

Imunoterapia adotiva com o uso de células T modificadas geneticamente para expressar receptor de antígeno quimérico (CAR) para neoplasias

Plano de Investigação Clínica

Tipo de documento: Plano de Investigação Clínica
Número da edição: 02
Data da publicação: 13 de fevereiro de 2020

Documento Confidencial

Versão 02, 20 de janeiro de 2021.

Confidencial

IMPORTANTE: Este documento contém informações proprietárias e confidenciais pertencentes ao Hospital Israelita Albert Einstein, Laboratório de Terapia Celular.

Laboratório de Terapia Celular, Good Manufacture Practice (GMP)

Endereço: Hospital Israelita Albert Einstein, Unidade Morumbi. Avenida Albert Einstein, 627, Bloco D, 1º andar.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES.....	4
1. DESCRIÇÃO DO PRODUTO DE TERAPIA AVANÇADA INVESTIGACIONAL	5
2. POSSÍVEL MECANISMO DE AÇÃO.....	5
3. VIA DE ADMINISTRAÇÃO	6
4. INDICAÇÕES A SEREM ESTUDADAS.....	7
5. OBJETIVOS GERAIS DO DESENVOLVIMENTO CLÍNICO	7
6. DURAÇÃO PLANEJADA PARA O DESENVOLVIMENTO CLÍNICO	7
7. DESCRIÇÃO DO ENSAIO CLÍNICO PLANEJADO	8
7.1 DESENHO DO ESTUDO	8
7.2 OBJETIVO GERAL	9
7.2.1 <i>Objetivos Específicos</i>	10
7.3 POPULAÇÃO A SER ESTUDADA	10
7.3.1 <i>Critérios de Inclusão</i>	10
7.3.2 <i>Critérios de Exclusão</i>	13
7.3.3 <i>Eligibilidade para Infusão do Produto Investigacional</i>	15
7.4. CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS	16
7.4.1 <i>Plano Estatístico e Analítico</i>	16
7.4.2 <i>Hipóteses Estatísticas</i>	16
7.4.3 <i>Determinação do Tamanho da Amostra</i>	17
7.4.4 <i>Descrição De Métodos Estatísticos</i>	18
7.4.5 <i>Análise De Viabilidade Do Desfecho Primário</i>	18
7.4.6 <i>Análise De Segurança Do Desfecho Primário</i>	19
7.4.7 <i>Análise De Segurança Do Desfecho Secundário</i>	20
7.4.8 <i>Análise De Desfechos Exploratórios Correlatos</i>	21
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
13. ANEXOS.....	21

Lista de abreviações

CAR	Quimeric Antigen Receptor
DMT	Dose máxima tolerada
DRM	Doença Residual Mínima
HIAE	Hospital Israelita Albert Einstein
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LLC	Leucemia linfóide crônica
LNH	Linfoma não Hodgkin
PTA	Produto de Terapia Avançada
RC	Resposta completa
SG	Sobrevida Global
SLE	Sobrevida livre de eventos
SLP	Sobrevida livre de progressão
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCTH	Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas
TKI	Inibidor de tirosino quinase
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TLD	Toxicidade limitada pela dose

1. Descrição do Produto de Terapia Avançada Investigacional

O produto de terapia avançada (PTA) investigacional consiste de células T autólogas, geneticamente modificadas para expressar receptor de antígeno quimérico (do inglês, *chimeric antigen receptor*, CAR) contra CD19. Este é composto principalmente por células T CD3⁺ (CD4⁺ e CD8⁺) que sofreram ativação de células T *ex vivo*, modificação genética e expansão em sistema automatizado CliniMACS Prodigy® (Miltenyi).

As células T que expressam receptor de antígeno quimérico são formuladas como uma dispersão celular (concentração celular variável dependendo da dose do protocolo e específica para cada paciente) em uma solução contendo Albumina Sérica Humana. Quando criopreservado, a solução crioprotetora de infusão será constituída por Plasmalyte-A, Albumina Sérica Humana e DMSO (dimetilsulfóxido).

