

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	ESPAÑA
b) Número de la notificación:	B/ES/18/01
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	7/03/2018
d) Título del proyecto:	Evaluación de la seguridad y de la eficacia de axicabtagene ciloleucel en pacientes con neoplasias malignas de linfocitos B, refractarias o recidivantes. Axicabtagene ciloleucel es una nueva inmunoterapia celular adoptiva para el cáncer, que consiste en modificar/transducir linfocitos T autólogos <i>ex vivo</i> con un vector retroviral de replicación deficiente para que expresen receptores quiméricos para el antígeno (CAR) anti-CD19 en su superficie, y así actúen sobre los linfocitos B malignos que expresan los antígenos CD19.
e) Período propuesto para la liberación:	Desde el segundo/tercer trimestre de 2018 hasta el primer/segundo trimestre de 2019.

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: Kite Pharma, Inc. 2225 Colorado Avenue Santa Monica, CA 90404, EE. UU.

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input type="checkbox"/>
	Bacteria	<input type="checkbox"/>
	Hongo	<input type="checkbox"/>
	Animal	<input type="checkbox"/>
	- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
	- insectos	<input type="checkbox"/>
	- peces	<input type="checkbox"/>
	- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		Linfocitos T humanos
b) Identidad del OMG (género y especie)	Linfocitos T CD3+ humanos transducidos con un vector γ-retroviral de replicación deficiente (Vector PG13-CD19-H3) para que expresen un	

CAR transmembranal.

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección 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

No

En caso afirmativo, indique el código del país:
NL, DE, ES, (uso limitado: BE, FR, GB, IT).

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: **NL, DE, (uso limitado: FR)**
- Número de la notificación: **B/NL/16-003, B/NL/16-004, B/NL/16-005, B/NL/16-006, B/NL/16-007, B/DE/17/PEI2927, B/DE/17/2858.**

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: **EE. UU.**
- Número de la notificación: **2064 (US License No.)**

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

No se espera impacto ambiental, porque la liberación de los linfocitos T autólogos transducidos con CAR se limita a la administración a los pacientes en hospitales. Según la evaluación del riesgo ambiental, axicabtagene ciloleucel no llegará al ambiente a largo plazo. Se puede concluir que el riesgo global de axicabtagene ciloleucel para las personas y para el ambiente es despreciable.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces

- otro animal (especifique el phylum y la clase): **ser humano**

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Homo Sapiens
ii) Género:
iii) Especie:
iv) Subespecie:
v) Cepa:
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: ser humano

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico	<input type="checkbox"/>
Mediterráneo	<input type="checkbox"/>
Boreal	<input type="checkbox"/>
Alpino	<input type="checkbox"/>
Continental	<input type="checkbox"/>
Macaronésico	<input type="checkbox"/>
ii) No	<input type="checkbox"/>
iii) No se sabe	<input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense):	

b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:
ser humano

5.a) Técnicas de detección

Técnicas habituales de los análisis de las células de la sangre.

5.b) Técnicas de identificación

Técnicas habituales de los análisis de las células de la sangre.

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		
<p>El OMG se obtiene a partir de linfocitos T autólogos aislados de la sangre periférica de los pacientes. El vector retroviral de replicación deficiente y axicabtagene ciloleucel (OMG) se producen en los Estados Unidos, fuera de España. A España solo llega el producto final (axicabtagene ciloleucel), que contiene linfocitos T CAR anti-CD19 modificados genéticamente. Los linfocitos T autólogos modificados genéticamente no sobreviven fuera del cuerpo humano del que se obtuvieron. Las células no son patógenas, ni persisten ni se replican en el ambiente ni en otros organismos.</p> <p>Antes de donar sangre se harán pruebas del VIH y de los VHB y VHC a los pacientes, que serán descartados del ensayo clínico si dan positivo en alguna de ellas. Además, se indicará a los centros de aféresis que deben llevarse a cabo las pruebas de serología viral habituales en la zona. No obstante, los linfocitos T autólogos del paciente deben manipularse como si fueran productos potencialmente infecciosos, puesto que la detección</p>		

selectiva previa de patógenos de transmisión hemática no es exhaustiva y no es posible descartar por completo la presencia de dichos patógenos.

