

INFORME CLÍNICO FINAL

CeTMAd-VIH-2014

Ensayo clínico Fase I/II, de prueba de concepto, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, para valorar la seguridad y eficacia del tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas, en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

Promotor: Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas - Fundación Progreso y Salud.

Versión 1 de 10 de junio de 2022



1. Información general del estudio

Título del estudio: Ensayo clínico Fase I/II, de prueba de concepto, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, para valorar la seguridad y eficacia del tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas, en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

Identificación:

- Código del Protocolo: CeTMAd-VIH-2014
- EudraCT: 2014-000307-26

Fase de Desarrollo: Fase I/ II

Descripción: El presente estudio ha consistido en el tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas a pacientes con infección por VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante, con el objeto de valorar su seguridad y la eficacia sobre la recuperación inmunológica de los pacientes.

Producto de investigación: Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeTMAd).

Indicación terapéutica: Infección por el VIH con respuesta inmunológica discordante.

Promotor:

- Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas.
Avd. Américo Vespucio 15 Edificio S-2, 2ª planta.
C.P. 41092 Sevilla (España).

Investigador Principal:

- **Dr. Luis Fernando López Cortés.**
Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva.
Hospital Universitario Virgen del Rocío.
Avda. Manuel Siurot, s/n. 41013. Sevilla.
Tfno.: 955013096. 649828276. Fax: 9542624466.
e-mail: lflopez@us.es

Persona (s) de contacto:

- **Rosario Mata Alcázar-Caballero.**



Coordinadora Médica y de Asuntos Reguladores.

Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas –Fundación

Pública Andaluza Progreso y Salud.

Avd. Américo Vespucio 15 Edificio S-2, 2ª planta C.P. 41006 SEVILLA (España).

Tel. (+34) 955.89.01.24 – (+34) 955.04.83.66 / Fax. (+34) 955.26.70.02.

Correo: rosario.mata@juntadeandalucia.es

Fechas Relevantes:

Documento	Fecha
Protocolo	20 de diciembre de 2016
Consentimiento Informado*	20 de diciembre de 2016
Hoja de Información al paciente	20 de diciembre de 2016
Inicio Reclutamiento	Septiembre de 2016
Fin Reclutamiento	Abril de 2019
Primer paciente incluido	8 de febrero de 2017
Último paciente incluido	18 de septiembre de 2017
Cierre de la BBDD	16 de junio de 2021
Fin de estudio	4 de febrero de 2020
Informe Clínico Final	10 de junio de 2022

** Consentimiento informado de Enmienda nº 1 del Protocolo, versión 2.0 de 21 de septiembre de 2016*

La información reflejada en el cuadro anterior se corresponde con las versiones finales vigentes.

Cumplimentación de Buenas Prácticas Clínicas (BPC).

El investigador principal se comprometió a realizar el ensayo de acuerdo con la versión vigente del protocolo, a seguir las Buenas Prácticas Clínicas (BPC), las recomendaciones de la OMS, el código deontológico, la normativa de la legislación española sobre ensayos clínicos y las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos en humanos recogidas en las declaraciones internacionales éticas de Helsinki (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013). Para la ejecución del estudio, éste fue evaluado y aprobado por el Comités de la Ética de la Investigación



con medicamentos (CEIm) y la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS).

Confidencialidad.

Los datos generados por este estudio fueron considerados confidenciales por el investigador, excepto para su inclusión en una publicación.

La identidad del paciente fue confidencial a lo largo de todo el estudio y los datos referidos a cada paciente, se transmitieron, en caso de haber sido necesario, de forma encriptada.

Los datos obtenidos se trataron según lo establecido en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

El presente informe es propiedad del promotor del estudio, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, y por ello no deberá ser ni parcial ni totalmente difundido, compartido, publicado sin el permiso expreso del promotor.

2. Resumen del Estudio

2.1. Título del Estudio

Ensayo clínico Fase I/II, de prueba de concepto, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, para valorar la seguridad y eficacia del tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas, en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

2.2. Nombre del producto terminado

Suspensión de células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeTMAd).

