

PRANEŠIMO Nr. RN-34 IŠVADŲ RENGIMO FORMA

BENDRA INFORMACIJA

PRANEŠĖJAS	VšĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos
PRANEŠIMO NR.	RN-34
IŠVADŲ PARENGIMO DATA	2021-03-23

GENETINĖ MODIFIKACIJA

INFORMACIJA APIE RECIPIENTĄ

Recipientas yra žmogaus kraujo ląstelės T limfocitai. Genetinė modifikacija atliekama iš paciento periferinio kraujo pagal VU LSK patvirtintas procedūras išskirtuose T limfocituose.

NAUDOTO VEKTORIAUS PRIGIMTIS IR ŠALTINIAI

Naudojama komercinė lentivirusinių vektorių sistema. Sistema sukurta ŽIV-1 žmogaus imunodeficito viruso pagrindu. Vektorių sistemoje viruso struktūrinius baltymus koduojantys genai ir transgenai koduojami atskirose plazmidėse (3-ios kartos vektorių sistema, transgeną nešantis vektorius nesireplikuojantis). Naudojamą sistemą sudaro 4 plazmidės: 3 pagalbinės plazmidės besidauginančios pagalbinėje HEK ląstelių linijoje epizomų pavidalu (nesiintegruojančios į chromosomą) ir viena plazmidė koduojanti transgeną (CAR), skirta pernešimui į recipiento organizmą. Tik nesireplikuojanti CAR plazmidė patenka į recipientą.

INFORMACIJA APIE GENETIŠKAI MODIFIKUOTĄ GMM

Genetiškai bus modifikuojami žmogaus T limfocitai, surinkti iš paciento periferinio kraujo pagal VU LSK patvirtintas procedūras. Genetiškai modifikuoti CART bus gauti transdukcijos būdu įterpus chimerinį antigeno receptorių koduojančią plazmidę CAR, ir plazmidei įsistačius į T limfocitų genomą. Įsistatymas vyksta atsitiktinėje geno vietoje. Įsistačiusi DNR koduoja raišką didinančią sritį, su antigenais sąveikaujančių imonoglobulinų variabiliąsias dalis sujungtas su transmembraniniais ir reguliaciniais regionais. Sukurti CART nepatogeniški, nepavojingi.

GENETINĖS MODIFIKACIJOS METODŲ APRAŠYMAS

Lentivirusiniai vektoriai bus įsigijami iš tiekėjo arba jų gamyba (CAR padauginimas specialioje ląstelių linijoje) bus vykdoma kontroliuojamose patalpose vadovaujanti geros gamybos praktikos gairėmis. Virusinės dalelės nešančios CAR plazmidę bus transdukcijos būdu įterpiamos į T limfocitus, o nešama DNR stabiliai įterpiama į genomą atsitiktinėje vietoje.

PLANUOJAMOS VEIKLOS TIKSLAS

Tikslas pritaikyti CART onkohematologinėmis ligomis sergančių pacientų gydymui. CART gali būti skiriami pacientams po ligos recidyvo arba įgijus atsparumą taikytam imunochemoterapiniam gydymui.

GMM RIZIKOS APLINKAI VERTINIMAS

PATOGENIŠKŲ (ĮSKAITANT ALERGINIUS, TOKSINIUS), PROFILAKTINIŲ, TERAPINIŲ SUTRIKIMŲ TIKIMYBĖ

CART pasižymi įprastomis T limfocitų savybėmis, susidūrę su ląstele-taikiniu yra aktyvuojami, išskiria uždegiminius citokinus, paraleliai vyksta jų proliferacija. Tikslinius antigenus ekspresuojančios ląstelės sunaikinamos, jų žūtis ir uždegiminių citokinių išsiskyrimas gali sukelti antrinį imuninį atsaką. Gali kilti lengvo ar sunkaus laipsnio citokinių išsiskyrimo sindromas ar imuninių efektorinių ląstelių sukeltas neurotoksiškumas, kita galima reakcija naviko lizė. Abiem reakcijom suvaldyti numatytas toksiškumo valdymo planas.

KOKIA GALIMYBĖ GMM IŠGYVENTI, DAUGINTIS, IŠPLISTI?

CART gali išgyventi tik šeiminingo organizme. Kitoje aplinkoje neišgyvena, negali plisti, nėra

