

Produtos de Terapias Avançadas: uma introdução ao gerenciamento de riscos

Advanced Therapy Medicinal Products: an introduction to risk management

João Batista Silva Junior*

Marília Rodrigues Mendes Takao

Renata Miranda Parca

RESUMO

Introdução: Produtos de terapias avançadas compreendem três categorias: produtos de terapia celular avançada, de engenharia tecidual e de terapia gênica, que prometem benefícios importantes para a saúde. Estes produtos contêm células viáveis submetidas a manipulação extensa ou construções genéticas, as quais possuem a finalidade de obter propriedades terapêuticas ou preventivas através de mecanismo de ação de natureza metabólica, imunológica ou farmacológica. **Objetivo:** Discutir os principais riscos envolvidos na produção e fornecimento dos produtos de terapias avançadas na perspectiva de desenvolver práticas regulatórias de gerenciamento de risco. **Método:** Revisão da literatura científica e documentos oficiais das agências reguladoras dos Estados Unidos e Europa. **Resultados:** Compreender como os possíveis mecanismos de ação dos produtos de terapias avançadas contribuem para mitigar riscos de desenvolvimento e caracterização, inclusive através do aperfeiçoamento de modelos clínicos ou outros ensaios funcionais. Raridade da doença, grau de benefício previsto e perfil de segurança afetarão o número de participantes e outros aspectos de design de ensaios clínicos. Este tipo de produto apresenta alto grau de complexidade técnica e desafios substanciais para sua produção. **Conclusões:** As principais agências reguladoras demonstram esforços para estabelecer regras claras de preparação dos produtos de terapias avançadas, segundo as Boas Práticas de Fabricação e a realização de ensaios clínicos de forma a racionalizar requisitos adaptados às características específicas dos referidos produtos.

PALAVRAS-CHAVE: Terapia Celular; Boas Práticas de Fabricação; Ensaios Clínicos; Riscos; Vigilância Sanitária

ABSTRACT

Introduction: Advanced therapy products include gene therapy, somatic cell therapy, and tissue engineering products that promise important health benefits. These products contain active cells or genetic constructs that exert a mechanism of metabolic, immunological, genetic or pharmacological action. **Objective:** To discuss main risks involved in advanced therapy products to understand risk management regulatory models and practices. **Method:** Review in the scientific literature and in official documents of the regulatory agencies of the United States and Europe. **Results:** Advanced therapy products can be difficult to define, particularly cell-based products. Completely elucidating the mechanisms of action contributes to mitigate risk of development and characterization, including through the development of disease models or other functional assays. Disease severity, predicted benefit level and safety profile will affect the number of participants and other design aspects of each test. They present a high degree of technical complexity and substantial challenges to their manufacture. **Conclusions:** Major regulatory agencies demonstrate efforts to establish clear rules for the preparation of advanced cellular products compatible with Good Manufacturing Practices and the conduct of clinical trials in order to rationalize requirements adapted to the specific characteristics of advanced therapy products.

¹ Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Brasília, DF, Brasil

* E-mail: batista.junior@anvisa.gov.br

Recebido: 21 out 2017

Aprovado: 25 jan 2018

KEYWORDS: Cell Therapy; Good Manufacturing Practices; Clinical Trials; Risks; Health Surveillance



INTRODUÇÃO

O uso de partes do corpo humano como produtos terapêuticos é uma prática clínica antiga e fortemente regulada. O termo “transplante” é empregado para designar todo ato cirúrgico para obtenção de células e retirada de órgãos, tecidos ou partes de corpo vivo ou morto para infusão ou implante em um receptor. Como bem esclarece Catão (p. 202)¹, [...] “em geral os transplantes estão submetidos a uma classificação no âmbito cirúrgico voltada, principalmente, a resguardar a compatibilidade biológica entre doador e receptor”. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS)^{2,3}, células e tecidos humanos para transplantes representam uma classe terapêutica essencial à saúde humana capaz de restaurar e manter as funções vitais do receptor/paciente. Além disso, células e tecidos humanos tornam-se um importante material de partida para produtos biotecnológicos mais complexos.

Segundo relatório do Ministério da Saúde⁴, no ano de 2016, no Brasil, foram realizados 16.636 procedimentos de transplantes de córnea e 2.362 transplantes de medula óssea. O mesmo relatório descreve o Brasil como o segundo maior país transplantador de órgãos sólidos, como rins (5.492 transplantes no ano de 2016) e fígado (1.880, 2016), abaixo somente dos Estados Unidos. O relatório da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO)⁵ mostrou que, em 2016, foram realizados 16.293 enxertos ósseos humanos nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul. Agregados estes dados aos da estimativa de transfusões de sangue no Brasil, aproximadamente 3 milhões de procedimentos realizados em 2015⁶, tem-se a dimensão da importância dos produtos de sangue, tecidos, células e órgãos humanos para a saúde pública do país, bem como percebem-se os desafios dos órgãos reguladores para garantir a qualidade e a segurança destes produtos.