8. Información sobre reproducción: **no procede para los linfocitos T humanos**

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: N/A
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: N/A
c) Modo de reproducción Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción:

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo
(i) endosporas <input type="checkbox"/>
(ii) quistes <input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios <input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos) <input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos) <input type="checkbox"/>
(vi) huevos <input type="checkbox"/>
(vii) pupas <input type="checkbox"/>
(viii) larvas <input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifíquense) <input type="checkbox"/>
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia Para sobrevivir, los linfocitos T humanos precisan una compleja combinación de medios especiales, temperatura y CO₂. Las condiciones ambientales fuera del anfitrión (del cuerpo) son sustancialmente distintas y no permiten sobrevivir a los linfocitos (temperatura, pH, UV y un cambio de las condiciones biofísicas y bioquímicas).

10.a) Vías de diseminación

Los linfocitos T humanos solo se pueden transmitir entre personas mediante inyección. No es posible que se diseminen al ambiente, porque son desactivados rápidamente y porque no existe una vía de entrada natural en el cuerpo.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

El sistema inmunitario de las personas distintas del donante eliminará el producto de linfocitos T (los linfocitos T modificados genéticamente específicos del paciente).

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

Ninguna.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base | <input type="checkbox"/> |
| iv) Fusión celular | <input type="checkbox"/> |
| v) Otro (especifíquese) | |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Axicabtagene ciloleucel es una nueva inmunoterapia adoptiva para el cáncer, en fase de investigación, que consiste en modificar genéticamente los linfocitos T autólogos para que expresen un receptor CAR anti-CD19 transmembranal que se une al antígeno CD19 que se encuentra en la superficie de los linfocitos B malignos. Los linfocitos T modificados con CAR se activan tras la unión con el antígeno CD19, con el resultado de la eliminación del linfocito maligno portador del antígeno CD19.

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

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
Plásmido	<input type="checkbox"/>
Bacteriófago	<input type="checkbox"/>
Virus	<input checked="" type="checkbox"/>
Cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: Vector γ-retroviral de replicación deficiente: vector de empalme-gag basado en el virus de las células madre murinas (MSGV1), que recibe el nombre de vector PG13-CD19-H3.	
c) Gama de organismos huéspedes 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 gibbon (GALV), ambas 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 una secuencia de empaquetamiento 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 y cols. 1991).	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense) **El vector codifica el CAR anti-CD19 que se expresa en la superficie de la membrana de los linfocitos T transducidos. La expresión del CAR en la superficie celular puede detectarse por citometría de flujo de los linfocitos T transducidos, lo 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 virus de las células madre murinas (MSCV), una región gag ampliada y una señal de encapsidación para mejorar la concentración retroviral y la expresión del transgén en diferentes tipos de células (Hughes y cols. 2005). En el genoma de los linfocitos T transducidos solo se integran como un provirus las LTR y las secuencias contenidas entre ellas. Por consiguiente, este provirus contiene una secuencia 5'LTR que actúa como promotor, una secuencia gag parcial, una señal de encapsidación, una secuencia CAR y una secuencia 3'LTR.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense): **transducción**

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

- i) transformación
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- v) otros, (especifíquense): **no procede.**

6. Información sobre el 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 del linfocito T.

El plásmido de transferencia MSGV1-FMC63-CD28z se utilizó para generar una línea celular que expresa 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 en 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 los linfocitos B normales y malignos; los dominios activadores derivados de los linfocitos T humanos CD3-zeta y CD28; y los dominios transmembrana y de bisagra del CD28 humano.

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

El CAR que se utiliza para producir axicabtagene ciloleucel ha sido diseñado, optimizado y evaluado inicialmente en el departamento de cirugía (Surgery Branch) del NCI (Kochenderfer y cols. 2009, 2010). El fragmento scFv se obtuvo de la región variable del anticuerpo monoclonal anti-CD19 FMC63, que es de origen murino (Nicholson y cols. 1997). El resto de las secuencias del CAR, a saber, 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 linfocitos T humanos. El dominio de transducción de señales de la cadena CD3-zeta es de origen humano y es esencial para intervenir en la activación de los linfocitos T. También está incluido el dominio citoplasmático de la molécula coestimuladora CD28, dado que en modelos murinos y en estudio clínico se ha demostrado la importancia de la coestimulación mediada por el CD28 para que la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral de los linfocitos T CAR anti-CD19 sean óptimas (Kowolik y cols. 2006). Los fragmentos de la cadena CD3-zeta y CD28 fueron clonados a partir de linfocitos T humanos 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 inserto) y 6.b. (Procedencia de cada parte constituyente del inserto).

