



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS T AUTÓLOGOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (NOTIFICACIÓN B/ES/19/11)

### Título del ensayo

Protocolo maestro para evaluar la seguridad y actividad antitumoral de linfocitos T específicos de NY-ESO-1 (c259) modificados genéticamente, en monoterapia o en combinación con otros fármacos, en participantes con HLA-A2+ que presentan tumores sólidos positivos para NY-ESO-1 y/o LAGE-1<sup>a</sup>, de la empresa GlaxoSmithKline.

### Características del ensayo

En el ensayo participarán la Fundación Jiménez Díaz, el Hospital Virgen del Rocío, el Instituto Catalán de Oncología y el Hospital Santa Creu i Sant Pau.

Se ha previsto que inicialmente participen 65 pacientes.

La administración del producto se debería realizar usando una infusión dual de punción colocada por gravedad durante 15-30 minutos en ausencia de reacción.

### Características del OMG

El OMG, NY-ESO-1<sup>c259</sup>T, son 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.

Las células destinatarias de la modificación son linfocitos T enriquecidos CD4 y CD8 aislados mediante selección de CD3/CD28.

La modificación de las células se realiza utilizando un vector de lentiviral pseudotipado derivado de VIH-1, no replicativo que presenta delecciones en los LTR 5' y 3' (a esta última se le ha eliminado el U3) y porta la señal  $\psi$  (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.

Para producir el lentivirus, se transfectan con los plásmidos (de empaquetamiento, codificador del transgen, de la proteína Rev y la proteína de la envoltura VSV-G) una línea de celular de empaquetamiento, HEK293T.

El transgén (NY-ESO-1<sup>c259</sup>) está formado por cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  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 $\alpha$ .

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-1<sup>c259</sup> 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 el documento de 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 aplicable<sup>1</sup>.

### **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, cuando 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**

El vector viral se añade a los linfocitos T enriquecidos CD3/CD28 para la transducción durante un periodo limitado en los estadios tempranos del proceso de fabricación y, posteriormente, se elimina a través de los pasos de lavado. Durante el posterior periodo de expansión de los linfocitos T, el medio de cultivo se sustituye de manera constante, lo que diluirá cualquier vector restante. Al final de la fase de expansión, las células se lavan antes de la criopreservación, de manera que se reduce la cantidad de partículas virales restantes. Asimismo, tras la transducción, los linfocitos T se cultivan durante 12 a 14 días a una temperatura de 37°C durante la expansión. Es poco probable que las partículas del vector de lentivirus que no han transducido células en este periodo de expansión se mantengan competentes para la transducción y, por lo tanto, la presencia de partículas virales infecciosas en el producto final resulta improbable.

La tasa de reducción durante el proceso celular se calculó utilizando la fórmula, adaptada del documento «Buenas Prácticas para la evaluación de aspectos relacionados con OMG en ensayos clínicos con células humanas modificadas genéticamente por vectores de retro/lentivirus», Versión 1, obteniéndose un resultado > 100.

#### **-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (LCR)**

La ausencia de lentivirus competente para replicación se confirma durante la fabricación del vector.

El vector se fabrica y purifica de conformidad con las guías complementarias de la FDA 2006 sobre el análisis del retrovirus competente para replicación en productos de la terapia génica

<sup>1</sup> [https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg-notificaciones-y-autorizaciones/proc\\_autorizacion.aspx](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg-notificaciones-y-autorizaciones/proc_autorizacion.aspx)



en base al vector retroviral y durante el seguimiento de pacientes en ensayos clínicos utilizando los vectores de retrovirus, la guía de la EMA 2005 sobre el desarrollo y fabricación de vectores de lentivirus (CHMP/BWP/2458/03), las guías de la Farmacopea Europea y de EEUU con respecto a los productos de las terapias génicas y celulares y las disposiciones del Código del Reglamento Federal (CFR) de los estándares de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). Sin embargo, teóricamente es posible producir partículas de LCR mediante la recombinación entre el vector de transferencia y los elementos virales endógenos en los linfocitos T y, por lo tanto, el análisis biológico de LCR también se lleva a cabo en el fármaco. Tras la amplificación en una línea celular permisiva (fase de amplificación) el medio de cultivo de las células se transfiere a células permisivas indiferenciadas para un cultivo adicional (fase de indicador) con el fin de detectar LCR transferible. El sobrenadante del cultivo celular procedente de la fase de amplificación y la fase de indicador se evalúa para el antígeno p24 y el sobrenadante del cultivo celular de la fase de indicador para la transcriptasa inversa intensificada con el producto (TIIP). La detección de p24 y/o TIIP en la fase de indicador es coherente con la presencia de LCR. El ensayo se adhiere a las guías de la FDA sobre la detección de retrovirus competente para replicación (RCR).

Las especificaciones de liberación del vector lentiviral y el fármaco incluyen una prueba negativa para LCR.

#### -Manipulación, control y tratamiento de residuos

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.

Para evitar derrames accidentales entre el lugar de almacenamiento y el lugar de administración, el producto se transporta en nevera portátil con cierre hermético en nitrógeno líquido. Una vez llegue el momento de la infusión, las células se descongelan a pie de cama.

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% para la desinfección.

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

El transporte de las muestras de los pacientes a los laboratorios de análisis<sup>2</sup>, se realizará utilizando contenedores que eviten un derrame accidental.

---

<sup>2</sup> **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.



**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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). 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 26 de junio de 2019