O progresso científico e os avanços no setor biotecnológico conduziram a uma nova perspectiva, conhecida como a era da medicina regenerativa, que emprega produtos com o objetivo de substituir ou regenerar células humanas, tecidos ou órgãos para fins de restaurar ou estabelecer a função normal do indivíduo⁷. Segundo Mason e Dunnill⁷, por definição, a medicina regenerativa é uma oportunidade para todas as principais especialidades clínicas de uso de produtos incluindo dispositivos médicos, pequenas e complexas moléculas biológicas (medicamentos), bem como produtos terapêuticos constituídos por ou à base de células humanas⁸, com ou sem seu material genético recombinado, bem como organizadas em tecidos humanos *in vitro*.

Neste contexto, uma nova classe de produtos celulares ou originados de células humanas vem sendo considerada, em âmbito mundial, como novo arsenal terapêutico para diversas condições patológicas ou clínicas antes sem alternativas⁹. Internacionalmente, estes produtos são denominados produtos de terapias avançadas ou, em inglês, *Advanced Therapy Medicinal Products* (ATMP), e abarcam três categorias: os produtos de terapia celular avançada, os produtos de terapia gênica e os produtos de engenharia tecidual, podendo ser combinados com dispositivos médicos¹⁰.

Após 8 anos de vigência das normas regulatórias aplicadas aos produtos de terapias avançadas na Europa, segundo Eve et al. (apud Hanna et al.¹¹), apenas cinco produtos receberam registro sanitário

na Agência Europeia, até outubro de 2015: *ChondroCelect* para reparo de cartilagens (2009); *MACI* para reparo de cartilagens (2013), com encerramento da sua fabricação em 2014; *Glybera* para tratamento de deficiência da lipoproteína lipase - LPL (2013); *Provenge* para tratamento de câncer de próstata avançado (2013), retirado do mercado europeu em 2015; *Holoclar* para tratamento da deficiência de células epiteliais da córnea (2015). As autoridades reguladoras dos Estados Unidos, Japão e Coreia do Sul desenvolveram mecanismos de aprovações condicionais ou provisórias para produtos de terapias avançadas, em circunstâncias específicas. Coreia do Sul foi o primeiro país a oferecer aprovações condicionais em 2001, embora não especificamente para produtos avançados. A *Korea Food and Drug Administration* (KFDA) autorizou 18 produtos de terapias avançadas desde 2001, a maioria com caráter provisório. A Agência Reguladora do Japão, *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency* (PMDA), também adotou a aprovação condicional em sua legislação, de forma a autorizar os produtos de terapias avançadas mediante a comprovação de sua segurança e provável eficácia (dados de eficácia de estudos de Fase II), portanto, os respectivos produtos ainda deveriam ser submetidos aos estudos de Fase III para confirmação de sua eficácia.

Levando em consideração o delineamento do cenário mundial em face do desenvolvimento dos produtos de terapias avançadas, o presente estudo tem como objetivo discutir os principais riscos à saúde envolvidos na produção e fornecimento para uso terapêutico dos produtos de terapias avançadas, na perspectiva de compreender modelos e práticas regulatórias adotadas pelas principais agências reguladoras no processo de gerenciamento destes riscos.

MÉTODO

Foi realizada revisão bibliográfica nas bases de dados *online* Lilacs, SciELO e PubMed, por meio de busca pelos termos em inglês “*advanced cell therapy*” e “*Advanced Therapy Medicinal Products* (ATMP)” e do termo em português “*terapia celular*”, em artigos publicados no período entre os anos de 2000 a 2017. A seleção inicial considerou os títulos e os resumos dos artigos originais de interesse ao trabalho, indexados no período de estudo. Os artigos científicos que abordaram algum tipo de estudo regulatório ou de análise de riscos relacionados aos produtos de terapia avançada foram analisados em sua íntegra e incluídos no processo de trabalho. A grande maioria dos artigos encontrados delinearão estudos clínicos ou experimentais e, desta forma foram excluídos. Também foram avaliados documentos oficiais da *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e da *European Medicines Agency* (EMA) da Comunidade Europeia, disponíveis em seus sítios eletrônicos dedicados aos produtos de terapias avançadas.

Foram incluídos neste estudo 32 artigos científicos e 19 documentos oficiais, organizados em pastas eletrônicas de forma a conter a descrição das informações relacionadas aos conceitos e caracterização dos riscos envolvidos em alguma das etapas do processo de desenvolvimento e do uso dos produtos de terapias avançadas. A descrição mencionada foi disposta em planilha *Microsoft Excel* para facilitar análise dos dados obtidos.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

No âmbito regulatório, da análise do arcabouço normativo adotado pelos Estados Unidos, observou-se que os requisitos regulamentares definidos pela FDA para os produtos de terapias avançadas levam em consideração se a célula ou o tecido é “minimamente manipulado” ou “mais do que minimamente manipulado”. A manipulação mínima tipifica o processamento que não altera de forma significativa as características biológicas primárias das células ou tecidos, como, por exemplo, separação por gradiente de densidade, seleção, centrifugação e criopreservação. Todos os processos de manipulação de células ou tecidos com o potencial de alterar qualquer de suas características biológicas relevantes, dentre as quais se inclui estado de diferenciação e ativação, potencial de proliferação e atividade metabólica - como, por exemplo, o cultivo em laboratório com o objetivo de expansão, diferenciação ou alteração genética - são considerados manipulações mais do que mínimas, logo, exigem controles específicos¹². Além disso, outra condição que suporta a exigência de controles diferenciados é a combinação das células ou dos tecidos com outro componente ou dispositivo, exceto água, cristaloides ou agentes de esterilização, de preservação ou de armazenamento. O mecanismo de ação do produto também possui o caráter de despertar a atenção regulatória quando sugere ou confirma a execução de sua função primária quando sugere ou confirma a execução de sua função primária através de um efeito sistêmico e dependente da atividade metabólica das células viáveis; ou, ainda, se tiver intenção de uso reprodutivo¹³. Em suma, é possível apreender, a partir da análise das normativas americanas que, independentemente da abordagem classificada, os produtos de terapias avançadas devem ser manipulados consoante diretrizes de boas práticas empregadas aos produtos biológicos¹³, sendo aqueles submetidos à manipulação mais do que mínima acrescidos de regras regulatórias específicas.

