



CARTA DE APROVAÇÃO DE PRODUTO DE TERAPIA AVANÇADA

Kymriah® (tisagenlecleucel)

1. Contexto

A **leucemia linfoblástica aguda (LLA)** é a proliferação maligna de células progenitoras linfoides na medula óssea caracterizada por um excesso de linfoblastos malignos (aproximadamente 80%) com origem nas células B. É mais comumente observada em crianças, com cerca de 60% dos casos ocorrendo em pacientes com idade inferior a 20 anos, com um pico de incidência entre 2 e 5 anos; a incidência aumenta novamente após os 60 anos de idade. A LLA é uma doença rara; cerca de 3.000 crianças nos Estados Unidos (EUA) e 5.000 crianças na União Europeia (UE) são diagnosticadas com LLA por ano (Orphanet 2019). A LLA representa cerca de 11% de todas as leucemias, mas é a leucemia aguda infantil mais comum, responsável por aproximadamente 25% dos cânceres e 80% de todas as leucemias em crianças (Katz et al 2015, Siegel et al 2016). As melhoras da quimioterapia adaptada ao risco e o tratamento de apoio, ao longo das duas últimas décadas, resultaram em taxas globais de cura de LLA em crianças recém-diagnosticadas de quase 90% em muitos países desenvolvidos (Pui et al 2015). A sobrevida é normalmente melhor em indivíduos mais jovens, exceto pacientes abaixo de um ano de idade, que possuem piores resultados. Houve pouco progresso no tratamento da LLA recidivada nas últimas décadas. Embora a sobrevida global (SG) de 5 anos para LLA de células B pediátrica recém-diagnosticada seja de aproximadamente 80%/85%, o prognóstico para pacientes que são recidivantes ou refratários é ruim. Dados mais recentes de evidências do mundo real, registrados no CIBMTR (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research*) dos EUA e do Canadá, de pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda de células B tratados com tisagenlecleucel demonstram melhor sobrevida global em comparação com os dados históricos. Em um relatório de 255 pacientes com LLA com idade mediana de 13,2 anos e uma mediana de três terapias anteriores, com

aproximadamente 30% apresentando transplante anterior, a taxa de SG de 12 meses foi de 70,7%, sendo que a mediana ainda não havia sido alcançada (Pasquini 2020). Notavelmente, também foram observadas respostas significativas em pacientes que receberam previamente blinatumomabe, com taxa de RC (Resposta Completa) de 78,4%.

O **linfoma difuso de grandes células B (LDGCB)** é um linfoma agressivo e é o subtipo mais comum de linfoma não Hodgkin (LNH), constitui 30% a 35% de todos os casos de LNH globalmente. A incidência anual estimada de LDGCB é de aproximadamente 7 casos por 100.000 indivíduos nos EUA e de aproximadamente 3 a 4 casos por 100.000 indivíduos na Europa. O LDGCB é um pouco mais comum em homens do que em mulheres. Embora o LDGCB possa ocorrer em pacientes de todas as idades, incluindo crianças, sua incidência em geral aumenta com a idade e aproximadamente metade dos pacientes tem mais de 60 anos. As taxas mais altas são observadas em adultos ≥ 65 anos de idade (aproximadamente 30-41 casos por 100.000 nos EUA) (Li et al 2015). Nos países do leste asiático, as taxas de incidência são consideravelmente mais baixas do que as do Ocidente; p. ex., 4,5 casos por 100.000 no Japão (Chihara et al, 2014).

Pacientes com LDGCB r/r têm um prognóstico ruim. Se não for tratado, o paciente com LDGCB r/r tem uma expectativa de vida de 3 a 4 meses, especialmente os que não respondem à quimioterapia de segunda linha (Friedberg 2011). A sobrevida global (SG) mediana de pacientes com LDGCB r/r não elegíveis para transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) autólogo foi relatada em três estudos europeus, incluindo França, Itália e Reino Unido, variando de 3,4 meses a 10,8 meses, ao passo que a sobrevida livre de progressão (SLP) variou de 1,5 meses a 8,8 meses (Amorim et al 2016, Arcari et al 2016, Eyre et al 2016). Nos EUA, uma recente série retrospectiva baseada nos dados da *Surveillance, Epidemiology and End Results* (SEER) Medicare que incluiu 426 pacientes com recidiva e 206 refratários com 65 anos de idade ou mais, observou uma SG mediana de 16 meses entre pacientes recidivados e 11 meses entre pacientes refratários (Danese et al 2017). Pacientes com LDGCB com doença progressiva após ≥ 2 linhas anteriores de regimes terapêuticos sistêmicos apresentam prognóstico ruim (NCCN, 2021). Em particular, o estudo SCHOLAR-1

(n = 636 participantes) analisou o desfecho clínico de LDGCB refratário, definido como doença progressiva ou doença estável como a melhor resposta em qualquer ponto durante a quimioterapia (≥ 4 ciclos de terapia de primeira linha ou 2 ciclos de terapia de linha posterior) ou recidiva ≤ 12 meses após TACT (transplante autólogo de células-tronco) (Crump M et al., 2017).

Epidemiologia LLA e LDGCB no Brasil

Segundo o INCA (Instituto Nacional do Câncer), as leucemias correspondem a 26% de todas as neoplasias em crianças e adolescentes de 0 a 19 anos de idade. Conforme descrito na literatura, há também uma predominância em homens (Registros de Câncer e do Sistema de Informações sobre Mortalidade - SIM/MS). A taxa de mortalidade é de 1,03 mortes por leucemia linfóide a cada 100.000 habitantes, padronizada pela população brasileira de 2010. A taxa de sobrevivência no Brasil é de aproximadamente 60%. A mediana das taxas médias de incidência foi de 37,75 por milhão na faixa etária de 0 a 19 anos. A idade máxima variou de 1 a 4 anos de idade. Especificamente para pacientes pediátricos, a estimativa da instituição foi uma taxa de incidência ajustada pela idade de 3,78 novos casos a cada 100.000 crianças e adolescentes com idades de 0-19 anos em 2016. Naquele mesmo ano, 524 crianças com idade de 0-19 anos faleceram no Brasil devido à LLA (Atlas de Mortalidade do INCA, 2019). Considerando-se os dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) de 2019 e 2020, a população brasileira até 25 anos de idade corresponde a cerca de 80 milhões de indivíduos. Como a LLA de células B representa 80% dos pacientes com LLA, a incidência estimada nessa população é de cerca de 1,76 casos a cada 100.000 indivíduos.

Para o linfoma não Hodgkin (LNH), por sua vez, os dados do INCA estimaram uma incidência de 6.580 novos casos em homens e 5.450 em mulheres em 2020. Esses valores correspondem a um risco estimado de 6,4 novos casos para cada 100.000 homens e 4,9 para cada 100.000 mulheres, considerando o equilíbrio brasileiro entre os sexos de 2019. O Atlas de Mortalidade do INCA indicou uma taxa de mortalidade por LNH de 0,43 mortes a cada 100.000 habitantes, em 2019. A distribuição geográfica da mortalidade é muito heterogênea, variando entre 0,03 e 0,49/100.000 habitantes no país.

Tratamento para LLA

O tratamento da LLA de células B consiste tipicamente em quimioterapia combinada durante as fases de indução, consolidação e manutenção e é administrado por um período de 2 a 3 anos como terapia de primeira linha. Os pacientes de alto risco podem receber transplante alogênico (alo) de medula óssea, transplante de células progenitoras hematopoiéticas de sangue periférico ou de sangue de cordão umbilical em sua primeira remissão e procurar por um doador. Aproximadamente 20% dos pacientes pediátricos recidivam, sendo que a LLA recidivada é reconhecida como uma das principais causas de morte em câncer pediátrico (Tallen et al 2010). As opções atuais de tratamento para pacientes com LLA de células B recidivada/refratária (r/r) são baseadas em risco:

- Pacientes com recidiva após conclusão da terapia de 1^a linha e boa resposta da doença residual mínima (DRM) à reindução receberão somente quimioterapia;
- O tratamento de pacientes refratários, com recidiva precoce, recidiva tardia e positividade de DRM pós-indução ou com segunda recidiva ou posterior após a terapia de indução consiste em quimioterapia para obter status negativo para DRM e TCTH como terapia de consolidação.

Embora a maioria dos pacientes pediátricos (>85%) com LLA recidivada atinja uma segunda remissão, o desafio permanece na manutenção desta remissão, visto que a maioria dos pacientes que tiveram recidiva uma vez recidivará posteriormente (com taxas muito menores de indução de remissão) e, por fim, sucumbirá à doença (Tallen et al 2010). Pacientes com uma segunda recidiva têm opções ainda menos eficazes.

A clofarabina e o blinatumomabe são tratamentos aprovados para LLAp r/r, mas os resultados são abaixo do ideal e frequentemente considerados “pontes” para o alo-TCTH quando os pacientes atingirem RC (Jeha et al 2006, von Stackelberg et al 2016, Gore et al 2018). A manutenção da remissão em pacientes com recidiva anterior é difícil, e o prognóstico de pacientes com doença r/r permanece ruim. Desse modo, terapias inovadoras são urgentemente necessárias para o tratamento

de LLA de células B r/r, visto que não existem regimes de tratamento eficazes para essa população de pacientes.

Tratamento para LDGCB

O tratamento de primeira linha de pacientes com LDGCB recém-diagnosticada e de outros LNH agressivos de células B são geralmente adaptados com base na idade e viabilidade de abordagens intensificadas pela dose. A combinação de rituximabe (anti-CD20) com quimioterapia à base de antraciclina (p. ex., ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona [RCHOP]) administrada a cada 21 dias representa o tratamento padrão de primeira linha para a maioria dos pacientes com LDGCB. A introdução de anticorpos anti-CD20 no regime de tratamento de LDGCB melhorou o resultado dos pacientes com LDGCB; aproximadamente 60% dos pacientes podem ser curados com terapia de modulação combinada convencional. No entanto, 30% a 50% dos pacientes não têm benefício em longo prazo com a terapia de primeira linha (aproximadamente 30% têm recidiva e 20% têm doença refratária) e considera-se que eles têm LDGCB recidivado ou refratário (r/r) (Coiffier e Sarkozy 2016). Uma quimioterapia à base de platina seguida por quimioterapia de alta dose e TACT (HD-TACT) é o tratamento padrão para pacientes com doença recidivada/refratária para qualquer paciente em condições suficientes para receber TACT. No entanto, cerca de metade dos pacientes r/r à terapia de primeira linha não são elegíveis para TACT devido à idade avançada e comorbidades que limitam a administração de quimioterapias intensas. Daqueles que prosseguiram para HD-TACT, apenas 40% são finalmente curados. Para os 60% que terão recidiva após o transplante, as opções de tratamento posterior são limitadas, e o indivíduo tem a opção de se submeter a estudos clínicos, tratamento paliativo e, em raros casos, uma segunda quimioterapia de alta dose seguida de TCTH autólogo ou TCTH alogênico.

Para a terapia de terceira linha e subsequente de pacientes com LDGCB r/r, as diretrizes atuais recomendam a terapia com células CAR-T anti-CD19, loncastuximabe tesirina ou selinexor. Selinexor está aprovado somente pela FDA para LDGCB, incluído LDGCB transformado decorrente de linfoma folicular após ≥ 2 linhas de terapia. No contexto brasileiro, na ausência das terapias mencionadas

acima, pacientes que não estejam qualificados para transplante autólogo ou que tenham recidivado possuem as seguintes opções terapêuticas: terapia de resgate com diferentes agentes quimioterápicos (eficácia limitada, prognóstico ruim); transplante alogênico após terapia de resgate (restrito a um número muito limitado de pacientes); inclusão em um ensaio clínico; radioterapia no local afetado (*involved-site radiotherapy*, ISRT) e cuidado de suporte.

2. Sumário das características do produto

2.1 Nome, composição e apresentações comerciais registradas

Denominação comum internacional (DCI): tisagenlecleucel

Nome comum: células T autólogas que expressam um receptor de antígeno quimérico (CAR) contra CD19 (CAR-19)

Nome do produto: Kymriah®

Outros nomes e códigos de laboratório: CTL019

Empresa detentora do Registro: Novartis Biociências S.A –
56.994.502/0001-30

Data da solicitação: 26/05/2021

Processo: 25351.530600/2021-81

Assunto: 11587 - Produto de Terapia Avançada - Registro de Produto de Terapia Avançada Classe II

Componente ativo: tisagenlecleucel

Outros ingredientes: Plasma Lyte A pH 7,4 injetável, dextrose e cloreto de sódio injetável, dextrana em dextrose injetável, albumina humana 25% e DMSO (dimetilsulfóxido) 100%

Forma farmacêutica: Células em dispersão para infusão

Via de administração: Intravenosa

Classe terapêutica: Outros agentes antineoplásicos

Classificação regulatória: Medicamento Especial - Produto de Terapia Avançada Classe II – Produto de Terapia Gênica *ex vivo*

Fabricante do produto: Novartis Morris Plains – New Jersey, Estados Unidos

2.2 Descrição

A tecnologia de CAR utiliza linfócitos T geneticamente modificados que expressam um receptor quimérico. Este receptor consiste em um domínio extracelular de ligação ao antígeno a domínios de sinalização intracelular específicos de células T que medeiam a ativação dessas células. Essa abordagem permite combinar as funções efetoras dos linfócitos T com a capacidade dos anticorpos de reconhecer antígenos de superfície predefinidos com alta especificidade em uma única proteína. O receptor quimérico resultante pode ativar as células T de uma forma independente do MHC, permitindo um alvo celular muito mais amplo do que o obtido com células T normais.

O Kymriah® (CTL019) tem como alvo as células que expressam CD19, uma glicoproteína de transmembrana presente nas células B desde o desenvolvimento inicial até sua diferenciação em células plasmáticas, mas não está presente nas células-tronco sanguíneas pluripotentes e na maioria dos tecidos normais diferentes das células B. A CD19 é expressa de modo uniforme em leucemias linfoblásticas agudas pediátricas com origem em células B.

A geração de uma resposta imunológica antitumoral robusta e sustentada requer o acionamento da produção de citocinas, citotoxicidade e proliferação de células T. Receptores quiméricos portadores de módulos de sinalização TCR ζ (TCR-zeta) são suficientes para desencadear a ativação e proliferação de células T, mas não para promover uma *expansão in vivo* robusta e a persistência de células T receptoras de antígeno quimérico (células T CAR).

Pesquisas extensas documentaram que a ativação, proliferação e persistência máximas de células T em resposta a estímulos antigênicos dependem do recebimento de dois sinais discretos mediados por receptores de superfície celular. O sinal primário de "ativação" é gerado por ligação da TCR com antígeno (normalmente na forma de peptídeos apresentados no sulco de moléculas de HLA classe I) e o segundo sinal, por ligação de uma molécula coestimuladora com seu ligante cognato. A adição do domínio de transdução intracelular de CD137 (4-1BB), um membro da família do receptor do fator de necrose tumoral, ao receptor quimérico potencializa a ativação de células T em comparação com os linfócitos que expressam receptores equivalentes sem 4-1BB. Em modelos pré-clínicos, a

inclusão do domínio de sinalização CD137 (4-1BB) aumentou significativamente a atividade antitumoral em baixas razões efectoras: alvo (E:T) e a persistência *in vivo* de receptores de antígeno quimérico em comparação à inclusão do domínio de sinalização da CD3 ζ isoladamente.

Em comparação com as moléculas pequenas convencionais e os medicamentos biológicos, as células T que expressam CAR têm mecanismos de ação complexos. Em resposta às células que expressam CD19, o tisagenlecleucel pode proliferar, secretar um número vasto de moléculas (citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, receptores solúveis e outras proteínas intracelulares exportadas), exterminar com eficiência células que expressam o antígeno de CD19 e persistir *in vivo* no longo prazo.

2.3 Indicação terapêutica e posologia

As indicações terapêuticas aprovadas são para:

- pacientes pediátricos e adultos jovens até e incluindo 25 anos de idade com leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células B que é refratária, em recidiva pós-transplante, ou em uma segunda ou posterior recidiva;
- pacientes adultos com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) recidivado ou refratário após duas ou mais linhas de terapia sistêmica.

Posologia de Kymriah®:

- Para pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA:
 - Até 50 kg: 0,2 a $5,0 \times 10^6$ células T positivas para CAR viáveis/Kg de peso corporal.
 - Mais de 50 kg: 0,1 a $2,5 \times 10^8$ células T positivas para CAR viáveis (não baseada em peso).
- Para pacientes adultos com LDGCB:
 - 0,6 a $6,0 \times 10^8$ células T positivas para CAR viáveis (não baseada em peso).

2.4 Cuidados Especiais

2.4.1 Quimioterapia de linfodepleção

A quimioterapia de linfodepleção deve ser administrada antes da infusão de Kymriah[®], a menos que a contagem de leucócitos (WBC) dentro de uma semana antes da infusão seja ≤ 1.000 células/microlitro. Recomenda-se que Kymriah[®] seja infundido 2 a 14 dias após o término da quimioterapia de linfodepleção.

- Para pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA:
 - Fludarabina (30 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 4 dias) e ciclofosfamida (500 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 2 dias, começando com a primeira dose de fludarabina).

Caso o paciente tenha apresentado anteriormente uma cistite hemorrágica de grau 4 com ciclofosfamida ou demonstrado um estado quimiorrefratário a um regime contendo ciclofosfamida, administrado logo antes da quimioterapia de linfodepleção, neste caso o seguinte esquema poderá ser utilizado:

- Citarabina (500 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 2 dias) e etoposídeo (150 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 3 dias, começando com a primeira dose de citarabina).

- Para pacientes adultos com LDGCB:

- Fludarabina (25 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 3 dias) e ciclofosfamida (250 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 3 dias, começando com a primeira dose de fludarabina).

Caso o paciente tenha apresentado anteriormente uma cistite hemorrágica de grau 4 anterior com ciclofosfamida ou demonstrado um estado quimiorrefratário a um regime contendo ciclofosfamida administrado logo antes da quimioterapia de linfodepleção, neste caso o seguinte esquema poderá ser utilizado:

- Bendamustina (90 mg/m^2 por via intravenosa diariamente por 2 dias).

2.4.2 Pré-medicação

Para minimizar potenciais reações agudas à infusão, a empresa recomenda pré-medicação com acetaminofeno/paracetamol e difenidramina ou outro

anti-histamínico H1 dentro de aproximadamente 30 a 60 minutos antes da infusão de Kymriah[®]. O uso profilático de corticosteroides sistêmicos deve ser evitado, pois pode interferir na atividade de Kymriah[®].

3. Qualidade do produto

3.1. Fabricação

O processo de fabricação de CTL019 é contínuo, sem diferenciação entre o componente ativo (*drug substance*) e o produto acabado (*drug product*). Todas as operações de fabricação e os testes são realizados na mesma instalação.

3.1.1. Do componente ativo: vetor viral e células transduzidas

Vetor viral

O vetor viral, utilizado no processo de fabricação do Kymriah[®] é um vetor lentiviral recombinante de terceira geração, auto-inativante (SIN), com defeito de replicação derivado do genoma lentiviral do HIV-1. A abordagem para entregar o transgene CAR-19 via transdução de vetor lentiviral é considerada o melhor método disponível no momento. Os vetores lentivirais permitem a modificação genética permanente das células-alvo e a consequente expressão gênica de longo prazo na população de células-alvo, ambas importantes em termos de expressão prolongada em células, como células T, que têm amplo potencial replicativo. Espera-se que os vetores lentivirais ofereçam um melhor perfil de segurança se comparados aos vetores retrovirais, pois foi sugerido que eles são menos propensos a induzir a tumorigênese devido ao seu padrão diferente de inserção. Além disso, os vetores lentivirais são mais eficientes na transferência de genes para os linfócitos do que os vetores retrovirais.

Ele codifica um CAR contra CD19 humano expresso sob o controle do promotor do fator de alongamento humano 1 α (EF-1 α). O transgene CAR é composto por um fragmento de anticorpo de cadeia simples murino extracelular (antiCD19scFv) ligado através de uma dobradiça CD8 humana e região transmembranar a uma cadeia de sinalização intracelular que consiste em 4-1BB

humano e CD3 ζ . A maioria (aproximadamente 85%) da sequência nativa do HIV-1 foi removida para produzir de vetor lentiviral com defeito de replicação.

O sistema vetorial é composto por construções de quatro plasmídeos:

- pRKHVmuEC19: o plasmídeo de transferência, contendo o genoma do vetor CTL019
- pRKHSYNGP: o plasmídeo de empacotamento HIV-1 Gag/Pol
- pRKHG: o plasmídeo da embalagem do envelope
- pRKHREV: o plasmídeo de empacotamento Ver

O processo de fabricação do plasmídeo é realizado em várias etapas visando a produção de plasmídeos de alta qualidade que são adequados para uso no processo de fabricação do vetor do CTL019. Nenhum material derivado de animal ou humano é usado. As mudanças introduzidas no plasmídeo são todas projetadas para aumentar a segurança do vetor e foram devidamente avaliadas por estudos de comparabilidade.

A atividade biológica do vetor é medida pela sua infectividade. O resultado é expresso em unidades de transdução (TU) por mL.

O vetor do CTL019 é fabricado pela Oxford BioMedica, Oxford, UK (OXB) usando um processo *upstream* (consistindo no descongelamento do banco de células de trabalho (WCB), expansão de células, transfecção de plasmídeos, indução e colheita), seguido de um processo de purificação a jusante (consistindo em etapas de filtração, cromatografia e tratamento com nuclease) para produzir a "substância vetorial" (vetor em massa purificado). A substância do vetor passa por filtração estéril, concentração e envase para obter o produto vetorial.

No geral, foi fornecido um nível suficiente de detalhes sobre o processo de fabricação, incluindo a densidade celular, as condições de cultura, a descrição de meios e dos controles em processo. O processo de purificação também foi descrito satisfatoriamente. Os intermediários do processo são identificados e conservados em condições definidas.

Os dados apresentados, incluindo a caracterização do processo, a validação e os dados de liberação do lote, demonstram a consistência na produção e do construto final do vetor numa abordagem considerada aceitável.

Cada lote do vetor de CTL019 deve estar em conformidade com as especificações da Novartis. Para a sua liberação, o controle de qualidade da Novartis analisa a documentação do lote da Oxford BioMedica, que por sua vez é responsável por revisar a documentação do lote da Nova Laboratories (responsável pelo acabamento do "produto vetorial" - *purified filled vector*). Após uma análise satisfatória da documentação, o controle de qualidade da Novartis produz um Certificado de Análise.

Os materiais de partidas e matérias-primas de origem biológica são em geral suficientemente documentados com certificados de análise e especificações com os critérios de aceitação fornecidos no dossiê de registro. A tripsina de origem porcina, bem como a sua alternativa recombinante estão suficientemente documentadas em relação à segurança viral. A origem, a preparação e a testagem dos bancos de células foram documentadas com bastante detalhes, incluindo avaliação de agentes adventícios e de risco tumorigênico da linhagem celular, sendo considerável aceitáveis.