2.3. Nombre de la sustancia activa.

Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeTMAd).

2.4. Investigador Principal y coinvestigadores.

A continuación, se indica el investigador principal y los investigadores colaboradores de los centros participantes:



- **Hospital Universitario Virgen del Rocío. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva.**
 - Dr. Luis Fernando López Cortés.
 - Dr. José M. Cisneros Herreros
 - Dra. Nuria Espinosa Aguilera
 - Dra. Alicia Gutiérrez Valencia
 - Dr. Pompeyo Viciano Fernández
 - Dr. César Sotomayor
- **Equipo investigador responsable de la producción del MEI**
 - Dr. Salvador Arias Santiago
 - Dra. Olga Espinosa Ibáñez
 - Antonio Ruiz García

2.5. Centro (s) del Estudio

- **Hospital Universitario Virgen del Rocío.**
Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva.
Avda. Manuel Siurot, s/n.
41013 Sevilla.
- **Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular del Complejo Hospitalario Universitario de Granada.**
Avenida de las Fuerzas Armadas nº 2, 4ª Planta Ed. de Gobierno.
18014 – Granada.

2.6. Comité Independiente de Monitorización de datos

El ensayo contó con un comité independiente de monitorización de datos formado por 4 miembros con el siguiente perfil:

- dos asesores clínicos: uno de ellos experto en el área terapéutica en la que se desarrolló el ensayo clínico,
- un metodólogo clínico y
- un experto en cuestiones éticas.

Las funciones del comité fueron:



- Garantizar la correcta inclusión de los pacientes, actuando como órgano consultor cuando el promotor planteara dudas al respecto.
- Asesorar en casos dudosos sobre la retirada de los pacientes del ensayo clínico.
- Asesorar sobre cualquier cuestión que afectara a la seguridad de los pacientes.
- Evaluar los datos de seguridad y factibilidad recogidos de los primeros 5 pacientes tratados.
- Participar en cualquier decisión que sirviera para garantizar la realización del ensayo según las Buenas Prácticas Clínicas.

2.7. Publicaciones.

Los resultados o conclusiones del ensayo clínico se comunicaron prioritariamente en publicaciones científicas antes de haber sido divulgado al público no sanitario. No se dieron a conocer de modo prematuro o sensacionalista procedimientos de eficacia aún no determinados. En el momento del cierre del presente informe se ha realizado la siguiente publicación:

Trujillo-Rodríguez M, Viciano P, Rivas-Jeremías I, et al. Mesenchymal stromal cells in Human Immunodeficiency Virusinfected patients with discordant immune response: Early results of a phase I/II clinical trial STEM CELLS Transl Med. 2020;1–8.

2.8. Objetivos del Ensayo Clínico.

2.8.1. Objetivos Primarios.

- Evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de 4 dosis de células Mesenquimales troncales alogénicas de tejido adiposo en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.
- Evaluar la eficacia de la infusión intravenosa de 4 dosis de CeTMAd en la recuperación inmunológica tras 3 ciclos mensuales de infusión de CeTMAd y una infusión adicional en semana 20 en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.

2.8.2. Objetivos Secundarios.

Analizar la evolución de los siguientes parámetros a lo largo de un año tras 4 infusiones de CeTMAd:

1. Cambios en la Alp, mediante marcadores celulares y solubles.



2. Cambios en ADN proviral integrado en PBMCs y/ en CD4+.
3. Evaluar la relación entre los cambios en los recuentos de linfocitos T CD4+ y sus % porcentajes con los observados en la Alp.

