LTR) del MSVC, una región gag ampliada y un sitio de empalme para mejorar la concentración retroviral y la expresión del transgén en diferentes tipos de células (Hughes et al.2005). En el genoma de las células T transducidas solo se integran como un provirus las LTR y las secuencias contenidas entre ellas. Por consiguiente, este provirus contiene una secuencia LTR 5' que actúa como promotor, una secuencia gag parcial, una señal de encapsidación, una secuencia CAR y una secuencia LTR 3'.

**(f) Método para introducir el vector en el organismo receptor**

- (i) transformación (.)
- (ii) electroporación (.)
- (iii) macroinyección (.)
- (iv) microinyección (.)
- (v) infección (.)
- (vi) otros (especifíquense) ... Transducción

**5. Si las respuestas a B.3 (a) y (b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?**

- (i) transformación (.)
- (ii) microinyección (.)
- (iii) microencapsulación (.)
- (iv) macroinyección (.)
- (v) otros (especifíquense) ...No procede

**6. Composición del fragmento de inserción**

**(a) Composición del fragmento de inserción**

El vector PG13-CD19-H3 codifica el CAR anti-CD19. El proceso de transducción mediada por retrovirus sirve para integrar el gen CAR en el genoma de la célula T.

El plásmido de transferencia MSGV1-FMC63-CD28z es una estructura diseñada que se utilizó para generar una línea celular que expresa el vector PG13-CD19-H3 de forma constitutiva. Está formado por las secuencias LTR 5' y 3', que flanquean a una secuencia gag parcial, a una señal de encapsidación retroviral y a la secuencia de ADN que codifica el CAR anti-CD19.

El CAR anti-CD19 está constituido por los siguientes dominios, unidos como una sola molécula quimérica:

un dominio de unión específica a la diana formado por un fragmento variable monocatenario (scFv) derivado de anticuerpos específicos para el antígeno diana CD19 que se expresa en la superficie de las células B normales y malignas; los dominios activadores derivados de las células T humanas CD3-zeta y CD28, y los dominios transmembrana y de bisagra del CD28 humano.

**(b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción**

La estructura CAR que se utiliza para producir KTE-X19 ha sido diseñada, optimizada y evaluada inicialmente en el departamento de cirugía (Surgery Branch) del NCI ([Kochenderfer et al.2009](#); [Kochenderfer et al.2010](#)). El fragmento scFv se derivó de la región variable del anticuerpo monoclonal anti-CD19 FMC63, que es de origen murino. ([Nicholson et al.1997](#)). El resto de las secuencias del CAR, concretamente, los dominios bisagra y transmembrana y los dominios de transducción de señales CD3-zeta y CD28, son todos de origen humano, y se han clonado a partir de células T humanas. El dominio de transducción de señales de la cadena CD3-zeta es de origen humano y es esencial para intervenir en la activación de las células T. También está incluido el dominio citoplásmico de la molécula coestimuladora CD28, dado que en modelos murinos y en estudios clínicos se ha demostrado la importancia de la coestimulación mediada por el CD28 para que la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral de las células T CAR anti-CD19 sean óptimas ([Kowolik et al.2006](#)). Los fragmentos de la cadena CD3-zeta y CD28 se clonaron a partir de células T humanas en un constructo monocatenario quimérico contiguo, y se insertaron en el plásmido MSGV1.

**(c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG**

Consulte 6.a. (Composición del fragmento de inserción) y 6.b. (Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción).

- Como se indica en 4.e.(Fragmentos que constituyen el vector), la integrasa retroviral media en la inserción del genoma viral retrotranscrito en el genoma del hospedador por su interacción con las dos LTR, lo que da lugar a la integración de ambas LTR junto con todas las secuencias nucleotídicas que las separan, incluida la del CAR. Una de las LTR hace de promotor una vez que el ADN se ha incorporado por completo en el genoma del hospedador, y dirige la expresión del CAR.
- Dominio de unión a la diana: en un extremo del CAR hay un dominio de unión específico anti-CD19 que se une a la diana CD19 que se encuentra en la superficie de las células B normales y malignas. Este dominio se extiende al espacio extracelular (fuera de la célula



T modificada genéticamente), donde es capaz de reconocer los antígenos diana. El dominio de unión a diana consta de un fragmento variable de cadena única o scFv, que se deriva de un anticuerpo compuesto por dominios variables de cadenas pesadas y ligeras unidas por un enlace corto. Esto permite que el CAR se exprese como proteína monocatenaria.