O produto antes da infusão deverá atender os seguintes critérios: dose de células CAR+ viáveis que atendem os níveis do protocolo clínico (nível -1 1×10^5 /Kg; nível 1 5×10^5 /Kg; nível 2 1×10^6 /Kg; nível 3 2×10^6 /Kg), com viabilidade >70%, endotoxina $\leq 5,00$ EU, detecção de microrganismos do produto final negativo (Bactec), qPCR para micoplasma negativo, quantificação de replicação de lentivírus negativo, sem novas alterações no cariótipo. O componente ativo do PTA também será caracterizado em relação a atividade anti-tumoral demonstrada em ensaios de citotoxicidade contra linhagem tumoral que expressa CD19. Prevemos uma porcentagem de lise de células tumorais pelas células CAR maior que células T não modificadas geneticamente para expressar CAR (células não transduzidas).

2. Possível Mecanismo de Ação

Os receptores antigênicos quiméricos (CARs) são receptores de células T recombinantes compostos por um fragmento extracelular derivado do fragmento variável de imunoglobulina, que, por sua vez, está ligada a sequências de sinalização intracelular

derivadas de células T. A introdução de um CAR em uma célula T pode induzir a ativação dessa célula pela ligação do fragmento variável de cadeia simples de um anticorpo com seu antígeno-alvo presente na célula tumoral. Assim, os CARs são desenhados para se ligar a um alvo específico na superfície da célula tumoral, enquanto as moléculas de sinalização adjacentes são responsáveis pela ativação, proliferação e lise da célula tumoral. Células CAR T efetivas no tratamento do câncer devem ser capazes reconhecer o antígeno específico nas células tumorais, desencadear resposta citotóxica dirigida contra o tumor, proliferar-se e, idealmente, formar memória, evitando assim a recorrência do tumor.

3. Via de Administração

O produto à base de células CAR T CD19 será administrado no Hospital Israelita Albert Einstein. Equipamentos médicos de emergência (por exemplo, carro de emergência) estarão disponíveis durante a infusão. O produto à base de células CAR T CD19 será administrado por via intravenosa, durante 10 a 20 minutos (geralmente com tempo menor que 1 hora) ou conforme tolerado. A documentação na ficha médica deverá incluir o volume de infusão das células, o horário de início/término.

Recomenda-se que os indivíduos sejam pré-medicados com 750 mg de acetaminofeno via oral ou Dipirona 500 mg via oral ou IV e 25-50 mg de cloridrato de difenidramina via oral ou IV, antes da infusão das células CAR T CD19. Esses medicamentos podem ser repetidos a cada seis horas, se necessário. Um ciclo de droga anti-inflamatória não esteroide pode ser prescrito, caso o paciente continue febril, sem alívio com acetaminofeno ou dipirina. Recomenda-se que os pacientes não recebam corticosteroides sistêmicos, como hidrocortisona, prednisona, prednisolona (Solu-Medrol) ou dexametasona (Decadron), em nenhum momento, exceto no caso de uma emergência de risco à vida, pois podem exercer efeito adverso contra células T. Caso corticosteroides sejam necessários para tratar uma reação de risco à vida devido à infusão, recomenda-se uma dose inicial hidrocortisona 100 mg.

Os sinais vitais (temperatura, frequência respiratória, pulso e pressão arterial) serão

coletados antes e após a infusão e, em seguida, a cada 15 minutos por pelo menos uma hora e até que esses sinais estejam estáveis.

4. Indicações a serem Estudadas

O potencial terapêutico das células T autólogas modificadas geneticamente para expressar CAR está sendo avaliado em diversos estudos clínicos para tratamento de diversas doenças onco-hematológicas, além de neoplasias B que expressam CD19, como mieloma múltiplo, leucemia mieloide aguda e também de tumores sólidos, como glioblastoma.

O protocolo de estudo clínico apresentado neste momento trata-se do uso de linfócitos CAR T contra o CD19 presentes em neoplasias linfoides CD19 positivo.

5. Objetivos Gerais do Desenvolvimento Clínico

O objetivo deste estudo é examinar a viabilidade e segurança da administração de células T autólogas que foram modificadas geneticamente para expressar CAR direcionado ao antígeno de superfície de células B CD19. Crianças e adultos com diagnóstico de leucemia linfóide aguda, leucemia linfóide crônica ou linfomas refratários ou recidivados que expressam CD19 serão tratados com a administração do regime quimioterápico de linfodepleção seguido da infusão de células CAR T.

