

## Fabricación de Terapias Genéticas: Cómo Asegurar la Seguridad y Calidad de los Productos

### DIAPOSITIVA 1

Esta presentación discutirá la fabricación de productos de terapias genéticas para asegurar la seguridad y calidad del producto.

### DIAPOSITIVA 2

Esta diapositiva muestra la definición de productos de terapia genética publicada por la FDA. Los productos de terapia genética se definen como todos los productos cuyos efectos actúan por medio de la transcripción y/o translación de material genético transferido, y/o integrándose en el genoma del huésped, y que son administrados como ácidos nucleicos, plásmidos, virus, tales como los vectores adenovirales, o microorganismos alterados por ingeniería genética, tales como una bacteria. Estos productos se pueden usar para modificar células in vivo, por medio de la administración directa de un producto de terapia genética a un paciente, o por medio de la transferencia de células ex vivo antes de la administración al paciente. La definición que aquí se muestra proviene de la orientación publicada por la FDA en 2006 sobre seguimiento a largo plazo.

### DIAPOSITIVA 3

Este gráfico les da una idea del número y tipo de Nuevos Fármacos Experimentales (o IND, por sus siglas en inglés) de terapia genética activos.

Aquí se muestran principalmente productos de terapia genética incapaces de replicarse, entre los cuales el más común son los vectores basados en plásmidos. Los plásmidos se pueden administrar como ADN desnudo o pueden venir encapsulados en un liposoma para una administración mejorada.

En términos de los vectores virales, los productos adenovirales representan el vector más comúnmente observado. Se usan principalmente en indicaciones contra el cáncer.

Los retrovirus tienen la propiedad inherente de integrarse al genoma del huésped y permitir una integración estable y a largo plazo de los genes terapéuticos.

VAA es el acrónimo usado para virus adeno-asociado. Los vectores VAA no se integran a los genomas de los huéspedes, pero permiten una expresión genética a largo plazo en las células no divisibles. Los productos VAA bajo una solicitud de IND se usan principalmente para tratar trastornos neurológicos que involucran la administración directa del vector viral en el cerebro.

Los virus pox incluyen la vaccinia, la viruela aviar (fowlpox), y la viruela de canarios (canarypox). Éstos se usan principalmente como vacunas contra el cáncer, porque el

producto propiamente dicho es algo inmunogénico y puede actuar como adyuvante en la terapia de vacuna.

#### DIAPOSITIVA 4

Existen varios otros productos revisados por la rama de terapia genética que son difíciles de clasificar. Algunos son productos de terapia genética, y algunos en realidad no se consideran productos de terapia genética. Pero la mayoría de los que aparecen en este recuadro son productos capaces de replicarse.

A la fecha en que se preparó esta presentación, el CBER tenía aproximadamente 32 INDs que usaban virus oncolíticos. Éstos son virus vivos que se replican preferiblemente en tejidos tumorosos por medio del proceso de replicación. Ellos pueden destruir el tejido tumoroso. En teoría, ellos no se replican en el tejido circundante normal, por lo que no destruyen el tejido circundante normal.

Algunos virus oncolíticos son virus salvajes naturales. Ellos tienen la capacidad inherente de replicarse en células divisibles, tales como las células tumorosas. Otros llevan consigo modificaciones que sirven para atenuar el virus salvaje y hacerlo menos patogénico. Algunos también pueden llevar un gen terapéutico para mejorar la destrucción de las células tumorosas objetivo.

La FDA está observando un número creciente de productos microbianos vivos que consisten de bacterias o levaduras vivas. Muchas son bacterias anaeróbicas que se replican preferentemente en un ambiente tumoral necrótico en pacientes con cáncer. La mayoría de ellos llevan un gen terapéutico, como una citocina, para mejorar la destrucción de las células tumorosas.

El CBER también tiene cerca de ocho INDs que usan vectores del virus herpes simplex. Algunos de éstos son vectores incapaces de replicarse que llevan un gen terapéutico. Varios son en realidad virus salvajes atenuados del herpes que se usan como virus oncolíticos. Su clasificación es un poco confusa, pero a la final, todos son regulados básicamente de la misma manera.