Na mesma direção que os americanos, a União Europeia (UE) propôs um plano de ação que definiu os produtos de terapias avançadas como uma categoria de medicamento, passível de submissão aos mesmos critérios científicos e regulamentares definidos para todo medicamento e produto para a saúde, o que quer dizer que também devem ter pesquisas clínicas aprovadas e fornecimento para uso condicionado ao registro do produto junto ao órgão regulador¹⁰. Segundo Gálvez et al.¹⁴, sucessivos regulamentos foram efetivados na Europa, os quais definiram os produtos de terapias avançadas como medicamentos biológicos que contêm ou são constituídos por células viáveis ou por frações subcelulares com funções biológicas. Desta forma, conformou-se o entendimento que estes produtos não poderiam ser incluídos nas mesmas categorias dos medicamentos propriamente ditos nem na categoria dos produtos para transfusão, enxertos e transplantes convencionais, visto que: (A) contêm células humanas viáveis, de origem alogênica ou autóloga, submetidas a manipulação substancial e (B) podem apresentar uso não homólogo, o que significa que as células são administradas em locais do corpo onde elas geralmente não estão presentes, ou desempenham função biológica no receptor distinta da desempenhada no doador^{14,15}.

Segundo Schneider et al.¹⁵, a definição da tipologia dos produtos de terapias avançadas é fundamental para estabelecer os requisitos de mitigação de risco sanitário. Os autores, por meio da utilização do modelo europeu, classificaram os produtos em três grandes grupos: os que são constituídos por células vivas submetidas a processos de cultivo, expansão e otimização celular; os produtos de engenharia tecidual constituídos por células vivas organizadas em tecidos ou órgãos; e os produtos de terapia gênica *in vivo* “cujos efeitos terapêuticos são exercidos por meio da infusão no organismo humano de moléculas recombinantes de ácidos nucleicos e, portanto, são definidos como um produto ou medicamento biológico” e terapia gênica *ex vivo*, aqueles constituídos por ou à base de células modificadas geneticamente. Estas três categorias de produtos de terapias avançadas poderiam ser combinadas ou não com suportes sólidos ou, quando aplicável, a materiais de encapsulamento. Quaisquer matrizes, fibras, grânulos ou outros materiais que são utilizados para além das células podem ser categorizados como excipientes, componentes ativos adicionais ou dispositivos médicos.

Tanto a legislação americana quanto a europeia tratam os produtos terapêuticos oriundos de células e tecidos humanos para transfusão ou transplantes convencionais como materiais biológicos que conservam suas características originais aos serem infundidos/transplantados em um receptor. Isto posto, devido ao fato de manter as características e funções originais, o uso terapêutico convencional das células e tecidos prescinde de comprovação de segurança e eficácia por meio de ensaios clínicos aprovados pelo órgão regulador sanitário, bem como não segue o mesmo rito de aprovação de registro de um medicamento sintético ou biológico clássico. Neste caso, exigem-se os requisitos de Boas Práticas aplicadas à obtenção e ao processamento de células e tecidos, para fins de garantir a qualidade do material biológico^{10,12,13}. Esta mesma racionalidade é a adotada pelo modelo regulatório brasileiro para os produtos de sangue, outros tecidos, células e órgãos para fins de uso terapêutico convencional.

Os produtos de terapias avançadas, os quais, via de regra, são submetidos à manipulação substancial e/ou desempenham no receptor função distinta da desempenhada no doador, carecem de ter sua segurança e eficácia comprovadas por meio de ensaios clínicos avaliados e aprovados pelo órgão regulador sanitário e devem deter registro sanitário, para que possam ser fornecidos para uso terapêutico. Os requisitos de Boas Práticas aplicam-se, igualmente, aos produtos de terapias avançadas. Em relatório da *European Medicines Agency (EMA)*¹⁶ sobre a experiência na regulação de ATMP, foi recomendada a racionalização das práticas de certificação e de registro para comercialização dos produtos de terapias avançadas, mediante o emprego de ferramentas de promoção de contatos iniciais entre o agente regulador e o centro desenvolvedor do produto e seus pesquisadores, de forma a criar um ambiente regulatório favorável.



Riscos na produção x Boas Práticas de Fabricação

A OMS definiu Boas Práticas de Fabricação (BPF) como “parte da garantia de qualidade que assegura que os produtos sejam consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade adequados aos usos pretendidos”¹⁷. As BPF abrangem todos os aspectos da produção, incluindo validação de etapas críticas, instalações adequadas, armazenamento, transporte, pessoal qualificado, adoção de procedimentos escritos e aprovados, registros documentais, mecanismos de rastreabilidade, sistemas de recolhimento de produtos após a distribuição, investigação de não conformidades e reclamações, dentre outros aspectos. Para quaisquer produtos de uso humano é essencial a aplicação de elevados padrões de qualidade, gestão em produção e sistema de gerenciamento de riscos^{18,19}.