Assim, o objetivo geral do estudo é validar o perfil de segurança da administração das células CAR T CD19 e descrever as toxicidades. Além disso, levantamos a hipótese de que conseguiremos produzir com sucesso células CAR T para atender aos critérios de liberação a uma dose-alvo mínima de 5×10^5 células/quilograma. Para a produção, será utilizado o sistema de transdução em sistema fechado CliniMACS Prodigy® da Miltenyi.

6. Duração Planejada para o Desenvolvimento Clínico

Com esse é um estudo clínico Fase I, determinaremos a dose de CAR T CD19 segura e ideal para realizar o estudo clínico Fase II para avaliar a eficácia do tratamento para neoplasias B CD19+ refratárias e recidivas. Além disso, se comprovada a segurança de células CAR T produzidas em sistema automatizado CliniMACS Prodigy® (Miltenyi), pretendemos iniciar novos estudos clínicos fase I utilizando células T modificadas geneticamente para expressar CAR contra outros antígenos tumorais.

Esse estudo fase I terá duração de aproximadamente 4 anos. Nos primeiros 3 anos serão realizadas validações, inclusão e tratamento de pacientes e um ano subsequente a análise de dados. As questões de segurança de longo prazo serão investigadas em um segundo protocolo.

7. Descrição do Ensaio Clínico Planejado

7.1 Desenho do Estudo

Este é um estudo de fase I, com desenho de aumento de dose em “3 + 3”, em crianças e adultos com LLA (leucemia linfóide aguda), LLC (leucemia linfóide crônica) ou linfoma recidivados ou refratário após tratamentos padrão. As células mononucleares de sangue periférico (do inglês, *peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) autólogas serão obtidas por leucaférese e transduzidas para expressar receptor de antígeno quimérico direcionado ao antígeno de superfície de células B CD19. Os indivíduos receberão regime quimioterápico de linfodepleção com fludarabina e ciclofosfamida, seguido de infusão de células T CAR CD19. Eles serão avaliados após o tratamento quanto à toxicidade, efeitos antitumorais, persistência de células T que expressam CAR *in vivo* e funcionalidade das células T transduzidas. Três níveis de doses planejadas de células CAR T CD19 serão administradas em coortes crescentes do nível de dose 1, definido na **Tabela 1**.

Tabela 1. Esquema de Dosagem

Nível da Dose	Dose de Células CAR T Anti-CD19*	Fludarabina (mg/m ² do dia -5 ao -3)	Ciclofosfamida (mg/kg/IV no dia -6)
---------------	----------------------------------	---	-------------------------------------

Nível -1	1×10^5 células/kg	25	60
Nível 1 [Dose Inicial]	5×10^5 células/kg	25	60
Nível 2	1×10^6 células/kg	25	60
Nível 3	2×10^6 células/kg	25	60

*A dose de células T CAR estará no nível de dose pré-especificado ou o mais próximo possível, com uma variação de $\pm 20\%$.

Coorte 1: pacientes pediátricos com leucemia linfóide aguda ou linfoma não-Hodgkin agressivo (2 a 17 anos completos);

Coorte 2: pacientes adultos com leucemia linfóide aguda (acima de 18 anos);

Coorte 3: pacientes adultos com Linfoma não-Hodgkin, leucemia linfóide crônica (acima de 18 anos).

Pacientes das Coortes 1 e 2 inicialmente receberão 5×10^5 células CAR T 19 por kg de peso do paciente (nível 1). A dose seguinte será 1×10^6 células CAR T 19 por kg de peso do paciente (nível 2) e na sequência 2×10^6 células CAR T 19 por kg de peso do paciente (nível 3). Caso apresente toxicidade com o nível 1, será utilizado o nível -1 com 1×10^5 células CAR T 19 por kg de peso do paciente.

Pacientes da Coorte 3 receberão no início 1×10^6 células CAR T 19 por kg de peso do paciente (nível 2). Caso apresente toxicidade, utilizaremos a dose de nível 1. Caso apresente toxicidade, utilizaremos a dose 0. Após a dose de nível 2, caso não apresente toxicidade, seguiremos com nível 3.