2.9. Metodología

El presente estudio se diseñó como un ensayo clínico fase I/II de prueba de concepto, doble ciego, controlado con placebo y aleatorizado, para evaluar la seguridad y eficacia de tratamiento con células Mesenquimales troncales adultas alogénicas procedentes de tejido adiposo (CeTMAd), en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante. El ensayo se planteó en dos fases, una fase inicial donde se incluirían 5 pacientes de forma secuencial, con 15 días mínimo de cadencia entre cada uno, siendo todos tratados con el medicamento en investigación y una segunda fase aleatorizada. Una vez tratado el último paciente de la primera fase con las 3 primeras dosis previstas, el Comité independiente de Monitorización de Datos evaluaría los datos de seguridad, reclutándose el resto de pacientes (n=10) si la evaluación fuera positiva. De forma aleatoria, 5 de estos pacientes recibirían terapia celular y los otros 5 recibirían una infusión de placebo.

Nota: Finalmente la segunda fase no llegó a realizarse, ya que, tras la evaluación de los resultados de seguridad de la fase inicial por parte del Comité Independiente de Monitorización de Datos, este consideró que la ausencia de indicios de beneficio clínico para los pacientes evaluados desaconsejaba la continuación de la segunda fase del ensayo.

El periodo de seguimiento tras el tratamiento fue de 48 semanas en cada paciente (desde la primera dosis de tratamiento), más un periodo de seguridad adicional de 48 semanas (ver tabla 1).

Visita 1. Visita de selección

La selección de los pacientes candidatos se realizó desde la Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva del Hospital U. Virgen del Rocío. Durante esta visita, los pacientes firmaron el consentimiento informado, tras lo cual se programaron los procedimientos necesarios para confirmar que el paciente cumplía los criterios de selección.

Visita 2. Aleatorización

Una vez confirmado que el paciente cumplía todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión se procedería a la aleatorización de los mismos. El procedimiento de aleatorización se



realizaría a partir del 6º paciente. Finalmente, esta visita no aplicó, ya que, la segunda fase, aleatorizada, no llegó a realizarse.

Visita 3 (1ª infusión). Día 0. Visita de infusión

Una vez realizada las pruebas necesarias, se procedió a realizar la infusión de los pacientes de la fase inicial.

Visita 4. Semana 3 (\pm 4días) tras primera infusión. Visita de Seguridad

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 5 (2ª Infusión). Semana 4 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la segunda infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 6. Semana 7 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 7 (3ª Infusión). Semana 8 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la tercera infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 8. Semana 12 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

Se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visita 9. Semana 19 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó principalmente la situación clínica de los pacientes.

Visita 10 (4ª Infusión) Semana 20 (\pm 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la cuarta infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 11. Semana 24 (\pm 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visita 12. Semana 36 (\pm 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.



Visita 13. Semana 48 (± 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visitas 14-16. Semanas 60, 72, 84 (± 7 días) tras 1ª Infusión. Visitas de Seguridad.

Una vez finalizado el seguimiento de cada paciente de 48 semanas, se realizaron otras 3 visitas coincidiendo con las semanas 60, 72 y 84 (± 7 días) después de la 1ª infusión.

En estas visitas se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 17: Semana 96 (± 7 días) tras 1ª Infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

- El tratamiento experimental consistió en una suspensión de células CeTMAd a dosis de 1×10^6 CeTMAd/Kg de peso para los 5 pacientes incluidos. El producto en investigación fue enviado desde la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular de Granada, y fue recibido en el centro receptor el día acordado para realizar la infusión de CeTMAd/Placebo a cada paciente. El centro receptor siempre verificó que el producto de investigación se recibía en buenas condiciones.
- El tratamiento placebo, aunque no se alcanzó la segunda fase del ensayo, estaba previsto que consistiera en una infusión intravenosa de 4 dosis de una solución inyectable de Lactato de Ringer-albúmina humana 1% de uso clínico IV.

2.10. Número de pacientes

De acuerdo con el protocolo (enmienda 1, V2 del 21 de septiembre de 2016) se estimó incluir un total de 15 pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante. Se completó una fase inicial no aleatorizada donde se incluyeron 5 pacientes que recibieron tratamiento y no llegó a realizarse la segunda fase aleatorizada, donde estaba previsto la inclusión de los 10 pacientes restantes, 5 de los pacientes recibirían tratamiento y otros 5 recibirían placebo. Tras la evaluación de los resultados del análisis intermedio por parte del Comité Independiente de Monitorización de Datos, el Promotor y el Investigador Principal tomaron la decisión conjunta de no continuar con la segunda fase del ensayo.