As características mais importantes, como o título infeccioso viral e a integridade da inserção de RNA, bem como o controle de impurezas foram suficientemente investigados. A análise e a identificação do proteoma do vetor foram realizadas. O número de partículas virais foi determinado. A atividade biológica foi satisfatoriamente analisada, incluindo a análise de células que expressam CAR. Investigações sobre a multiplicidade de infecção (MOI) e eficiência de transdução também foram realizadas. Importante destacar que as impurezas relacionadas ao produto, o lentivírus competente para replicação (RCL) foi investigado (teste RCL é realizado de acordo com Ph. Eur. 5.14.), com informações satisfatórias apresentadas. As impurezas relacionadas ao processo foram identificadas e consideradas adequadamente caracterizadas. O painel de especificações apresentado, em geral, foi considerado aceitável (identidade, quantidade, atividade, pureza, impurezas, endotoxinas bacterianas, biocarga, esterilidade e testes de agentes adventícios). Os métodos analíticos foram descritos

e os relatórios de validação foram apresentados para todos os ensaios analíticos. São fornecidos dados analíticos de lote de produção do vetor, incluindo lotes de vetores que foram usados em ensaios clínicos, estudos de estabilidade, processos de validação, estudos de comparabilidade e definição de especificações. Certificados representativos de análise foram fornecidos.

3.1.2. Células transduzidas

As células T do material obtido por leucaférese do paciente a ser tratado são processadas *ex vivo* para enriquecimento em células T antes da transdução com o vetor lentiviral que codifica o CAR, e são posteriormente cultivadas para render um único lote de CTL019. Com base no número de células T positivas para CAR viáveis disponíveis durante a formulação, entre 1 e 3 bolsas do produto final são envasadas, e o número de bolsas que constituem uma dose única para o paciente para ambas as indicações é determinado com base nos resultados dos testes do produto final após o descongelamento.

Especificamente, durante a fabricação, os cálculos são realizados para ajustar a concentração da formulação do produto final referente as células viáveis/mL, e o volume de envase entre 10 e 50 ml por bolsa, visando o maior número de células viáveis positivas para CAR para a indicação específica.

Durante a formulação do produto final para Leucemia linfoblástica aguda pediátrica (LLAp), pretende-se inserir o número máximo de células necessárias para uma dose única em uma única bolsa criogênica a um volume de 10 a 50mL. Se o volume calculado exceder 50mL, então menos do que a dose máxima é visada e o volume de envase máximo é fixado em 50mL. Se houver células suficientes para preencher várias bolsas com o número máximo de células positivas para CAR, então, até três bolsas de produto final são envasadas, cada uma com o número máximo de células positivas para CAR almejado.

Durante a formulação do produto final para LDGCB, o número máximo de células necessárias para uma dose única deve ser inserido em 1 a 3 bolsas criogênicas a um volume de 10 a 50mL por bolsa, para um volume final máximo de envase de 10 a 150mL. Se o volume calculado exceder 50mL, ele é distribuído

em duas bolsas, e, se o volume calculado exceder 100mL, é colocado em três bolsas. Se o volume calculado exceder 150mL, então menos do que a dose máxima é almejada e o volume máximo de envase é fixado em 150mL. Se houver células suficientes para preencher múltiplas bolsas com o número máximo de células positivas para CAR almejadas em 10 a 50mL, então, até três bolsas de produto final serão preenchidas, cada uma delas tendo o número máximo de células positivas para CAR almejado.

Após a criopreservação, as amostras criopreservadas do produto final coletadas durante a formulação final são descongeladas e testadas. A contagem de células após o descongelamento, a viabilidade e os resultados da porcentagem de células positivas para CAR obtidos por citometria de fluxo, bem como o volume da bolsa de produto final, são usados para determinar quantas células T positivas para CAR viáveis existem em cada bolsa. Em seguida, cálculos são realizados para determinar quantas bolsas de produto final constituem uma dose única para infusão em um paciente, e cada bolsa é, então, rotulada como "Bolsa 1", "Bolsa 2" ou "Bolsa 3".

O processo de fabricação de CTL019 é contínuo. No dia 0, as células coletadas por leucaférese são descongeladas, lavadas e processadas para enriquecimento em células T e depleção de outros tipos de células, como monócitos ou células da linhagem B. A etapa de enriquecimento em células T por seleção de fluxo contínuo baseada em anticorpos (*flowthrough antibody-based selection*, FAST) consiste na ligação de esferas paramagnéticas revestidas com anticorpos anti-CD3/CD28 (Dynabeads® CD3/CD28 CTS™) às células T e subsequente separação magnética. Além disso, as Dynabeads mimetizam células que apresentam antígeno, provocando a ativação e expansão das células T.

As células são então semeadas em bolsa(s) de cultura para serem transduzidas por meio de duas adições do vetor lentiviral, uma vez no dia 0 e uma vez no dia 1. No final do processo de transdução (dia 3), as células são lavadas, semeadas e cultivadas em condições estáticas até atingir um número total mínimo de células. Quando o número-alvo de leucócitos é atingido (normalmente no dia 5 ou 6), as células são semeadas em um sistema biorreator de perfusão. Quando o número de células T transduzidas é suficiente para suprir a dose final, as

Dynabeads são removidas por meio de um ímã e as células são coletadas, formuladas e criopreservadas. Todas as etapas são fechadas ou ligadas por ligação *Luer-lock/spike*, em uma cabine de biossegurança controlada e monitorada.

3.1.3. Definição de lotes e escala

Um lote de CTL019 é produzido para um único paciente a partir do material coletado por leucaférese. O tamanho de um lote de CTL019 varia de 1 a 3 bolsas. O número de lote consiste em sete dígitos alfanuméricos; é exclusivo e gerado por um sistema de rastreamento automatizado especificamente para cada paciente quando este é confirmado para o tratamento com CTL019, sendo usado como um identificador dentro da instalação de fabricação e na entrega para o centro de infusão, juntamente com os outros identificadores do paciente. A atribuição de um número de lote exclusivo para um determinado tratamento vincula de forma intrínseca a identidade do paciente ao lote.

3.1.4. Controle de materiais

Controles de materiais definidos quimicamente e de materiais de origem biológica

Os componentes utilizados durante a produção do CTL019 são: i) aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA)/União Europeia (EU), ii) aprovados pela UE, iii) compendiais ou iv) testados de acordo com as especificações internas da Novartis para garantir sua qualidade.

Os fornecedores são avaliados quanto aos critérios de qualidade, incluindo o atendimento às regulamentações de Boas Práticas de Fabricação vigentes e quanto aos níveis aceitáveis de risco de negócios, incluindo experiência, complexidade e estabilidade da organização. A aprovação dos materiais envolve uma avaliação de risco que leva em consideração a funcionalidade, complexidade e origem na determinação da criticidade do material. Procedimentos operacionais padrão escritos estão em vigor para assegurar o recebimento, identificação, armazenamento, manuseio, amostragem, testagem e aprovação/rejeição adequados dos materiais. O plano de amostragem, juntamente com as especificações do material, determina a quantidade de material necessária para testes e retenção de amostras. Cada material é testado e armazenado de acordo

com as especificações definidas. No mínimo, um teste de identidade e uma verificação da conformidade do certificado de análise do fornecedor são realizados em todos os componentes.

3.1.5. Fabricação e controle do substrato primário de células T – Leucaférese

A fabricação do CTL019 é um processo focado em células T. O material de partida principal são células mononucleares do sangue periférico, não mobilizadas, coletadas de cada paciente por leucaférese, que é um procedimento para separar os glóbulos brancos do sangue, como linfócitos ou monócitos.

O material criopreservado obtido por leucaférese do paciente é definido de acordo com a nomenclatura 128 da *International Society of Blood Transfusion* (Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue, ISBT), como MNC, AFÉRESE, não mobilizada. A leucaférese contém células T e vários outros tipos de células, incluindo células B/linfoblastos de linhagem B, células exterminadoras naturais (natural killer, NK), monócitos, células dendríticas, granulócitos, eritrócitos e plaquetas.

A composição celular pode variar amplamente de paciente para paciente, dependendo de parâmetros como o histórico do tratamento e estágio da doença. Observou-se que o teor de células T na leucaférese varia de 4,8 a 98,7% dos leucócitos para a LLAp e 7,1 a 96,2% para LDGCB. No entanto, como a LLAp é caracterizada por uma superprodução de linfoblastos, as células de linhagem B podem representar até mais de 95% das células do material de partida de leucaférese desses pacientes. No material coletado por leucaférese de pacientes com LDGCB, a composição celular é diferente, sendo monócitos os contaminantes mais comuns, podendo representar até 67,4% dos leucócitos.

O especialista terceirizado que coleta e processa o material obtido por leucaférese de pacientes elegíveis é referido como centro de aférese (*apheresis site*, AS). A produção do material obtido por leucaférese exige várias etapas, incluindo coleta por leucaférese, processamento mínimo (p. ex., testes, criopreservação), armazenamento e preparo para envio.

Essas etapas normalmente envolvem um centro de coleta e um laboratório de processamento celular, sendo que o termo AS se refere a ambos. O AS é aprovado pela Novartis antes que qualquer material obtido por leucaférese fornecido possa ser usado para a fabricação de CTL019. Os resultados das contagens totais de células nucleadas (*total nucleated cell counts*, TNC) e o número total de células T (CD3+) realizados no AS são fornecidos à instalação de fabricação da Novartis antes do agendamento da produção. Além disso, os frascos-ampolas de controle do mesmo material são preparados e enviados para a instalação de fabricação da Novartis para análise da distribuição do fenótipo celular.

São considerados testes e atributos de qualidade do material de leucaférese:

- Aspecto: integridade da bolsa criogênica;
- Pureza e impurezas: TNC viável; número total de células T viáveis (CD3+); % de células T;
- Segurança viral: testagem do doador/paciente para HBV, HCV e HIV.

O teste de esterilidade do material de leucaférese geralmente é realizado (antes ou depois da adição do meio de criopreservação), e segue procedimentos operacionais da instituição. Os resultados são documentados e mantidos no AS. Qualquer achado de esterilidade deve ser comunicado à Novartis assim que possível.

O prazo de validade proposto para o material obtido por leucaférese criopreservado é de pelo menos 30 meses, quando armazenado criopreservado a $\leq -120^{\circ}\text{C}$. Em alguns casos específicos, como quando o estado de saúde do paciente não permite um novo procedimento de leucaférese, mas células de uma coleta anterior estão disponíveis, pode ser possível usar essas amostras de leucaférese depois do período de 30 meses, após uma avaliação cuidadosa feita pela Novartis.

3.2. Validação e/ou avaliação do processo

O programa de validação do processo para produção do CTL019 consiste nos seguintes elementos:

- Validação do processo de fabricação;
- Verificação do processo em andamento;
- Validação do processo asséptico e
- Validação do envio (do material de partida de leucaférese e do produto final).

Além desses elementos, o programa de validação do processo para CTL019 incluiu dois componentes:

- Integridade do fechamento do recipiente e
- Avaliação de lixiviáveis e extraíveis nos componentes de fechamento dos recipientes, bem como dos materiais descartáveis utilizados no processo de fabricação do CTL019.

3.2.1. Validação do processo de fabricação

Sua estratégia foi concebida para estabelecer evidência científica de que o processo é capaz de produzir de forma consistente o produto final. A estratégia de validação do processo de CTL019 está dividida em três estágios:

a) Caracterização do processo: A caracterização do processo foi realizada para identificar os parâmetros do processo e desenvolver critérios de aceitação para suportar a fase de qualificação do desempenho do processo e o processo de fabricação comercial. Parâmetros de processo com uma correlação estatisticamente significativa (valor de $p < 0.05$) com um dos quatro atributos críticos de qualidade (CQAs) (número de cópias do vetor do transgene, dose, expressão de CAR e γ IFN) e com um coeficiente R² igual ou maior que 40% foram identificados como controles críticos de processo (CPPs). No geral, por meio da avaliação de risco de processo, estudos de caracterização do processo e estudos de desenvolvimento do processo, 19 CPPs e 6 KPPs (parâmetros chave de processo) foram identificados, e NORs (*Normal Operating Ranges*) e PARs (*Proven Acceptable Ranges*) foram definidos para cada um deles.

b) Qualificação de desempenho do processo (PPQ):

PPQ do Processo F: Em apoio às melhorias no processo de fabricação do CTL019, foi validado o desempenho de uma nova matéria-prima, soro de albumina humana derivada de plasma a 5% (PD hABs). O Processo F introduz a implementação de 5% de soro AB humano derivado de plasma (PD hABs) como um substituto para o soro AB humano 2% *off-the-clot* (OTC hABs) dentro do processo de fabricação comercial de Kymriah®.

PPQ do Processo E: Em apoio ao uso de um novo processo de fabricação do vetor lentiviral de CTL019 (Processo B') no processo de fabricação de CTL019 e, conseqüentemente, o uso de uma multiplicidade padrão de infecção, específica do vetor do processo B' (MOI de 0.35 UT/célula), o desempenho do processo de fabricação comercial proposto (conhecido como Processo E) foi validado na Novartis Pharma, Morris Plains, NJ, EUA.

O PPQ foi realizado para demonstrar que o processo de fabricação comercial proposto produzirá consistentemente o produto celular CTL019 que atende aos CPPs e CQAs predeterminados. Com este intuito, um único protocolo prospectivo PPQ foi desenhado de modo que:

- As três dosagens pretendidas para as duas indicações clínicas aprovadas (LDGCB e LLAp) sejam incluídas;
- Sejam usados três lotes de material coletado por leucaférese de doadores saudáveis;
- Três lotes de CTL019 de vetores de processo B' são utilizados, todos com um MOI de 0.35 UT/célula (um lote de vetor viral foi usado para cada ciclo do PPQ).

Três ciclos consecutivos de PPQ foram fabricados com sucesso, demonstrando que o processo de fabricação proposto para CTL019 usando o vetor viral (Processo B') forneceu, de modo consistente e reprodutível, um produto final que atende às especificações de liberação, ao mesmo tempo em que os CPPs foram todos atendidos. A qualificação de desempenho do processo foi demonstrada para

ambos os intervalos de dose aprovados para a indicação clínica LDGCB (0.6 a 6.0×10^8 células T positivas para CAR viáveis) e os dois intervalos de dose pediátrica para pacientes >50 kg (0.1 a 2.5×10^8 células T positivas para CAR viáveis) e pacientes <50 kg (0.2 a 5.0×10^6 células T positivas para CAR viáveis/kg de peso corporal).

PPQ de apoio - Processo D: O estudo PPQ foi realizado para demonstrar que o processo de fabricação, quando executado nos intervalos-alvo, é consistente e produz um produto de qualidade reprodutível que atende a todos os critérios de validação e especificações de liberação predeterminados. O estudo foi concebido com um desenho matricial para incluir os dois centros de fabricação diferentes (Morris Plains/US – MP e *Fraunhofer Institute fur Zelltherapie/Alemanha* – FH IZI), ambos pretendidos como produtores comerciais e para incluir intervalos de dosagem para as duas indicações propostas (LLAp e LDGCB). No total, o exercício final do PPQ consistiu na produção de 13 lotes diferentes. Desses, 9 foram produzidos no centro dos EUA (MP) e 4 foram produzidos no centro da UE (FH IZI).

Em resumo, os resultados obtidos para todos os CPPs e CQAs do produto final dos ciclos de PPQ em ambos os centros de fabricação estão dentro dos critérios e intervalos de aceitação conforme definido no protocolo de qualificação de desempenho do processo e atendem a todas as especificações. Portanto, o estudo PPQ realizado nos centros de fabricação confirma a capacidade do processo para atender consistentemente aos intervalos CPP e às especificações de CQA, conforme pretendido para o processo comercial.

3.2.2. Validação do processo asséptico (APV)

Ciclos de validação do processo asséptico foram realizados de forma semelhante em todas as instalações comerciais. A APV consiste em uma fase de validação inicial em que pelo menos 3 ciclos consecutivos de envase usando um meio promotor de crescimento (p. ex., TSB) foram bem-sucedidos. Uma revalidação de rotina é feita em um ciclo de envase de meio e depois realizada pelo menos uma vez por ano, tanto no processo de fabricação quanto para o preparo de meios auxiliares, de modo que sejam realizados pelo menos dois ciclos/ano de APV.

3.2.3. Validação de envio

Atualmente, há dois tipos de recipientes para envio, com configurações diferentes, que foram validados para o material coletado por leucaférese e o produto final: *Cryoport* e *evo[®]DV10 Dry Shipper*. O recipiente de remessa carregado é coletado e transportado para a instalação de fabricação. O material de leucaférese é recebido e armazenado em um congelador de vapor de nitrogênio líquido até o uso. O produto final CTL019 é criopreservado em um congelador de taxa controlada e armazenado em um congelador de vapor de nitrogênio líquido até a liberação e envio do produto. Uma vez liberado e desembarçado para envio ao centro de tratamento do paciente, o produto final é retirado do congelador de nitrogênio líquido, colocado em um recipiente secundário e carregado em uma caixa de transporte criogênica seca carregada com nitrogênio líquido, fornecida por um fornecedor contratado.

3.3. Desenvolvimento do processo de fabricação

O processo de fabricação histórico de CTL019 (Processo A) foi desenvolvido pela Universidade da Pensilvânia (Filadélfia, EUA; Penn); ele foi usado pela Penn para conduzir vários ensaios com diversas doenças malignas hematológicas. Em agosto de 2012, a Novartis e a Penn iniciaram uma colaboração para desenvolver e comercializar células T autólogas transduzidas em CAR para o tratamento de leucemia e linfoma.

Do Processo A ao Processo B

Durante a transferência de tecnologia do processo usado na Penn para o centro de fabricação da Novartis em Morris Plains (Nova Jersey, EUA), foram feitas várias etapas de otimização e mudanças, principalmente para fechar muitas das etapas de processamento aberto e aumentar a segurança e a adequabilidade dos materiais para ensaios maiores. Em particular, uma etapa de nano-filtração foi introduzida no processo de fabricação do Dynabeads[®] CD3/CD28 CTSTM. Além disso, o vetor lentiviral de CTL019 foi modificado usando-se uma versão modificada não expressa do elemento pós-regulatório de Woodchuck (*Woodchuck Post Regulatory Element*, WPRE), reduzindo a homologia do HIV e substituindo o

marcador de resistência Ampr pelo gene Kanar para reduzir o risco de transferência horizontal de resistência a antibióticos. Esse vetor recém-criado foi produzido pela Oxford Biomedica (Oxford, Reino Unido) a partir de então.

O processo de fabricação, que abrange as alterações resumidas acima e introduzidas durante a transferência técnica Penn-Novartis é denominado Processo B e foi usado para a fabricação de lotes clínicos para os ensaios clínicos de referência para registro CCTL019B2202 (em LLA pediátrica) e CCTL019C2201 (em LDGCB).

Do Processo B ao Processo C

Durante o desenvolvimento clínico, a Novartis continuou a implementar melhorias no processo de fabricação, as quais foram projetadas principalmente para maximizar o rendimento em células T (p. ex., reduzir a aglomeração celular após o descongelamento de leucaférese) e melhorar a qualidade e a segurança do produto CTL019, reduzindo a presença de contaminantes do tipo células não T e promovendo o enriquecimento em células T antes da transdução do vetor.

Além disso, foram feitas várias alterações no fornecimento de reagentes críticos (p. ex., soro AB humano), a fim de aumentar o suprimento e a segurança das matérias-primas. Para proporcionar capacidade de fabricação adicional, foi identificado e incluído um local de produção adicional na Europa (FH IZI). O Processo C foi submetido à FDA dos EUA na “Petição de licença de produto biológico para LLA pediátrica”, que foi aprovada em agosto de 2017.

Do Processo C ao Processo D

Com a experiência crescente, ficou aparente que a unidade de operação FAST 2.0 era capaz de fornecer maior pureza de células T, independentemente da composição do material de partida de leucaférese e independentemente da doença do participante. Portanto, a etapa de enriquecimento em células T do dia 0 foi simplificada ainda mais, passando-se a usar somente FAST antes da etapa de transdução e, assim, reduzir a variabilidade do produto e do processo. Concomitantemente, a concentração de soro humano (hABs) no meio de cultura foi reduzida de 5% para 2% sem nenhuma diminuição na capacidade de crescimento

celular. Por fim, a etapa de transdução foi padronizada pela introdução de uma multiplicidade de infecção (MOI, transdução por célula) fixa igual a 0.2, em vez de um MOI dependente do lote de vetor, que foi determinado com base em um ensaio realizado em células T elutriadas de doadores saudáveis.

3.4. Mudanças Pós-Aprovação (Otimização do Processo D – Formulação da dose com base na porcentagem da expressão do CAR medida no Dia 8 ao invés do dia da colheita (Dia 9 ou Dia 10))

No processo atual, a porcentagem de células CAR positivas obtidas no Dia 8 do processo de fabricação serve como ponto de decisão para passar para as etapas de colheita no Dia 9 ou continuar a cultura de células até o Dia 10, considerando que a formulação da dose se baseia na porcentagem da expressão CAR obtida no dia da colheita (Dia 9 ou Dia 10). A mudança substitui os resultados da porcentagem de expressão do CAR medida no dia da colheita pela porcentagem de expressão do CAR medida no Dia 8 para determinação da formulação da dose. As vantagens desta alteração podem ser resumidas da seguinte forma:

- Redução significativa do tempo de espera durante as etapas de formulação, uma vez que nenhuma análise de controle de qualidade em tempo real precisa ser realizada. Espera-se que isso melhore a qualidade geral do produto, especialmente a viabilidade celular;
- Melhoria da capacidade de manufatura devido à redução do tempo de processamento e a uma melhor programação das atividades de controle de qualidade.

Do Processo D ao Processo E (uso do vetor do Processo B')

O impacto da mudança no processo de fabricação do vetor lentiviral e do tampão de formulação (Processo B') sobre o tisagenlecleucel foi avaliado. Dois parâmetros foram determinados como sendo diretamente impactados por esta mudança, multiplicidade de infecção e o volume máximo do vetor a ser usado no processo de fabricação do tisagenlecleucel. Conseqüentemente, foram realizados estudos de desenvolvimento para determinar a MOI mais adequada e o volume máximo do vetor a ser utilizado. Além disso, um estudo abrangente de

comparabilidade lado a lado foi realizado com sucesso usando três ciclos divididos de leucaférese de doadores saudáveis para apoiar a introdução do Processo E usando o vetor do Processo B’.

Do Processo E ao Processo F

Comparabilidade do soro de albumina humana derivada do plasma (hABs PD) a 5% vs hABs de soro (*off-the-clot*, OTC) a 2%.

Para apoiar a expansão celular bem-sucedida das células-alvo do paciente no processo de fabricação, foi avaliado o impacto de uma nova matéria-prima, o soro de AB derivado do plasma a 5% (hABs PD), referido como Processo F. O Processo E é composto por 2% de hABs OTC, FAST 2.0 e vetor do Processo B’. A fabricação do Processo F apresenta uma alteração na fonte do soro humano usado em meios de cultura (meios modificados, WMM200 e WMM500) de soro AB humano obtido de soro (hABs OTC) a 2% para soro humano AB derivado de plasma (hABs PD) a 5% e o uso de um MOI de 0.46 em vez do atual 0.35

3.5. Caracterização

Elucidação da estrutura e outras características

Foi usada citometria de fluxo para caracterizar cada lote de CTL019 produzido quanto às propriedades associadas ao fenótipo de células T CAR. Os fenótipos de células T observados parecem refletir o estado de diferenciação das células ao término do processo de produção. Outras abordagens para caracterizar o CTL019 foram usadas para melhorar o entendimento do produto, como qPCR para determinar a eficiência da transdução e o número de cópias do transgene.