7.2 Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade da produção de células CAR T CD19 autólogas a uma dose-alvo mínima de 5×10^5 células/quilograma, usando o sistema automatizado CliniMACS Prodigy® (Miltenyi). Determinar a segurança da infusão com células T do receptor de antígeno quimérico direcionado ao CD19 e descobrir a dose recomendada de fase II para neoplasias linfóides B refratárias ou recidivadas CD19 positivo.

7.2.1 Objetivos Específicos

Objetivos Secundários

- Avaliar a taxa de resposta global e a taxa de resposta completa das neoplasias linfoides B tratadas com células CAR T direcionadas ao CD19.
- Avaliar os tipos de resposta, incluindo doença residual mínima (DRM), remissão completa, sobrevida global (SG), sobrevida livre de eventos (SLE).

Objetivos Correlacionados

- Descrever a persistência das células CAR T CD19, medida por citometria de fluxo e qPCR *in vivo*;
- Descrever as subpopulações de células T do produto à CAR T CD19 antes da infusão;
- Descrever as alterações nas células CAR T CD19 após a infusão e sua correlação com a resposta à doença e eventos adversos;
- Investigar a correlação entre alterações nas concentrações plasmáticas de citocinas e alterações nas subpopulações de células T CAR CD19 ao longo do tempo.

7.3 População a ser estudada

Pacientes pediátricos e adultos (a partir de 2 anos de idade até 70 anos) com LLA, linfoma, e LLC positivos para CD19.

7.3.1 Critérios de Inclusão

Para ser elegível para participar deste estudo, um indivíduo deve atender a todos dos seguintes critérios:

1. Fornecimento do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) datado e assinado;

2. Disposição expressa para cumprir todos os procedimentos do estudo e disponibilidade durante o estudo;
3. Homens ou mulheres; idade 02 e 70 anos;
4. Boa saúde geral, comprovada pelo histórico médico; diagnóstico de LLA, LLC e linfoma não Hodgkin refratários ou recidivados;
5. Capacidade de administrar medicamentos orais;
6. Para mulheres com potencial reprodutivo: uso de contraceptivo altamente eficaz por pelo menos 1 mês antes da triagem e concordar em usar um método contraceptivo durante a participação no estudo e por mais 4 meses após o término da administração das células CAR T;
8. Para homens com potencial reprodutivo: uso de preservativos ou outros métodos para garantir contracepção eficaz com a parceira;Concordância em aderir às Recomendações de Estilo de Vida: Mulheres com potencial para engravidar, definidas como todas as mulheres fisiologicamente capazes de engravidar, devem usar métodos anticoncepcionais altamente eficazes pelo menos 4 meses após a infusão de CAR-T; Homens sexualmente ativos devem usar preservativo durante a relação sexual a partir do momento da assinatura do projeto por pelo menos 4 meses após a infusão de CAR-T. Um preservativo é necessário para todos os participantes sexualmente ativos do sexo masculino para impedi-los de ter um filho e para evitar a entrega do tratamento do estudo através do fluido seminal ao seu parceiro. Além disso, os participantes não devem doar esperma. Os sujeitos deveriam comparecer às consultas, fazer os exames de acordo com o protocolo, usar os antibióticose outros medicamentos conforme indicados.

1.

Os indivíduos devem atender a todos os seguintes critérios de inclusão para serem elegíveis para a admissão:

1. Indivíduos devem ter LLA, LLC ou linfoma recidivado ou refratário tratado com pelo menos duas linhas de tratamento. A doença deve ter progredido ou apresentar remissão parcial ou a resposta completa não deve ter sido alcançada com o último regime;
2. Indivíduos com leucemia linfoblástica aguda positiva para o Cromossomo Filadélfia (LLA+Ph) são elegíveis caso tenham progredido, apresentem doença estável ou recidivada após duas linhas de tratamento, incluindo inibidores de tirosina quinase (TKIs);
3. Indivíduos com LNHDGCB (linfoma não-Hodgkin de grandes células B) devem ter progredido, apresentado doença estável ou recorrência após os regimes de tratamento inicial que incluem uma antraciclina e um anticorpo monoclonal anti-CD20;
4. Indivíduos com LF (linfoma folicular), LZM (linfoma da zona do manto) ou LLC/LLA transformados devem ter progredido, apresentado doença estável ou recorrência com doença transformada após o tratamento inicial para LNHDGCB;
5. Indivíduos que apresentaram recidiva ≥ 12 meses após o tratamento devem ter progredido após o transplante autólogo ou ser inelegíveis para o transplante autólogo;
6. A doença do paciente deve ser positiva para CD19 por imuno-histoquímica ou análise de citometria de fluxo na última análise disponível;
7. 2 a 70 anos de idade;
8. Estado geral: Indivíduos Adultos: ECOG menor ou igual 2 para indivíduos maior ou igual a 16 anos; Lansky maior ou igual a 50% para indivíduos menor que 16 anos;
9. Funcionamento Normal dos Órgãos e da Medula (tratamento de suporte é permitido de acordo com as normas institucionais, ou seja, filgrastim, transfusão):
 - Bilirrubina total ≤ 2 ;

- AST (TGO) ≤ 5 vezes limite de normalidade;
- ALT (TGP) ≤ 5 vezes o limite de normalidade;
- Creatinina Sérica ≤ 1.5 ;
- Oximetria de pulso $>91\%$ em ar ambiente; Ausência de dispneia ou dispneia leve ($\leq$ Grau 1); Volume expiratório forçado em 1 s (VEF1) $\geq 50\%$ ou teste de difusão do monóxido de carbono (DLCO) $\geq 50\%$ do nível previsto;
- Fração de ejeção de ventrículo esquerdo $\geq 45\%$ confirmado por ecocardiograma;

Os indivíduos devem apresentar os seguintes parâmetros de função hematológica:

- Neutrófilo $> 1000/\mu\text{l}$;
 - Contagem Absoluta de Linfócitos $> 100/\mu\text{l}$;
 - Plaquetas $> 50.000/\mu\text{l}$;
 - Paciente não deve ser excluído se alteração dos parâmetros acima por infiltração de doença medular;
10. Eliminação de tratamento anterior: Pelo menos 2 semanas ou 5 meias-vidas, o que for mais longo, devem ter decorrido desde qualquer terapia sistêmica anterior no momento em que a leucaférese for planejada para o indivíduo, exceto a terapia sistêmica de checkpoint inibitório/imunoestimulante, que exige 5 meias-vidas. Paciente com tratamento prévio com blinatumumab, pelo menos 4 meses da última aplicação;
11. Os indivíduos devem conseguir entender para terem disposição para assinar um termo de consentimento livre e esclarecido.

7.3.2 Critérios de Exclusão

A presença de qualquer um dos seguintes critérios excluirá um indivíduo da admissão ao estudo:

1. Transplante autólogo dentro de 6 semanas da infusão planejada de células CAR T;
2. Histórico de transplante alogênico células-tronco de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) 4 meses antes da infusão;
3. Recebimento de tratamento com células CAR T fora deste protocolo;
4. Comprometimento do sistema nervoso central ou meníngeo ativo por tumor. Indivíduos com metástases cerebrais/doença no SNC não tratadas serão excluídos deste estudo clínico devido ao seu prognóstico desfavorável e porque muitas vezes desenvolvem disfunção neurológica progressiva que confundiria a avaliação de eventos adversos neurológicos e outros. Pacientes com um histórico de comprometimento do SNC ou meníngeo devem estar em remissão documentada por avaliação do líquido céfalo-raquidiano e RM com contraste por pelo menos 90 dias antes do registro;
5. Histórico de malignidade ativa, que não seja câncer de pele não melanoma, carcinoma in situ (p. ex., cervical, vesical, mamário);
6. Infecção pelo HIV; HTLV
7. Indivíduos com doença intercorrente não controlada, entre outras, infecção existente ou ativa, insuficiência cardíaca congestiva sintomática, angina pectoris instável, arritmia cardíaca, anormalidades pulmonares ou doenças psiquiátricas/situações sociais que limitariam a conformidade com as exigências do estudo;
8. Gestantes ou lactantes são excluídas deste estudo, pois o tratamento com células CAR T pode estar associado ao potencial para efeitos teratogênicos ou abortivos. Mulheres férteis devem ter um resultado negativo de teste sérico de gravidez. Como existe um risco desconhecido, mas possível de eventos adversos em lactentes secundários ao tratamento da mãe com células CAR T, a amamentação deve ser descontinuada. Esses possíveis riscos também podem ser aplicar a outros agentes utilizados neste estudo. Indivíduos férteis devem se dispor a utilizar