Para os produtos de terapias avançadas, devido à sua complexidade e aos riscos potenciais envolvidos na sua obtenção e produção, os artigos analisados discutem a necessidade de comprovação de que a manipulação extensa não interfere na viabilidade celular e não gera sítios de instabilidade cromossômica. Bem como apontam a importância de assegurar que tal produto age no sítio alvo farmacológico, de forma segura e eficaz¹⁹. Alguns dos desafios residem na variabilidade e complexidade inerentes aos componentes utilizados para gerar o produto final, tais como a fonte variável de células, o potencial de contaminação por agentes infecciosos provenientes do doador e da manipulação, o processo de produção e a expansão celular com o uso de soluções, meios e suplementos, eventual processamento em ambientes não isolados, a incapacidade em esterilizar o produto final, dentre outros. Segundo D’Ippolito et al.²⁰, fatores como densidade celular, tempo de cultura, número de passagens, flutuações de temperatura, alterações de tensão de pH e oxigênio devem fazer parte dos elementos de controle. Além disso, o processo de cultivo em sistemas abertos, mesmo que conduzido sob requisitos rigorosos de BPF, pode ser afetado pela alteração frequente dos parâmetros ambientais, como temperatura, PCO₂, PO₂, pH e umidade.

Segundo Herberts et al.²¹, os pacientes tratados com esses produtos celulares enfrentam riscos de exposição a príons, quando da utilização de suplementos de origem animal, riscos toxicológicos devido à presença de agentes tóxicos como endotoxinas e riscos imunológicos devido à presença de proteínas, peptídeos ou outras biomoléculas alo gênicas ou devido à contaminação de agentes de origem animal que poderiam persistir após a produção. A distribuição também pode ser um grande desafio devido à instabilidade dos produtos celulares.

Os produtos de terapia avançadas constituem, frequentemente, soluções complexas contendo células ou seus derivados que não podem ser quimicamente definidas, condição esta que os diferencia de um medicamento biológico clássico. A realização de controle de qualidade do processo de produção, bem como do produto final obtido é considerada essencial. Controles de processos de produção inadequados podem resultar na introdução de agentes contaminantes, em alterações desconhecidas nas propriedades biológicas ou em instabilidade do produto que pode ser indetectável nos ensaios de aprovação do produto final. Outro

fator de controle é a reprodutibilidade lote a lote, tanto do produto final quanto dos materiais críticos envolvidos na produção²².

A complexidade científica relacionada aos produtos de terapias avançadas pode impor limites práticos aos processos de controle. Conceitos como “lote”, “dose” e “concentração” se mostraram diversificados e peculiares, tendo sido destacada a incapacidade de controlar fatores como a variabilidade sujeito a sujeito (doadores). Ainda, os documentos analisados ressaltaram que alguns produtos podem levar várias semanas a meses para serem produzidos e que questões como viabilidade celular e potência biológica podem diminuir ou se alterar rapidamente a partir da formulação. Portanto, as células “frescas”, que não são criopreservadas, podem exigir administração dentro de poucas horas após sua produção. Os vários autores demonstraram também riscos no processo de criopreservação e armazenamento^{23,24,25}.

Diante dos riscos denotados, os diversos autores afirmaram que o estabelecimento de Boas Práticas se destina a manter estes riscos em um nível de controle aceitável, segundo padrões previamente estabelecidos pelo centro de processamento celular, minimizando a ocorrência de contaminação exógena do produto e deterministicamente assegurando a qualidade e a segurança do produto em termos de riscos infecciosos, imunológicos e toxicológicos²¹. Paralelamente a testes microbiológicos, endotoxina e testes de pirogênio, o controle de qualidade deveria incluir uma avaliação de dose, viabilidade e funcionalidade celular, a qual estaria diretamente vinculada ao prognóstico pós uso dos produtos. Keating²⁶ inferiu que os fenótipos também deveriam ser investigados apesar do autor descrever a falta de ensaios padronizados para determinados tipos celulares. Além dos métodos de caracterização celular outras ferramentas moleculares avançadas, incluindo avaliações do transcriptoma celular, proteoma e secretoma deveriam ser compreendidos^{26,27}. Foi sugerida a avaliação da estabilidade genética do produto celular, de acordo com Barkholt et al.²⁸, mesmo que ainda não haja correlação definitiva com a tumorigenicidade. Tanto Barkholt et al.²⁸ como Wang et al.²⁹ referiram a cariotipagem convencional como um teste de baixa sensibilidade por não prever a estabilidade completa do genoma e sugeriram a adoção de testes de alta performance como a hibridização genômica comparativa. Ao identificar as medidas de controle mais apropriadas em cada caso, o produtor deveria considerar todos os riscos potenciais relacionados ao produto, ao processo de fabricação e ao uso, com base nas informações disponíveis.