Vários métodos foram usados para caracterizar a funcionalidade de CTL019, por meio da medição da secreção de γ IFN em resposta ao estímulo específico ao antígeno CD19 ou ativação não específica e a atividade citotóxica das células T em resposta às células-alvo que expressam CD19. Em um esforço para entender ainda melhor as propriedades e a função do CTL019, uma caracterização adicional foi realizada usando métodos de alta taxa de transferência e avaliação multiparamétrica das características do CTL019. Como exemplo, o CyTOF

(citometria por tempo de voo) permite que os investigadores vejam até 70 marcadores ao mesmo tempo em células isoladas de uma determinada amostra, e assim tracem o perfil do sistema imunológico de uma forma que não era possível anteriormente. Todos esses métodos têm o potencial de fornecer percepções mecanísticas sobre quando, por que e como o tratamento com CTL019 pode ser eficaz.

A caracterização inclui testes físico-químicos, imunológicos e biológicos do CTL019. A caracterização físico-química inclui uma descrição do fenótipo, transdução e propriedades celulares das células T. A caracterização biológica inclui secreção de citocinas, citotoxicidade e propriedades de crescimento das células T.

Os dados foram obtidos de um total de 51 lotes de tisagenlecleucel fabricados na unidade de fabricação da Novartis Morris Plains para o estudo clínico CCTL019B2202 (LLAp) e 81 lotes produzidos para o estudo CCTL019C2201 (LDGCB). Dados adicionais foram obtidos de 13 lotes de tisagenlecleucel fabricados na instalação Fraunhofer IZ para o estudo clínico CCTL019B2202 e 14 lotes fabricados para o CCTL019C2201. A conclusão geral dessas análises é que o tisagenlecleucel é composto de células T de alto grau de pureza, sem níveis detectáveis de células B ou linfoblastos B (usando vários marcadores de linhagem de células B), monócitos ou células dendríticas e apenas níveis detectáveis ocasionais e mínimos de células NK. As células T transduzidas em CTL019 consistem em:

- Células T *helper* e citotóxicas, com tendência mínima para uma ou outra, embora tenha sido observado um maior viés em direção a células T *helper* em lotes fabricados para pacientes com LDGCB;
- Células T predominantemente menos maduras (células T de memória central e não expostas);
- Células T positivas para CAR altamente ativadas e minimamente imunossenescentes;
- Células altamente ativas que proliferam, secretam gamainterferona e matam em resposta às células que expressam CD19.

Pureza celular

CTL019 consiste em células T transduzidas e não transduzidas em CAR, com células T viáveis representando uma média de 97.2% dos leucócitos finais (variação de 85.4 a 99.4%). As células T transduzidas em CAR são o princípio ativo no tisagenlecleucel, de modo que a dose infundida ao paciente é baseada no número total de células T positivas para CAR viáveis (CAR+). O limite inferior para a expressão de CAR, fixado em $\geq 3.0\%$ das células T viáveis, permite a fabricação de uma dose eficaz com não mais que 5×10^9 células viáveis totais. A porcentagem relativa de células T CAR+ viáveis observada até o momento variou de 3.7% a 43.4%, com média de 22.7% para lotes de LLAp e 5.3% a 63.2%, com média de 29.1% para lotes de LDGCB.

As células T ativadas no produto final que não estão expressando o transgene são incapazes de especificamente ter como alvo e matar células tumorais CD19+. No entanto, elas podem contribuir para a eliminação de células que expressam CD19 em um mecanismo independente de CD19 e assim, potencialmente, contribuir até certo ponto para a funcionalidade do CTL019, por exemplo, pelo suporte à parácrina ou estimulação de células T CAR+. A extensão da contribuição de células T não transduzidas para o modo de ação não é, no entanto, quantificável. Portanto, toda a população de células T é considerada uma parte do produto e a pureza do tisagenlecleucel é definida como a porcentagem de células T viáveis como um todo.

A eficiência da transdução do produto celular é monitorada medindo-se a expressão da proteína CAR na superfície das células por imunofenotipagem usando um anticorpo antiidiotípico de CAR expresso como percentual de células viáveis. Esse resultado, o percentual de células no produto final que expressa a proteína CAR, é usado para determinar a dose.

Impurezas

a) Relacionadas ao produto (impurezas celulares): componentes celulares do tisagenlecleucel derivados do material de partida da leucaférese que podem ter

propriedades indesejáveis relacionadas à atividade, segurança e eficácia, como hemácias, granulócitos, células mortas e células B/linfoblastos de linhagem B.

Células CAR-T negativas não são consideradas impurezas, uma vez que são células T autólogas ativadas e, portanto, podem dar apoio à função de células T CAR+. Diversas populações de células não T podem estar presentes no material de partida, incluindo células B/linfoblastos de linhagem B, células exterminadoras naturais (NK), monócitos, células dendríticas, granulócitos e eritrócitos, que poderiam potencialmente ser transportadas para o produto final.

Qualquer célula B remanescente no produto acabado pode representar uma preocupação de segurança significativa, uma vez que a falta de depuração delas durante a fabricação indicaria uma possível capacidade de evitar a citotoxicidade da célula T CAR *in vivo*, após a infusão do CTL019, levando, assim, a uma exacerbação significativa da doença. Portanto, a ausência de células B residuais foi definida como CQA e é controlada no produto final por citometria de fluxo.

As células NK são os únicos leucócitos não T a serem conduzidas ao processo de fabricação (as demais células acabam não resistindo às etapas de processamento) e, portanto, podem estar presentes no CTL019. A análise de correlação da % de células NK presentes no produto não revelou uma relação com a eficácia ou segurança clínica em pacientes com LLAp e LDGCB com base no conjunto de dados disponível até o momento.

As células NK autólogas não são consideradas uma impureza e nenhum limite de controle é considerado necessário para elas no CTL019.

b) Relacionadas ao processo: o processo de fabricação do tisagenlecleucel utiliza as matérias-primas que são removidas e/ou diluídas durante o processo de fabricação. As impurezas relacionadas ao processo são resíduos do processo de cultura celular, incluindo a ativação de células T por Dynabeads® revestida por anticorpos, ou resíduos ligados ao processo de transdução. As potenciais impurezas oriundas do vetor lentiviral são rigorosamente controladas no nível do vetor. A avaliação das impurezas relacionadas ao vetor no tisagenlecleucel foi

realizada com uma abordagem baseada em risco a partir de um cenário de pior caso e considerações da avaliação da capacidade do processo.

Embora a recombinação de plasmídeos de recobrimento do vetor e DNA celular que resulte em RCL não tenha sido relatada com os atuais sistemas de vetores virais na literatura, a geração de RCL após infusão das células T transduzidas pelo vetor lentiviral permanece uma possibilidade teórica, embora com baixa probabilidade. O vetor lentiviral foi concebido para assegurar uma baixa probabilidade de formação de RCL, uma vez que seriam necessários múltiplos eventos de recombinação.

Não há regiões de homologia significativa entre o transgene CART-19 e os plasmídeos Gag/Pol, HIV-1 Rev, ou VSV-G, os componentes HIV-1 usados para tornar o vetor viral, o que torna improvável a geração de um RCL por recombinação homóloga de sequências sobrepostas. No entanto, existe um potencial de recombinação do vetor com vírus estranhos presentes nas células T que atuam como parceiro de recombinação para suplementar a funcionalidade ausente para um RCL; portanto, não se recomenda o tratamento de pacientes HIV-positivo com CTL019.

Como a geração de RCL representaria um risco desconhecido ao paciente e ao meio ambiente, o seu monitoramento usando amplificação em células indicadoras como parte da liberação do vetor lentiviral, em conjunto com o teste de liberação do produto celular por qPCR para DNA VSV-G viral, é considerado suficiente para confirmar a ausência de RCL no CTL019.

c) Relacionadas ao processo de cultura celular: Dynabeads® CD3/CD28 CTS™ residuais, anticorpos CD3/CD28 residuais, soro AB humano, outras.

3.6. Descrição, composição e controle do produto acabado (drug product)

Descrição da forma farmacêutica

O CTL019 é um produto de células T autólogo formulado como uma dispersão de células para infusão intravenosa de dose única. A dispersão celular é

formulada em um meio de criopreservação definido que contém uma solução estoque com diversos excipientes: Plasma-Lyte A para injeção, dextrose e cloreto de sódio para injeção, albumina sérica humana, dextran 40 em dextrose para injeção e solução de DMSO (agente de criopreservação). Os excipientes fornecem o efeito estabilizador necessário durante a criopreservação, capacidade tamponadora e osmolalidade da formulação no descongelamento.

Desenvolvimento da Formulação

Foram realizados dois conjuntos de experimentos com o objetivo de avaliar a robustez da formulação final da CTL019 e justificar a escolha dos excipientes. A concentração de cada excipiente individual na formulação foi variada em um intervalo de $\pm 10\%$ para acomodar possíveis diferenças de manuseio durante o preparo da formulação. Apesar da variabilidade inerente relacionada ao manuseio da amostra, material de partida do doador usado ou métodos analíticos, todas as formulações testadas mostraram criopreservação e recuperação celulares comparáveis, conforme medido pelos resultados de viabilidade, potência e contagem celular. Isso confirma a robustez da formulação final da CTL019 destinada a aplicações comerciais. A remoção de cada um dos excipientes únicos ou de combinações de excipientes foi investigada em células transduzidas de doadores saudáveis. O estudo confirmou a adequabilidade da formulação de CTL019.

3.7. Controle dos excipientes

Os testes de identidade para os excipientes compendiais são realizados conforme descrito nas monografias da USP/NF. Os métodos de identidade compendiais para Plasma-Lyte A para injeção, cloreto de sódio e dextrano 40 em dextrose injetáveis e para DMSO não estão validados, mas foram verificados para demonstrar a especificidade.

3.8. Controle do produto acabado

Especificações

As especificações do produto acabado para CTL019 estão em conformidade com as diretrizes da ICH e as monografias da Farmacopeia Eur. e da USP, e foram

definidas com base na capacidade do processo, nos resultados dos testes de liberação e estabilidade dos lotes clínicos durante o desenvolvimento, dados clínicos correspondentes e avaliação estatística final.

Estabilidade

Dados de estabilidade, análise do estudo e conclusões são apresentados para apoiar uma vida útil de 9 meses para CTL019 armazenado em bolsas de infusão na condição de armazenamento a longo prazo ($\leq -120^{\circ}\text{C}$) em nitrogênio líquido em fase de vapor e 30 minutos em uso após descongelamento à temperatura ambiente de $20-25^{\circ}\text{C}$.

3.9. Principais discussões e exigências da Anvisa

Com relação ao dossiê de produção (qualidade), foram expedidas 26 exigências pela equipe de avaliação da Anvisa, as quais se referem principalmente aos seguintes pontos:

- qualificação do local de aférese;
- especificações do material de leucaférese;
- validação do transporte;
- uso do produto em pessoas HTLV positivas;
- listagem de produtos fora das especificações que já foram liberados até então;
- esclarecer qual o processo produtivo será empregado na manufatura dos produtos disponibilizados para o Brasil.

Qualificação do local de aférese (LA)

Foram apresentados diversos documentos relacionados a qualificação do local de aférese, treinamento de pessoal, manuseio do produto, utilização do portal online para solicitação de produção do CTL019 (CellChain™), etc. Em linhas gerais, o processo de integração do local de aférese segue uma abordagem baseada no risco, que inclui: aplicação de questionários avaliativos; visitas virtuais ou in loco; auditorias. O processo de Avaliação de Risco da Qualidade do Fornecedor

(*Supplier Quality Risk Assessments*, SQRA) foi desenvolvido para identificar, priorizar e mitigar riscos de qualidade relacionados ao material inicial de aférese, que podem impactar na segurança do paciente e/ou eficácia do produto.

Existem três categorias de SQRA:

- SQRA inicial (durante o processo de integração);
- SQRA de rotina (como parte do processo de supervisão);
- SQRA não rotineira (desencadeada por eventos de risco ou novas informações que podem impactar positiva ou negativamente a avaliação de risco atual).

O resultado da SQRA determina i) a necessidade de uma auditoria da Novartis, ii) o nível de supervisão de qualidade (por exemplo, monitoramento e controle) e iii) frequência da SQRA. Os planos de ação são necessários para LA classificados como de alto risco e incluirão uma auditoria de pré-qualificação ou uma auditoria não rotineira direcionada para um local já aprovado. Planos de ação são recomendados para LA classificados como de risco médio e baixo.

Existem cinco categorias que avaliam os riscos do LA (conformidade regulatória, sistemas de gerenciamento da qualidade, capacidades gerais, capacidades técnicas e experiência com a Novartis) que são avaliadas com o auxílio de um formulário durante o processo de integração, monitoramento e supervisão, assim como a partir das experiências e interações da Novartis com o LA e o seu desempenho como fornecedor. Cada pergunta é avaliada por seu impacto no paciente, no produto, no processo ou na reputação da Novartis e recebe uma pontuação numérica de risco. A classificação de risco final pode revelar um perfil de risco baixo, médio ou alto para o local de aférese.

Um LA deve ser implementado e considerado operacionalmente pronto pela Novartis antes que qualquer material de aférese possa ser usado na fabricação de produtos clínicos e comerciais. Depois que o LA está pronto, ele é monitorado quanto à qualidade e ao desempenho de acordo com procedimento operacional padrão. A implementação do LA é realizada de acordo com uma Lista de Verificação

de Implementação padronizada, que é concluída para verificar a prontidão do local e a conclusão da sua implementação.

Existe um procedimento para simulação da formulação e criopreservação das células pelo laboratório de processamento celular (*mock process*) e para simulação do envio (*mock shipment*), o qual testa os movimentos físicos e/ou sistemas envolvidos (SAP e CellChain™), além da movimentação das células entre laboratórios, plantas fabris, depósitos e locais/hospitais de infusão do produto. Essas simulações dão a oportunidade de praticar as etapas envolvidas no processo de fabricação e uso do CTL019. Isso dá à Novartis a garantia de que os elementos-chave podem ser concluídos corretamente, ao mesmo tempo que fornece ao pessoal do laboratório de processamento de células a confiança para processar o material de leucaférese antes de manusear os materiais reais do paciente.

Uso do CTL019 em pacientes com testes positivos ou inconclusivos para HTLV-1 e 2

A empresa informou que, considerando a avaliação de risco de segurança, do ponto de vista bioanalítico, se o HTLV-1 ou 2 estiver presente no material de leucaférese, não há etapa para eliminá-lo e existe a possibilidade de que o vírus possa se amplificar durante o processo de fabricação do Kymriah®. No entanto, o grau exato de amplificação é desconhecido sem uma avaliação adicional. Ainda, embora haja a possibilidade teórica de que o transgene CAR se integre às sequências pré-existentes do HTLV-1 e 2 provirais, o risco de recombinação homóloga é considerado baixo devido às sequências do vetor HIV-1 mínimas presentes no transgene CAR e na diferença distinta nos perfis de integração entre HIV e HTLV. Conseqüentemente, considera-se que existe um risco mínimo ou nenhum de geração de lentivírus de replicação competente (LRC). Além disso, com base na experiência atual com HIV-1 e vetores lentivirais de 3ª geração, não houve geração de RLC relatada até o momento.

A empresa informou ainda que há a possibilidade de que já tenham sido fabricados produtos a partir de materiais de leucaférese com HTLV-1 e 2. Nenhum evento adverso associado ao HTLV-1 e 2 foi relatado até o momento e não há

conhecimento do produto tisagenlecleucel contaminado com HTLV. Por isso, não há evidências claras para excluir pacientes positivos para HTLV no momento.

Outros destaques

A Novartis esclareceu que o Processo F será usado comercialmente no Brasil.

A empresa esclareceu que todos os documentos críticos para o fornecimento do material de leucaférese e com caráter educacional e orientativo serão traduzidos para o português. Alguns documentos não serão traduzidos, por serem de uso interno e que, portanto, não serão compartilhados. Os demais formulários apresentados serão utilizados apenas para verificação das instalações do centro e suas capacidades técnicas e para atestar o recebimento do manual de leucaférese e não serão traduzidos pois precisam ser compartilhados com o time global de Qualidade da Novartis para posterior aprovação. Foi ressaltado que a equipe responsável da Novartis deverá auxiliar os centros com o preenchimento adequado desses formulários.

4. Estudos Não Clínicos

Os estudos de toxicologia não clínica não foram conduzidos em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório (BPL), a ausência de conformidade com as BPL foi considerada aceitável, uma vez que estudos padrão de toxicidade de dose única ou repetida não puderam ser realizados devido à falta de um modelo animal relevante.

O programa de desenvolvimento não clínico do tisagenlecleucel se baseou nas orientações relevantes da FDA e da EMA (FDA 2013, EMA 2008, EMA 2017). Como esses estudos foram conduzidos em um centro acadêmico, eles não atenderam aos padrões da Novartis para documentação e relato de dados. Os modelos animais de doença com base em deficiências genéticas (por exemplo, camundongos imunocomprometidos) e/ou que requeiram manipulação especial representam esses casos excepcionais, na qual conformidade com as BPL não são necessárias.

Nas Tabela 1, Tabela 3-3 e Tabela 3-4 listam os estudos não clínicos que foram utilizados no processo de desenvolvimento do tisagenlecleucel.

Tabela 1. Resumo dos principais estudos de farmacologia não clínicos *in vitro* e *in vivo*

Nome do estudo	Principais achados	Fonte do Kymriah e do Vetor	Referência
Morte celular <i>in vitro</i> da linhagem celular modificada para CD19 (K562-CD19) por células T citotóxicas	A morte de células em razão do tisagenlecleucel é específica para CD19 (células K562 negativas para CD19 não são eliminadas pelo tisagenlecleucel) αCD19-BB-ζ exibiu 30%-50% de morte celular em baixas proporções de célula efetora:alvo (10:1)	Vetores de grau de pesquisa e células T transduzidas	Milone 2009-Figura 2a
Morte <i>in vitro</i> de células tumorais primárias de LLA-B por células T citotóxicas	É necessário que o domínio TCRζ esteja intacto para que ocorra a morte celular αCD19-BB-ζ exibiu ~20% de morte celular em baixas proporções de célula efetora:alvo (10:1)	Vetores de grau de pesquisa e células T transduzidas	Milone 2009-Figura 2b
Produção de citocinas pelo tisagenlecleucel após a re-estimulação por CD19	Domínios coestimulatórios afetam a produção de citocinas 4-1BB (de CD137) tem efeito antagonista na produção de citocinas tipo 2 (IL-4, IL-10) Os domínios coestimulatórios CD28 e 4-1BB aumentam a produção de IL-2	Vetores de grau de pesquisa e células T transduzidas	Milone 2009-Figura 3
Proliferação <i>in vitro</i> de células por tisagenlecleucel na ausência de re-estimulação por CD19	O domínio coestimulatório 4-1BB resulta na proliferação de células T CAR ⁺ independente de antígenos O domínio coestimulatório 4-1BB confere aumento da proliferação e expansão sustentada de células T CAR ⁺ na ausência de re-estimulação	Vetores de grau de pesquisa e células T transduzidas	Milone 2009-Figura 4

Tabela 2. Resumo dos principais estudos de farmacologia não clínicos *in vivo*

Espécie (cepa) Célula tumoral N.º do estudo	CARs testados	Fonte de células T transduzidas	Fonte do vetor	Principais achados
NOD-SCID-β ₂ ⁺ LLA-B humana primária [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-Δζ			A redução da carga de leucemia exige um domínio CD3 ζ intacto
NOD-SCID-β ₂ ⁺ LLA-B humana primária [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-ζ			A eficácia da dose é entre 2-5E+06
NOD-SCID-β ₂ ⁺ LLA-B humana primária [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-ζ			Sem atividade antitumoral alogênica significativa com base no grupo de células T com transdução simulada
NOD-SCID-β ₂ ⁺ LLA-B humana primária [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-ζ αCD19-BB-ζ αCD19-28-ζ	Células T transduzidas de grau de pesquisa (UPenn****)	Vetores de grau de pesquisa contendo sequência eGFP (UPenn****)	CARs αCD19 com diferentes domínios coestimulatórios, todos mediam atividade antileucêmica significativa
NOD-SCID-γ _c ⁺ LLA-B humana primária [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-ζ αCD19-BB-ζ αCD19-28-ζ			As células T αCD19-BB-ζ exibiram sobrevida preferencial (4 semanas após a infusão de células T) Os camundongos com αCD19-BB-ζ apresentaram sobrevida livre de leucemia prolongada (~7 semanas)
NOD-SCID-γ _c ⁺ [Estudo em animais pré-clínico com CART-19-FRA1]	αCD19-ζ αCD19-BB-ζ αCD19-28-ζ			Células T com αCD19-BB-ζ tiveram melhora na sobrevida independente de antígeno (4 semanas após a infusão de células T)

Tabela 3. Resumo dos principais estudos não clínicos *in vitro* e *in vivo*

Tipo de estudo	N.º do estudo	Fonte do Kymriah	Fonte do vetor, scFv	Comentários
Perfil de expansão <i>in vitro</i> de CTL019 Sem BPL	PCS-R SIR08-009 PCS-R SIR09-003 PCS-R SIR09-004	Células T transduzidas clinicamente equivalentes (CVPF**)	LTG118 ou LTG119* LTG119* LTG119*	Conduzido pela Universidade da Pensilvânia (IND13960)
Atividade antileucêmica <i>in vivo</i> de CTL019 em modelo de camundongo com LLA-B humana primária NOD-SCID- $\gamma_c^{-/-}$ Sem BPL , com exceção da parte de histopatologia e biodistribuição contratada, que cumpria com as BPL	pcs-racgt-10--segurança pré-clínica relatório-FRA1	Células T transduzidas de grau de pesquisa (UPenn****)	LTG118 ou LTG119*	Conduzido pela Universidade da Pensilvânia (IND13960)
Caracterização de CTL019, análise do local de integração do lentivírus (LISA) Sem BPL	DIS-R1620234a	Fabricada conforme as BPF	Fabricada conforme as BPF	Estudo LISA em GeneWerk Heidelberg, Alemanha Produto Kymriah da Novartis Morris Plains, NJ, EUA
Caracterização de CTL019, análise do local de integração do lentivírus Sem BPL	DIS-R1620234	Fabricada conforme as BPF	Fabricada conforme as BPF	Estudo LISA no Bushman Lab, Universidade da Pensilvânia, Filadélfia, PA Produto Kymriah da Novartis Morris Plains, NJ, EUA
Avaliação da ligação fora do alvo da proteína de membrana humana scFv de CD19 usando arranjo Retrogenix Sem BPL	DIS R1470028	N/A	Anti-CD19-scFv (NVP-LYS631****)	Estudo da Novartis para excluir a ligação fora do alvo de scFv
Avaliação do RNAm da CD19 e expressão da proteína em seções normais do cérebro de humanos e macacos cynomolgus Sem BPL	DIS R1420055	N/A	N/A	Estudo da Novartis para excluir tecido fora do alvo/fora do tecido, bem como a ligação no tecido alvo/não alvo do scFv em tecidos cerebrais
Deteção de CD19 no cérebro de humanos e de cynomolgus por RT-PCR Sem BPL	DIS R1420059	N/A	N/A	Estudo da Novartis para investigar a expressão gênica de CD19 em tecidos cerebrais

*: Vetor lentiviral LTG118 (anti-CD19-zeta) ou LTG119 (anti-CD19-zeta-41BB) produzido na Lentigen Corporation, arquivo mestre do medicamento pela Lentigen Corporation

** : CVPF: Unidade de produção de células clínicas e vacina no Abramson Cancer Center da Universidade da Pensilvânia, credenciado pelo FACT

***: produzido pela Novartis Biologic Center, Novartis

****: Departamento de Patologia e Medicina Laboratorial, Faculdade de Medicina da Universidade da Pensilvânia (UPenn), Philadelphia, Pensilvânia, EUA

- Foram apresentados dados de estudos farmacodinâmicos *in vitro* que corroboraram com o conhecimento e otimização do produto. Com base nos resultados dos experimentos realizados para otimizar os tisagenlecleucel, EF-1a foi selecionado como o promotor para a expressão do transgene. Vários CARs α CD19 foram gerados e testados quanto à função de células T específicas de CD19, bem como demonstraram a atividade citolítica de células T CAR+ contra células tumorais B-ALL primárias. Foram descritos estudos que analisaram a produção de citocinas de células T CAR+ após estimulação com células tumorais, bem

como a proliferação e sobrevivência de células T CAR+ sem reestimulação de CD19.