#### DIAPOSITIVA 5

Hablemos sobre cómo la FDA regula la fabricación de productos de terapia genética. Según se ilustra en esta diapositiva, el proceso de fabricación puede ser bastante complejo. Esta diapositiva muestra un ejemplo de un producto hecho de células del paciente transducidas ex vivo con un vector retroviral. Hay una serie de componentes que se usan en el proceso de fabricación que deben ser supervisados. Se tienen las células alogénicas como el material inicial donde habrá requisitos de evaluación de los donantes. Estas células se pueden seleccionar para cierto subtipo, por lo que la FDA debe supervisar para asegurarse de que el uso del anticuerpo monoclonal en la selección de las células es

de la calidad adecuada. Luego se tiene el dispositivo de selección, el cual es revisado. Desde luego, hay supervisión del proceso de fabricación de un vector de terapia genética, y luego el proceso de cultivo, el cual podrá utilizar materiales que son reactivos a niveles experimentales. Y por supuesto, la supervisión del producto final.

#### DIAPOSITIVA 6

Este es el bosquejo básico de cómo la FDA supervisa el proceso de manufactura para productos de terapia genética para asegurar la seguridad y calidad del producto. La evaluación de estos productos involucrará la evaluación de los componentes usados en la fabricación del producto y la realización de pruebas o análisis y caracterización del producto final, así como también una evaluación del control del proceso de manufactura.

#### DIAPOSITIVA 7

Los componentes usados en la fabricación de los productos de terapia genética que se evaluarían incluyen el vector, las células, las cuales pueden ser alogénicas o autólogas, usadas para la transducción ex vivo, los sistemas de bancos de células usados para la producción de productos de terapias genéticas, y los reactivos auxiliares usados para producir el vector o cultivar las células del paciente.

#### DIAPOSITIVA 8

En términos de la evaluación del vector, se pide a los fabricantes que presenten una descripción de los antecedentes del vector y detalles sobre la derivación del constructo de vector. Se pide al patrocinador que presente un diagrama del vector que detalle los elementos esenciales del vector. En la actualidad, la FDA exige un análisis completo de secuencia de los vectores de terapia genética con menos de 40 kilobases de tamaño antes de iniciar el ensayo clínico.

Para algunos de los vectores más grandes, la FDA alienta la realización de una secuencia completa antes de comenzar la fase 3, pero se espera la realización de la secuencia de las regiones más importantes, como los injertos, las regiones flanqueadoras, y las regiones modificadas, antes de la fase 1. Esto se hace para asegurar la ausencia de secuencias inesperadas en el producto de terapia genética.

La FDA descubrió algunas sorpresas en algunos productos de terapias genéticas luego de que se realizara la secuenciación completa. Por ejemplo, se encontró un fragmento grande de ADN de salmón en un vector adenoviral comúnmente usado. El vector se originó en los años 50, cuando se usaba el ADN de salmón para ayudar a precipitar el constructo de vector original. Esta secuencia de ADN no se habría descubierto sin una secuenciación completa del vector

#### DIAPOSITIVA 9

Para las células y sustratos celulares usados en la producción de productos de terapia

genética, los requisitos son similares a aquellos que se requerirían para cualquier sistema de producción de productos biológicos. Algunos ejemplos incluyen aquellos usados para hacer una vacuna, proteína recombinante o anticuerpo monoclonal, donde la FDA desearía obtener información sobre el sustrato, incluyendo sus antecedentes, fuente, y características generales del sustrato celular.

En términos de las células autólogas o alogénicas usadas para hacer productos basados en células modificadas ex vivo, la FDA solicitaría información sobre la fuente de las células, el procedimiento de recolección, y el cumplimiento con los requisitos de elegibilidad de los donantes.

#### DIAPOSITIVA 10

Las pruebas de bancos de células y bancos de virus son consistentes con la forma en que la FDA regula los productos biológicos en general. Las pruebas de seguridad incluyen esterilidad, micoplasma, y las diferentes pruebas de virus adventicios, incluyendo los dos análisis generales de detección de virus, análisis de detección de agentes adventicios in vitro e in vivo. Si el suero fetal bovino y la tripsina usados en la fabricación no han sido analizados, se exigen análisis adicionales para la detección de virus bovinos y porcinos. La FDA podrá solicitar que se realicen pruebas virales específicas a ciertas especies que sean específicas al tipo de líneas celulares que se estén usando.

Para los productos de terapia genética diseñados para no replicarse, a veces se observan eventos de recombinación durante la fabricación que generarán un virus capaz de replicarse. Esto puede ser un problema de seguridad. Así que se solicita al patrocinador que realice pruebas de detección de virus capaz de replicarse en cada etapa del proceso manufacturero. La FDA cuenta con orientaciones sobre ensayos y límites específicos.