Por estas razões, os documentos analisados apontaram a importância de os centros de processamento celular, fornecedores dos produtos de terapias avançadas, implantarem a gestão de qualidade de seus processos assim como serem sujeitos avaliação de seu processo produtivo pela autoridade competente condicionado à fiscalização, como forma de garantir o cumprimento das normativas vigentes.

Riscos de eficácia e segurança x ensaios clínicos

Os documentos argumentaram que, em contraste com algumas classes de medicamentos bem estudadas, por exemplo, os produtos biológicos constituídos por moléculas quimicamente



definidas, há uma carência relativa de experiência clínica com produtos de terapias avançadas. Estes produtos têm complexidade única devido à natureza dinâmica das células. Por exemplo, as células podem apresentar uma variedade de moléculas nas suas membranas e expressar diversos fatores^{19,30}.

O desenvolvimento de um medicamento deve respeitar, tipicamente, as três fases tradicionais de ensaios clínicos, iniciando-se com ensaios em pequena escala e testando-se uma série de doses em voluntários sadios para estabelecer a dose mais tolerável (fase I), os estudos de eficácia precoce para testes de dose-resposta e otimização (fase II) e, finalmente, os ensaios clínicos com um número maior de participantes, concebidos para confirmar e caracterizar completamente a eficácia do produto (fase III). Os ensaios de fase III fornecem base para análise de custo-efetividade e posterior registro sanitário. Os produtos de terapias avançadas não se encaixariam precisamente neste quadro. Devido, por exemplo, à possibilidade da persistência desses produtos no organismo após sua aplicação e de possível toxicidade relacionada, o risco de utilizar indivíduos saudáveis na fase I torna-se injustificável³⁰. Os ensaios clínicos em fase inicial são, portanto, geralmente realizados em pacientes resultando em estudos classificados como de fase I/II. A diversidade das terapias avançadas exige abordagem diversa, o que implica em envolvimento entre pesquisadores, produtores e reguladores para aprovação da lógica de desenvolvimento e validação do projeto de ensaio clínico¹⁹.

A disponibilização sistêmica dos produtos e a variedade de tecidos no corpo poderiam propiciar a migração celular para locais não intencionais. Muito discutido, inclusive, o aspecto de as células possuírem a capacidade de se diferenciar *in vivo* em tipos ou linhagens de células diferentes das originais infundidas, podendo vir a desenvolver funções autônomas indesejáveis e afetar moléculas e outros fatores de acordo com o novo microambiente de inserção. O apelo clínico da maioria dos produtos de terapias avançadas baseia-se, portanto, no seu elevado potencial proliferativo e diferenciador, especialmente na capacidade de secretar citocinas, fatores de crescimento e outras substâncias fármaco e imunologicamente ativas^{31,32}. No entanto, essas potencialidades também poderiam expor pacientes a risco oncogênico, bem como ao risco do efeito ectópico de diferenciação²¹. Estudos recentes relataram tumorigênese indireta relacionada ao uso de células mesenquimais, em animais^{31,32,33}.

Alguns produtos poderiam persistir nos seres humanos durante um período prolongado após a administração ou ter um efeito prolongado ou permanente, mesmo depois do mesmo não estar mais presente. A maioria da aplicação dos produtos necessita de cirurgia ou outros procedimentos invasivos para o acesso ao sítio alvo. Além disso, produtos de origem alogênica têm o potencial de provocar respostas imunológicas (imunogenicidade). A indução de uma resposta imunológica poderia ser o efeito desejado de alguns produtos, tais como vacinas terapêuticas, no entanto, para outros, a imunogenicidade poderia ser um risco²⁴.

Sobre os dados de estudos pré-clínicos a clínicos, vários problemas poderiam tornar limitada a capacidade, por exemplo, de extrapolar as informações de segurança de uma célula

extensamente manipulada, a depender de vários fatores, tais como os modelos animais utilizados, a via de administração do produto, o perfil de biodistribuição, a resposta imune ao produto administrado e outros. A maioria das agências reguladoras têm discutido os estudos de ensaios clínicos de forma individualizada devido às especificidades envolvidas, principalmente quando estes produtos se destinam ao uso em seres humanos pela primeira vez. Neste caso, a avaliação da segurança necessariamente deveria incluir a avaliação da natureza e frequência de reações adversas potenciais e uma estimativa da relação com o volume - dose administrada^{34,35,36}.

O processamento celular é geralmente segmentado em uma série de etapas definidas de acordo com os tipos de células e com as necessidades específicas do produto. Um processo de BPF típico para produtos de terapias avançadas deveria seguir as seguintes etapas^{23,28}:

- Seleção do doador das células ou material de partida com realização de triagem laboratorial para marcadores de infecções transmissíveis por material biológico.
- Avaliação do material de partida (células, tecidos) obtido por doação, proveniente de banco de células e tecidos.
- Lavagem para remover células indesejáveis/inviáveis.
- Seleção/enriquecimento de células-alvo.
- Engenharia celular - ativação, modificação genética.
- Cultura celular - plataformas estáticas ou biorreatoras.
- Lavagem para remover impurezas.
- Formulação de produto - redução de volume e criopreservação.
- Armazenamento.
- Transporte final do produto e distribuição ao serviço de saúde para uso em paciente.

No caso de terapia gênica com uso de vetores, acrescentam-se às etapas supramencionadas a amplificação de vetores, a transfecção celular, transdução, purificação ou distinção de populações, microfiltração/ultrafiltração e transferência^{23,24}.