- Também foram analisados estudos farmacodinâmicos *in vivo* (estudos pré-clínicos em animais) que objetivaram a determinação de efeitos tumorais específicos de CART-19 e otimização de dose em camundongos, a determinação do limiar de eficácia para células CART, estudos de comparação *in vivo* de persistência, atividade anti-B-ALL e efeito na sobrevida em camundongos NOD/Shi-scid IL-2R γ nulo (NOG).
- Um estudo não clínico de distribuição biológica (cinética) foi realizado para investigar as propriedades farmacocinéticas do tisagenlecleucel.
- Foram realizados estudos de toxicidade, destacando: estudos de caracterização da análise do sítio de integração de lentivírus de tisagenlecleucel usando análise de sítio de inserção de lentivírus. Em todos os produtos tisagenlecleucel analisados um alto grau de policlonalidade foi observado e não houve evidência de integração preferencial perto de genes de interesse ou crescimento preferencial de células que abrigam locais de integração de interesse durante a cultura de celular no processo de produção.
- Outros estudos de toxicidade foram demonstrados para análise de impurezas e excipientes: potencial para toxicidade aguda de Dynabeads (esferas magnéticas revestidas com anti-CD3/CD28); hipersensibilidade a álcool benzílico (BZA); 2-Etilhexanol (2-EH); Dextran 40, DMSO

As doses clínicas de células para o Kymriah[®] foram selecionadas com base na experiência clínica com células CAR-T direcionadas à CD19 conduzidas na Universidade da Pensilvânia e no Hospital Pediátrico da Pensilvânia. O estudo de biotoxicidade apoiou inicialmente um protocolo clínico sugerindo a injeção de células T transduzidas de LTG118 (transgene para a cadeia única anti-CD19 e o domínio teta CD3) e LTG119 (LTG118 mais o domínio CD137).

Modelos animais não clínicos atuais não fornecem informações quantitativas sobre relações de dose/segurança celular que se traduzem na situação humana

devido às limitações inerentes do modelo. A saúde geral especial e o quadro clínico genético do modelo de xenoenxerto de leucemia em murinos NOD/SCID- γ c-/- com LLA-B humana, em particular, exige considerações especiais no que diz respeito às doses celulares selecionadas de Kymriah®. Um equilíbrio ideal entre os pontos a seguir foram importantes para o resultado significativo:

- a) a carga tumoral tolerável global de camundongos (LLA humana em camundongos NSG) e uma reatividade antitumoral xenogênica mínima em camundongos,
- b) o efeito aceitável de DECH das células T de tisagenlecleucel e os controles correspondentes de células T não transduzidas no ambiente de camundongos xenogênicos, e
- c) a obtenção de uma atividade antitumoral suficiente de células de tisagenlecleucel em um modelo de tumor xenogênico em camundongos NSG.

O equilíbrio ideal entre esses três critérios garantiu o uso adequado de grupos controle concomitantes, evitando assim que os animais sofressem com uma carga tumoral muito alta, o que poderia resultar no sacrifício prematuro dos animais e, desse modo, na ausência de uma avaliação adequada dos resultados do estudo. Contudo, a carga tumoral foi ajustada para um nível no qual o efeito antitumoral mediado pelo tisagenlecleucel podia ser claramente diferenciado de potencial resposta xenogênica do camundongo. Além disso, doses muito altas de tisagenlecleucel poderiam levar a fortes reações de DECH, não apenas em camundongos-controle não tumorais, como também em camundongos tratados com células tumorais. Assim, a seleção da dose de células no estudo de toxicidade em animais foi orientada por essas limitações inerentes ao modelo e não seguiu, desse modo, a estratégia usual de dosagem com o objetivo de distinguir doses seguras e eficazes de doses tóxicas.

Foi discutido entre Anvisa e a empresa solicitante sobre os modelos animais de escolha para a avaliação dos efeitos farmacológicos o mais próximo possível do que seria esperado em seres humanos. Não foi usada outra espécie além do

camundongo imunocomprometido durante o desenvolvimento do Kymriah®. Atualmente, não existem modelos animais singênicos totalmente imunocompetentes que reflitam a situação clínica específica de indicações malignas de células B, como LLA, LDGCB ou linfoma folicular. O único modelo animal disponível atualmente para investigar as células T humanas geneticamente modificadas é o modelo de camundongo imunocomprometido, baseado em manipulações genéticas que levam ao fenótipo NOD-SCID γ -/- (NSG) ou NOD-SCID β 2-/- . Esses camundongos podem ser reconstituídos com sucesso com linfócitos humanos sem rejeição imediata, devido a um sistema imunológico comprometido sem células murinas T, B e NK. Os animais podem ser induzidos a um estado leucêmico por infusão de células leucêmicas humanas (por ex., LLA-B), permitindo a investigação de vários desfechos de eficácia e segurança. Esse modelo animal representa a única possibilidade de usar um produto celular CAR-T humano clinicamente equivalente.

Fenotipagem de células T tisagenlecleucel CAR+ não foi fornecida no dossiê não clínico. Mesmo que tais informações sejam importantes, a falta desses dados é considerada aceitável levando em consideração o conhecimento sobre as propriedades das células T CAR+ obtidas por meio de experiência clínica, de produto já em uso em outros países.

A falta de estudos de toxicidade de dose única é aceitável, uma vez que o tisagenlecleucel é produto autólogo para paciente específico, que não é apropriado para administrar a animais imunocompetentes. A falta de estudos de toxicidade de dose repetida é aceitável com base no fato de que tisagenlecleucel será administrado em uma perfusão única. Ensaio de genotoxicidade e estudos de carcinogenicidade em roedores não são apropriados para avaliar o risco de mutagênese insercional para produtos de terapia gênica *ex vivo* (células geneticamente modificadas). O risco de transmissão inadvertida em linha germinativa do CAR CD19 não foi abordado. Segundo documento EMEA/273974/2005 o risco de transmissão da linha germinativa associada à administração de células humanas geneticamente modificadas é considerado baixa e, como testes em animais de células humanas podem ser difíceis ou não

significativos, estudos de transmissão não-clínica da linha germinativa células humanas geneticamente modificadas não são exigidos. Estudos de expansão *in vitro* com células T CAR positivas (Kymriah®) de doadores e pacientes saudáveis não mostraram evidência de transformação e/ou imortalização de células T. Estudos *in vivo* em camundongos imunocomprometidos não mostraram sinais de crescimento celular anormal ou sinais de expansão celular clonal por até 7 meses, o que representa o período de observação mais longo significativo para modelos de camundongos imunocomprometidos. A inserção de sequências de vetores lentivirais no genoma tem o potencial de desregular a expressão do gene da célula hospedeira com um risco teórico de oncogênese insercional resultante da interrupção da função normal de genes que controlam o crescimento celular e risco potencial de desenvolvimento de malignidades. Neoplasias novas ou secundárias foi categorizado como risco potencial a ser monitorado.

Após análise dos esclarecimentos apresentados pela empresa a Anvisa, consideram-se cumpridos os itens da notificação de exigência no que se refere aos estudos não-clínicos com o produto Kymriah®. Os dados apresentados referentes aos estudos não clínicos foram considerados adequados.

5. Estudos Clínicos

5.1. Estudos clínicos LLA

A segurança e a eficácia do tratamento com Kymriah® em pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA de células B recidivada e refratária (r/r) foram avaliadas em um estudo principal (B2202) e em dois estudos de apoio (B2205J e B2101J), com um total de 160 pacientes tratados. Esses estudos foram conduzidos em conformidade com as Boas Práticas Clínicas (BPC). Todos os pacientes tiveram produtos de leucaférese coletados e criopreservados antes ou durante a entrada no estudo.

A taxa de reposta ou taxa de remissão foi o desfecho de eficácia dos três estudos citados acima. As definições dos tipos de respostas são explanadas na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4. Classificação da resposta global da doença em um determinado momento de avaliação

Categoria de resposta	Definição usada nos Estudos B2202, B2205J e B2101J
RC	<p>Todos os critérios a seguir são atendidos:</p> <p>Medula óssea < 5% de blastos</p> <p>Sangue periférico Neutrófilos > $1.0 \times 10^9/L$ e Plaquetas > $100 \times 10^9/L$ e Blastos circulantes < 1%</p> <p>Doença extramedular¹ Sem evidência clínica de doença extramedular (por exame físico e avaliação de sintomas do SNC) e Se forem realizadas avaliações adicionais (p. ex., avaliação do LCR por PL, exames de imagem do SNC, biópsia, etc.), os resultados devem mostrar estado de remissão</p> <p>Independência de transfusão Nenhuma transfusão de plaquetas e/ou neutrófilos 7 dias ou menos antes da data da amostra de sangue periférico para avaliação da doença</p>
RCi	<p>Todos os critérios de RC conforme definidos acima são atendidos, exceto pelo seguinte:</p> <p>Neutrófilos $\leq 1.0 \times 10^9/L$ ou Plaquetas $\leq 100 \times 10^9/L$ ou Transfusão de plaquetas e/ou neutrófilos 7 dias ou menos antes da data da amostra de sangue periférico para avaliação da doença</p>
Sem remissão Doença recidivada	<p>Não atendimento dos critérios necessários para qualquer categoria de resposta ou recidiva</p> <p>Somente em pacientes que atingiram RC ou RCi e que tenham: Reaparecimento de blastos no sangue ($\geq 1\%$) ou Reaparecimento de blastos na medula óssea ($\geq 5\%$) ou (Re)aparecimento de qualquer doença extramedular após RC ou RCi</p>
Desconhecida	<p>“Desconhecida” é atribuída caso a avaliação basal ou a avaliação de resposta não seja realizada, esteja incompleta ou indeterminada ou não tenha sido realizada no respectivo prazo.</p> <p>Se houver evidência de recidiva, a resposta global será avaliada como “doença recidivada” apenas com o componente de recidiva.</p>

¹ Em comparação com os Estudos B2202 e B2205J, no Estudo B2101J a avaliação da doença extramedular não era exigida em cada avaliação de eficácia, a menos que houvesse evidência clínica de doença extramedular que justificasse a avaliação. A independência da transfusão não era exigida.

RC: remissão completa; RCi: remissão completa com recuperação hematológica incompleta; LCR: líquido cefalorraquidiano; PL: punção lombar; SNC: sistema nervoso central.

Fonte: [Estudo B2202 IA 2019, Tabela 9-2], [Estudo B2205J IA 2016, Tabela 9-3]

As principais características e os principais resultados dos estudos clínicos supramencionados são resumidos a seguir.

A) B2202 (ELIANA)

Data de início: 8 de abril de 2015

Data do último corte de dados: 1 de julho de 2019

Data provável do relatório final: 2022

O estudo principal (B2202) é um estudo multicêntrico, braço único, aberto de fase II em pacientes pediátricos e adultos jovens com leucemia linfoblástica aguda de células B r/r. Noventa e sete pacientes foram incluídos, 79 receberam a infusão; 18 pacientes descontinuaram antes da infusão de Kymriah® (7 pacientes devido a morte; 8 pacientes devido a problemas relacionados à fabricação do Kymriah®; 3 pacientes devido a eventos adversos). As doses foram administradas em infusão única e foram estratificadas da seguinte maneira:

- Pacientes ≤ 50 kg: $0,2$ a $5,0 \times 10^6$ células T viáveis positivas para CAR/kg de peso corporal
- Para pacientes > 50 kg: $0,1$ a $2,5 \times 10^8$ células T viáveis positivas para CAR

Os pacientes que receberam infusão tinham entre 3 e 24 anos de idade e 8% tinham doença refratária primária. A idade mediana dos participantes foi de 11 anos (variação: 3 a 24 anos), e todos os pacientes tinham uma pontuação de desempenho de Karnofsky/Lansky $\geq 50\%$. Sessenta e um por cento dos pacientes foram submetidos a um transplante de células-tronco prévio. A maioria dos pacientes (69/79, 87%) recebeu terapia provisória enquanto aguardava pelo Kymriah®. No total, 76 dos 79 pacientes que receberam infusão de Kymriah® também receberam quimioterapia de linfodepleção após a inclusão e antes da infusão de Kymriah®. A maioria dos pacientes (88.6%) recebeu doses de tisagenlecleucel dentro da faixa de dose proposta; apenas 2 pacientes receberam doses acima do intervalo de dose proposto (5.2 e 5.4×10^6 células T transduzidas viáveis/kg).

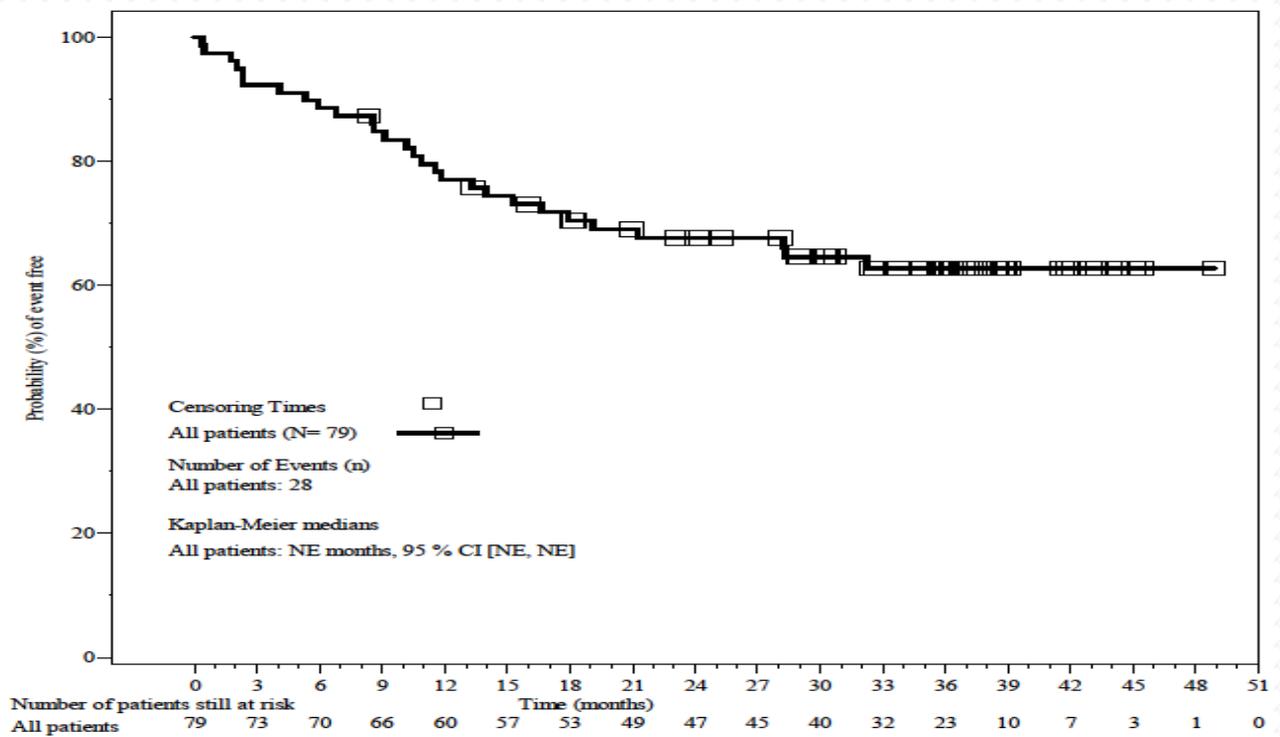
A eficácia foi estabelecida por meio do desfecho primário de taxa de remissão global (TRG), que inclui a melhor resposta global (MRG) como remissão completa (RC) ou remissão completa com recuperação hematológica incompleta (RCi) no período de 3 meses após a infusão, conforme determinado pela avaliação do Comitê de Revisão Independente (CRI), bem como desfechos secundários, incluindo duração da remissão (DDR) e a proporção de pacientes que atingiram RC ou RCi com doença residual mínima (DRM) $< 0,01\%$ por citometria de fluxo (DRM negativa).

A TRG no prazo de 3 meses pós-tisagenlecleucel após a avaliação pelo CRI foi de 82.3% (65/79 pacientes) (IC de 95%: 72.1, 90.0). Entre os 79 pacientes no

conjunto completo de análise (CCA), 49 pacientes (62.0%) alcançaram uma MRG de RC e 16 pacientes (20.3%) alcançaram um RCi em 3 meses pós-infusão de tisagenlecleucel. Entre os 65 pacientes que alcançaram RC ou RCi, 64 alcançaram com base na avaliação do CRI que estava associada à medula óssea negativa para DRM (i.e., MRD <0.01%) por análise de citometria de fluxo, aos 3 meses pós-tisagenlecleucel. Apenas 1 participante que alcançou MRG não tinha resultado disponível de DRM pós-infusão.

O tempo mediano da DDR ainda não foi alcançado, mas a taxa de duração de resposta aos 24 meses foi de 57.9% (IC de 95%: 43.0, 70.2) e a taxa de duração de resposta aos 39 meses foi de 52.2% (IC de 95%: 36.9, 65.5), conforme avaliação do CRI. A sobrevida livre de eventos mediana foi de 23.7 meses e a probabilidade estimada de estar livre de eventos aos 24 meses foi de 49.3% (IC de 95%: 36.3, 61.0) e aos 39 meses foi de 44.4% (IC de 95%: 31.3, 56.8), conforme avaliação do CRI. A SG mediana não foi alcançada, mas a SG de 24 meses foi de 67.7% (IC de 95%: 56.0, 76.9) e a probabilidade estimada de SG aos 48 meses foi de 62.8% (50.7, 72.7).

Figura 1. Curva Kaplan-Meier de sobrevida global (SG) (FAS*)



Fonte: *Interim Clinical Study Report for updated analysis of primary endpoint with a data cutoff of 01-Jul-2019.* *FAS: Full Analysis Set (comprende todos os pacientes que receberam infusão de tisagenlecleucel).

A qualidade de vida relacionada à saúde (QVRS) foi avaliada pelos questionários PedsQLTM e EQ-5D preenchidos por pacientes com idades de 8 anos ou mais. Entre os pacientes que responderam, a alteração média em relação ao valor basal na pontuação total do PedsQL foi de 13,1 no mês 3, 15,4 no mês 6 e 25,0 no mês 12, e a alteração média em relação ao valor basal na pontuação da EAV do EQ foi de 16,0 no mês 3, 15,3 no mês 6 e 21,7 no mês 12, indicando melhora geral clinicamente relevante na QVRS após infusão de Kymriah®.

A robustez da análise primária de TRG foi confirmada pelos resultados de uma série de análises de sensibilidade predefinidas, com TRGs variando de 64.4% (para o conjunto de pacientes que atenderam a todos os critérios de elegibilidade clínica) a 83.1% (para o conjunto de pacientes que receberam o produto de acordo com o protocolo) e limites inferiores dos ICs de 95% acima de 50% para todas as análises. A robustez e consistência do desfecho secundário principal de RC/RCi com medula óssea negativa para DRM e o desfecho secundário de DDR foram confirmadas por uma série de análises pré-planejadas de subgrupos incluindo categorias de idade (<10 anos; ≥ 10 a < 18 anos; ≥ 18 anos), TCT prévio (sim/não), carga tumoral basal na medula óssea (alta/baixa) e presença de doença extramedular na avaliação basal (sim/não). No subgrupo de pacientes com ou sem TCT anterior, as taxas de resposta à terapia com tisagenlecleucel foram altas. A TRG foi de 85.4% em 48 pacientes que foram submetidos a TCT anterior e foi de 77.4% em 31 pacientes que não haviam sido submetidos a TCT anterior. Todos os subgrupos de pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA de células B r/r se beneficiaram do tratamento, apresentando TRGs entre 60% (subgrupo de pacientes asiáticos; n=10) e 100% (subgrupo de pacientes com doença extramedular; n = 11). Crianças com síndrome de Down possuem maior incidência de LLA de células B (em comparação com a população pediátrica geral) e tem maiores taxas de mortalidade e recidiva com o tratamento padrão (pois geralmente reduz-se a intensidade do tratamento). Neste estudo, a TRG dos pacientes com síndrome de Down foi de 83,3%.

Nos pacientes com RC ou RCi o perfil cinético do transgene de tisagenlecleucel no sangue periférico corresponde a uma expansão inicial rápida,

seguida por um decaimento lento, com uma meia vida maior quando comparado aos pacientes não responsivos. O tempo mediano para os níveis do transgene alcançarem a C_{max} (concentração máxima) foi de 10 dias para os pacientes responsivos e 20 dias para os pacientes não responsivos. No momento do corte de dados de 13 de abril de 2018, o produto era mensurável no sangue periférico até 916 dias (nos pacientes responsivos), sendo a mediana do tempo de persistência 172 dias (com um intervalo de 20.9 a 916 dias). A presença de anticorpos pré-existentes e induzidos pelo tratamento (imunogenicidade humoral e celular) não impactaram na cinética celular e na resposta clínica.

A aplasia de células B é um efeito esperado presente em todos os pacientes responsivos. Ela foi manejada com terapia de reposição de imunoglobulinas. O tempo mediano estimado para a recuperação dos níveis de células B nos pacientes com RC/RCi foi de 29,3 meses (95% IC: 22.6, 29.3). A probabilidade estimada de Kaplan Meier que um paciente irá permanecer livre de evento (sem recuperação dos níveis de células B) foi de 63.5% (95% IC: 45.5, 77.0) no mês 24, que foi consistente com a sobrevida livre de recidiva no mês 24, demonstrando a persistência funcional do tisagenlecleucel na leucemia.