- contraceptivos desde a admissão neste estudo e por 4 (quatro) meses após o recebimento do regime preparatório;
9. Evidência de mielodisplasia ou anormalidade citogenética indicativa de mielodisplasia em qualquer biópsia da medula óssea antes do início do tratamento;
 10. Status serológico refletindo infecção por hepatite B ou C ativa. Os pacientes que apresentam resultado positivo para anticorpo do núcleo da hepatite B, antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) ou anticorpo de hepatite C devem apresentar um resultado de reação em cadeia da polimerase (PCR) negativo antes da admissão. (os pacientes com resultado de PCR positivo serão excluídos);
 11. Afecções clínicas graves e/ou potencialmente fatais;
 12. Pacientes com histórico clínico de patologia em sistema nervoso central relevante como epilepsia, doenças convulsivas, paresia, afasia, lesão cerebral grave, demência e doença de Parkinson;
 13. Histórico de doença auto-imune (como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico) com necessidade de medicação imunossupressora nos últimos 12 meses;
 14. Histórico de hiper-sensibilidade grave à um dos agentes utilizados no estudo.
 15. Nível de creatinina inferior a 30 ml/min
- 1.

7.3.3 Elegibilidade para Infusão do Produto Investigacional

Os indivíduos serão submetidos a uma segunda avaliação de elegibilidade no dia - 2 ou -1 antes da infusão do produto de célula anti-CD19 CAR-T. Este critério de elegibilidade incluirá os critérios de inclusão e exclusão necessários para a inscrição, com as seguintes exceções e adições.

Exclusão aos critérios de inclusão

- Os parâmetros da função hematológica não serão incluídos como critério de elegibilidade para pré-infusão (porque é esperado que a quimioterapia linfodepletiva cause pancitopenia);
- Anormalidades nos resultados laboratoriais que são considerados não clinicamente significativos pelo investigador principal e ausência de infecção ou acometimento do sistema nervoso ativo;

Adição aos critérios de exclusão:

- Uso de corticosteróide 7 dias antes da infusão (com exceção de agentes usados na prevenção de êmese na quimioterapia linfodepletiva);
- Sintomas neurológicos sugestivos de infecção em sistema nervoso central;
- Sinais ou marcadores laboratoriais de infecção ativa ou síndrome inflamatória sistêmica;

7.4. Considerações Estatísticas

7.4.1 Plano Estatístico e Analítico

Este é um Estudo de Fase I, para demonstrar a viabilidade e segurança da administração de Células T CAR CD19, utilizando o sistema automatizado CliniMACS Prodigy® da Miltenyi, em indivíduos pediátricos e adultos com linfoma LLA ou LLC positivos para CD19 recidivada/refratária. O objetivo geral desse estudo é validar esse método de transdução e expansão para uso no desenvolvimento de estudos clínicos futuros com terapia adotiva de células T e estabelecer a RP2D nessa população de indivíduos.

7.4.2 Hipóteses Estatísticas

Objetivo(s) Primário(s)

- Hipótese: Levantamos a hipótese de que seremos capazes de produzir células CAR T com êxito em uma dose-alvo mínima, em cada nível de dose definido na Tabela 1: Esquema de Dosagem. Medida do Resultado: Proporção de produtos fabricados com sucesso que atende aos critérios definidos de liberação, com um objetivo de pelo menos 5×10^6 células/quilograma.
- Hipótese: Prevemos um perfil de evento adverso e RP2D similares aos de produtos de células CAR T relatados em estudos clínicos anteriores. Medida do Resultado: Incidência e gravidade de eventos adversos, TLD, DMT.