O Quadro descreve os principais pontos críticos da produção de um produto de terapia avançada, considerando os riscos envolvidos e as propostas de mitigação destes riscos, fundamentada nas premissas de BPF definidas por Abou-El-Enein et al.³⁸ e referenciadas em documento de Consulta Pública sobre o mesmo tema, divulgada pela EMA, em 2016³⁹.

Por fim, a descrição detalhada das condições de uso do produto de terapia avançada deve ser cuidadosamente elaborada e informada, pelo fabricante do produto, ao responsável pelo uso/aplicação do produto, devendo abarcar, inclusive, as especificações dos equipamentos e das características dos ambientes de manipulação^{37,39}. Os riscos relacionados a uma manipulação inadequada, pós-liberação do produto e anteriormente ao seu uso, tem



Quadro. Descrição dos riscos dos processos de produção de produtos de terapias avançadas com estratégias de mitigação. Brasil, 2017.

Pontos críticos	Análise de Risco	Mitigação
Matérias-primas	<ul style="list-style-type: none">Contaminação microbiana e viralVariabilidade do produto final	<ul style="list-style-type: none">Grau de pureza adequado ao uso pretendido - matérias-primas com grau farmacêuticoRastreabilidade das matérias-primasQualificação do fornecedor
Células primárias	<ul style="list-style-type: none">Infecção microbiana e viralDeterioração do material	<ul style="list-style-type: none">Termo de consentimento de doação voluntáriaTestes laboratoriais para detecção de agentes infecciosos aprovados pela autoridade sanitáriaAvaliação dos centros de coleta fornecedoresRotulagem e armazenamentoRastreabilidade
Bancos de Células	<ul style="list-style-type: none">Deterioração do materialContaminação cruzada	<ul style="list-style-type: none">Rotulagem e armazenamentoRastreabilidadeManipulação dedicada
Cultivo/Expansão	<ul style="list-style-type: none">Contaminação microbiana e viralAlterações genotípicas	<ul style="list-style-type: none">Controle de passagens no cultivoControle laboratorialProcessos validadosRotulagem e armazenamento adequadosRastreabilidade de estoques
Processamento	<ul style="list-style-type: none">Alta variabilidadeBaixa reprodutibilidadeDeterioração do produtoContaminação microbiana e viral (não esterilização final)	<ul style="list-style-type: none">Embalagem e rotulagemCriopreservaçãoControles de qualidade com testes adequadosFórmula de produção/Procedimentos operacionais validadosProdução em sistema fechadoManipulação estéril/ambientes limposControles ambientais definidosControle de mudançasAnálises de desvios e gestão de riscosLiberação controlada de loteManutenção de amostra analítica do produto final (se possível)Estudos de estabilidade do produto
Infraestrutura	<ul style="list-style-type: none">Contaminação cruzadaDeterioração do produtoContaminação microbiana e viralSegurança do trabalhador	<ul style="list-style-type: none">Sistema de tratamento de águaFluxos definidosProdução segregadaSistemas de tratamento de arProcessos de higienização/ descontaminação/esterilização ou filtração validadosSala de materiais replicados/vetores e sala de produtos infectados segregadosEquipamentos (biorreatores, colunas cromatográficas, irradiadores, ultracongeladores, tanques N2 etc.) qualificados e controladosTerceirização formalizada e auditada
Pessoal	<ul style="list-style-type: none">Ausência de controle de qualidade de processo, final e liberação de lote	<ul style="list-style-type: none">Qualificação e treinamento
Recall	<ul style="list-style-type: none">Uso de produtos inadequadosAgravamento da saúde do paciente	<ul style="list-style-type: none">Procedimentos definidos para recolhimento de produtosProcedimentos em casos de produtos não conformes já utilizados em pacientes
Resíduos	<ul style="list-style-type: none">Contaminação do ambiente	<ul style="list-style-type: none">Procedimentos de coleta e tratamento de resíduosAtenção especial a vetores (OGM)

o potencial de prejudicar a qualidade e a segurança do produto tanto quanto os riscos associados ao processo produtivo. Dentre as possíveis manipulações necessárias pré-utilização do produto consideradas mínimas, citam-se: descongelamento, lavagem, troca de tampão, centrifugação necessária para remover solução de preservação contendo agente crioprotetor, remoção de impurezas relacionadas ao processo (filtração para eliminar resíduos de solução de preservação ou células inviáveis), suspensão, dispersão, dissolução ou diluição com solvente/tampão, recuperação

de células após criopreservação, mistura do produto com células autólogas ou outro adjuvante, alíquotagem e adaptação de dose, carregamento em sistemas ou dispositivos cirúrgicos ou transferência para bolsa de infusão/seringa³⁷, dentre outros.

Destarte, a complexidade intrínseca ao desenvolvimento de um produto de terapia avançada deveria refletir em planos de desenvolvimento de produtos minuciosamente ajustados de acordo com a avaliação multifatorial dos riscos inerentes ao processo,



com o objetivo de identificar fatores associados aos impactos em qualidade e segurança do produto; determinar a extensão e o foco dos dados necessários durante o desenvolvimento de estudos não clínicos e clínicos; estabelecer processos de gerenciamento de riscos pré-mercado e pós-mercado, a serem especificados no plano de farmacovigilância³⁷. Importante considerar que as terapias avançadas têm, ademais, certa dimensão ética que não está presente nos tradicionais processos de desenvolvimento farmacêutico. Portanto, a progressão de ensaios pré-clínicos para estudos clínicos, sucedida, pela disponibilização de produtos aprovados à população precisa ser considerada dentro de um quadro histórico e ético do país³⁶.