2.11. Población. Criterios de inclusión/ exclusión/ criterios de retirada del estudio y abandono.

En el presente estudio se incluyeron pacientes adultos (≥ 18 años) con infección por el VIH en tratamiento antirretroviral estable, con viremia <20 copias/ml durante ≥ 1 año, recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ y respuesta inmunológica discordante definida como:

1. incremento <75 o <150 CD4+/ μl tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal, o bien
2. recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<20 copias/ml) ≥ 1 año.

Todos ellos cumplieron, en su totalidad, los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión. A continuación, se exponen los criterios de exclusión, de inclusión y de retirada y abandono del presente Ensayo Clínico.

Criterios de inclusión:

1. Infección por VIH-1
2. Edad > 18 años. Ambos sexos
3. En tratamiento antirretroviral
4. Carga viral VIH < 50 copias/ml durante ≥ 1 año
5. Valor de CD4+ $<350/\mu\text{l}$.
6. Respuesta Inmunológica discordante (RID) definida como:
 - incremento <75 o <150 CD4+/ μl tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal o bien,
 - recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<50 copias/ml) ≥ 1 año.
7. Consentimiento informado por escrito del paciente
8. Compromiso de utilización de un método anticonceptivo de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres durante la duración del ensayo clínico. Se describe como método anticonceptivo efectivo para las mujeres, los métodos hormonales que inhiban la ovulación (que combinen estrógenos con gestágenos, o gestágenos solo) de administración oral, transdérmica, intravaginal, inyectable, implantable; el DIU, la esterilización quirúrgica o la abstinencia total. Se describe como método anticonceptivo efectivo para los hombres, el uso combinado de preservativo más una crema espermicida.



Criterios de exclusión:

1. Embarazo, lactancia, o negativa al uso de métodos anticonceptivos de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres.
2. Infecciones oportunistas en tratamiento durante los últimos 12 meses.
3. Coinfecciones activas por los virus B y C de la hepatitis
4. Cirrosis hepática estadio C de la clasificación de Child Pugh de cualquier etiología.
5. Hipertensión portal y/o hiperesplenismo de cualquier etiología.
6. Presencia de neoplasias malignas.
7. Tratamiento en los últimos doce meses con esteroides, inmunomoduladores, interferón, quimioterápicos o cualquier fármaco que pueda repercutir en la cifra de CD4.
8. Cualquier alteración analítica grado 3 o 4 (escala AIDS Clinical Trials Group), confirmada, en la analítica previa a la primera infusión de CeTMAd.

Criterios de retirada y abandono:

En el presente estudio, independientemente de que el paciente pudiera retirar su consentimiento en cualquier momento y sin dar explicaciones, las especiales características del presente protocolo en el que la administración del producto en investigación se realizó en momentos puntuales (4 dosis), hizo puntualizar lo siguiente:

1. Los pacientes que fueron incluidos (hayan firmado el consentimiento informado), hubieran sido o no aleatorizados, pero sin recibir el producto en investigación, interrumpirían su participación en el ensayo clínico si se hubiese producido alguna de las siguientes situaciones:

- Presencia de acontecimiento adverso grave desde la inclusión del paciente en el estudio (firma del consentimiento informado) hasta la infusión de las CeTMAd, que a juicio del investigador o del promotor hubiera podido poner en riesgo la seguridad del paciente o afectara a los resultados del ensayo.
- Condiciones clínicas del paciente que hubieran impedido su continuidad.
- En caso de no poder elaborar, en el momento necesario, el Medicamento en Investigación.

En este caso, el paciente podría ser reevaluado cuando fuera posible una adecuada producción del mismo. El paciente hubiera conservado en este caso su número de asignación y grupo de aleatorización.

- Cuando el paciente no cooperara o no cumpliera los requerimientos del estudio.