- Dominio transmembrana y bisagra: esta porción media del CAR une el dominio de unión a la diana scFv con los elementos activadores del interior de la célula. El dominio transmembrana "ancla" el CAR en la membrana de la célula. Además, el dominio transmembrana puede interactuar con otras proteínas transmembrana que potencian la función del CAR. En la región extracelular del CAR, directamente adyacente al dominio transmembrana, se encuentra el dominio "bisagra". Esta región del CAR proporciona flexibilidad estructural para facilitar la unión óptima del dominio de unión a la diana scFv del CAR con el antígeno diana que se encuentra en la superficie de la célula cancerosa.
- Dominios activadores: localizados en el interior de la célula T, se trata de dos regiones del CAR responsables de activar la célula T tras su unión a la célula diana. El elemento CD3-zeta aporta la primera señal (que es esencial) dentro de la célula T, y el elemento CD28 aporta una señal coestimuladora adicional que fomenta la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral de la célula T. En conjunto, estas señales desencadenan la activación de la célula T, con el resultado de que la célula T CAR prolifera y destruye directamente a las células normales y malignas que expresan CD19. Además, la activación de las células T estimula la secreción local de citocinas y de otras moléculas capaces de reclutar y activar a otras células inmunitarias antitumorales.

**(d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor**

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma

La integración del fragmento de inserción se realiza preferentemente cerca de sitios de inicio de la transcripción (Aiuti y cols. 2007).

- otros (especifíquense) ...

**(e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?**

- Sí  No   
 En caso afirmativo, especifíquese ...

**D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción**

**1. Indíquese si es:**

- viroide
- virus ARN
- virus ADN
- bacteria
- hongo
- animal
  - mamíferos
  - insectos

- peces (.)
  - otro animal (.)
- (especifique el phylum y la clase) ...
- otros (especifíquense) ...

**2. Nombre completo**

- |        |                                     |   |
|--------|-------------------------------------|---|
| (i)    | orden y/o taxón superior (animales) | Orthoretrovirinae; (subfamilia Oncovirinae) |
| (ii)   | Familia (plantas)                   | ...   |
| (iii)  | Género                              | Gammaretrovirus                             |
| (iv)   | Especie                             | virus de célula madre murina                |
| (v)    | Subespecie                          | Oncovirinae tipo C (subfamilia)             |
| (vi)   | Cepa                                | ...   |
| (vii)  | Cultivar/línea de reproducción      | ...   |
| (viii) | patovar                             | ...   |
| (ix)   | Nombre vulgar                       | Gamma-retrovirus                            |

- |        |                                     |                                  |
|--------|-------------------------------------|----------------------------------|
| (i)    | orden y/o taxón superior (animales) | Primates (Subfamilia Hominidae); |
| (ii)   | Familia (plantas)                   | ...                              |
| (iii)  | Género                              | Homo                             |
| (iv)   | Especie                             | <i>Homo sapiens</i>              |
| (v)    | Subespecie                          |                                  |
| (vi)   | Cepa                                | ...                              |
| (vii)  | Cultivar/línea de reproducción      | ...                              |
| (viii) | patovar                             | ...                              |
| (ix)   | Nombre vulgar                       | Ser humano                       |

**3.**

**¿Es apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma (incluidos sus productos extracelulares) el organismo, vivo o muerto?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)

En caso afirmativo, especifíquese:

**(b) para cuál de los siguientes organismos:**

- humanos (.)
- animales (.)
- plantas (.)
- otros ..

**(b) ¿Están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)

En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A del apartado II del anexo III A:

...

4. **¿Está clasificado el organismo donante según las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medioambiente, como, por ejemplo, la Directiva 90/679/CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?**

Sí (.) No (X)  
En caso afirmativo, especifíquese ...

5. **¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?**  
Sí (.) No (X) No se sabe (.)

**E. Información sobre el organismo modificado genéticamente**

1. **Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética**

- (a) **¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)  
Especifíquese ...

- (b) **¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)  
Especifíquese ...

- (c) **¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)  
Especifíquese ...

- (d) **¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)  
Especifíquese ...

2. **Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente**

El CAR se introduce en las células T por transferencia génica con un vector retroviral. Después de la integración, las células T autólogas modificadas genéticamente son estables desde el punto de vista genético y forman parte integral del ADN del receptor.