No total, 28 pacientes morreram após a infusão de tisagenlecleucel. Desses, 2 pacientes morreram dentro de 30 dias da infusão, incluindo um paciente que faleceu de leucemia progressiva no contexto de possível SLC e outro paciente que teve hemorragia intracraniana fatal que desenvolveu dentro do curso de uma SLC resolvida, síndrome compartimental abdominal, coagulopatia e falência renal. Outros 26 morreram após 30 dias da infusão de tisagenlecleucel, a maioria devido a doença em progressão subjacente.

Todos os pacientes em que o produto foi infundido experimentaram pelo menos um evento adverso (EA). Os EAs pós-infusão de tisagenlecleucel mais frequentemente relatados (> 20%) suspeitos de estarem relacionados ao medicamento do estudo foram: síndrome de liberação de citocinas (SLC) (77,2%), hipogamaglobulinemia (34,2%), neutropenia febril (25,3%), hipotensão (25,3%), pirexia (24,1%) e taquicardia (20,3%). Os eventos adversos graves (EAGs) relatados

com mais frequência após a infusão de tisagenlecleucel foram SLC (63,3%), neutropenia febril (19,0%) e hipotensão (10,1%). Eventos adversos graves foram relatados com mais frequência nas primeiras 8 semanas após a infusão (68,4% dos pacientes; com EAG de grau 3 em 27,8% dos pacientes e grau 4 em 34,2%) em comparação com > 8 semanas a 1 ano (31,1% dos pacientes; grau 3 em 16,2% e grau 4 em 14,9%).

O tempo mediano para o início da SLC foi de 3 dias e a duração mediana foi de 8 dias. Dentre os pacientes que apresentaram SLC, 50,8% receberam terapia sistêmica anti-citocinas (tocilizumab) com ou sem corticosteroides e 62,3% necessitaram de UTI. O risco de desenvolver SLC mais severa foi associado com início precoce de febre e da própria SLC; pacientes com alta carga tumoral basal também apresentaram riscos maiores de desenvolver SLC grau 3 ou 4. Os níveis de citocinas séricas (interferon gamma, IL 10, IL 2, IL 4, IL 6, fator de necrose tumoral alfa) mostraram uma tendência de aumento com o aumento do grau da SLC (de ausência de SLC a SLC grau 4).

As infecções foram observadas em 34 pacientes (43,0%) dentro de 8 semanas da infusão de tisagenlecleucel, sendo que 16 pacientes (20,3%) tiveram eventos relatados como grau 3 e 3 pacientes tiveram infecções de grau 4. Neutropenia prolongada (grau laboratorial 3 ou 4, não resolvida até o dia 28) foi observada em 43 pacientes (54,4%), dos quais 37 pacientes tinham resolvido para grau 2 ou menor. No mês 3, 13 ainda estavam em risco (pacientes continuando a ter neutropenia de grau 3/4) e dois pacientes estavam em risco no mês 6. Trombocitopenia com duração superior a 28 dias foi observada em 33 pacientes (41,8%) e 5 pacientes ainda estavam em risco (pacientes continuando a ter trombocitopenia de grau 3/4) no mês 3. Sangramento grave decorrente da trombocitopenia foi incomum, no entanto, pode ter contribuído para a ocorrência de hemorragia cerebral, no contexto de SLC se resolvendo e coagulopatia, que levou um paciente à morte.

Tabela 5. Mortes e outros eventos adversos graves ou clinicamente significativos após infusão de tisagenlecleucel.

	All patients N=79
Number of patients with at least one AE	79 (100)
Suspected to be study drug related	75 (94.9)
Death within 30 days post tisagenlecleucel infusion	2 (2.5)
Death >30 days post tisagenlecleucel infusion	26 (32.9)
Patients with serious or other significant events	
Any time post tisagenlecleucel infusion	
SAE	62 (78.5)
Suspected to be study drug related	53 (67.1)
Grade 3/4 AE	71 (89.9)
Suspected to be study drug related	59 (74.7)
Within 8 weeks post tisagenlecleucel infusion	
SAE	54 (68.4)
Suspected to be study drug related	52 (65.8)
Grade 3/4 AE	66 (83.5)
Suspected to be study drug related	56 (70.9)
AE of special interest (AESI) based on identified risks	74 (93.7)
Grade 3/4 AESI	54 (68.4)
Suspected to be study drug related	70 (88.6)
>8 weeks post tisagenlecleucel infusion	N=74
SAE	29 (39.2)
Suspected to be study drug related	6 (8.1)
Grade 3/4 AE	42 (56.8)
Suspected to be study drug related	15 (20.3)

Fonte: *Interim Clinical Study Report for updated analysis of primary endpoint with a data cutoff of 01-Jul-2019.*

No total, 76 pacientes (96.2%) tiveram pelo menos 1 hospitalização (não incluindo hospitalizações para tratamento eletivo ou pré-planejado, motivos sociais e cuidados paliativos e tratamento ocorrido em caráter ambulatorial emergencial), e a maioria dos pacientes precisou de 1 ou 2 hospitalizações. Para os pacientes com pelo menos 1 hospitalização, a duração total mediana da hospitalização foi de 29.5 dias (variação: 3 a 291 dias). Quarenta e três pacientes foram internados na unidade de terapia intensiva (UTI), e a duração total mediana da internação na UTI foi de 7 dias (variação: 0.5 a 66) entre esses 43 pacientes.

Dois pacientes apresentaram EAs de doença maligna secundária. Um paciente foi diagnosticado com leucemia linfocítica aguda grau 2 no dia 155. O evento não foi suspeito de estar relacionado ao tisagenlecleucel. O paciente morreu devido à indicação do estudo e parada cardíaca no dia 206. O outro paciente

apresentou um EAG de síndrome mielodisplásica (SMD) grau 3 no dia 262. O EAG não foi suspeito de estar relacionado ao tratamento com tisagenlecleucel. Nenhum tratamento foi relatado. O evento estava em andamento na data de corte dos dados. Não houve pacientes com EAs suspeitos de estarem relacionados ao tratamento com tisagenlecleucel.

A maioria dos pacientes elegíveis recebeu tisagenlecleucel em tempo hábil em um ambiente multicêntrico global. Este estudo demonstrou a eficácia da terapia com tisagenlecleucel, em pacientes pediátricos e adultos jovens, para o tratamento de LLA r/r, por meio dos resultados de altas taxas de remissão do tumor, duração sustentada da remissão e melhora nos escores de qualidade de vida. A terapia com tisagenlecleucel tem efeitos colaterais significativos em alguns pacientes, especialmente aqueles com alta carga de doença. As fatalidades observadas foram devido à progressão da doença subjacente ou no contexto de neutropenia prolongada precedente com infecção ou devido ao sangramento durante a SLC com coagulopatia associada. A maioria dos pacientes do estudo desenvolveu SLC controlável com medidas de suporte que, em alguns casos, exigiram hospitalização e administração de terapia anticitocina.

A conclusão do estudo é que os benefícios clínicos superam os riscos, sempre que a administração seja realizada por profissionais treinados, em local adequado.

B) B2205J (ENSIGN) (estudo de apoio)

Data de início: 14 de agosto de 2014

Data de finalização do estudo: 24 de maio de 2019

Data do relatório final apresentado: 12 de novembro de 2019

O estudo B2205J é um estudo de fase II de grupo único e multicêntrico para determinar a eficácia e segurança do tisagenlecleucel em pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA de células B r/r. Os critérios de elegibilidade e as doses testadas foram iguais aos do estudo B2202. O desfecho primário foi a TRG no período de 6 meses pós-infusão de tisagenlecleucel. Até 6 de outubro de 2017, um total de 73 pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA de células B r/r havia

sido incluído no estudo, e 58 receberam infusão (29 do processo de fabricação da UPenn; 29 do processo de fabricação da Novartis).

No relatório final apresentado, 64 sujeitos foram acompanhados por um tempo mediano de 31.74 meses. O desfecho primário de TRG dentro de 6 meses após a infusão de tisagenlecleucel foi de 70.3% (IC de 95%: 57.6%, 81.1%), valor similar à TRG de 69% relatada nos dois relatórios interinos anteriores. A TRG de pacientes menores que 18 anos, durante os 6 meses após a administração de tisagenlecleucel, foi de 72.2% (39/54) de acordo com a análise do CRI. A proporção de pacientes com MRG de RC/RCi com DRM negativa na medula óssea (MRD <0.01%) dentro de 6 meses após a infusão de tisagenlecleucel foi de 67.2% (IC 95%: 54.3%, 78.4%) considerando todos os pacientes infundidos e de acordo com a análise do CRI. A DDR de 6 meses foi de 79.5% (IC 95%: 62.9%, 89.3%). O tempo mediano de sobrevida livre de eventos foi de 15.6 meses (6.4, NE), com SLE de 6 meses de 67.0% (IC de 95%: 53.5%, 77.4%). A SG mediana foi de 29.9 meses (15.1, 42.4), com SG de 12 meses de 65.4% (IC de 95%: 52.4%, 75.7%).

Pacientes com RC ou RCi mostram uma tendência para maior expansão máxima (Cmax) e persistência do transgene em relação aos sujeitos não responsivos. O tempo mediano para atingir Cmax foi de aproximadamente 10 dias para os responsivos e 20 dias para os não responsivos. Nos pacientes que atingem RC ou RCi, estão presentes níveis de transgene na medula óssea nos tempos iniciais após a infusão e estes níveis decaem ao longo do tempo. O tisagenlecleucel foi mensurável no sangue periférico por, no máximo, 921 dias em participantes com RC/RCi, com uma mediana de 179 dias e um intervalo de 17,8 a 921 dias. O transgene continua a se expandir e persiste após a administração de tocilizumab. A imunidade humoral pré-existente e induzida pelo produto não impactou nos resultados clínicos e na cinética celular do produto, assim como a imunidade celular também não impactou a cinética celular.

Até o momento, 30 sujeitos (46.9%) morreram a qualquer tempo após a infusão do tisagenlecleucel. Duas mortes ocorreram dentro de 30 dias após a infusão do produto, sendo uma devido à progressão da LLA e a outra devido a um acidente vascular cerebral embólico. Vinte e oito sujeitos (43.8%) faleceram 30 dias após a infusão de tisagenlecleucel, sendo 24 devido à progressão da LLA e 1 sujeito

cada devido às seguintes complicações: cirurgia de transplante, glioblastoma multiforme, convulsão e sepse.

Os eventos adversos mais comuns foram SLC (81%); hipogammaglobulinemia (46,6%); redução na contagem de células brancas (44,8%); anemia (43,1%); vômitos (39,7%); náusea (37,9%); redução na contagem de neutrófilos (37,9%); pirexia (37,9%); diminuição do apetite (36,2%) e diarreia (36,2%). Dentro de 8 semanas após a infusão, infecções foram reportadas em 24 sujeitos (sendo 7 casos considerados relacionados ao produto), foram classificadas como grau 3 em 10,3% (6) e grau 4 em 1 indivíduo, que desenvolveu um desfecho fatal de embolia séptica no dia 25 e morreu neste mesmo dia de acidente vascular cerebral. Em relação a eventos neurológicos, 19 pacientes (32,8%) apresentaram eventos transitórios, graus 1 e 2, dentro de 8 semanas da infusão do produto, sendo que 13 casos foram considerados relacionados ao produto, abrangendo encefalopatia, convulsão e disfagia.

Tabela 6. Mortes e outros eventos adversos graves ou clinicamente significativos após a infusão do Tisagenlecleucel.

	All subjects N=64
Number of subjects with at least one AE	64 (100)
Suspected to be study drug related	62 (96.9)
Death within 30 days post tisagenlecleucel infusion	2 (3.1)
Death >30 days post tisagenlecleucel infusion	28 (43.8)
Subjects with serious or other significant events	
Any time post tisagenlecleucel infusion	
SAE	52 (81.3)
Suspected to be study drug related	46 (71.9)
Grade 3/4 AE	59 (92.2)
Suspected to be study drug related	52 (81.3)
Within 8 weeks post tisagenlecleucel infusion	
SAE	46 (71.9)
Suspected to be study drug related	44 (68.8)
Grade 3/4 AE	54 (84.4)
Suspected to be study drug related	49 (76.6)
AE of special interest (AESI) based on identified risks	59 (92.2)
Grade 3/4 AE	39 (60.9)
Suspected to be study drug related	58 (90.6)
>8 weeks post tisagenlecleucel infusion	N=56
SAE	24 (42.9)
Suspected to be study drug related	8 (14.3)
Grade 3/4 AE	31 (55.4)
Suspected to be study drug related	14 (25.0)

Fonte: Full Clinical Study Report CCTL019B2205J 12-Nov-2019

A conclusão do estudo é que os benefícios clínicos superaram os riscos, sempre que a administração seja realizada por profissionais treinados, em local adequado.

C) B2101J (estudo de apoio)

Data de início: 15 de março de 2012

Data de finalização: 07 de maio de 2018

Data do relatório final: 22 de novembro de 2019

O Estudo B2101J foi um estudo de fase I/II de grupo único e monocêntrico, conduzido no Hospital Infantil da Filadélfia/ *The Children's Hospital of Philadelphia*, com 56 pacientes pediátricos e adultos jovens de 1 a 24 anos de idade com LLA de células B CD19+ avançada, com o objetivo primário de avaliar a segurança e tolerabilidade do produto investigacional. O estudo também incluiu 4 pacientes com acometimento da leucemia no sistema nervoso central (SNC) definido como SNC3. A idade mediana dos pacientes era 11 anos (intervalo de 1 a 24 anos), a maioria era caucasiana e encontrava-se com pontuações $\geq 80\%$ na escala *Karnofsky/Lansky*. Uma dose total de $1,5 \times 10^7$ a 5×10^9 ($\sim 0,3 \times 10^6$ a $1,0 \times 10^8$ /kg) de células CAR T positivas foram infundidas. Dentro dos primeiros 28 dias do estudo, todos os pacientes receberam de uma a três infusões de tisagenlecleucel dentro do intervalo de dose alvo especificado no protocolo de $1,5 \times 10^7$ a 5×10^9 células CAR T. Conforme o protocolo, infusões subsequentes, após o dia 28, foram administradas, e 19 pacientes (34%) receberam mais de 3 infusões do produto. Houve um paciente com uma dose total dentro de 28 dias que estava abaixo do intervalo-alvo: o participante B2101J-1000/00174 que recebeu $1,0 \times 10^7$ células, abaixo do intervalo de dosagem direcionado.

Um dos objetivos secundários foi avaliar a taxa de remissão completa (RC ou RCi) no dia 28 após a administração do produto. Esta taxa foi de 94,7% (IC 95%: 85.9 – 98.9), com a maioria dos pacientes (89.5%) apresentando DRM negativa. Apenas 3 pacientes (5.3%) não responderam ao tratamento com tisagenlecleucel. A duração da remissão (DDR) mediana era de 27,9 meses e a probabilidade de estar livre de recidiva nos meses 12; 24 e 36 era, respectivamente, 61%; 50.4% e 44.9%. A sobrevida livre de eventos (SLE) mediana foi de 24.9 meses (IC 95%: 8,6 – NE) e

a probabilidade estimada de estar livre de eventos, aos 36 meses, foi de 42.5% (IC 95%: 27.7 – 56.6). O tempo de sobrevida global (SG) mediano estimado pelo método de KM foi de 47.7 meses (IC 95%: 28.3 – NE) e não houve mortes após o tempo mediano de sobrevida. A probabilidade estimada de indivíduos com LLA sem doença de SNC3 estarem vivos em 12 meses foi de 78,9% e em 24 meses de 64,9%.

Nos pacientes responsivos, os níveis do transgene do produto se expandiram rapidamente, atingindo um pico de concentração ao redor do dia 11 pós-infusão, em seguida os níveis diminuem ao longo do tempo. Tisagenlecleucel persistiu por até 784 dias, com uma mediana de tempo de persistência de 251 dias, conforme medido por qPCR, em pacientes com RC/RCi. Na medula óssea, o produto foi mensurável por até 12 meses e o perfil de concentração encontrado era comparável com o perfil apresentado no sangue periférico, ou seja, níveis mais elevados no primeiro tempo de coleta (dia 28) seguido de um declínio lento. A extensão da expansão máxima (Cmax) e durabilidade da persistência (AUC0-28d e outras AUCs parciais) no sangue periférico foram maiores (aproximadamente 60% para Cmax e 67% para AUC0-28d) em pacientes com RC/RCi em relação a pacientes sem remissão. A cinética celular determinada por citometria de fluxo mostrou uma profunda diferença entre os pacientes RC/RCi e sem remissão. A Cmax e AUC0-28d foram 2291% e 1468% maiores, respectivamente, em pacientes com RC/RCi, em comparação com pacientes não responsivos.

Dos 49 pacientes, 48 testaram positivo para anticorpos anti-receptor quimérico de antígeno murino (mCAR19) antes da infusão de tisagenlecleucel e 12 (26%) pacientes mostraram um aumento positivo de anticorpos anti-mCAR19 acima da concentração basal. Aparentemente, não há impacto desses anticorpos na persistência celular. As médias geométricas (CV%) de tisagenlecleucel no LCR em pacientes com RC/RCi diminuíram ao longo do tempo e foram detectadas nas concentrações de 6.390 cópias/ μ g (300,5%), 5030 cópias/ μ g (209,3%), 4310 cópias/ μ g (155,4%) e 4070 cópias/ μ g (102,6%) nos meses 3, 6, 9 e 12, respectivamente. Os pacientes não responsivos tinham níveis não mensuráveis de tisagenlecleucel no LCR. Exposições mais elevadas (AUC0-28d e Cmax) foram observadas em pacientes com maior carga tumoral no momento pré-infusão.

Os EAs mais frequentemente relatados ($\geq 75\%$) dentro de 8 semanas após a infusão de tisagenlecleucel foram: diminuição da contagem de leucócitos (92,9%), SLC (89,3%), diminuição da hemoglobina (89,3%), diminuição da contagem de neutrófilos (78,6%), linfopenia (76,8%), neutropenia febril (75,0%) e diminuição da contagem de plaquetas (75%). Os EAGs mais comuns ($\geq 20\%$ dos pacientes) foram SLC (82,1%), neutropenia febril (71,4%), hipotensão (39,3%), encefalopatia (26,8%) e pirexia (23,2%). Os EAGs mais comuns ($\geq 20\%$ dos pacientes) com suspeita de estarem relacionados ao medicamento do estudo foram SLC (82,1%), neutropenia febril (71,4%), hipotensão (37,5%) e encefalopatia (26,8%).

Dentro das 8 semanas após a infusão do produto, SLC foi o evento adverso de interesse especial mais relatado (89,3%), seguido de neutropenia febril (75,0%) e eventos neurológicos (50,0%). Em relação à SLC, 11 pacientes (19,6%) apresentaram grau 3 e 13 pacientes (23,2%) grau 4; nenhum dos eventos foi fatal. Em relação aos eventos neurológicos, os mais relatados foram encefalopatia (26,8%) e estado de confusão (19,8%) e todos foram transitórios e manejáveis. A maioria das citopenias grau 3 ou 4 relatadas antes ou no dia 28 baixaram para grau 2 ou menor. Nenhuma morte foi reportada dentro de 30 dias da primeira infusão de tisagenlecleucel.

No momento do relatório final, 27 sujeitos (47,4%) haviam morrido, sendo todas as mortes devido à progressão da doença. Este relatório final apresenta os resultados do acompanhamento mais longo após a administração de tisagenlecleucel para a indicação de leucemia ou linfoma CD19+, resistentes à quimioterapia. Com um follow-up de até 72,7 meses (mediana de 47,2 meses) após a infusão do produto, o estudo demonstra que tisagenlecleucel pode proporcionar altas taxas de remissões e remissões duradouras. Apesar disso, a terapia com tisagenlecleucel foi associada a uma alta taxa de EAs, muitos dos quais eram de grau 3/4. Esses EAs foram administráveis e resolvidos, mesmo em pacientes que necessitaram de cuidados de suporte em nível de UTI. A maioria dos pacientes desenvolveu SLC, esta foi manejada com medidas de suporte que, em alguns casos, exigiram a administração de terapia anti-citocina. Não houve mortes atribuíveis a eventos adversos. Com a finalização deste estudo os pacientes serão

acompanhados, se assim consentirem, no estudo CCTL019A2205B (LTFU de 15 anos, com relatórios anuais).

Os resultados de eficácia foram consistentes com os dos estudos B2202 e B2205J.

Outros estudos clínicos

Os estudos clínicos iniciais conduzidos com tisagenlecleucel foram realizados pela Universidade da Pensilvânia, são eles: B2102J; B2203J e A2201. O estudo B2102J (início: 2010, término: 2015) é uma fase I, com o produto CTL019, em pacientes adultos maiores de 18 anos, com leucemia ou linfoma CD19+, refratários ou resistentes à quimioterapia. Avaliou-se a viabilidade e segurança de uma dose alvo de 5×10^9 células totais (intervalo aceitável: $1,5 - 10^7 - 5 \times 10^9$). Os objetivos secundários foram, dentre outros, avaliar a prova de conceito do produto, sua persistência e as taxas de resposta geral e sobrevida. Foram analisados os resultados de 20 pacientes, 14 com leucemia linfocítica crônica (LLC) e 6 com leucemia linfoblástica aguda (LLA). Não houve mortes dentro de 30 dias após a infusão. O evento adverso mais comum foi a SLC. Indivíduos com LLA apresentaram SLC grau 3/4 mais frequentemente (83,3%) do que indivíduos com LLC (42,9%). Para pacientes com LLA, a TRG foi de 83,3% e a SG estimada aos 24 meses foi de 80%. Já para os pacientes com LLC, a TRG foi de 42,9% e a SG estimada aos 24 meses foi de 62,5%,

O estudo B2203J (início: 2015, término 2017), é uma fase II, com o produto CTL019, em pacientes adultos (20 – 70 anos), com LLA refratária ou resistente à quimioterapia. O objetivo primário foi avaliar a TRG no dia 28 após a infusão de tisagenlecleucel. Trinta pacientes receberam o produto investigacional. As coortes 1 e 2 receberam doses únicas de $1-5 \times 10^8$ e $1-5 \times 10^7$ células, respectivamente; as coortes 3 e 4 receberam doses divididas (dia 1: 10%, dia 2: 30% e dia 3: 60%) de $1-5 \times 10^8$ e $1-5 \times 10^7$ células, respectivamente. A TRG foi de 60%. Cinco pacientes morreram dentro de 30 dias da infusão, 2 devido à SLC; 2 devido à sepse e 1 devido à hemorragia cerebral. Doses mais baixas [até $5,0 \times 10^7$ células (coortes 2 e 3)] foram consideradas seguras (as 2 mortes prematuras com esta dose foram

parcialmente atribuídas à doença subjacente), mas menos eficazes do que a dose mais alta com dosagem dividida (até $5,0 \times 10^8$ células, coorte 4). A taxa de remissão completa foi de 33% nas Coortes 2 e 3 e 87% na Coorte 4. Uma dose eficaz mais elevada (até $5,0 \times 10^8$ células) não foi tolerada em adultos se administrada como uma única infusão (coorte 1), com uma taxa inaceitável de mortes relacionadas com SLC (n = 3, 50%). A mesma dose (até $5,0 \times 10^8$ células), no entanto, foi associada à maior taxa de respostas duráveis se administrada em um regime de dosagem fracionada (coorte 4). A incidência de SLC, infecção e eventos adversos neurológicos foram menores e limitados a gravidade de grau 3 na coorte 4 quando comparada à população geral do estudo, que também relatou incidências e gravidade mais altas, incluindo fatalidade. Os dados de segurança e eficácia da coorte 4 mostraram que a abordagem de adiar ou descontinuar a segunda ou terceira dose de tisagenlecleucel da dose anterior, em caso de toxicidades, não pareceu ter um impacto negativo na eficácia.