- Valor(es) anormal(es) de laboratorio, siempre que a juicio del investigador y/o promotor hubiera estado en riesgo la seguridad del paciente o hubiese podido interferir en la interpretación de los resultados del estudio.
- Retirada del consentimiento por parte del paciente
- Pérdida de seguimiento del paciente

2. Los pacientes que hayan sido incluidos (hayan firmado el consentimiento informado), hayan sido aleatorizados y recibido al menos 1 dosis del producto en investigación, interrumpirán su participación en el ensayo clínico solamente si retiran su consentimiento.

En cualquier otro caso, aunque no hubieran podido cumplir con el protocolo previsto en el ensayo por el motivo que fuera, el paciente no se hubiera considerado fuera del mismo, y debería haberse seguido si hubiese sido posible, cumpliendo con las visitas del ensayo hasta el final del seguimiento y siendo sometido a las pruebas que la condición del caso permitiesen. Por lo tanto, a efectos del objetivo de seguridad del ensayo, se hubiese tenido que garantizar el seguimiento de los pacientes incluidos durante todo el periodo de seguimiento del ensayo clínico.

En cualquier caso, se habría registrado en el Cuaderno de Recogida de Datos la fecha y el motivo por el que un sujeto interrumpía su participación en el ensayo clínico. Se debería haber notificado inmediatamente al monitor la circunstancia de la discontinuación y si había sido un Acontecimiento Adverso Grave.

En los casos en los que los sujetos hubiesen discontinuado el estudio como consecuencia de acontecimientos adversos, el investigador hubiese registrado el motivo de la discontinuación del estudio, facilitado o programado un seguimiento adecuado (si es necesario) de estos sujetos y documentado la evolución del estado del sujeto. También hubiese registrado todas las medicaciones administradas hasta el momento de la discontinuación en el apartado de medicación concomitante del Cuaderno de Recogida de Datos.

El paciente tenía derecho a discontinuar el estudio en el momento que lo deseara y cualquier paciente podía ser retirado del estudio por cualquier motivo beneficioso para su bienestar.

Según la buena práctica clínica, a todos los pacientes que abandonaran prematuramente el estudio se les atendería según la práctica clínica habitual. Si la retirada hubiera sido debida a un acontecimiento adverso grave, los pacientes serían controlados por el investigador o su designado hasta la finalización adecuada, es decir, hasta que hubiese desaparecido el acontecimiento adverso o hasta que se determinara que fuera permanente.



Criterios de interrupción:

El estudio hubiera sido interrumpido en cualquiera de las siguientes circunstancias:

1. Toxicidad grave relacionada con la infusión de células mesenquimales en ≥ 2 pacientes.
2. Infecciones graves relacionadas con el procedimiento de extracción o infusión celular en ≥ 2 pacientes.
3. Mortalidad relacionada con el procedimiento de infusión en 1 paciente.

Dado que no tuvo lugar ninguna de estas circunstancias el estudio no fue interrumpido.

2.12. Producto en investigación: dosis y modo de administración

El producto en investigación consistió en una suspensión celular conteniendo células Mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeMTAd) a una concentración de 2 millones de células /ml en lactato de Ringer con 1% de albúmina humana de uso clínico IV.

La sustancia activa del producto de investigación consistió en células Mesenquimales troncales adultas autólogas de tejido adiposo, expandidas. Los excipientes añadidos a la sustancia activa fueron los siguientes:

1. Lactato de Ringer. Solución isotónica vehículo para la suspensión celular.
2. Albúmina humana 1%. Protector de la viabilidad celular

Placebo: El placebo es una solución inyectable de Lactato de Ringer-albúmina humana 1% de uso clínico IV.

La dosis empleada en el ensayo clínico fue de 1×10^6 /Kg de peso administrada por infusión intravenosa a través de una vía periférica.

Forma farmacéutica: suspensión celular (2.000.000 células viables /ml) envasadas en bolsas de infusión para líquido IV.