Objetivo(s) Secundário(s):

- Taxa de resposta completa (RC) um mês após a infusão em indivíduos com LLA, dois meses com LLC e taxa de RC três meses após a infusão em indivíduos com linfoma;
- Status de DRM um mês após a infusão por citometria de fluxo;
- Sobrevida global e livre eventos em um ano.

7.4.3 Determinação do Tamanho da Amostra

Este é um desenho padrão 3 + 3 e, por isso, nenhuma medida estatística é aplicada.

O número mínimo de 6 indivíduos seria tratado se (2/3) toxicidades dose-limitadas fossem observadas no nível de dose inicial (nível 1) e (2/3) toxicidades dose-limitadas fossem observadas no nível de dose -1. O estudo seria encerrado em razão da toxicidade excessiva.

Se nenhuma toxicidade dose-limitada fosse observada nos 3 coortes planejados, 9 pacientes seriam admitidos nos 3 coortes de aumento de dose (três em cada coorte). Se 1/6 toxicidades dose-limitadas fossem observadas em cada coorte de tratamento planejado, no máximo, 18 pacientes seriam admitidos para a parte de aumento de dose do estudo (seis em cada coorte) para a coorte 1 (pacientes pediátricos com LLA ou LNH) ou coorte 2 (pacientes adultos com LLA). O mesmo número de indivíduos (18) seria atingido se

6 pacientes fossem admitidos no nível de dose 1, -1 e novamente 1 após novo aumento de dose. Mas na coorte 3 (pacientes adultos com LNH e LLC), se houver 1/6 toxicidade em todos os níveis, até nível 3, como se tem a possibilidade de descalonar para o nível -1, o número máximo de pacientes tratados pode chegar em 24.

7.4.4 Descrição De Métodos Estatísticos

Todos os dados serão analisados utilizando estatísticas descritivas padrão. Frequências e porcentagens serão fornecidas para variáveis qualitativas, e mediana e faixa para variáveis contínuas.

7.4.5 Análise De Viabilidade Do Desfecho Primário

A viabilidade será definida como o êxito na fabricação de células CAR T CD19 que atendam aos critérios de liberação estabelecidos para satisfazer o nível de dose desejado. Embora esperemos atingir a dose de células desejada durante a fabricação, a viabilidade da fabricação de células permanece como objetivo primário nessa população de indivíduos. Será determinado o número de indivíduos para os quais podemos fabricar a dose desejada com êxito. Indivíduos serão admitidos em determinado nível de dose, até que os indivíduos adequados sejam admitidos para produzir o número correto de células para avaliação de segurança em nível de dose (consulte a **Tabela 1**). Especificamente, o aumento de dose ocorrerá desde que 3 ou mais dos primeiros 3 a 6 indivíduos em um nível de dose consigam produzir células adequadas para avaliação. Isso pode significar, por ex., que será preciso admitir entre 6 e 9 indivíduos em nível de dose, para obter 6 indivíduos para a avaliação de segurança. No entanto, se for possível produzir células adequadas para menos de 3 dentre 6 indivíduos em determinado nível de dose, a avaliação da segurança e viabilidade daquele nível e de níveis acima não será realizada. Se for possível produzir células adequadas para menos de 3 dentre 6 indivíduos no nível de dose 1, a admissão prosseguirá para o nível de dose -1. Se for possível produzir células adequadas para menos de 3 dentre 6 indivíduos no nível de

dose -1, a admissão no estudo será interrompida para aguardar a modificação dos procedimentos de fabricação, que devem ser aprovados por todos os órgãos regulatórios (ou seja, CEP, ANVISA). Se limitações no crescimento celular impedirem a administração da dose de células desejada para o coorte, o indivíduo receberá quantas células for possível e será considerado parte de um coorte de dose menor. Caso não seja possível obter um mínimo de $5,0 \times 10^5$ de células CAR T CD19 transduzidas por kg (Nível de Dose 1) para infusão, o indivíduo pode ser tratado, porém não poderá ser avaliado quanto à toxicidade ou resposta, sendo considerado uma falha de viabilidade. Especificamente, caso não seja possível produzir células T CAR CD19 adequadas para mais de 3 indivíduos após a admissão de 6 indivíduos em um nível de dose, os acréscimos àquele nível de dose serão interrompidos e a fase de aumento de dose do estudo também será finalizada, pois o intervalo de confiança unilateral superior de 90% para 3/6 é de 79,9%; assim, seria improvável que a taxa de viabilidade real fosse de 80% ou mais para uma suposição, o que seria desejável.