...

3. **¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares) apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?**

Sí (.) No (X) No se sabe (.)

- (a) **¿Para cuál de los organismos siguientes?**

humanos (.)

animales	(.)
plantas	(.)
otros	No procede

**(b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A.**

El genoma del vector retroviral de replicación deficiente se encuentra integrado como un provirus en el genoma de la célula T. No es posible ensamblar partículas virales nuevas en la célula anfitriona final debido a la ausencia en esta forma proviral de todas las proteínas accesorias que confieren infectividad y capacidad de replicación al retrovirus. Además, el transgén insertado en el vector retrovítico no codifica factores de virulencia, secuencias codificadoras de citocinas, oncogenes, genes de resistencia a los antibióticos ni otros insertos nocivos.

**4. Descripción de los métodos de identificación y detección**

**(a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medioambiente**

La expresión del CAR en las células T transducidas puede detectarse por citometría de flujo.

**(b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG**

El OMG puede identificarse por citometría de flujo. Las copias integradas del vector retroviral se pueden identificar en las células T por qPCR.

**F. Información sobre la liberación**

**1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)**

Puesto que la mayoría de los cánceres avanzados se hacen, a la larga, resistentes a los tratamientos convencionales, se precisan nuevas modalidades de tratamiento. La inmunoterapia, que consiste en potenciar una respuesta inmunitaria contra el tumor, es una técnica prometedora para tratar a muchos tipos de cáncer. Las células T desempeñan un papel importante en la destrucción de las células enfermas por todo el organismo. En estudios con inhibidores de los puntos de control inmunitario y con linfocitos infiltradores de tumores, se ha demostrado el potencial de las células T en el tratamiento del cáncer. Las células T deben poseer la especificidad adecuada para el tumor, estar presentes en número suficiente y tener la capacidad de superar a cualesquiera factores inmunosupresores para ser eficaces. Las células T modificadas con CAR son un tratamiento prometedor para el cáncer ([Kershaw, Westwood, and Darcy 2013](#)).

El tratamiento con células autólogas modificadas (eACT™) es un proceso mediante el cual se obtienen las propias células T del paciente y, posteriormente, se modifican genéticamente a fin de que reconozcan y detecten los antígenos que se expresan en la superficie celular de neoplasias malignas concretas ([Kochenderfer et al.2015](#)). La capacidad de modificar genéticamente células T humanas y utilizarlas para mediar en la regresión del cáncer en pacientes se ha demostrado en varios estudios, y ha abierto posibilidades para el tratamiento de pacientes con una amplia variedad de tipos de cáncer que expresan el antígeno CD19, incluidas las neoplasias malignas de las células B. Los tratamientos con células T con receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19 YESCARTA (axicabtagén ciloleucel) y

KYMRIAH (tisagenlecleucel) se han aprobado recientemente en la UE para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) refractario o en recaída y linfoma B primario mediastínico de células grandes (LBPM), después de dos o más líneas de tratamiento sistémico, y para el tratamiento de pacientes pediátricos y adultos jóvenes de hasta 25 años de edad con leucemia linfoblástica aguda de células B refractaria, en recaída post trasplante o en segunda o posterior recaída, o en pacientes adultos con LBDCG en recaída o refractario tras dos o más líneas de tratamiento sistémico, respectivamente.

No se espera que el tratamiento con KTE-X19 tenga efectos sobre el medioambiente en general, ni negativos ni positivos.

**2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se guarda o encuentra habitualmente el organismo receptor o parental?**

Sí (.) No (X)

En caso afirmativo, especifíquese...

**3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante**

**(a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):**

El producto resultante de la aféresis de cada paciente se recibirá en Lonza Netherlands B.V., que se encuentra en Maastricht, Países Bajos, donde se someterá a un proceso de enriquecimiento linfocitario y congelación, y se enviará a Kite Pharma, Inc. en los Estados Unidos.

La modificación de las células T de los pacientes con el vector PG13-CD19-H3 que codifica el gen CAR anti-CD19 (que constituye un OMG) se llevará a cabo en Kite Pharma, Inc., que se encuentra en 1545 17th Street, Santa Monica, CA, 90404, EE. UU. o en Kite Pharma, Inc., que se encuentra en 2355 Utah Ave, El Segundo, CA 90245, EE. UU.