2.13. Criterios de evaluación y métodos estadísticos

2.13.1. Criterios de evaluación

En la primera fase del ensayo, fueron reclutados 5 pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante, con un periodo mínimo de seguridad entre ellos de 15 días. Tras recibir estos pacientes las 4 dosis de células Mesenquimales, un comité independiente de monitorización de datos realizó un análisis preliminar de los datos de seguridad obtenidos, considerando no



adecuado continuar con la siguiente fase del ensayo. En la segunda fase, (permanentemente suspendida), 10 pacientes más habrían sido aleatorizados a recibir terapia celular o placebo.

El seguimiento de los pacientes fue de 96 semanas, con el fin de obtener datos de seguridad y eficacia.

Para la evaluación de los objetivos primarios y secundarios, se analizaron las siguientes variables:

- Variable principal de seguridad:

- Incidencia de efectos adversos grado 3 y 4, incluyendo los relativos a alteraciones de parámetros de laboratorio, para los que se utilizó la escala. “Division of aids table for grading the severity of adult and paediatric adverse Events” . Publish Date: November, 2014.
- Incidencia de enfermedades oportunistas.

Nota. En el protocolo no consta una definición de enfermedad oportunista, ni qué enfermedades e infecciones se consideran oportunistas. En concierto con el Promotor y el IP, se define como enfermedad oportunista la ocurrencia de cualquiera de las enfermedades que se describen a continuación:

- Candidiasis de los bronquios, tráquea, pulmones, y/o esofágica.
- Cánceres asociados al Virus del Papiloma Humano (VPH): cáncer anal y/o cáncer de cuello de útero.
- Coccidioidomicosis, diseminada o extrapulmonar.
- Criptococosis extrapulmonar.
- Cryptosporidiosis crónica intestinal (de más de un mes de duración)
- Enfermedad inflamatoria pélvica, particularmente si se complica con absceso tubo-ovárico.
- Encefalopatía relacionada con el VIH.
- Histoplasmosis, diseminada o extrapulmonar.
- Infecciones por citomegalovirus (CMV).
- Infecciones intestinales, por ejemplo, diarreas superiores a un mes de duración, isosporiasis.

- Variable principal de eficacia:

Diferencia en el recuento de linfocitos T CD4+/ μ l, su % y el cociente células T CD4+/CD8+ tras 28 semanas desde la cuarta infusión de CeTMAd/Placebo determinados mediante citometría de flujo.



- Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento:

1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK, células TNK y células T $\gamma\delta$.
2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.
3. Mediadores solubles.
4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.
5. Cuantificación del ADN proviral.

2.13.2. Métodos estadísticos

Las diferencias en la incidencia y severidad de los efectos adversos y fracasos virológicos (viremia VIH >200 copias/ml confirmada) se analizaron mediante los tests de χ^2 y Mann-Whitney U test. Las comparaciones en los mismos sujetos se han realizado mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas. En todos los casos se han utilizado test con dos colas y los valores $p < 0.05$ se han considerado significativos. Dado el escaso número de casos, también se han considerado, arbitrariamente, como significativos incrementos o disminuciones persistentes mayores del 50% en pacientes individuales. El análisis estadístico fue realizado usando el software IBM (SPSS, version 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL).

Los resultados se expresaron como valores medianos con rangos intercuartílicos para variables continuas y como números y porcentajes de casos para variables categóricas. La prueba de los rangos con signo de Wilcoxon fue realizada para comparar cambios en variables continuas a lo largo del tiempo.

2.13.3. Resumen de resultados

Se han incluido 5 pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante en la fase inicial del ensayo. Después de la evaluación de los resultados obtenidos hasta la semana 48, el comité independiente de monitorización de datos recomendó la suspensión del ensayo clínico. Los pacientes incluidos continuaron su seguimiento por protocolo hasta la semana 96.

No se observaron Acontecimientos Adversos ni Acontecimientos Adversos Graves relacionados con el MEI, aunque sí se produjeron Acontecimientos Adversos relacionados con el procedimiento



de administración, que fueron considerados No graves. En cuanto a la evaluación de eficacia, no se observaron datos clínica ni estadísticamente significativos.