7.4.6 Análise De Segurança Do Desfecho Primário

O desfecho de Segurança para células T CAR CD19 é evidenciado pela incidência e gravidade das toxicidades dose limitadas (TDL) (ou seja, anormalidades laboratoriais, alterações em sinais vitais e exame físico) após a quimioterapia linfodepletora e infusão de células T CAR CD19, registrado e classificado segundo os Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos (CTCAE), Versão 5.0, em três níveis de dose até a determinação da dose máxima tolerada (DMT).

A uma taxa real de TDL de 20%, a chance de aumentar a dose para o próximo nível é de 71% e de estabelecer um nível de dose menor como a DMT é de 29%. A uma taxa real de TDL de 50%, a probabilidade de aumentar a dose para o próximo nível é de 17% e de estabelecer um nível de dose anterior como a DMT é de 83%.

A probabilidade de aumentar a dose para o próximo nível é calculado a partir da probabilidade de os primeiros 3 pacientes não terem TDL, conforme a formula abaixo,

$$Pr_1(escalamento) = (1 - TDL)^3$$

ou a probabilidade de haver 1 TDL em qualquer um dos 3 primeiros pacientes, seguido de nenhuma DLT nos 3 pacientes subsequentes, conforme a formula abaixo,

$$Pr_2(escalamento) = 3 \times [(1 - TDL)^2 \times DLT] \times (1 - TDL)^3$$

sendo, portanto, a probabilidade final de escalonamento:

$$Pr_{Final}(escalamento) = Pr_1(escalamento) + Pr_2(escalamento)$$

Tabela 2: Probabilidade de aumentar os níveis de dose

	Taxa de DLT subjacente				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Probabilidade de aumentar para o próximo nível	0,91	0,71	0,49	0,32	0,17
Probabilidade de não aumentar e definir o nível anterior como a MTD	0,09	0,29	0,51	0,68	0,83

7.4.7 Análise De Segurança Do Desfecho Secundário

Embora seja um desfecho secundário, a eficácia será importante para determinar se um estudo de fase 2 será necessário.

eficácia para linfoma e LLA B pode variar e, portanto, a eficácia será analisada e relatada separadamente nesses grupos. A eficácia será relatada de forma descritiva e servirá como base para futuras pesquisas. A sobrevida global (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP) serão avaliados por corte de dose e nos dois primeiros grupos em DMT (ou na maior dose estudada). A sobrevida livre de progressão (SLP) será medida desde o início do regime quimioterápico de linfodepleção, até a documentação da progressão da doença ou morte por qualquer causa, o que ocorrer primeiro. A sobrevida global será

determinada como o momento desde o início do regime quimioterápico de linfodepleção até a morte.

7.4.8 Análise De Desfechos Exploratórios Correlatos

Os resultados de estudos correlatos realizados neste estudo serão analisados com estatística descritiva, incluindo avaliações de mediana, mínimo e máximo. A área abaixo da curva (AUC) será usada como uma medida da secreção de citocina, bem como da expansão e persistência das células T CAR. As comparações serão feitas entre pacientes respondedores e não respondedores, utilizando o teste de Mann–Whitney para variáveis quantitativas e o teste exato de Fisher para variáveis categóricas. O teste de Wilcoxon será usado para avaliar as alterações nas concentrações de citocina, expansão de células CAR T e alterações no fenótipo das células T ao longo do tempo. Embora o tamanho da amostra possa não permitir alcançar significância estatística em testes de associação, avaliaremos se há associações entre as concentrações séricas de citocina e expansão das células T (medida em alterações em números absolutos, alterações percentuais e AUC), bem como a presença ou ausência de resposta e eventos adversos. As correlações entre variáveis quantitativas serão feitas com o teste de correlação de Spearman, e a correlação entre variáveis categóricas será feita utilizando o teste exato de Fisher.

12. Referências Bibliográficas

13. Anexos