infektabilūs. Modifikacija nesuteikia galimybės išgyventi aplinkoje.
ĮTERPTOS GENETINĖS MEDŽIAGOS PERNAŠA Į KITUS ORGANIZMUS ARBA Į TĄ PATĮ GMM AR NE GM ORGANIZMĄ Vektorius stabiliai integruotas į ląstelių chromosomas, pernaša į kitus organizmus negalima.
GMM FENOTIPINIS IR GENOTIPINIS NESTABILUMAS CAR seka stabiliai įterpiama į T limfocitų genomą modifikacijos metu, ir yra stabili. Su seka įterpti reguliaciniai elementai sąlygoja raiškos stabilumą.
INFORMACIJA APIE ĮTERPTOS SEKOS RAIŠKĄ Įterpote sekoje koduojama CAR sritis sudaryta iš specifinio viengrandžių imunoglobulinių variabiliųjų dalių fragmentų, sujungtų vidugrandiniu tarpikliu. Prieš seką įterpta žmogaus lyderinė (signalinė) seka, identiška žmogaus granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojančio faktoriaus alfa subvieneto signalinei sekai padidina CAR ekspresiją ląstelės paviršiuje
KOKĮ NEIGIAMĄ POVEIKĮ GMM GALI SUKELTI APLINKOJE ESANTIEMS AUGALAMS? CART gamtoje plisti negali ir poveikio augalams neturi
KOKĮ NEIGIAMĄ POVEIKĮ GMM GALI SUKELTI APLINKOJE ESANTIEMS MIKROORGANIZMAMS? CART aplinkoje plisti negali ir poveikio aplinkos mikroorganizmams neturi
KOKĮ NEIGIAMĄ POVEIKĮ GMM GALI SUKELTI APLINKOJE ESANTIEMS VABZDŽIAMS, GYVŪNAMS? CART aplinkoje plisti negali ir poveikio aplinkos gyvūnams neturi
POVEIKIS NETIKSLINIAMS ORGANIZMAMS CART gali išgyventi tik šeimininko organizme, poveikio netiksliniams organizmams neturi.
GALIMO KENKSMINGO POVEIKIO RIZIKA Naudojama 3-čios kartos lentivirusinių vektorių sistema lemia tai, kad viruso genomą išdalintas į atskiras plazmides ir į modifikuojamą organizmą patenka tik tikslinę modifikuojančią DNR (CAR) nešantis vektorius. CAR šeimininko organizme replikuotis negali, rekombinantino viruso atsikūrimo galimybės nėra. Teorinės galimybės sukelti CART piktybę dėl vektoriaus įsiterpimo į chromosomą šioje sistemoje potencialas labai mažas (literatūros šaltiniuose nėra aprašyta).
KONTROLĖS PRIEMONĖS Lentivirusinių vektorių padauginimas vyks kontroliuojamose patalpose, vadovaujantis geros gamybinės praktikos gairėmis. Patalpose naudojamos laminarinės traukos spintos, gamyba vyks uždaruose vienkartinuose induose. Darbuotojų patekimas į patalpas reguliuojamas ir reglamentuotas VUL SK patvirtintoje procedūroje, darbuotojai bus supažindinti su Aplinkos ministro Įsakymu Nr 431 „Genetiškai modifikuotų mikroorganizmų riboto naudojimo Lietuvos Respublikoje tvarkos aprašas“. Dedikuotos kontroliuojamos patalpos reguliariai valomos ir dezinfekuojamos, registruojant žurnaluose. CART bus laikomi vienkartinėje sterilioje pakuotėje, paženklintoje pagal pažangios terapijos vaistinio preparato reikalavimus, kontroliuojamos aplinkos patalpose. CART recipientų identifikaciniai duomenys sutikrinami dviejų atsakingų personalo darbuotojų. Gydomo procedūros metu į vienvietę palatą bus įleidžiami tik su paciento gydymu susiję asmenys, dėvintys atitinkamas saugos priemones. Su CART dirbantis personalas laikysis VUL SK gydytojų saugos ir sveikatos bei bendrosios praktikos slaugytojo saugos ir sveikatos instrukcijų (DSSI91, DSSI32). Pateiktos kontrolės priemonės atitinka Lietuvos Respublikos Aplinkos ministro įsakymo „Dėl genetiškai modifikuotų mikroorganizmų riboto naudojimo Lietuvos Respublikoje tvarkos aprašo patvirtinimo“, 2003 m. rugpjūčio 4 d. Nr. 413, reikalavimus.
APSAUGOS PRIEMONĖS CART ar sąlytį turėjusioms medžiagoms patekus į aplinką, jie bus nukenksminti vadovaujantis VUL

SK patvirtinta procedūra P149 „Medicininį atliekų saugus tvarkymas“. Gydomo procedūros metu į vienvietę palatą bus įleidžiami tik su paciento gydymu susiję asmenys, dėvintys atitinkamas saugos priemonės. Įvykus darbuotojo ekspozicijai su krauju ar kūno skysčiais, bus vadovaujama procedūra IKS P4 „Darbuotojų ekspozicijos krauju ir (ar) kūno skysčiais incidentų pranešimo registravimo ir poveikio sveikatai stebėjimo bei profilaktikos priemonių taikymas“.

Pateiktos apsaugos priemonės atitinka Lietuvos Respublikos Aplinkos ministro įsakymo “Dėl genetiškai modifikuotų mikroorganizmų riboto naudojimo Lietuvos Respublikoje tvarkos aprašo patvirtinimo”, 2003 m. rugpjūčio 4 d. Nr. 413, reikalavimus.

EKSPERTO IŠVADA

1. (Medicinos mikrobiologijos dalis). Pagal pranešime Nr. RN-34 pateiktus duomenis GMM kontrolės ir apsaugos priemonės atitinka 2 ribojimo klasės GMM keliamus saugaus darbo reikalavimus.