El producto de células T KTE-X19 autólogo, fabricado y purificado, volverá a Lonza Netherlands B.V. o a Kite Pharma B.V., que se encuentran en Ámsterdam, Países Bajos, y que, tras su liberación por una persona cualificada, actuarán como centro de liberación para todos los países de Europa.

La aféresis, la infusión de KTE-X19 y el seguimiento posterior se realizarán en el centro/los centros seleccionados para la realización del proyecto.

- (b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):** ... m<sup>2</sup>  
(i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): ... m<sup>2</sup>  
(ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): ... m<sup>2</sup>  
No procede

**(c) Proximidad a biotopos reconocidos internacionalmente o áreas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:**

Ningún espacio ambiental fuera de la sala del hospital se verá afectado. Las medidas de contención que se aplican durante la administración de KTE-X19 a los pacientes impedirán la liberación de KTE-X19 en el medioambiente. Se utilizarán equipos de protección personal para evitar que el personal médico que intervenga en la administración del producto se vea expuesto a KTE-X19.

**(d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG**

No procede

**4. Método y amplitud de la liberación**

**(a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:**

KTE-X19 es un tratamiento de una sola perfusión. El medicamento KTE-X19 está formulado para aportar una dosis objetivo de  $0,5 \times 10^6$  a  $2,0 \times 10^6$  células T CAR-positivas/kg de peso corporal del paciente.

**(b) Duración de la operación:**

Se espera que el procedimiento completo de la administración, incluida la preparación del sistema de perfusión, dure menos de 24 horas.

**(c) Métodos y procedimientos para evitar y/o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación**

Kite Pharma facilita un manual del producto en investigación con instrucciones para el uso, manipulación y eliminación seguros de KTE-X19 y de los materiales.

Todo el personal del centro que intervenga recibirá formación sobre las prácticas óptimas que se aplicarán durante la administración y la eliminación de los productos biológicos de todo tipo.

La eliminación de los residuos se hará siguiendo los procedimientos estándar del hospital para la eliminación de los residuos biológicos.

**5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)**

Las salas de tratamiento del hospital deben contar con las condiciones de higiene necesarias para el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos. El medicamento en investigación, KTE-X19, se conserva en nitrógeno líquido en fase de vapor a  $\leq -150$  °C hasta su administración.

**6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG, si los hubiera, específicamente relacionados con las repercusiones potenciales de la liberación en el medioambiente y la salud humana.**

No procede

**G. Interacción del OMG con el medioambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental**

**1. Nombre del organismo objeto de investigación (si procede)**

(i)	orden y/o taxón superior (animales)	...
(ii)	Familia (plantas)	Humano
(iii)	Género	...
(iv)	Especie	...
(v)	Subespecie	...
(vi)	Cepa	...
(vii)	Cultivar/línea de reproducción	...

- (viii) patovar ...
- (ix) Nombre vulgar ...

**2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo objeto de investigación (si procede)**

El producto final KTE-X19 se administra para el tratamiento de neoplasias malignas de células B.

Se ha demostrado que actuar sobre el CD19 con células T que expresan el CAR anti-CD19 es eficaz para eliminar las neoplasias malignas de células B avanzadas y que puede suponer un beneficio clínico para pacientes que no responden a ningún otro tratamiento.

**3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medioambiente**

No se espera ninguna.

**4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG, como, por ejemplo, una competencia mayor o una invasión más elevada?**

Sí (.)                      No (X)                      No se sabe (.)

Especifíquese

...

**5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido**

Ninguno, excepto los pacientes específicos que reciban el producto KTE-X19 autólogo.

La exposición requiere la perfusión directa de KTE-X19. En la administración de KTE-X19 las únicas personas inmunosuprimidas que participarán serán los pacientes. Las personas inmunocompetentes eliminarían rápidamente el KTE-X19 en caso de inyección accidental. Un simple contacto con la sangre de los pacientes tratados no transmitirá KTE-X19, puesto que este se desactiva rápidamente en condiciones ambientales.

No hay mecanismos conocidos que permitan la diseminación del vector PG13-CD19-H3 de axicabtagene ciloleucel. El vector PG13-CD19-H3 es incompetente para la replicación y no se produce en los linfocitos T humanos. Al mismo tiempo, los linfocitos T humanos no contienen los elementos víricos necesarios para movilizar al vector PG13-CD19-H3.