#### DIAPOSITIVA 11

La caracterización de bancos maestros de células involucraría pruebas relativamente básicas de identidad, análisis de isoenzimas, pureza, análisis de células contaminantes, tumorigenicidad, y otras pruebas, como la de viabilidad.

#### DIAPOSITIVA 12

Para las pruebas de bancos maestros de virus, la FDA exigiría una secuencia del vector y un mapa de restricciones. Se observarían la expresión proteica, el título y los datos de estabilidad específicos al transgen para el banco viral.

#### DIAPOSITIVA 13

Para los bancos de trabajo de células y de virus, las pruebas de seguridad incluirían la esterilidad, el micoplasma, agentes adventicios in vitro, y pruebas de detección de virus capaces de replicarse. Para la caracterización, una vez más la FDA esperaría que se realizaran pruebas de identidad, estabilidad, y otros ensayos correspondientes.

#### DIAPOSITIVA 14

Para los reactivos utilizados en la fabricación, la FDA pide una tabulación de los reactivos usados, incluyendo la fuente de los reactivos usados. Si el reactivo es un material derivado de seres humanos, o un material derivado de animales, se podrán requerir pruebas adicionales. La FDA también necesitaría saber si el reactivo es de grado experimental o para uso humano. Para la fabricación de productos de terapia genética, a menudo se observa que se usan productos de grado experimental, por lo que la FDA pide que se suministre un certificado de análisis para el reactivo. Si hay un archivo regulador maestro disponible, se pide al fabricante que suministre una carta del titular del archivo maestro para permitir hacer referencias cruzadas con ese archivo maestro. Debe haber establecido un programa de calificación para medir la calidad de los reactivos usados en el proceso de fabricación, especialmente si se usan reactivos de grado experimental.

#### DIAPOSITIVA 15

En términos de la fabricación de productos, en general, se evalúa el esquema de producción y purificación de vectores. Si el proceso involucra células transducidas ex vivo, entonces la FDA evaluaría el método de recolección, procesamiento, cultivo, procedimientos de transducción, y cualquier otra modificación, como irradiación, y desde luego, las condiciones para la cosecha final de las células.

#### DIAPOSITIVA 16

Para la formulación del producto final, la FDA evalúa la formulación del tampón y los excipientes, la concentración final del producto a ser administrado, y las condiciones de almacenamiento después de la formulación final.

#### DIAPOSITIVA 17

Las pruebas del producto final para los productos biológicos complejos, como en el caso de las terapias celulares, son un desafío. No siempre se tiene un ingrediente activo bien definido, y hay mucha variabilidad en el proceso de fabricación. Por lo tanto, las pruebas del producto final se enfocan en la caracterización del producto y en la consistencia lote a lote. La FDA pide al fabricante que suministre una lista de métodos de prueba de liberación y criterios de aceptación para el producto final en sus solicitudes de IND.

#### DIAPOSITIVA 18

Las pruebas de seguridad son comunes para todos los productos biológicos, y se detallan en los reglamentos.

Los requisitos básicos para las pruebas de seguridad incluyen pruebas de esterilidad, micoplasma y endotoxinas. Para los productos de terapia genética, la FDA solicita pruebas adicionales de detección de agentes adventicios, debido a la naturaleza de esos productos.

### DIAPPOSITIVA 19

Como ya se mencionó, la caracterización del producto final es un desafío para la regulación de productos biológicos complejos. Los requisitos generales de pruebas de pureza, identidad y potencia se describen en los reglamentos. Desde luego, la FDA también desea evaluar la estabilidad y viabilidad celular del producto final, si se trata de un producto basado en células. Nuestro enfoque a la caracterización del producto para productos biológicos complejos es que a medida que el ensayo clínico progresa, el patrocinador debe continuar desarrollando métodos de prueba para caracterizar mejor el producto, y definir mejor los criterios de aceptación.

### DIAPPOSITIVA 20

Esta diapositiva muestra más detalles en términos de la caracterización del producto final. La identidad puede ser relativamente sencilla para un producto de terapia genética; se debe crear un mapa de restricciones o caracterización estructural. Para la pureza, las principales inquietudes son las impurezas que pueden estar relacionadas con el proceso e incluyen ADN residual, proteínas, o reactivos de cultivo. Para los vectores virales, debe haber un ensayo que mida el índice de partículas infecciosas versus no infecciosas.