O estudo A2201 (início: 2013, término 2017) é uma fase II, com o produto CTL019, em pacientes adultos com LLC r/r, cujo objetivo primário foi estimar a taxa de Resposta Completa aos 3 meses após a infusão. Esta investigação dividiu-se em 2 estágios. No estágio 1, avaliou-se duas coortes de dose, uma elevada ($1-5 \times 10^8$ células) e a outra baixa ($1-5 \times 10^7$ células), a fim de se determinar a dose ótima de CTL019. Onze pacientes receberam a dose mais elevada e 17 pacientes a dose menor. Os resultados demonstraram que a dose maior possui perfil de segurança similar à dose menor e possivelmente maior eficácia (TRG de 54% versus 23% e RC/RCi de 27% versus 7,7%), portanto, a dose maior foi escolhida como ótima e testada no estágio 2. No estágio 2, a coorte de dose maior foi expandida para mais 10 pacientes adicionais, no entanto, apenas 7 pacientes eram avaliáveis (2 receberam doses menores que a pretendida e 1 não completou o follow-up de 3 meses). Tisagenlecleucel foi administrado através de um regime de dosagem dividida (10% no Dia 1, 30% no Dia 2 e 60% no Dia 3) aos indivíduos. A taxa de RC / RCi de 3 meses para indivíduos avaliáveis foi de 42,9% (IC 90%: 12,9, 77,5). As TRG parecem semelhantes com a dosagem dividida usada no Estágio 2, quando comparada com infusão única da dose alta no Estágio 1. Os perfis de segurança para a dosagem dividida usada no Estágio 2 e infusão única de dose alta no Estágio

1 parecem ser semelhantes, com exceção da SLC, que tendeu a ocorrer com mais frequência com o regime de dosagem dividida.

5.2. Estudos clínicos LDGCB

A) C2201 (JULIET)

Data de início: 29 de julho de 2015

Data de corte dos dados: 20 de fevereiro de 2020

Data provável do relatório final: 2024

O estudo de referência (C2201) é um estudo multicêntrico, de braço único e de fase II em pacientes adultos com LDGCB recidivado ou refratário. Dos 167 pacientes incluídos, 115 receberam infusão de Kymriah®. Cinquenta e dois pacientes incluídos (31.1%) descontinuaram o estudo antes da infusão de tisagenlecleucel. Os motivos para descontinuação antes da infusão de Kymriah® incluíram morte (n = 16), decisão do médico/progressão da doença primária (n = 16), evento adverso (n = 4), decisão do participante (n = 2) e desvio do protocolo (n = 1). Além disso, o Kymriah® não pôde ser fabricado para 13 pacientes. Os pacientes foram incluídos em 2 coortes: 99 na coorte principal (pacientes tratados com tisagenlecleucel fabricado na Novartis Morris Plains, Estados Unidos) e 16 na coorte A (pacientes tratados com tisagenlecleucel produzido no Instituto *Fraunhofer für Zelltherapie*, Alemanha).

O objetivo primário foi avaliar a eficácia de tisagenlecleucel na Coorte principal, a partir da taxa de resposta global (TRG), que inclui resposta completa (RC) e resposta parcial (RP), conforme determinado por um Comitê de Revisão Independente, com base na Classificação de Lugano. Os objetivos secundários foram avaliar a segurança de tisagenlecleucel, tempo para a resposta, duração da resposta, sobrevida livre de evento, sobrevida livre de progressão, sobrevida global, e eficácia e segurança em subgrupos histológicos e moleculares. Outro objetivo secundário avaliou o perfil cinético celular *in vivo* (níveis, expansão e persistência) de tisagenlecleucel, imunogenicidade, presença de lentivírus competente de replicação, eficácia e segurança na Coorte A e TRG para todos os pacientes

tratados. O desfecho primário foi avaliado em 99 pacientes que receberam Kymriah® fabricado na instalação da Novartis dos EUA e que foram acompanhados por pelo menos 3 meses.

A idade mediana dos pacientes que receberam infusão foi de 56 anos (variação de 22 a 76 anos), 76,5% dos pacientes tinham doença em estágios III-IV e 51% haviam recebido 3 ou mais linhas de tratamento anteriores para LDGCB. Quarenta e nove por cento dos pacientes haviam recebido transplante de células-tronco anterior. Cinquenta e cinco por cento dos pacientes foram refratários à última linha de tratamento. O material de partida para leucaférese de todos os pacientes foi coletado e criopreservado antes ou durante a entrada no estudo. A maioria dos pacientes (103/115, 86%) recebeu terapia provisória enquanto aguardava pelo Kymriah® e 107/115 pacientes (93%) receberam quimioterapia de linfodepleção. Kymriah® foi administrado como infusão intravenosa em dose única em um centro de tratamento qualificado para o produto em escala hospitalar e ambulatorial.

Os pacientes receberam uma única infusão de tisagenlecleucel no dia 1 (Dose alvo no protocolo: 5×10^8 células T CAR+; intervalo de dose aceitável: 1×10^8 a 5×10^8). Um paciente recebeu uma dose de 0.1×10^8 células T CAR+ viáveis, ou seja, uma dose abaixo do intervalo de dose proposto. A dose máxima infundida foi de 6.0×10^8 células T positivas para CAR viáveis.

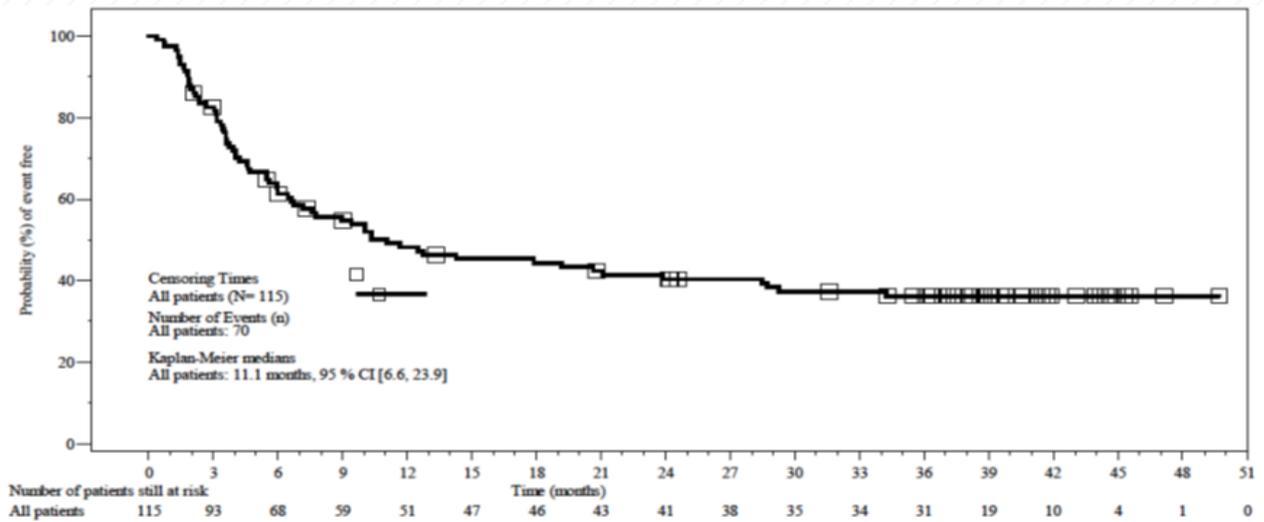
O estudo atendeu seu objetivo primário de avaliação da TRG pelo Comitê de Revisão Independente na primeira análise interina (20/12/2016) quando 51 pacientes da Coorte Principal tinham pelo menos 3 meses (90 dias) de follow-up ou haviam descontinuado antes. A TRG baseada na avaliação do CRI foi de 58,5% (IC 95%: 44.2, 72.4), com 22 pacientes (43.1%) atingindo RC e 8 pacientes (15.7%) atingindo RP. O resultado foi estatisticamente significativo com nível de alfa crítico unicaudal de 0,0047 ($p < 0.0001$ para rejeitar $H_0: ORR \leq 20\%$). Na análise interina com corte de dados de 20/02/2020, todos os pacientes infundidos da Coorte Principal (n=99) tinham um follow-up mediano de 41 meses (intervalo: 24 – 52.6 meses) e todos os pacientes infundidos (n=115) tinham um follow-up mediano de 40.3 meses (intervalo: 24 – 52.6 meses). A TRG determinada pelo CRI no conjunto

de análise completo da Coorte Principal foi de 54.5% (IC 95%: 44.2, 64.6%); 41 pacientes (41.4%) atingiram RC e 13 (13.1%) atingiram RP. A robustez dessa análise primária foi confirmada pelos resultados de uma série de análises de sensibilidade predefinidas, com a TRG variando de 36.7% a 55.7%, em diferentes conjuntos de análises, com todos os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% acima de 25%.

Na coorte principal, o tempo mediano até a resposta foi de 1.0 mês (IC de 95%: 0.9; 1.0); a duração da resposta mediana não foi alcançada; a probabilidade de estar livre de recidiva era de 78.4% (IC 95%: 64.4, 87.4) no mês 3 (a partir do início da resposta) e 60.8% (IC 95%: 45.4, 73,1) no mês 24. A duração da resposta observada no mês 24 se sustentou até o mês 42 (último data de corte de dados 20/02/20). Ainda na coorte principal, a sobrevida livre de eventos mediana foi de 2.8 meses (IC 95%: 2.2, 3.5); a taxa estimada de estar livre de eventos aos 6 meses foi de 36.2% (IC 95%: 26.8, 45.6), aos 18 meses foi de 28.8% (IC 95%: 20.2, 37.9) e aos 36 meses de 24.2% (IC 95%: 16.2, 33.2); a sobrevida livre de progressão mediana foi de 3 meses (IC 95%: 2.4, 6.2); a probabilidade estimada de estar livre de progressão no mês 3 foi de 47.1% (IC 95%: 36.6, 56.9), no mês 24 de 33.3% (IC 95%: 23.6, 43.4), no mês 36 de 31.6 % (IC 95%: 21.9, 41.7); a sobrevida geral mediana foi de 12.5 meses (IC 95%: 7.2, 29.2); a probabilidade estimada de sobrevivência no mês 24 foi de 42.5% (IC 95%: 32.4, 52.3), no mês 36 e 42 foi de 38.8% (IC 95%: 28.8, 48.6).

As taxas de resposta foram consistentemente altas e robustas nos principais subgrupos demográficos e prognósticos de pacientes (p. ex., tratamentos anteriores, estágio da doença, subtipo molecular, grupo de risco do Índice Prognóstico Internacional). A TRG segundo a avaliação do CRI foi consistentemente $\geq 41.2\%$ em todos os subgrupos avaliados, com exceção dos 14 pacientes com idade < 40 anos (TRG: 14.3%). No entanto, esse subgrupo é pequeno demais para tirar qualquer conclusão definitiva sobre a eficácia. Vale notar que pacientes com idades ≥ 65 anos, que geralmente não são candidatos a transplante ($n = 24$), beneficiaram-se do tratamento com tisagenlecleucel (TRG: 62.5%).

Figura 2. Curva Kaplan-Meier de sobrevida global (SG) – FAZ



- Full analysis set (FAS) = All patients who received an infusion of CTL019
 - Time is relative to first CTL019 infusion date, 1 month=30.4375 days.

Fonte: *Interim clinical study report for updated analysis 24 months post last patient infused with a data cutoff of 20-Feb-2020 (Study is ongoing)*

Todos os pacientes infundidos experimentaram pelo menos um EA. Os EAs mais comuns ($\geq 20\%$ dos pacientes) com suspeita de estarem relacionados ao medicamento do estudo foram SLC (57,4%), pirexia (24,3%) e hipotensão (20,0%). Os EAs de grau 4 mais frequentes ($\geq 5\%$ dos pacientes) com suspeita de estarem relacionados ao medicamento do estudo foram a contagem de neutrófilos reduzida (13,9%), a contagem de plaquetas reduzida, a contagem de leucócitos reduzida (10,4% cada) e SLC (7,8%). EAG foram relatados em 68.7% dos pacientes (79/115), sendo os mais frequentes: SLC (27 %); neutropenia febril (8.7%); pirexia (7.8%) e pneumonia (5.2%). O principal evento adverso do estudo foi a SLC, com tempo mediano de início de 3 dias, e tempo mediano de duração de 7 dias. Após 8 semanas, não houve relato de SLC.

Neutropenia prolongada (grau laboratorial 3 ou 4 não resolvida até o dia 28) foi observada em 25,2% dos pacientes. Entre os 29 pacientes com neutropenia de grau 3 ou 4 não resolvida até o dia 28, 15 pacientes apresentaram infecção de grau 3 ou 4 que começou pelo menos 28 dias após a infusão de tisagenlecleucel. Essas infecções foram tratadas com cuidados de suporte de rotina e não houve mortes devido a eventos infecciosos com neutropenia em curso > 28 dias após a infusão de tisagenlecleucel. Quarenta e três pacientes (37,4%) tiveram infecções dentro de 8

semanas após a infusão, relatados como grau 3 em 20 pacientes ou grau 4 em 2 pacientes. As infecções foram tratadas com medidas de suporte padrão e antibióticos.

Trombocitopenia com duração superior a 28 dias foi observada em 45 pacientes (39,1%). Com base na análise KM, a probabilidade estimada de trombocitopenia estar resolvida foi de 61,5% (IC de 95%: 43,3, 79,9) no mês 3 e 78,3% (IC de 95%: 58,4, 93,1) no mês 6. Dois pacientes relataram síndrome de lise tumoral que se revolveu com medidas padrão.

Eventos neurológicos dentro de 8 semanas após a infusão foram relatados em 23 pacientes (20,0%); 8 pacientes (7,0%) tiveram grau 3 e 5 pacientes (4,3%) tiveram eventos neurológicos grau 4. O evento neurológico de grau 4 de ocorrência mais comum foi encefalopatia, que ocorreu em 4 pacientes durante um episódio de SLC. A maioria dos eventos foi tratada com cuidados de suporte e muitos deles resolvidos. Não houve mortes atribuíveis a eventos neurológicos.

No sangue periférico, a extensão da expansão máxima (Cmax) e o tempo mediano para atingir Cmax (Tmax) foram semelhantes entre os pacientes que responderam (RC / RP) e os que não responderam (doença estável (SD), doença progressiva (PD) e status de resposta desconhecido). Alta variabilidade interindividual foi associada aos parâmetros cinéticos celulares. Em pacientes com RC e RP, a meia-vida do nível de transgene no sangue periférico era mais longa (decaência mais lenta) do que a meia-vida em pacientes com resposta SD/PD/Status desconhecido, embora a avaliação tenha sido realizada em uma extensão de tempo menor nos pacientes não responsivos versus os responsivos. A mediana de Tlast (um indicador para a duração da persistência de tisagenlecleucel) foi de 727 dias (variação: 17,1 a 1370 dias) em pacientes com RC e RP. Os anticorpos anti-mCAR19 pré-existent e induzidos pelo tratamento (imunogenicidade humoral) não tiveram impacto no resultado clínico e na cinética celular. Não houve nenhum impacto da resposta imunogênica celular na resposta do mês 3 ou na cinética celular. Tisagenlecleucel continua a se expandir e persistir após a administração de tocilizumabe.

Não houve mortes atribuíveis à SLC ou a eventos neurológicos graves. O perfil de segurança do tisagenlecleucel indicou que certos EAs são decorrentes da ação esperada do produto e podem ser gerenciados adequadamente com medidas de suporte. Em conclusão, os resultados demonstram que o tisagenlecleucel fornece um benefício clinicamente significativo com um perfil de segurança administrável em pacientes adultos com LGCB r/r inelegíveis para TCT que não têm opções de tratamento eficazes disponíveis.

Tabela 7. Mortes e outros eventos adversos graves ou clinicamente significativos após a infusão do Tisagenlecleucel.

	All patients N=115
Death within 30 days post CTL019 infusion	3 (2.6)
Death >30 days post CTL019 infusion	67 (58.3)
Patients with serious or other significant events	
Any time post CTL019 infusion	
SAE	82 (71.3)
Suspected to be study drug related	58 (50.4)
Grade 3/4 AE	104 (90.4)
Suspected to be study drug related	73 (63.5)
Within 8 weeks post CTL019 infusion	
SAE	56 (48.7)
Suspected to be study drug related	47 (40.9)
Grade 3/4 AE	98 (85.2)
Suspected to be study drug related	67 (58.3)
AE of special interest (AESI) based on identified risks	91 (79.1)
Grade 3/4 AESI	64 (55.7)
Suspected to be study drug related	77 (67.0)
>8 weeks post CTL019 infusion	
N=100	
SAE	40 (40.0)
Suspected to be study drug related	14 (14.0)
Grade 3/4 AE	55 (55.0)
Suspected to be study drug related	24 (24.0)

Fonte: *Interim clinical study report for updated analysis 24 months post last patient infused with a data cutoff of 20-Feb-2020 (Study is ongoing)*

Cabe esclarecer que há dezesseis pacientes que descontinuaram o acompanhamento do estudo por motivos diferentes de morte (um paciente devido a EA, quatro pacientes devido a decisão do médico, oito pacientes devido a doença progressiva, três pacientes devido a decisão do participante) e, em seguida, faleceram. Portanto, de acordo com o último corte de dados (20-fev-2020), no estudo C2201, há 70 pacientes mortos por qualquer causa, incluindo 16 pacientes

que descontinuaram por motivos diferentes da morte e faleceram após descontinuar o acompanhamento primário ou secundário e 36 pacientes que tem o acompanhamento do estudo em andamento.

Tabela 8. Mortes (conjunto de pacientes recrutados)

Principal cause of death	All patients n (%)
Patients enrolled	N=167
Any time before CTL019 infusion	31 (18.6)
Diffuse large b-cell lymphoma	26 (15.6)
Acute respiratory failure	1 (0.6)
Brain injury	1 (0.6)
Intestinal perforation	1 (0.6)
Metabolic acidosis	1 (0.6)
Pneumonia influenzal	1 (0.6)
Patients infused	N=115
Any time post CTL019 infusion	70 (60.9)
Any time within 30 days of CTL019 infusion	3 (2.6)
Diffuse large b-cell lymphoma	3 (2.6)
Any time >30 days after CTL019 infusion	67 (58.3)
Diffuse large b-cell lymphoma	54 (47.0)
Death	2 (1.7)
Multiple organ dysfunction syndrome	2 (1.7)
Acute myeloid leukaemia	1 (0.9)
Cardiopulmonary failure	1 (0.9)
Cerebral haemorrhage	1 (0.9)
Chronic kidney disease	1 (0.9)
Duodenal ulcer haemorrhage	1 (0.9)
Neuroendocrine carcinoma	1 (0.9)
Pulmonary haemorrhage	1 (0.9)
Sepsis	1 (0.9)
Staphylococcal infection	1 (0.9)

Fonte: *Interim clinical study report for updated analysis 24 months post last patient infused with a data cutoff of 20-Feb-2020 (Study is ongoing)*

Onze pacientes apresentaram doenças malignas secundárias: câncer de próstata (3 pacientes), carcinoma basocelular (2 pacientes), leucemia mieloide aguda (1), doença de *Bowen* (1), carcinoma ductal invasivo de mama (1), tumor neuroendócrino (1), leucemia mielóide aguda (1) e síndrome mielodisplásica (1). Nenhum desses eventos foi suspeito de estar relacionado ao tratamento com tisagenlecleucel. Um paciente (C2201-1201-004) foi diagnosticado com carcinoma neuroendócrino no dia 231 e morreu no mesmo dia devido ao EAG. Nem o EAG de carcinoma neuroendócrino nem a morte foram suspeitos de estarem relacionados ao tratamento com tisagenlecleucel.

5.3. Comparação de eficácia entre as terapias aprovadas no mundo para LLA de células B r/r e tisagenlecleucel

A empresa apresentou relatório com os resultados de comparações indiretas de TRG e SG realizadas por meio do método MAIC (*Matching-Adjusted Indirect Comparisons*). Na ausência de uma comparação direta entre tratamentos, o MAIC é uma abordagem que possibilita uma comparação indireta de tratamentos de ensaios distintos. Essa abordagem utiliza dados individuais dos pacientes de ensaios de um determinado tratamento para parear com as características basais relatadas para um ensaio com outro tratamento.

O primeiro passo para aplicar o MAIC é realizar a seleção dos ensaios clínicos, a partir da condução de uma revisão sistemática para identificar os estudos que utilizaram o tratamento que será utilizado como comparador. As características do estudo, como o seu desenho, os critérios de inclusão/exclusão empregados e os métodos de avaliação dos resultados, devem ser consideradas a fim de diminuir as fontes de heterogeneidade e vieses.

A seguintes comparações foram realizadas:

- CTL019 vs. blinatumomabe
- CTL019 vs. clofarabina + etoposídeo + ciclofosfamida (CEC)
- CTL019 vs. monoterapia com clofarabina

Os dados do tratamento com tisagenlecleucel foram obtidos dos estudos B2202 (ELIANA), B2205J (ENSIGN) e B2101J. Os dados do tratamento com blinatumomab foram retirados da publicação de von Stackelberg et al. (2016) (*“Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia”*). Os dados do tratamento com CEC foram retirados de Miano et al. (2012) (*“Clofarabine, cyclophosphamide and etoposide for the treatment of relapsed or resistant acute leukemia in pediatric patients”*); Locatelli et al. (2009) (*“Clofarabine, cyclophosphamide and etoposide as single- course re-induction therapy for children with refractory/multiple relapsed acute lymphoblastic leukaemia”*) e Hijiya et al. (2011) (*“Phase 2 trial of clofarabine in combination with etoposide and cyclophosphamide in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leucemia”*). Os dados do tratamento com

monoterapia com clofarabina foram retirados de Jeha et al (2006) (“Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia”).

Tabela 9. Eficácia de tratamentos disponíveis para pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA-B r/r.

	Clofarabina mono¹	Clofarabina + etoposídeo + ciclo²	Clofarabina + etoposídeo + ciclo³	Blinatumomabe⁴
Pacientes, N	61	25	17	70
≥ 3 regimes prévios	62%	28%	NA	7%
TRG (RC+RCi)	20%	44%	76%	39%
SG mediana	3.0 meses	2.5 meses	9.0 meses	7.5 meses
SG de 12 meses	20%	30%	33%	40%
Mortalidade precoce (em até 30 dias)	25%	20%	NA	7%

RC: resposta completa; RCi: resposta completa com recuperação hematológica incompleta; TRG: taxa de resposta global.