Las partículas retrovíricas que no se han introducido ni han transducido los linfocitos T se eliminan durante el proceso de fabricación y tiene una vida media corta en condiciones de cultivo (Merten 2004). Los vectores retrovíricos son inestables a temperaturas fisiológicas (Higashikawa y Chang 2001; Wikström et al, 2004; Carmo et al, 2006; Carmo et al, 2008), con un promedio de vida a 37 °C que oscila entre las 2 y las 4 horas.

Además, Todos los lotes clínicos de fase 1 se analizan para detectar la presencia de RCR (Retrovirus competente para replicación). No se han detectado RCR en ninguno de los lotes.

**6. Nombre completo de los organismos que no son objeto de investigación, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medioambiente receptor) pueden dañarse considerablemente de forma involuntaria por la liberación del OMG**

- (i) orden y/o taxón superior (animales) ...
- (ii) Familia (plantas) ...
- (iii) Género ...

(iv)	Especie	...
(v)	Subespecie	...
(vi)	Cepa	...
(vii)	Cultivar/línea de reproducción	...
(viii)	patovar	...
(ix)	Nombre vulgar	...

## 7. Probabilidad de intercambio genético in vivo

(a) del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

Dado que los retrovirus humanos y murinos son distintos, es muy poco probable que se produzca la recombinación con retrovirus endógenos en los linfocitos T. Además, los linfocitos T son incapaces en gran medida de producir viriones infecciosos. Es más, los linfocitos T no pueden sobrevivir fuera del cuerpo humano.

Incluso si hubiese retrovirus naturales en el entorno, su recombinación con el vector  $\gamma$ -retrovírico que codifica el CAR utilizado para modificar los linfocitos T ex vivo es sumamente improbable, dado que lo más probable es que la recombinación viable estuviese restringida al virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV) natural, que solo puede infectar células de ratón. La recombinación con otras especies retrovíticas capaces de infectar linfocitos T humanos es poco probable, debido a la deficiente homología entre sus genomas y, en cualquier caso, es poco probable que el CAR confiera ninguna ventaja selectiva al hipotético recombinante.

(b) de otros organismos al OMG:  
Muy improbable. Ninguna

(c) consecuencias probables de la transferencia de genes:

Consulte G.7(a) y también:

La consecuencia de la transferencia génica es la integración en el genoma de los linfocitos T de una repetición terminal larga en el extremo 5' (5'LTR) que actúa como promotor, una señal de encapsidación y una secuencia gag parcial, una secuencia CAR y una repetición terminal larga en el extremo 3' (3'LTR). El CAR anti-CD19 se expresará y mostrará en la superficie celular.

La integración es el efecto deseado de la transferencia génica con mediación retrovítica; sin embargo, se ha considerado que implica un riesgo potencial de mutagénesis por inserción, que puede generar una expresión génica de regulación incorrecta y una posterior transformación maligna. Aunque el riesgo de mutagénesis insercional es una posibilidad conocida, solo se ha observado en bebés que recibieron tratamiento para la IDCG (inmunodeficiencia combinada grave) asociada al cromosoma X utilizando transferencia génica mediada por vectores retrovíticos en células de médula ósea CD34+ (Hacein-Bey-Abina et al., 2008). En el caso de la transferencia génica mediada por vectores retrovíticos en linfocitos T maduros, no ha habido pruebas de mutagénesis insercional ni de efectos tóxicos a largo plazo en ensayos clínicos múltiples con productos de linfocitos T diseñados genéticamente. Aunque Kite considera que el riesgo de mutagénesis insercional es sumamente bajo, se supervisará a los pacientes que participen en ensayos clínicos de KTE-X19 y que reciban células transducidas con genes para detectar la posible aparición de acontecimientos adversos relacionados con la terapia génica a largo plazo.



**8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) fruto de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG y sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.):**  
No se han realizado más simulaciones, aparte de los ensayos clínicos iniciales.

**9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con los procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)**  
Ninguna

## **H. Información sobre el seguimiento**

### **1. Métodos de seguimiento de los OMG**

La presencia, la expansión, la persistencia y el inmunofenotipo de las células T CAR anti-CD19 transducidas se monitorizarán en la sangre de los pacientes tratados, principalmente mediante análisis de reacción de polimerasa en cadena (RPC), complementada con citometría de flujo. La expansión y la persistencia en sangre periférica también se monitorizarán mediante un ensayo de reacción de polimerasa en cadena cuantitativo (RPCc) específico del CAR CD19. Las extracciones de sangre se harán según se indica en el manual del producto en investigación (manual de manipulación del PEI) y en el plan de gestión de riesgos.