- Como se indica en 4.e. (Fragmentos que constituyen el vector), la integrasa retroviral media en la inserción del genoma viral retrotranscrito por su interacción con las dos LTR, lo que da lugar a la integración de ambas LTR junto con todas las secuencias nucleótídicas 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 los linfocitos B normales y malignos. Este dominio se extiende al espacio extracelular (fuera del linfocito T modificado genéticamente), donde es capaz de reconocer a los antígenos diana. El dominio de unión a la diana está formado por un fragmento variable monocatenario, o scFv, derivado de un anticuerpo formado por dominios variables de cadenas pesadas y ligeras unidas por un puente 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 CD19 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 transmembranales 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 que la unión del dominio de unión a la diana con el antígeno diana CD19 que se encuentra en la superficie de la célula cancerosa sea óptima.
- Dominios activadores: localizados en el interior del linfocito T, se trata de dos regiones del CAR responsables de activar el linfocito T tras su unión a la célula diana. El elemento CD3-zeta aporta la primera señal (que es esencial) dentro del linfocito T, y el elemento CD28 aporta una señal coestimuladora adicional que fomenta la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral del linfocito T (Kowolik y cols. 2006). En conjunto, estas señales desencadenan la activación del linfocito T, con el resultado de que el linfocito T CAR prolifera y destruye directamente a los linfocitos normales y malignos que expresan CD19. Asimismo, la activación de los linfocitos 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 en el genoma del huésped suele producirse preferentemente cerca de sitios de inicio de transcripción génica (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, especifíquense:

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input checked="" type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense):	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): **Orthoretrovirinae (subfamilia Oncovirinae)**

ii) Familia (plantas):

iii) Género: γ-retrovirus
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: γ-retrovirus

i) Orden y taxón superior (animales): Primates (Familia 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 el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente 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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

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

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-top: 10px;">Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-top: 10px;">Especifíquese:</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-top: 10px;">Especifíquese:</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p>

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El CAR es introducido en los linfocitos T por transferencia génica con un vector retroviral. Tras la integración, los linfocitos T autólogos genéticamente modificados son estables desde el punto de vista genético, y el material genético transferido forma 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

No se sabe

En caso afirmativo:

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

Humanos

Animales

Plantas

otros

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 del linfocito 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 retroviral 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 medio ambiente:

La expresión de CAR en los linfocitos T transducidos puede detectarse por citometría de flujo.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El OMG puede ser identificado por citometría de flujo. Las copias integradas del vector retroviral se pueden identificar en los linfocitos T por qPCR.

--

F. Información sobre la liberación

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

<p>Puesto que la mayor parte de los cánceres avanzados se hacen refractarios 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. Los linfocitos 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 inmunitarios y con linfocitos infiltradores de tumores, se ha demostrado el potencial de los linfocitos T en el tratamiento del cáncer. Los linfocitos T deben poseer la especificidad adecuada por el tumor, estar presentes en número suficiente y tener la capacidad de superar a cualesquiera factores inmunodepresores locales que puedan ser efectivos. Los linfocitos T modificados genéticamente portadores de CAR son un tratamiento prometedor para el cáncer (Kershaw y cols. 2013).</p> <p>Axicabtagene ciloleucel se produce obteniendo linfocitos T del paciente para manipularlos genéticamente a fin de que reconozcan los antígenos diana que se expresan en la superficie de las células de las neoplasias malignas concretas (Kochenderfer y cols. 2015). La capacidad de manipular genéticamente los linfocitos T humanos y utilizarlos para mediar en la regresión del cáncer en pacientes se ha demostrado en diversos estudios, y ha abierto la posibilidad de tratar a pacientes con gran variedad de tipos de cáncer que expresan el antígeno CD19, como las neoplasias malignas de los linfocitos B.</p> <p>Los resultados iniciales de los ensayos clínicos que se están llevando a cabo en los Estados Unidos han demostrado que puede tener eficacia antitumoral (Locke y cols. 2015).</p> <p>No se espera que el tratamiento con axicabtagene ciloleucel tenga efectos en el medio ambiente a largo plazo, ni negativos ni positivos.</p>
--