Fonte: 1. [Jeha et al 2006](#), 2. [Hijiya et al 2011](#), 3. [Locatelli et al 2009](#), 4. [Von Stackelberg et al 2016](#).

Apesar das opções terapêuticas disponíveis, não existe um regime padrão de tratamento de quimioterapia de resgate para LLA-B r/r.

As características basais foram ajustadas durante a análise MAIC. Devido ao tamanho limitado das amostras, o ajuste para todas as características do paciente não é possível. Por essa razão, consultou-se médicos e revisou-se a literatura, para que as características basais disponíveis pudessem ser classificadas como “alta”, “média” ou “baixa” em termos de importância relativa para o ajuste nas análises MAIC. Uma classificação “baixa” não significa que a variável não é clinicamente importante; em vez disso, indica que se espera que o ajuste da variável tenha um efeito relativamente pequeno nos resultados do MAIC. Para cada comparação, duas análises foram conduzidas: uma análise ajustando apenas para características classificadas como “altas” e uma análise de sensibilidade tentando ajustar as características classificadas como “altas” e “médias”.

Após o ajuste para diferenças populacionais via MAIC, estimou-se que o CTL019 possui SG e TRG superiores ao blinatumomabe, CEC e monoterapia com clofarabina. O grau de benefício observado foi amplamente consistente, independentemente de a comparação ter sido feita usando apenas B2202 ou usando os estudos CTL019 agrupados e foi amplamente consistente entre a análise primária e as análises de sensibilidade. As diferenças nos resultados foram

geralmente significativas no nível de confiança de 95%. Ao interpretar esses resultados, é importante considerar algumas limitações. Uma análise MAIC pressupõe que as características basais consideradas se ajustam a todas as diferenças entre os ensaios. No entanto, não foi possível ajustar para todas as variáveis importantes com os dados disponíveis. Devido à falta de braços comparadores comuns, esta análise também não foi capaz de avaliar e ajustar os efeitos residuais que podem existir entre os comparadores. As diferenças estruturais entre os ensaios também não foram ajustadas. Além disso, os estudos incluídos nesta análise foram conduzidos com até uma década de intervalo e quaisquer mudanças no cuidado além do tratamento primário não foram ajustadas.

Nas tabelas e figuras abaixo seguem os resultados desta comparação.

Tabela 10. Comparação das taxas de reposta geral (TRG) de CTL019 e demais comparadores.

Adjustment Scenario	Population	Rate (95% CI)
CTL019 vs. Blinatumomab	Blinatumomab	38.6 (27.2, 51)
	CTL019 (pooled) Matched	85.9 (76.7, 92.4)
	CTL019 (pooled) Unmatched	83.8 (77.1, 89.1)
CTL019 vs. Blinatumomab SA	Blinatumomab	38.6 (27.2, 51)
	CTL019 (pooled) Matched	80.5 (66.8, 90.4)
	CTL019 (pooled) Unmatched	83.8 (77.1, 89.1)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab	Blinatumomab	38.6 (27.2, 51)
	CTL019 (B2202) Matched	83.7 (67.3, 94)
	CTL019 (B2202) Unmatched	81.3 (70.7, 89.4)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab SA	Blinatumomab	38.6 (27.2, 51)
	CTL019 (B2202) Matched	81.8 (63.3, 93.4)
	CTL019 (B2202) Unmatched	81.3 (70.7, 89.4)
CTL019 vs. CEC	CEC (pooled)	48.6 (36.9, 60.6)
	CTL019 (pooled) Matched	82.7 (74.2, 89.4)
	CTL019 (pooled) Unmatched	83.8 (77.1, 89.1)
CTL019 (B2202 only) vs. CEC	CEC (pooled)	48.6 (36.9, 60.6)
	CTL019 (B2202) Matched	80.2 (66.5, 90.1)
	CTL019 (B2202) Unmatched	81.3 (70.7, 89.4)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy	Clofarabine Monotherapy	19.7 (10.6, 31.8)
	CTL019 (pooled) Matched	80.8 (71.2, 88.3)
	CTL019 (pooled) Unmatched	83.8 (77.1, 89.1)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy SA	Clofarabine Monotherapy	19.7 (10.6, 31.8)
	CTL019 (pooled) Matched	79.4 (68.1, 88.1)
	CTL019 (pooled) Unmatched	83.8 (77.1, 89.1)
CTL019 (B2202 only) vs. Clofarabine Monotherapy	Clofarabine Monotherapy	19.7 (10.6, 31.8)
	CTL019 (B2202) Matched	77.9 (61.2, 89.8)
	CTL019 (B2202) Unmatched	81.3 (70.7, 89.4)

Tabela 11. Probabilidade de Sobrevida global (SG), aos 6 e 12 meses, de CTL019 e demais comparadores.

Scenario	Months	CTL019 Unmatched % (95% CI)	CTL019 Matched % (95% CI)	Comparator % (95% CI)
CTL019 vs. Blinatumomab	6	85.9 (80.6, 91.6)	84.7 (77.4, 92.7)	54.5 (43.1, 68.9)
CTL019 vs. Blinatumomab	12	75.2 (68.4, 82.7)	76.1 (67.4, 86)	36.9 (26.3, 51.7)
CTL019 vs. Blinatumomab SA	6	85.9 (80.6, 91.6)	79.6 (69.1, 91.6)	54.5 (43.1, 68.9)
CTL019 vs. Blinatumomab SA	12	75.2 (68.4, 82.7)	62.1 (49.6, 77.8)	36.9 (26.3, 51.7)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab	6	90.3 (83.7, 97.4)	91.5 (82.6, 100)	54.5 (43.1, 68.9)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab	12	76.4 (65.9, 88.5)	73.4 (58.5, 92)	36.9 (26.3, 51.7)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab SA	6	90.3 (83.7, 97.4)	91 (81.2, 100)	54.5 (43.1, 68.9)
CTL019 (B2202 only) vs. Blinatumomab SA	12	76.4 (65.9, 88.5)	70.8 (54.4, 92.2)	36.9 (26.3, 51.7)
CTL019 vs. CEC	6	85.9 (80.6, 91.6)	81.6 (74.5, 89.5)	60.5 (50.1, 73.1)
CTL019 vs. CEC	12	75.2 (68.4, 82.7)	70.6 (62, 80.3)	32.1 (22.3, 46.1)
CTL019 (B2202 only) vs. CEC	6	90.3 (83.7, 97.4)	85.9 (76.7, 96.3)	60.5 (50.1, 73.1)
CTL019 (B2202 only) vs. CEC	12	76.4 (65.9, 88.5)	75.2 (63.2, 89.6)	32.1 (22.3, 46.1)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy	6	85.9 (80.6, 91.6)	79.7 (71.8, 88.6)	32.8 (22.9, 47)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy	12	75.2 (68.4, 82.7)	68.1 (58.7, 78.9)	24.6 (15.8, 38.2)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy SA	6	85.9 (80.6, 91.6)	76.9 (67.6, 87.4)	32.8 (22.9, 47)
CTL019 vs. Clofarabine Monotherapy SA	12	75.2 (68.4, 82.7)	67.1 (56.7, 79.5)	24.6 (15.8, 38.2)
CTL019 (B2202 only) vs. Clofarabine Monotherapy	6	90.3 (83.7, 97.4)	84.9 (74, 97.4)	32.8 (22.9, 47)
CTL019 (B2202 only) vs. Clofarabine Monotherapy	12	76.4 (65.9, 88.5)	73.3 (59.6, 90.2)	24.6 (15.8, 38.2)

Abbreviations: CEC = clofarabine + etoposide + cyclophosphamide; CI = confidence interval; SA = sensitivity analysis

5.4. Comparação entre os parâmetros de eficácia do estudo clínico C2201 (JULIET) e controles histórico

O objetivo principal deste estudo foi comparar os resultados de eficácia (TRG, RC e SG) entre as populações que receberam tisagenlecleucel e grupos de controle históricos que receberam quimioterapias para LDGCB r/r. Pacientes com infusão de tisagenlecleucel de JULIET (conjunto de análise de eficácia [EAS] / conjunto de análise completo [FAS]) foram incluídos e comparados com pacientes nos seguintes grupos de controle históricos:

- Quimioterapias de resgate no estudo SCHOLAR-1;
- Quimioterapias de resgate em dois estudos de extensões CORAL entre pacientes que:

- Recidivaram após transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas ou
- Falharam em prosseguir para TACT após a segunda linha de tratamento;
- Pixantrone dimaleato (pixantrona) utilizado em pacientes previamente tratados com rituximabina, em estudo clínico fase III (PIX30)

Ao comparar os resultados entre o JULIET e os grupos de controle históricos considerados adequadamente semelhantes, etapas adicionais foram realizadas para contabilizar quaisquer diferenças nas características basais do paciente por meio de ajuste estatístico, quando possível. Esses ajustes foram realizados usando a abordagem MAIC (*Matching-Adjusted Indirect Comparisons*), que é uma extensão da ponderação do escore de propensão para configurações nas quais apenas dados agregados estão disponíveis para controles externos. Em particular, cada paciente no estudo com IPD disponível (pacientes da JULIET, neste caso) é reponderado com base em um modelo de escore de propensão de modo que, após reponderar, as características basais médias entre esses pacientes correspondam às relatadas para o grupo controle externo. Após tal ajuste, os resultados dos pacientes (por exemplo, RC, TRG e SG) são comparados em populações equilibradas, mitigando assim o risco de viés devido às diferenças nas características do paciente.

As comparações não ajustadas e ajustadas (usando MAIC) foram conduzidas para os estudos JULIET vs. SCHOLAR-1 e vs. CORAL; apenas comparações não ajustadas foram conduzidas para JULIET vs. Pixantrona, devido à falta de dados basais disponíveis para o subgrupo relevante do estudo PIX301. As comparações acima mencionadas foram realizadas para a população de pacientes infundidos com tisagenlecleucel (análise primária) e a população de pacientes recrutados (análise de sensibilidade) do estudo JULIET.

A meta-análise sistemática SCHOLAR-1 (Crump et al 2017) integrou dados de 2 estudos clínicos e 2 coortes de observação, com um total de 636 pacientes com LDGCB refratário a quimioterapia (ou seja, sem resposta à última linha de tratamento ou recidiva dentro de 12 meses após TACT). Este estudo retrospectivo

constitui-se em uma referência de dados históricos para avaliar os resultados em LDGCB refratário à quimioterapia.

O estudo CORAL foi um ensaio clínico multicêntrico de fase III, randomizado, que comparou a eficácia de três ciclos de R-ICE ou R-DHAP, seguido por transplante autólogo de células tronco, com ou sem manutenção de rituximabe em pacientes de 18 a 65 anos com LDGCB previamente tratado.

O estudo com Pixantrona (PIX301) foi um ensaio fase III, multicêntrico, em que se explorou o efeito desta droga em pacientes com linfoma não Hodgkin de células B agressivo, refratário ou recidivado (50 participantes no grupo pixantrona; 47 participantes no grupo comparador – agente de escolha do médico, podendo ser: vinorelbine, oxaliplatin, ifosfamida, etoposide, mitoxantrone, gemcitabine, rituximab). Esta droga foi aprovada pela EMA para o tratamento de pacientes adultos com LNH agressivo com múltiplas recidivas ou refratário, entretanto, foi rejeitada pelo FDA, devido a preocupações como cardiotoxicidade e tamanho amostral limitado.

Tabela 12. Visão geral dos principais parâmetros de eficácia do estudo C2201 e controles históricos.

	CORAL (extensão) ^[1] N = 203	SCHOLAR-1 ^[2] N = 636	Pixantrona ^[3] N = 30 ^[5]	Estudo C2201 ^[4] N = 115
TRG (%)	39	26	30	60
RC (%)	27	7	20	44
SG mediana (meses)	4.4	6.3	6	10.3
Taxa de SG estimada em 12 meses (%)	23	28	Não apresentado	48

RC = resposta completa; TRG = taxa de resposta global; SG = sobrevida global.

^[1] Van Den Neste et al (2016); ^[2] Crump et al (2017); ^[3] Pettengel et al (2016); ^[4] [Estudo C2201 IA 2019]

^[5] Pacientes com terapia anterior com rituximabe

A principal limitação desses estudos comparativos em relação ao estudo C2201 (JULIET) foi a definição de resposta ao tratamento. Os estudos SCHOLAR, CORAL e Pixantrona utilizaram o critério de resposta de 1999 do IWG enquanto o estudo C2201 utilizou a Classificação de Lugano. Para avaliar o impacto desta divergência, a empresa realizou uma análise exploratória com os dados de JULIET seguindo os critérios de 1999 do IWG. As respostas com ambas as classificações (Lugano e IWG) foram bastante similares, conforme tabela a seguir.

Tabela 13. Análise exploratória da melhor resposta global pelos critérios de resposta de 1999 do IWG e pela Classificação de Lugano, no estudo JULIET (Conjunto de análise de eficácia da coorte principal, N=93)

Response, N (%)	1999 IWG response criteria	Lugano Classification
ORR ¹	47 (51%)	48 (52%)
CR ²	30 (32%)	37 (40%)
CRu	1 (1%)	-
PR	16 (17%)	11 (12%)
SD	18 (19%)	14 (15%)
PD	21 (23%)	24 (26%)
Unknown	7 (8%)	7 (8%)

Abbreviations:

CR: complete response; CRu: unconfirmed complete response; CT: computed tomography; EAS: efficacy analysis set; MRI: magnetic resonance imaging; ORR: overall response rate; PD: progressive disease; PET: positron emission tomography; PR: partial response; SD: stable disease

Notes:

[1] ORR is very similar per 1999 IWG response criteria and per Lugano Classification.

[2] CR is higher per Lugano classification because 7 patients with CT/MRI response of PR or SD were upgraded to CR based on complete metabolic response seen on PET scan.

5.4.1. JULIET vs SCHOLAR-1

Os pacientes no estudo JULIET que preencheram os seguintes critérios de refratariedade de SCHOLAR-1 foram incluídos na comparação de JULIET vs. SCHOLAR-1:

- DP (doença progressiva) ou DE (doença estável) como melhor resposta à quimioterapia ou recidiva ≤ 12 meses pós-transplante autólogo de células tronco

As seguintes análises foram realizadas:

- Comparação de TRG / RC: pacientes que receberam infusão na coorte principal do estudo JULIET (EAS) e preencheram os critérios SCHOLAR-1 vs. pacientes SCHOLAR-1
- Comparação de OS: pacientes que receberam infusão em ambas as coortes do estudo JULIET (FAS) que atenderam aos critérios SCHOLAR-1 vs. pacientes SCHOLAR-1

As análises de sensibilidade foram conduzidas usando uma abordagem semelhante na população recrutada no JULIET:

- Comparação de TRG / RC: pacientes inscritos na JULIET na Coorte Principal que atenderam aos critérios SCHOLAR-1 vs. pacientes SCHOLAR-1
- Comparação de OS: pacientes inscritos na JULIET em ambas as coortes que atenderam aos critérios SCHOLAR-1 vs. pacientes SCHOLAR-1

As características basais foram medidas na triagem no estudo JULIET. No SCHOLAR-1, as características basais foram medidas no momento do diagnóstico para coortes observacionais e na randomização para estudos randomizados. A correspondência das características do paciente foi baseada no SCHOLAR-1 e respectivas populações JULIET especificadas para cada análise. As variáveis incluídas no ajuste de correspondência foram:

- a) Sexo
- b) Diagnóstico primário (DLBCL vs. não DLBCL)
- c) Classificação de risco do Índice Prognóstico Internacional (IPI) (<2 vs. ≥ 2)
- d) Categoria refratária (refratário primário, refratário a terapia de segunda linha ou maior, recidiva ≤ 12 meses após transplante autólogo de células tronco)

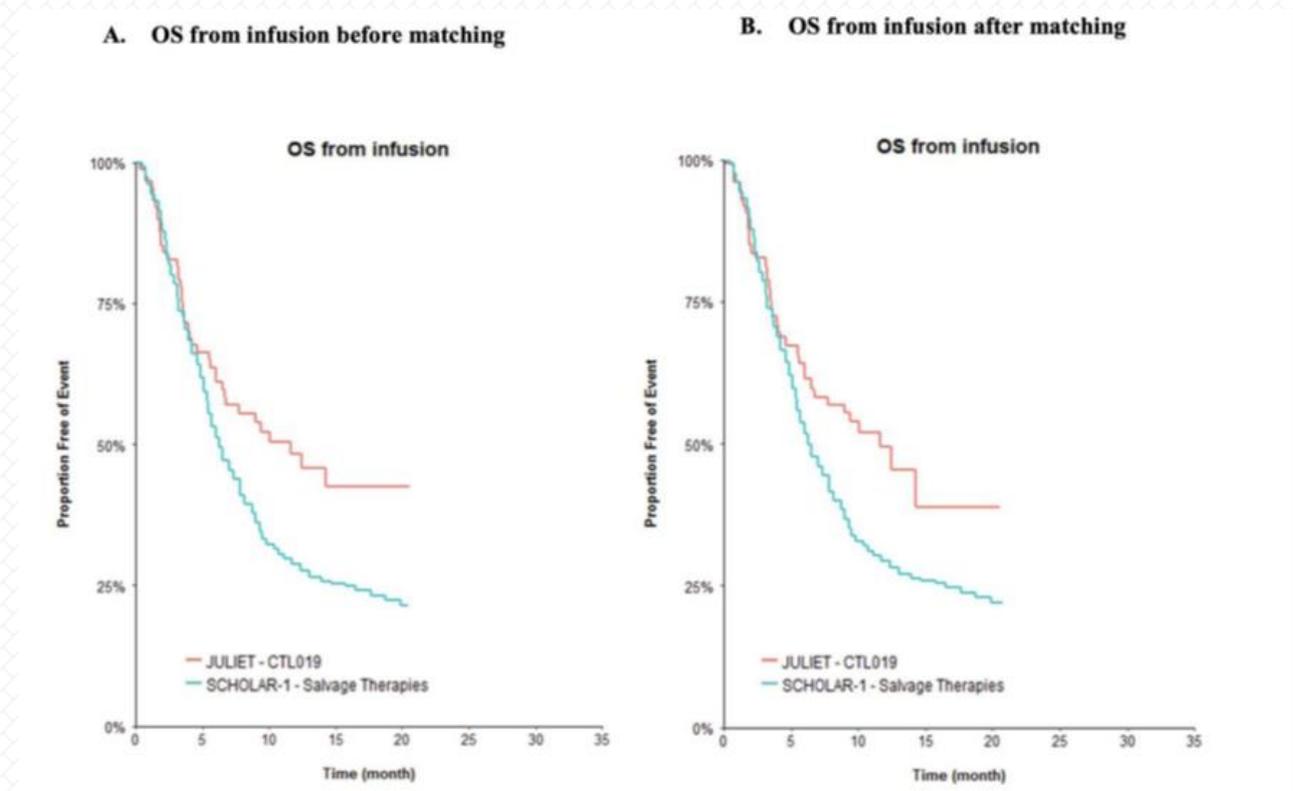
Após o pareamento (*matching*), as características basais foram comparadas entre as populações JULIET e SCHOLAR-1 usando testes t ponderados, para variáveis contínuas, e testes qui-quadrados ponderados, para variáveis categóricas. Todas as análises foram conduzidas usando o software SAS 9.4 (SAS Institute Inc. Cary NC) e o software R versão 3.3.2 (*R Foundation for Statistical Computing*). A significância estatística foi considerada ao nível de 0,05 ($\alpha = 0,05$).

Entre os pacientes da Coorte principal do JULIET, 74 preencheram os critérios de inclusão SCHOLAR-1. As comparações de TRG e RC foram realizadas contra 523 pacientes com resposta avaliável no SCHOLAR-1. Antes do pareamento, tisagenlecleucel foi associado a RC e TRG significativamente maiores em comparação com quimioterapias de resgate em SCHOLAR-1 (RC: 37,8% vs. 7,0%, valor de $p < 0,01$; TRG: 47,3% vs. 26,0%, valor de $p < 0,01$) Após o pareamento por sexo, diagnóstico primário (DLBCL ou outros), classificação de risco IPI e categoria refratária, as diferenças em RC e TRG permaneceram significativas (RC: 37,8% vs. 7,0%, valor de $p < 0,01$; TRG: 46,5% vs. 26,0%, valor de $p < 0,01$).

Já a SG foi avaliada considerando ambas as coortes do estudo JULIET, e 90 pacientes que preencheram os critérios de inclusão de SCHOLAR-1. A comparação de SG foi conduzida contra 603 pacientes com dados de SG disponíveis no SCHOLAR-1. Antes e após o pareamento, a SG mediana foi de 11,7 meses (6.0, NR) e 6,3 meses (5.9, 7.0) para JULIET e SCHOLAR, respectivamente. Antes do pareamento, tisagenlecleucel foi associado a um risco 34% menor de morte do que quimioterapias de resgate (log-rank p-valor $< 0,05$; HR [IC 95%] = 0,66 [0,48, 0,90]). Após o pareamento, o risco de morte permaneceu significativamente menor com tisagenlecleucel vs. quimioterapias de resgate (log-rank ponderado p-valor $< 0,05$; HR [IC 95%] = 0,68 [0,48, 0,96]).

Na análise de sensibilidade, o JULIET inscreveu pacientes com melhor resposta global desconhecida e pacientes não infundidos na Coorte Principal foram considerados como não respondedores para TRG/RC. A análise de sensibilidade foi realizada considerando dois cenários: os 117 pacientes recrutados na coorte principal do JULIET que atenderam aos critérios de inclusão do SCHOLAR-1 (contra 523 pacientes do SCHOLAR-1) para avaliar TRG e RC; os 134 pacientes recrutados em ambas as coortes do JULIET que atendem aos critérios de inclusão do SCHOLAR-1 (contra 603 pacientes do SCHOLAR-1) para a análise de SG. Os resultados da análise de sensibilidade mostram que, após o pareamento, a TRG foi de 32,1% para o JULIET versus 26% para SCHOLAR-1; enquanto a taxa de RC foi de 26,2% para JULIET versus 7% para SCHOLAR-1. Já o resultado da SG mediana, após o pareamento, foi de 8,4 meses para JULIET e 6,3 meses para o SCHOLAR-1.

Figura 6. Curva Kaplan-Meier de SG comparando pacientes infundidos no JULIET (FAS, ambas coortes) e SCHOLAR-1



5.4.2. JULIET vs CORAL

Todos os pacientes de JULIET, independentemente do número de linhas de terapia anteriores, foram incluídos nas análises para fornecer tamanhos de amostra suficientes para realizar os ajustes basais com os estudos de extensão CORAL. Observou-se que esta escolha pode resultar em viés contra JULIET ao comparar os resultados, uma vez que alguns pacientes em JULIET falharam em mais de duas linhas de terapia anterior, enquanto os pacientes no estudo de extensão CORAL foram obrigados a falhar apenas em duas linhas de terapia anterior.