Dado que KTE-X19 está formado por células T transducidas con un vector retroviral, se vigilará la presencia de retrovirus competentes para la replicación (RCR) en la sangre de los sujetos tratados, de acuerdo con las “Directrices sobre los aspectos clínicos, no clínicos y relacionados con la calidad de los medicamentos para terapia génica (23 de marzo de 2015)” de la EMA. Se considera que el riesgo de RCR es despreciable. No obstante, en el calendario de evaluaciones del protocolo clínico se indica que se extraerá sangre y se analizará al inicio del estudio y en los meses 3, 6 y 12; posteriormente, se tomarán muestras anualmente durante 15 años como máximo.

**2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema**  
No procede

**3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos**  
No procede

**4. Tamaño del área de seguimiento (m<sup>2</sup>)**  
No procede m<sup>2</sup>

### **5. Duración del seguimiento**

Se obtendrán muestras de sangre en varios puntos temporales posteriores a la infusión (véase H1). Las muestras de RCR se seguirán recogiendo anualmente en el seguimiento a largo plazo (long term follow up, LTFU) durante un máximo de 15 años y se analizarán según esté indicado clínicamente.

**6. Frecuencia del seguimiento**  
Véase H1

## **I. Información sobre la posliberación y sobre el tratamiento de residuos**

**1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

Todas las superficies de trabajo que entren en contacto con el OMG se desinfectarán de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro, por ejemplo, con una solución de etanol al 70%. La habitación del hospital se limpiará de acuerdo con las normas institucionales para la limpieza de habitaciones.

**2. Tratamiento del OMG tras la liberación**

Ninguna

**3. (a) Tipo y cantidad de residuos producidos**

Las bolsas vacías y los componentes del sistema de administración utilizados (p. ej., tubo guía, cánula, agujas de inyección y jeringuillas), gasas, equipo de protección personal (p. ej. guantes, etc.) y los componentes utilizados para recoger muestras de líquidos corporales después de la administración.

**3. (b) Tratamiento de residuos**

Los objetos punzantes, como las agujas, se eliminarán en los contenedores adecuados y se incinerarán. Los productos desechables, como jeringuillas, sondas, catéteres y desechos de cirugía (guantes, compresas), se tratarán y eliminarán como residuos biológicos, de acuerdo con los procedimientos estándar del hospital. Todos los materiales quirúrgicos (herramientas quirúrgicas, telas) se recogerán y se esterilizarán en autoclave antes de lavarlos, o se tratarán y eliminarán como residuos biológicos. Todos los equipos quirúrgicos no desechables se limpiarán con un desinfectante químico con actividad virucida probada (por ejemplo, solución de hipoclorito, etanol al 70%) y, posteriormente, se tratarán de acuerdo con la práctica estándar de la institución.

**J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia**

**1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del o los OMG en caso de dispersión imprevista**

No existe riesgo de que se ocasionen problemas de salud ambiental. KTE-X19 para perfusión intravenosa se presentará preparado para la administración. En caso de escape, la zona afectada, delimitada con material absorbente, se descontaminará con desinfectantes adecuados. Durante todo el proceso de administración, habrá un kit para derrames disponible. En el manual del producto en investigación se pueden consultar los detalles de la manipulación del PEI, su conservación y los procedimientos de administración; el manual se entregará a los centros en la visita de iniciación (antes del comienzo del estudio).

En caso de exposición accidental, se debe comunicar la siguiente información:

Dado que cualquier vector PG13-CD19-H3 que no se haya integrado en los linfocitos T del paciente se elimina durante el proceso de fabricación, se considera que ni el vector PG13-CD19-H3 utilizado para modificar los linfocitos T del paciente ni el propio producto de KTE-X19 se podría inhalar como aerosol. En caso de vertido accidental, se debe lavar la piel contaminada y retirar la ropa contaminada. Estas medidas limitarán la exposición del KTE-X19 a personas no previstas. Todos los profesionales sanitarios involucrados en la administración respetarán las prácticas de seguridad para evitar cualquier propagación del producto al medio ambiente. Las superficies y materiales de trabajo que entren potencialmente en contacto con KTE-X19 se descontaminarán de acuerdo con los procedimientos higiénicos del hospital/institución. En caso de derrame habrá un kit para vertidos disponible, que contiene un revestimiento absorbente y un desinfectante adecuado, durante la recepción y administración del producto. KTE-X19 se compone principalmente de

linfocitos T que son demasiado grandes para ser absorbidos por vía percutánea. Teniendo en cuenta el tamaño de la cápside proteica (80 nm-100 nm) y el peso (env codifica una proteína de > 70 000 Da) del vector PG13-CD19-H3, no se espera ninguna absorción percutánea (Bos & Meinardi 2000).