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>La aféresis tendrá lugar en el Institut Catala d'Oncologia de l'Hospitalet, el Hospital Clínic de Barcelona y el Hospital Universitario de Salamanca.</p> <p>El producto resultante de la aféresis de cada paciente se enviará a Lonza (PharmaCell) B.V., que se encuentra en Maastricht, Holanda, donde será sometido a un proceso de enriquecimiento linfocitario y congelación, y se enviará a Kite Pharma, Inc. en los Estados Unidos.</p> <p>La modificación de los linfocitos T de los pacientes con el vector PG13-CD19-H3 que codifica el gen CAR anti-CD19 se hará en Kite Pharma, Inc., que se encuentra en California, Estados Unidos.</p> <p>El producto, axicabtagene ciloleucel, linfocitos T autólogos modificados genéticamente, fabricado y purificado, volverá a Lonza (PharmaCell) B.V., donde tras su liberación por una persona cualificada, actúa como centro de liberación para todos los países de Europa.</p> <p>La aféresis, la infusión de axicabtagene ciloleucel y el seguimiento correspondiente se harán en el Institut Catala d'Oncologia de l'Hospitalet, el Hospital Clínic de Barcelona y el Hospital Universitario de Salamanca en estudio de fase 3 sobre el DLBCL.</p>
<p>b) Área del lugar (m²): no procede</p> <p>(i) lugar real de la liberación (m²):</p> <p>(ii) área de liberación más amplia (m²):</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>El único punto afectado será la sala del hospital en la que se lleven a cabo las tareas antedichas. Las medidas de contención que se aplican a la administración de axicabtagene ciloleucel a los pacientes impiden que sea liberado al medio ambiente. Se utilizarán equipos de protección personal para evitar que el personal médico que intervenga en la administración del producto se vea expuesto a axicabtagene ciloleucel.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>no procede</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>Axicabtagene ciloleucel es un tratamiento con una sola infusión. El medicamento axicabtagene ciloleucel está formulado para aportar una dosis deseada de $2,0 \times 10^6$ linfocitos T anti-CD19 CAR-positivos/kg (± 20 %) de peso corporal del paciente.</p>

b) Duración de la operación:

Se espera que el proceso completo de la administración (contando la preparación del sistema de infusión) dure menos de 24 horas.

(c) Métodos y procedimientos para evitar 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 sobre el uso seguro, la manipulación y la eliminación de axicabtagene ciloleucel 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 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 inmunodeprimidos. El medicamento en fase de investigación, axicabtagene ciloleucel, se conserva en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de -150 °C o menos hasta su administración.

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

No disponible.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente 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 taxón superior (animales): **ser humano**

ii) Familia (plantas):

iii) Género:

iv) Especie:

v) Subespecies:
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 diana (si procede)

<p>El producto final axicabtagene ciloleucel se administra con la finalidad de tratar las neoplasias malignas de linfocitos B.</p> <p>Se ha demostrado que actuar sobre el CD19 con linfocitos T que expresan el CAR anti-CD19 es eficaz para eliminar las neoplasias malignas de linfocitos B avanzadas, y que puede suponer un beneficio clínico para pacientes que no responden a ningún otro tratamiento.</p>

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

No se espera ninguna.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor, un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	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

<p>El OGM no puede extenderse ni establecerse en ningún ecosistema desde el lugar de liberación, excepto los pacientes concretos que reciben tratamiento con el producto axicabtagene ciloleucel autólogo. Para verse expuesto a axicabtagene ciloleucel debe recibirse por infusión directa. En la administración de axicabtagene ciloleucel la única persona</p>

inmunodeprimida que participará será el paciente. Las personas inmunocompetentes eliminarían rápidamente axicabtagene ciloleucel en caso de inyección accidental. Un simple contacto con la sangre de los pacientes tratados no transmitirá axicabtagene ciloleucel, puesto que este se inactiva rápidamente en las 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.