CONCLUSÕES

A análise da literatura científica demonstrou avanços significativos nos estudos com células humanas frente ao seu potencial terapêutico, embora persista ainda certo nível de incerteza dos riscos envolvidos no uso dos produtos de terapias avançadas a longo prazo. A previsibilidade reduzida quanto aos estudos pré-clínicos limita a disponibilização dos respectivos produtos para uso em humanos. Até este momento percebe-se a falta ou carência de harmonização de protocolos relativos à obtenção de células ou tecidos, aos métodos de isolamento, cultivo e expansão celular, à caracterização e aos controles de qualidade de produtos intermediários e finais. FDA e EMA despenderam esforços, de forma bastante exitosa, com o objetivo de estabelecer regras relativas

aos produtos de terapias avançadas, compatíveis com as BPF e a condução de ensaios clínicos. Da mesma forma, a comunidade científica mostrou-se empenhada em desenvolver ferramentas avançadas para estudos das células em modelos *in vitro* e *in vivo*.

Alguns desafios descritos, tais como a variabilidade intrínseca relacionada à fonte dos materiais biológicos, dificultam a demonstração da homogeneidade do produto, bem como condicionam o tamanho limitado de lote e o tempo curto de meia-vida, repercutindo, de certo modo em parâmetros relevantes tais como na realização de testes de controle extensivos. Além disso, a realização de ensaios clínicos controlados randomizados pode nem sempre ser viável, por exemplo, se a administração do produto requer um procedimento cirúrgico invasivo e de alto risco.

Outro ponto é a dificuldade da translação dos procedimentos de pesquisa básica para a produção em larga escala para uso em seres humanos, principalmente pela falta de *expertise* em processos regulatórios. Neste aspecto, é possível concluir que os instrumentos regulatórios devem ser otimizados, de forma a mostrarem-se dinâmicos, visto que as terapias avançadas são um campo da medicina sujeito a um rápido progresso científico. Desse modo, as agências reguladoras devem revisar e racionalizar os requisitos para registros de comercialização e autorizações de uso dos produtos para garantir que as regras aplicáveis sejam proporcionais e bem adaptadas às características específicas dos produtos de terapias avançadas.

REFERÊNCIAS

1. Catão M Ó. Biodireito: transplante de órgãos humanos e direitos da personalidade. São Paulo: Madras; 2004.
2. World Health Organization - WHO. First global consultation on regulatory requirements for human cells and tissues for transplantation report, 2004 Nov 29-Dec 01; Ottawa, Canada. Geneve: World Health Organization; 2015[acesso 15 jul 2017]. Disponível em: <http://www.who.int/transplantation/ReportOttawaCTTx.pdf>
3. World Health Organization - WHO. Second global consultation on regulatory requirements for human cells and tissues for transplantation: towards global harmonization through graduated standards, 2006 June 7-9; Geneva, Switzerland. Geneve: World Health Organization; 2006.
4. Ministério da Saúde (BR). Relatório anual de gestão da Secretaria de Atenção a Saúde (SAS). Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2017.
5. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO. Organ Transplantation Brazilian: 2009- 2016. Braz Transpl Registry. 2016[acesso jun 2017]. Disponível em: http://abto.org.br/abtov03_ingles/Upload/file/BrazilianTransplantationRegistry/Ingles2016-lib.pdf
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Hemoprod 2014 e 2015. Bol Prod Hemoterápica. 2017 mar;(4).
7. Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med*. 2008;3(1):1-5. <https://doi.org/10.2217/17460751.3.1.1>
8. Mason C, Manzotti E. Regen: the industry responsible for cell-based therapies. *Regen Med*. 2009;4(6):783-5. <https://doi.org/10.2217/rme.09.72>
9. Ancans J. Cell therapy medicinal product regulatory framework in Europe and its application for MSC-based therapy development. *Front Immunol*. 2012;3:253. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00253>
10. European Union. Regulation (EC) N° 1394/2007. Advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) N° 726/2004. Paris: European Union; 2007 [acesso 12 out 2017]. Disponível em: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:324:0121:0137:en:PDF>
11. Hanna E, Rémuzat C, Auquier P, Toumi M. Advanced therapy medicinal products: current and future perspectives. *J Mark Access Health Policy*. 2016;4. <https://doi.org/10.3402/jmahp.v4.31036>
12. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Minimal manipulation of human cells, tissues, and cellular and tissue-based products: draft guidance. Silver Spring: Food and Drug Administration; 2014[acesso em 16 out 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm427692.htm>



13. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Guidance for industry: guidance for human somatic cell therapy and gene therapy. Silver Springer: Food and Drug Administration; 1998[acesso em 16 out 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072987.htm>
14. Gálvez P, Clares B, Hmadcha A et al. Development of a cell-based medicinal product: regulatory structures in the European Union. *Br Med Bull.* 2013;105(1):85-105. <https://doi.org/10.1093/bmb/lds036>
15. Schneider C K, Salmikangas P, Jilma B, Flamion B, Todorova LR, Paphitou A et al. Challenges with advanced therapy medicinal products and how to meet them. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9:195-201. <https://doi.org/10.1038/nrd3052>
16. European Union. Report from the Commission to the European Parliament and the Council in accordance with Article 25 of Regulation (EC) 1394/2007 of the European Parliament and of the Council on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) 726/2004. Brussels: European Union; 2014.
17. World Health Organization - WHO. A WHO guide to good manufacturing practice (GMP). Geneva: World Health Organization; 1997.
18. Williams DJ, Thomas RJ, Hourd PC, Chandra A, Ratcliffe E, Liu Y, Rayment EA et al. Precision manufacturing for clinical-quality regenerative medicines. *Philosophical Trans A Math Phys Eng Sci.* 2012;370 (1973):3924-49. <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0049>
19. Au P, Hursh DA, Lim A, Moos, MC Jr, Oh, SS, Schneider BC et al. FDA oversight of cell therapy clinical trials. *Science Translat Med.* 2012;4(149):149f31. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004131>
20. D'Ippolito G, Howard GA, Roos BA, Schiller PC. Isolation and characterization of marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells. *Exp Hematol.* 2006;34(11):1608-10. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2006.07.016>
21. Herberts CA, Kwa MS, Hermsen HP. Risk factors in the development of stem cell therapy. *J Transl Med.* 2011;9:29. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-29>
22. Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, Lannert H, Schallmoser K, Strunk D et al. Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow. *Stem Cells.* 2009;27(9):2331-41. <https://doi.org/10.1002/stem.139>
23. Thirumala S, Goebel WS, Woods EJ. Manufacturing and banking of mesenchymal stem cells. *Expert Opin Biol Ther.* 2013;13(5):673-91. <https://doi.org/10.1517/14712598.2013.763925>
24. Sharma RR, Pollock K, Hubel A, McKenna D. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. *Transfusion.* 2014;54(5):1418-37. <https://doi.org/10.1111/trf.12421>
25. Liras A. Future research and therapeutic applications of human stem cells: general, regulatory, and bioethical aspects. *J Transl Med.* 2010;8:131. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-131>
26. Keating A. Mesenchymal stromal cells: new directions. *Cell Stem Cell.* 2012;10(6):709-16. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.05.015>
27. Ranganath SH, Levy O, Inamdar MS, Karp JM. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell.* 2012;10(3):244-58. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.02.005>
28. Barkholt L, Flory E, Jekerle V, Lucas-Samuel S, Ahnert P, Bisset L et al. Risk of tumorigenicity in mesenchymal stromal cell-based therapies: bridging scientific observations and regulatory viewpoints. *Cytotherapy.* 2013;15(7):753-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.03.005>
29. Wang Y, Zhang Z, Chi Y, Zhang Q, Xu F, Yang Z et al. Long-term cultured mesenchymal stem cells frequently develop genomic mutations but do not undergo malignant transformation. *Cell Death Dis.* 2013;4(12):e950. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.480>
30. Williams DJ, Thomas RJ, Hourd PC, Chandra A, Ratcliffe E, Liu Y et al. Precision manufacturing for clinical-quality regenerative medicines. *Philosophical Trans A Math Phys Eng Sci.* 2012;370 (1973):3924-49. <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0049>
31. Lepperdinger G, Brunauer R, Jamnig A, Laschober G, Kassem M. Controversial issue: is it safe to employ mesenchymal stem cells in cell-based therapies? *Exp Gerontol.* 2008;43(11):1018-23. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.07.004>
32. Momin EN, Vela G, Zaidi HA, Quiñones-Hinojosa A. The oncogenic potential of mesenchymal stem cells in the treatment of cancer: directions for future research. *Curr Immunol Rev.* 2010;6(2):137-48. <https://doi.org/10.2174/15733951079111718>
33. Otto WR, Wright NA. Mesenchymal stem cells: from experimente to clinic. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2011;8:4-20.
34. Tarte K, Gaillard J, Lataillade JJ, Fouillard L, Becker M, Mossafa H et al.; Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire. Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: occurrence of aneuploidy without transformation. *Blood.* 2010;115(8):1549-53. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-219907>
35. Sensebé L. Beyond genetic stability of mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy.* 2013;15(11):1307-8. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.09.001>
36. Mathews DJ, Sugarman J, Bok H, Blass DM, Coyle JT, Duggan P et al. Cell-based interventions for neurologic conditions: ethical challenges for early human trials. *Neurology.* 2008;71(4):288-93. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000316436.13659.80>
37. European Union. European Medicines Agency. Guideline on human cell-based medicinal products. Paris: European Medicine Agency; 2006.
38. Abou-El-Enei M, Römhild A, Kaiser D et al. Good Manufacturing Practices (GMP) manufacturing of advanced therapy medicinal products: a novel tailored model for optimizing performance and estimating costs. *Cytotherapy.* 2013;15(3):362-83. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2012.09.006>



39. European Union. European Medicines Agency. Consultation document good manufacturing practice for advanced therapy medicinal products. Paris: European Medicine

Agency; 2016[acesso 17 out 2017]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/advtherapies/2016_06_pc/2016_06_draft_guideline.pdf

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.