Nas análises primárias, todos os pacientes infundidos em JULIET foram incluídos. Os dois conjuntos de análises a seguir foram realizados:

- Comparação de TRG / RC: pacientes infundidos de JULIET na coorte principal vs. pacientes CORAL agrupados
- Comparação de SG: pacientes infundidos de JULIET em ambas as coortes (FAS) vs. pacientes CORAL agrupados

As análises de sensibilidade foram conduzidas usando uma abordagem semelhante na população inscrita no JULIET.

- Comparação de TRG / RC: pacientes recrutados no JULIET na Coorte Principal vs. pacientes CORAL agrupados
- Comparação de SG: pacientes recrutados no JULIET em ambas as coortes vs. pacientes CORAL agrupados

Em cada comparação, os pacientes de JULIET com ausência de valores de características basais a serem pareadas foram excluídos da análise. As variáveis incluídas no ajuste de pareamento foram:

- a) Sexo
- b) Classificação de risco IPI (<3 vs. ≥3)
- c) TCTH autólogo como a terapia mais recente e recidiva após TCTH (sim vs. não)

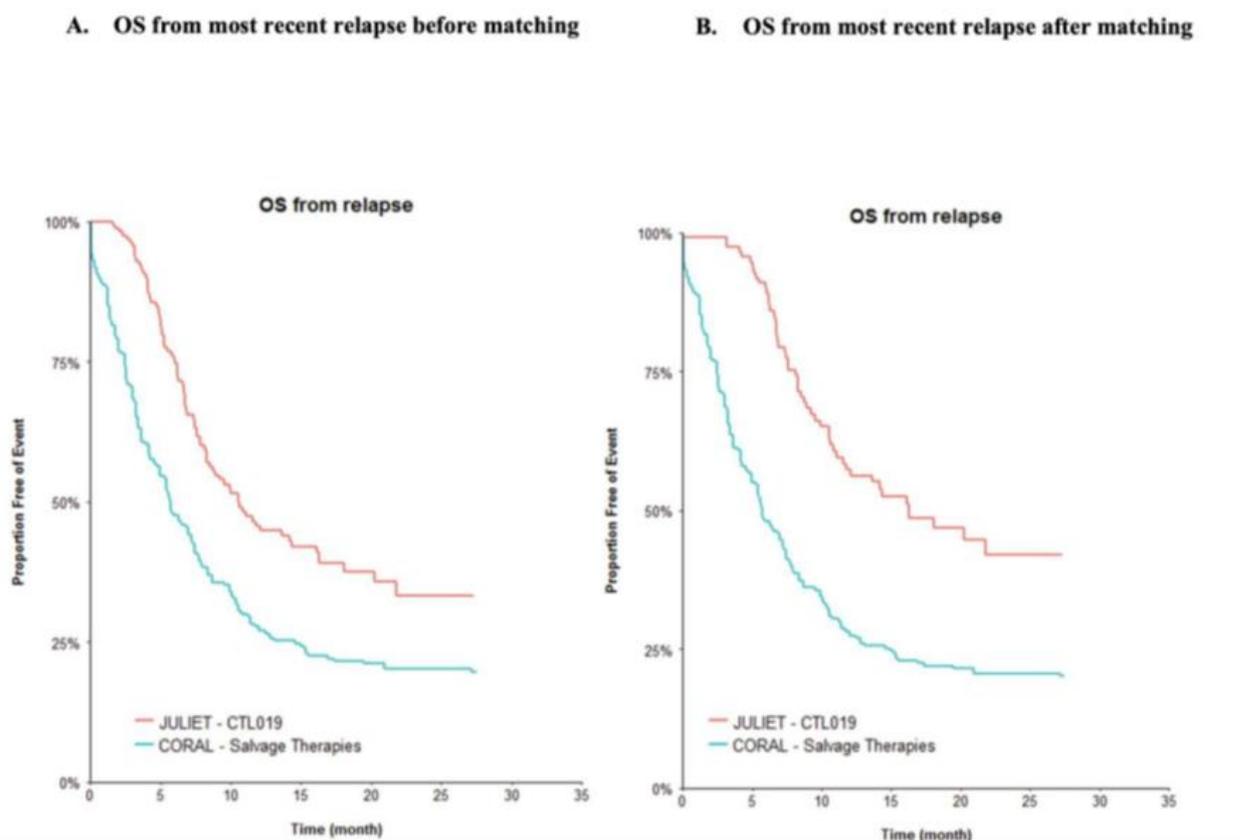
Idade, status de desempenho ECOG e estágio da doença não foram combinados individualmente, pois já estão incluídos como componentes na classificação de risco IPI. O ajuste para o número de linhas de terapia anterior não era viável, uma vez que todos os pacientes nos estudos de extensão CORAL receberam exatamente duas linhas de terapia anterior. Da mesma forma, o diagnóstico primário (DLBCL vs. não DLBCL) não foi pareado porque todos os pacientes nos estudos de extensão CORAL foram considerados como tendo DLBCL como o diagnóstico primário. O estado refratário, que foi incluído no ajuste para comparações com o SCHOLAR-1, não foi relatado nos estudos de extensão CORAL.

As comparações de TRG e RC foram realizadas com 93 pacientes do JULIET contra 278 pacientes do CORAL. Antes do pareamento, tisagenlecleucel foi associado a RC e TRG significativamente maiores em comparação com quimioterapias de resgate nos estudos de extensão CORAL (RC: 39,8% vs. 28,4%, p-valor <0,05; TRG: 51,6% vs. 40,3%, p-valor = 0,06). Após o pareamento por gênero, classificação de risco IPI e ASCT, tanto RC e TRG foram significativamente maiores para tisagenlecleucel (RC: 40,6% vs. 28,4%, p-valor <0,05; TRG: 52,5 % vs. 40,3%, valor de p <0,05). As comparações de SG foram realizadas com 111 pacientes de JULIET contra 266 pacientes do CORAL. Antes e após o pareamento,

os pacientes que receberam tisagenlecleucel foram associados com uma SG mediana de 16,3 meses e os pacientes de CORAL com uma SG mediana de 5,8 meses.

Na análise de sensibilidade para TRG e RC, 144 pacientes recrutados na Coorte principal foram incluídos contra 278 pacientes de CORAL. Antes do pareamento, os valores de TRG e RC em JULIET foram semelhantes às das quimioterapias de resgate nos estudos CORAL (RC: 25,7% vs. 28,4%, valor $p = 0,55$; TRG: 34,0% vs. 40,3%, valor $p = 0,20$). Após o pareamento, a TRG e RC nos pacientes de JULIET permaneceram semelhantes às das quimioterapias de resgate nos estudos de extensão CORAL (RC: 26,7% vs. 28,4%, valor de $p = 0,71$; TRG: 35,3% vs. 40,3%, p -valor = 0,32). Na análise de sensibilidade para SG, 164 pacientes de ambas as coortes de JULIET foram analisados contra 266 pacientes de CORAL, a SG mediana de JULIET foi de 10,6 meses e de CORAL de 5,8 meses. Tisagenlecleucel foi associado a um risco 47% menor de morte do que quimioterapias de resgate (log-rank p -valor $<0,01$; HR [IC de 95%] = 0,53 [0,41, 0,69]).

Figura 7. Curva Kaplan-Meier de SG comparando pacientes infundidos no JULIET (FAS, ambas coortes) e estudos de extensão CORAL agrupados



5.4.3. JULIET vs PIX301

Todos os pacientes de JULIET da coorte principal foram incluídos na comparação, pois todos tinham exposição anterior ao rituximabe. Pacientes do estudo PIX301 que receberam pixantrona e receberam rituximabe anterior foram incluídos. Na análise primária comparando TRG/RC, foram incluídos os pacientes infundidos com tisagenlecleucel da coorte principal de JULIET. Na análise de sensibilidade, os pacientes recrutados na Coorte principal de JULIET foram incluídos.

Noventa e três pacientes infundidos na Coorte principal de JULIET foram incluídos nas comparações não ajustadas de TRG/RC vs. pixantrona. As comparações de TRG e RC foram então conduzidas contra 30 pacientes com tratamento anterior com rituximabe que receberam pixantrona como tratamento de terceira ou quarta linha no estudo PIX301. Na comparação não ajustada, tisagenlecleucel foi associado a RC e TRG significativamente maiores em comparação com pixantrona (RC: 39,8% vs. 20,0%, valor de $p < 0,05$; TRG: 51,6% vs. 30,0%, valor de $p < 0,05$). As taxas de resposta para tisagenlecleucel vs. pixantrona foram maiores em 19,8 pontos percentuais (IC 95%: 2,3%, 37,2%) para RC e em 21,6 pontos percentuais (2,3%, 40,9%) para TRG.

Na análise de sensibilidade, foram incluídos 145 pacientes de JULIET recrutados na Coorte Principal (50 pacientes sem infusão de tisagenlecleucel foram imputados como não responsivos). A mesma população de pixantrona usada nas análises primárias foi usada nas análises de sensibilidade. Na comparação não ajustada, tisagenlecleucel foi associado a RC e TRG semelhantes em comparação com pixantrona (RC: 25,5% vs. 20,0%, p -valor = 0,50; TRG: 33,8% vs. 30,0%, valor de $p = 0,68$).

A comparação não ajustada de JULIET vs. pixantrona pode estar sujeita a fatores de confusão devido às diferenças nas características basais que podem impactar os resultados (por exemplo, número de linhas anteriores de tratamento e outros fatores prognósticos importantes). Além disso, apenas TRG e RC foram incluídos na comparação não ajustada, pois as curvas KM de SG não estavam

disponíveis para pacientes tratados com pixantrona com exposição anterior a rituximabe no estudo PIX30.

5.5. Discussões com Anvisa e Conclusão

Em relação à farmacocinética de tisagenlecleucel, no sangue periférico, observa-se em todos os estudos (para LLA e para LDGCB) que a resposta máxima (Cmax) e a persistência do transgene são maiores em pacientes responsivos quando comparado com os pacientes não responsivos, sugerindo que alguns pacientes possuem uma maior expansão do produto, o que permite uma maior ação antitumoral. Em relação à persistência do transgene nos pacientes responsivos, alguns apresentaram o transgene circulante por mais de 2 anos e as taxas estimadas de duração da resposta também foram altas, com a probabilidade estimada de estar livre de recidiva correspondendo a mais de 60% no mês 12 (para as duas indicações).

A comprovação da segurança e eficácia de Kymriah® para os pacientes com LLA r/r está embasada nos dados do estudo principal B2202 (79 pacientes) e nos estudos de apoio B2205J (58 pacientes) e B2101J (56 pacientes); já para os pacientes com LDGCB r/r nos dados do estudo C2201 (115 pacientes). Além desses estudos, os ensaios iniciais realizados pela Universidade da Pensilvânia também avaliaram a segurança de tisagenlecleucel. Para diferenciar o perfil de segurança na fase de toxicidade aguda do perfil de segurança na fase de acompanhamento subsequente, os eventos adversos (EA) foram resumidos com base no momento de seu início (em até 8 semanas ou após 8 semanas). EAG, EA graus 3 e 4 e eventos adversos de interesse especial (EAIE) foram observados principalmente nas primeiras 8 semanas. A SLC, por exemplo, foi relatada exclusivamente até 8 semanas. Entretanto, existe um EAIE que pode se manifestar tardiamente, que é a neurotoxicidade. Neste caso, a Anvisa solicitou à empresa que informasse quais as medidas de mitigação que serão adotadas para que o paciente e seus familiares/cuidadores possam detectar sinais tardios de neurotoxicidade. A empresa informou que estas informações constam no folheto educativo para o paciente (“Informe imediatamente o seu médico se tiver algum dos seguintes efeitos colaterais após a infusão de Kymriah®. Esses efeitos geralmente ocorrem nas primeiras 8 semanas após a infusão, mas também podem surgir mais tarde:

eventos neurológicos como alteração ou diminuição da consciência, perda de contato com realidade, confusão, agitação, convulsões, dificuldade para falar e entender o que os outros falam, e dificuldade para caminhar.”). A empresa também propôs aconselhar os profissionais de saúde, no material educacional e bula, sobre o diagnóstico diferencial de infecções oportunistas do SNC versus ICANS, uma vez que os sinais de ambos podem ser semelhantes. Assim, a Novartis incluiu o seguinte texto na bula, no adendo do RMP local e no material educacional do profissional da saúde: “Os pacientes devem ser diagnosticados para infecções oportunistas do SNC, incluindo eventos com início tardio em pacientes com eventos neurológicos, e devem ser manejados dependendo da fisiopatologia subjacente e de acordo com o padrão de atendimento local.”

Os eventos adversos são semelhantes entre os pacientes com LLA r/r e LDGCB r/r, sendo eles citopenias hematopoiéticas (em $\frac{3}{4}$ dos pacientes, para ambas as indicações); anormalidades bioquímicas (elevação de AST e ALT, diminuição de potássio e fosfato); febre alta (devido à SLC); síndrome de liberação de citocinas (SLC); infecções; reações adversas neurológicas graves; depleção de células B normais (causando hipogamaglobulinemia/agamaglobulinemia). Uma proporção menor de pacientes adultos com LDGCB r/r apresentou um EAIE no período de 8 semanas pós-infusão de Kymriah® quando comparado com os pacientes pediátricos e adultos jovens com LLA de células B r/r. A incidência de EAIEs graus 3/4 até 8 semanas pós-infusão também foi menor em pacientes com LDGCB r/r em comparação com a população pediátrica com LLA de células B.

Preocupações de segurança que exigem acompanhamento rigoroso foram apresentadas como riscos identificados no Plano de Gerenciamento de Riscos (PGR) do Kymriah® v3.0 (de 20-mar-2020), incluindo SLC, infecções, reações adversas neurológicas graves, síndrome de lise tumoral, depleção prolongada de células B normais e citopenias hematopoiéticas não resolvidas até o dia 28. Outras preocupações de segurança que poderiam ter uma potencial associação com as células CAR T são apresentadas como riscos potenciais importantes no PGR, incluindo edema cerebral, geração de lentivírus competentes em replicação, doenças malignas secundárias (incluindo oligo/monoclonalidade do sítio de inserção do vetor), nova ocorrência ou exacerbação de uma doença autoimune, distúrbios hematológicos (incluindo anemia aplástica e insuficiência da medula

óssea), agravamento da doença do enxerto contra hospedeiro, transmissão de agentes infecciosos e diminuição da viabilidade celular devido à manipulação inadequada do produto. Essas preocupações de segurança são relacionadas a atividades de rotina que possibilitem a minimização dos riscos da terapia com CAR-T. O programa de gerenciamento de riscos da UE (EU RMP) é o plano que será implementado no Brasil, possuindo apenas pequenas alterações para refletir as requisições realizadas para a bula brasileira.

Assim, os resultados dos estudos clínicos apresentados nesta solicitação de registro, tanto para pacientes com LLA de células B r/r quanto para pacientes com LDGCB r/r, demonstraram eficácia clínica relevante e duradoura para esta população de pacientes com necessidade médica não atendida. O perfil de segurança de Kymriah[®] já está bem estabelecido e a empresa adota mecanismos de mitigação de riscos, com manejo e monitoramento adequados, principalmente para os eventos adversos mais graves. Apesar dos eventos adversos serem graves, os estudos demonstraram que podem ser manejados com a aplicação de diretrizes específicas e detecção precoce. Assim, os dados de segurança e eficácia de Kymriah[®] (que já está autorizado na Austrália, Canadá, Estados Unidos, Europa e Japão) demonstram haver uma relação risco benefício favorável para os pacientes pediátricos e adultos que já não possuem opções terapêuticas disponíveis. Além disso, a empresa conduzirá estudo de registro para avaliar a segurança e efetividade de longo prazo de tisagenlecleucel nos pacientes brasileiros e apresentará relatórios anuais e interinos dos estudos em andamento nos anexos dos relatórios períodos de farmacovigilância.

Diante do exposto, o processo atende aos requisitos da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 505 de 27 de maio de 2021 que dispõe sobre o registro de produto de terapia avançada e dá outras providências. A empresa cumpriu integralmente com as solicitações e exigências da Agência.

6. Conclusão

Dado o mau prognóstico dos pacientes com LLA r/r e LDGCB r/r, o efeito do tratamento de Kymriah[®] é considerado clinicamente relevante, demonstrado na

população dos estudos clínicos avaliados e na experiência de uso comercial em outros países. O perfil de segurança de Kymriah® é aceitável tendo em vista o contexto terapêutico, os benefícios observados e o fato de que quaisquer incertezas remanescentes devem ser monitoradas a longo prazo.

7. Concessão do Registro no Brasil

Resolução-RE nº 560, de 18 de fevereiro de 2022

→ Detentor do registro no Brasil Novartis Biociências S.A, CNPJ: 56.994.502/0001-30.

→ Número do registro: 1.0068.1180.001-0.

Foram 263 dias corridos de avaliação, desde a submissão dos documentos pela Novartis à Anvisa até a publicação do deferimento final, considerando os prazos de análise dos profissionais da Agência e das respostas ao cumprimento das exigências por parte da empresa.

Importante salientar que houve reuniões prévias de discussão entre Anvisa e o detentor do registro sobre o produto e processos regulatórios antes e depois da submissão da documentação. Destaca-se que é o primeiro produto de terapia avançada que envolve o uso de material de partida oriundo do paciente (células T autólogas), que é exportado para fabricação nos Estados Unidos e retorna (na forma do produto CAR-T) para tratamento do paciente em hospitais específicos. Devido às prioridades de enfrentamento da emergência de saúde pública na pandemia da Covid-19 no Brasil, houve atraso no início da análise do processo de avaliação da documentação.

Profissionais da Agência, com o apoio da Rede Nacional de Especialistas em Terapia Avançada (RENETA), empenharam-se em estabelecer avaliações técnicas e regulatórias de riscos e benefícios. De acordo com as análises feitas, o complexo e inovador processo de produção, transporte, administração e monitoramento pós-uso do Kymriah® é seguro e promove a eficácia pretendida. Os benefícios do tisagenlecleucel foram considerados superiores aos seus riscos.

8. Termo de Compromisso

A Anvisa concedeu o registro do Kymriah® mediante assinatura de Termo de Compromisso com obrigações de produzir e fornecer dados e provas adicionais comprobatórias de eficácia clínica e segurança de longo prazo: estudo de registro, Plano de Minimização de Riscos (RMP), Relatório Periódico de Farmacovigilância (RPBR). Para monitoramento destes acordos foi firmado Termo de Compromisso entre a Novartis Biociências e a Anvisa. Para informações adicionais sobre o [Termo de Compromisso](#) acessar o Portal da Anvisa.

9. Certificação de BPF

Importante observar que a Anvisa também integrou às análises do registro os processos avaliativos de Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF) dos produtores do componente ativo (incluindo os vetores virais utilizados no processo de modificação genética das células) e do produto final, conforme descrito abaixo:

RESOLUÇÃO-RE nº 86, DE 12 DE JANEIRO DE 2022

1) Certificado de Boas Práticas de Fabricação para Produto de Terapia Gênica estéril (componente ativo e produto final): Novartis Pharmaceuticals Corporation - Morris Plains, NJ, Estados Unidos

RESOLUÇÃO-RE nº 561, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2022:

1) Certificado de Boas Práticas de Fabricação de Componente Ativo de Produto de Terapia Gênica estéril de indústria internacional (vetor viral): OXFORD BIOMEDICA (UK) LIMITED - WATLINGTON ROAD OXFORD, REINO UNIDO

2) Certificado de Boas Práticas de Fabricação de Componente Ativo de Produto de Terapia Gênica estéril de indústria internacional (vetor viral): OXFORD BIOMEDICA (UK) LIMITED - YARNTON KIDLINGTON OXFORD, REINO UNIDO

Dessa forma, a Agência concluiu, por meio de análise documental, que o processo de fabricação do Kymriah® demonstra ter qualidade consistente e controlada.

10. Informação da CTNBio (autorização do OGM)

O deferimento da liberação comercial do Kymriah®, derivado de organismo geneticamente modificado - RN 21, da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações, foi publicado no Diário Oficial da União de 27/7/2021. No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que as medidas de biossegurança propostas pela empresa Novartis atendem às normas e à legislação pertinente, que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, sendo a atividade não potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou da saúde humana

Este parecer foi baseado nas informações submetidas e aprovadas no registro pela Anvisa.

Utilize a [Consulta de Produto](#) para verificar informações atualizadas quanto às apresentações, embalagem, local de fabricação, prazo de validade e cuidados de conservação aprovados para o medicamento.

A bula mais recente do produto pode ser acessada no [Bulário Eletrônico](#) da Anvisa.

11. Referências:

Katz AJ, Chia VM, Schoonen WM, Kelsh MA. Acute lymphoblastic leukemia: an assessment of international incidence, survival, and disease burden. *Cancer Causes Control*. 2015 Nov;26(11):1627-42

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016 Jan-Feb;66(1):7-30

Pui CH, Pei D, Coustan-Smith E, et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol*. 2015 Apr;16(4):465-74

Li Y, Wang Y, Wang Z, et al. Racial differences in three major NHL subtypes: Descriptive epidemiology. *Cancer Epidemiol*, 2015, 39: 8–13

Chihara D, Izutsu K, Kondo E, et al. High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation for elderly patients with relapsed/refractory diffuse large B cell lymphoma: a nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 May;20(5):684-9

Friedberg JW. Relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011:498-505.

Amorim S, Stathis A, Gleeson M, et al. Bromodomain inhibitor OTX015 in patients with lymphoma or multiple myeloma: a dose-escalation, open-label, pharmacokinetic, phase 1 study. *Lancet Haematol*. 2016 Apr;3(4):e196-204.

Arcari A, Chiappella A, Spina M, et al. Safety and efficacy of rituximab plus bendamustine in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma patients: an Italian retrospective multicenter study. *Leuk Lymphoma*. 2016 Aug;57(8):1823-30.

Eyre TA, Salisbury R, Eyre DW, et al. Results of a large retrospective analysis of the effect of intended dose intensity of R-CHOP on outcome in a cohort of consecutive, unselected elderly patients with de novo diffuse large B cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2016 May;173(3):487-91.

Danese MD, Griffiths RI, Gleeson ML, et al. Second-line therapy in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): treatment patterns and outcomes in older patients receiving outpatient chemotherapy. *Leuk Lymphoma*. 2017 May;58(5):1094-1104.

Pasquini MC, Hu ZH, Curran K, et al. Real-world evidence of tisagenlecleucel for pediatric acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv*. 2020 Nov 10;4(21):5414-5424.

Crump M, Neelapu SS, Farooq U, et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood*. 2017 Oct 19;130(16):1800-1808.

Tallen G, Ratei R, Mann G, et al. Long-term outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia after time-point and site-of-relapse stratification and intensified short-course multidrug chemotherapy: results of trial ALL-REZ BFM 90. *J Clin Oncol*. 2010 May 10;28(14):2339-47.

von Stackelberg A, Locatelli F, Zugmaier G, et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2016 Dec 20;34(36):4381-4389.

Coiffier B, Sarkozy C. Diffuse large B-cell lymphoma: R-CHOP failure-what to do? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016 Dec 2;2016(1):366-378.