Es más, se realizó un estudio para demostrar la ausencia de cualquier material de vector en axicabtagene ciloleucel. Se extrajo ARN de 5 muestras de lotes de axicabtagene ciloleucel producidos a escala completa y se añadió a una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa de la transcriptasa inversa en un solo paso (RT-qPCR) con cebadores específicos del producto, para detectar copias genómicas del vector PG13-CD19-H3 residual. Las copias genómicas de las 5 muestras estuvieron por debajo del límite de detección. Este estudio demostró que no hay vector PG13-CD19-H3 detectable en el sobrenadante de las 5 muestras de axicabtagene ciloleucel.

Por tanto, se considera que hay un número insignificante, de no ser cero, de partículas extracelulares del vector retrovírico en el producto de axicabtagene ciloleucel infundido al paciente.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

i) Orden y 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 en vivo

<p>a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:</p> <p>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 γ-retrovírico que codifica el CAR utilizado para modificar los linfocitos T <i>ex vivo</i> 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.</p>
<p>b) De otros organismos al OMG: Muy improbable. Ninguna.</p>
<p>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</p>

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 axicabtagene ciloleucel 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) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

No se han llevado a cabo más simulaciones, aparte de los ensayos clínicos iniciales que ya se han citado.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con 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 los linfocitos T CAR anti-CD19 transducidos se supervisarán en la sangre de los pacientes tratados, principalmente por PCR, complementada con citometría de flujo. La expansión y la persistencia en sangre periférica se supervisarán también con una qPCR específica 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 del riesgo.

Dado que axicabtagene ciloleucel está formado por linfocitos T transducidos con un vector retroviral, se vigilará la presencia retrovirus competentes para la replicación (RCR) en la sangre de los pacientes 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 para detectar la presencia de RCR tras la infusión de axicabtagene ciloleucel en los meses 3, 6 y 12 y se tomarán anualmente y durante 15 años muestras de sangre adicionales en el caso de haber dado positivo para la presencia de RCR en los meses 3, 6 o 12.

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 (m²)

No procede.

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

Los pacientes se someterán a extracciones de sangre hasta 150 días después de la infusión y en los meses 9, 12, 18, 24, 36, 48 y 60 en adelante. Las muestras de RCR se seguirán recogiendo anualmente en el seguimiento a largo plazo (LTFU) durante un máximo de 15 años y se analizarán según esté indicado clínicamente.

I. Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Las superficies de trabajo que entren en contacto con el OMG se desinfectarán 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., sonda guía, cánula, agujas de inyección y jeringuillas), gasas, equipo de protección personal (p. ej., guantes, etc.) y los componentes utilizados para obtener muestras de líquidos del organismo después de la administración.

3(b) Tratamiento de residuos

Los objetos punzantes, como las agujas, se tirarán en los envases correspondientes y serán incinerados. Los desechos 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. Los materiales quirúrgicos (herramientas, telas) se autoclavarán antes de lavarlos, o se tratarán y eliminarán como residuos biológicos. El equipo quirúrgico no desechable se limpiará con un desinfectante químico con actividad virucida probada (p. ej., solución de hipoclorito, etanol al 70 %) y después recibirá el tratamiento que sea habitual en el centro.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

No existe riesgo de que se ocasionen problemas de salud ambiental. Axicabtagene ciloleucel para infusión intravenosa se presentará preparado para la administración. En caso de escape, la zona afectada (delimitada con material absorbente) será descontaminada con desinfectantes adecuados. En todo momento del proceso de administración habrá un kit para derrames disponible. En el manual del producto en fase de 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 axicabtagene ciloleucel 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 axicabtagene ciloleucel 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 axicabtagene ciloleucel se descontaminarán de acuerdo con los procedimientos higiénicos del hospital/institución, por ejemplo con alcohol al 70 %. En caso de derrame habrá un kit para vertidos disponible, que contiene un revestimiento absorbente y un desinfectante adecuado, como 1000 ppm de cloruro, durante la recepción y administración del producto. Axicabtagene ciloleucel 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 OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

Conforme a los requisitos sobre residuos biológicos establecidos por el promotor. Consulte el apartado J.

3. Métodos de eliminación o 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 medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

No procede, salvo la respuesta de emergencia en caso de infección 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 axicabtagene ciloleucel.