La estabilidad es algo que debe analizarse a lo largo de todas las fases clínicas del desarrollo y más allá.

### DIAPPOSITIVA 21

Un ensayo de potencia debe indicar la actividad biológica relevante al producto, y debe ser cuantitativo. Esto es algo que la FDA exige antes del inicio de la fase 3. Pero para las fases tempranas de desarrollo clínico, se solicita que los fabricantes evalúen el título viral para el producto viral, y que tengan un ensayo que mida la expresión del gen terapéutico. Típicamente esto se hace por medio de ELISA, si se trata de un producto terapéutico basado en proteínas.

### DIAPPOSITIVA 22

Parece haber una gran confusión sobre las Buenas Prácticas de Manufactura, conocidas también como GMP, por sus siglas en inglés, y la relación entre la caracterización del producto y las GMP.

Las Buenas Prácticas de Manufactura Actuales, o cGMP, por sus siglas en inglés, se definen como un conjunto de métodos, prácticas o principios actuales significativamente sólidos que se implementan y documentan durante el desarrollo y la producción de un producto, para asegurar la fabricación consistente de productos seguros, puros y potentes.

Muchos fabricantes piensan que las GMP significan simplemente contar con una serie de Procedimientos Operativos Estándar, o SOPs por sus siglas en inglés, escribir todo, y hacer que un segundo grupo apruebe un certificado de análisis. Pero las GPM tienen que

ver con controlar el proceso manufacturero. Si no se identifica exactamente la pureza y potencia del producto, será difícil asegurar que el proceso manufacturero pueda producir un producto consistente. Los productos de terapia genética, así como también muchos otros productos biológicos, son por lo general bastante complejos y difíciles de caracterizar. Por lo tanto, la FDA ha permitido la integración gradual de los requisitos de GMP y de caracterización durante el desarrollo clínico, con la expectativa de que el fabricante demostrará un aumento en el control del proceso manufacturero con avances de ensayos clínicos.

### DIAPOSITIVA 23

Las optimizaciones de los procedimientos manufactureros generalmente evolucionan a medida que el ensayo clínico progresa.

En los Estados Unidos, los ensayos clínicos de fase 1 por lo general están exentos de requisitos de GMP. Esto se describe en el documento de orientación para ensayos clínicos de fase 1. La FDA utiliza un enfoque escalonado a la implementación de los requisitos de cGMPs y de caracterización del producto que se ilustra en esta diapositiva.

Se exige realizar pruebas de seguridad antes de iniciar la fase 1. Esto incluye pruebas de esterilidad, micoplasma, endotoxinas, y virales. Se espera tener la caracterización básica antes de la fase 1, pero la FDA permite una incorporación escalonada de las pruebas de liberación de lotes, para las pruebas de liberación tanto en proceso como finales. Al principio, las pruebas de liberación de lotes se basan principalmente en los datos pre-clínicos. Los criterios de aceptación podrían ser un tanto amplios. La caracterización podría ser algo limitada, pero la FDA espera un desarrollo, refinamiento, y ajustamiento de los criterios de aceptación con base en los datos a lo largo del desarrollo clínico.

Todos los procedimientos de pruebas analíticas deben basarse en lo que se esboza en los reglamentos, o en pruebas equivalentes, y deben ser validados por la licencia. La FDA no exige una validación completa de los procedimientos de prueba antes de la obtención de la licencia. Sin embargo, ciertamente se espera una validación básica. A esto se le conoce como cualificación de ensayo durante el desarrollo clínico para mostrar que todas las pruebas y procesos han demostrado ser específicos, sensibles y reproducibles.

### DIAPOSITIVA 24

En resumen, la FDA usa un enfoque escalonado para ejecutar los requisitos reguladores. La prioridad es realizar las pruebas de seguridad, comenzando desde la fase 1 y continuando a lo largo del desarrollo. La caracterización de productos para productos biológicos complejos es un desafío, y es algo que la FDA espera aumentará durante el desarrollo clínico. También se espera que el patrocinador demuestre control del proceso manufacturero por medio de prácticas GMP, con una meta general de asegurar la seguridad y calidad del producto.

DIAPOSITIVA 25

Esto concluye la presentación, "Fabricación de Terapias Genéticas: Cómo Asegurar la Seguridad y Calidad de los Productos".

En esta oportunidad quisiéramos reconocer a todos aquellos que contribuyeron a su desarrollo. Gracias.