- 2. Métodos de eliminación del o los OMG de las áreas potencialmente afectadas**  
La eliminación de los residuos se hará siguiendo los procedimientos estándar del hospital para la eliminación de los residuos biológicos.
- 3. Métodos de eliminación o de saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma**  
No procede, porque no se espera que ni las plantas ni los animales se vean expuestos.
- 4. Planes de protección de la salud humana y del medioambiente en caso de que se produzca un efecto indeseable**  
No procede, salvo la respuesta de emergencia en caso de inyección accidental del personal médico, que consiste en desinfectar el punto de inyección y hacer un seguimiento por si aparecen síntomas relacionados con una reacción inmunitaria a KTE-X19.

## REFERENCIA

- Hughes, Marybeth S., Yik Y.L. Yu, Mark E. Dudley, Zhili Zheng, Paul F. Robbins, Yong Li, John Wunderlich, Robert G. Hawley, Morvarid Moayeri, Steven A. Rosenberg, and Richard A. Morgan. 2005. 'Transfer of a TCR Gene Derived from a Patient with a Marked Antitumor Response Conveys Highly Active T-Cell Effector Functions', *Human Gene Therapy*, 16: 457-72.
- Kershaw, M. H., J. A. Westwood, and P. K. Darcy. 2013. 'Gene-engineered T cells for cancer therapy', *Nature Reviews Cancer*, 13: 525-41.
- Kochenderfer, J. N., M. E. Dudley, S. H. Kassim, R. P. Somerville, R. O. Carpenter, M. Stetler-Stevenson, J. C. Yang, G. Q. Phan, M. S. Hughes, R. M. Sherry, M. Raffeld, S. Feldman, L. Lu, Y. F. Li, L. T. Ngo, A. Goy, T. Feldman, D. E. Spaner, M. L. Wang, C. C. Chen, S. M. Kranick, A. Nath, D. A. Nathan, K. E. Morton, M. A. Toomey, and S. A. Rosenberg. 2015. 'Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor', *Journal of Clinical Oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33: 540-9.
- Kochenderfer, J. N., S. A. Feldman, Y. Zhao, H. Xu, M. A. Black, R. A. Morgan, W. H. Wilson, and S. A. Rosenberg. 2009. 'Construction and preclinical evaluation of an anti-CD19 chimeric antigen receptor', *Journal of Immunotherapy*, 32: 689-702.
- Kochenderfer, J. N., W. H. Wilson, J. E. Janik, M. E. Dudley, M. Stetler-Stevenson, S. A. Feldman, I. Maric, M. Raffeld, D. A. Nathan, B. J. Lanier, R. A. Morgan, and S. A. Rosenberg. 2010. 'Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19', *Blood*, 116: 4099-102.
- Kowolik, C. M., M. S. Topp, S. Gonzalez, T. Pfeiffer, S. Olivares, N. Gonzalez, D. D. Smith, S. J. Forman, M. C. Jensen, and L. J. Cooper. 2006. 'CD28 costimulation provided through a CD19-specific chimeric antigen receptor enhances in vivo persistence and antitumor efficacy of adoptively transferred T cells', *Cancer Res*, 66: 10995-1004.
- Miller, A. D., J. V. Garcia, N. von Suhr, C. M. Lynch, C. Wilson, and M. V. Eiden. 1991. 'Construction and properties of retrovirus packaging cells based on gibbon ape leukemia virus', *Journal of Virology*, 65: 2220-24.
- Nicholson, I. C., K. A. Lenton, D. J. Little, T. Decorso, F. T. Lee, A. M. Scott, H. Zola, and A. W. Hohmann. 1997. 'Construction and characterisation of a functional CD19 specific single chain Fv fragment for immunotherapy of B lineage leukaemia and lymphoma', *Mol Immunol*, 34: 1157-65.