2.13.3.1. Características de los pacientes

Los pacientes fueron todos hombres y completaron el estudio, con una adherencia al tratamiento antiretroviral (TAR) del 100%. En general, la edad basal mediana fue de 53 años (45-58), Nadir CD4+ 16 (2-108), CD4/ μ 253 (211-340), ratio CD4+/CD8+ 0,42 (0,19-0,48), % CD4+ 24,1% (11,4-25,5), meses TAR previo 109 (73-210), y 69 meses (53-84) ARN-VIH < 20 copias/ml antes de la inclusión en el estudio.

2.13.3.2. Seguridad y tolerancia de la infusión de CeTMAd en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante

Se identificaron 10 episodios de trombosis venosa, en las 24 a 48 horas siguientes a la infusión de las células Mesenquimales. Todos ellos fueron considerados No graves y se relacionaron con el procedimiento de administración.

Otros 5 eventos fueron considerados no relacionados con el tratamiento. Además, ningún paciente presentó alteraciones en los parámetros analíticos (bioquímica y hematología) o aumento de la carga viral (datos no mostrados).

2.13.3.3. Eficacia de la infusión de CeTMAd en la recuperación inmunológica en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante

Recuperación inmunológica: no han existido cambios evaluados por cociente CD4+/CD8+, CD4+/ μ l absolutos y porcentaje de CD4+ después de las infusiones y durante el seguimiento. Asimismo, no se han observado cambios ni en el porcentaje ni en los valores absolutos de las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4+, incluyendo los linfocitos T CD4+ naïves emigrantes recientes del timo, ni en los linfocitos T CD8+.

ADN proviral en peripheral blood mononuclear cells (PBMCs): no se han producido cambios en el ADN proviral en PBMCs.

Activación inmunológica: No se ha observado una disminución estadísticamente significativa de la expresión de marcadores de activación inmunológica en los linfocitos T CD4+ y T CD8+.

Activación monocítica: no se han observado cambios en la activación monocítica evaluada mediante las concentraciones plasmáticas de sCD14.



Expresión de Ki67 como marcador de proliferación: aunque con fluctuaciones a lo largo del seguimiento, no se han observado modificaciones sustanciales y mantenidas en la expresión de este marcador en ninguna de las subpoblaciones de CD4+ ni CD8+.

Expresión de CD57+/CD28- como marcadores de senescencia: sólo se han observado cambios en algunos pacientes, tanto en CD4+ como en CD8+, pero en ningún caso estos cambios fueron homogéneos.

Expresión de anexina V como marcador de apoptosis: En tres de los cinco pacientes (1, 2 y 3), la expresión de este marcador disminuyó tanto en el conjunto de linfocitos CD4+ como en naives y centrales de memoria. Por otro lado, en linfocitos CD8+ su expresión fue muy variable a lo largo del seguimiento, con disminuciones significativas en dos pacientes (1 y 3), tanto en el conjunto de CD8+ como en naives, CM y TEMRA. En otro paciente hubo tendencia a aumentar y en dos permaneció estable.

Expresión de PD1 como marcador de disfunción celular: Se observó una disminución en el porcentaje de PD1 en el conjunto de linfocitos T CD4+ y una tendencia en PD1 en los linfocitos CD8+ en la semana 96.

Marcadores solubles de inflamación: Inicialmente estaba prevista la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ , IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β mediante el kit Bio-Plex Pro Human Cytokine 10-plex Assay, BioRad, Hercules, EEUU. Sin embargo, tan solo se obtuvieron resultados de IL-1ra, IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β estando el resto de ellas por debajo del límite de detección. Se cuantificó la concentración de IL-6 mediante Human IL-6 Quantikine HS ELISA Kit. En ninguna de ellas se han observado cambios significativos.

Células NK, células dendríticas y linfocitos T reguladores: No fueron observados cambios en el porcentaje de células NK, linfocitos T reguladores y las subpoblaciones de células dendríticas, plasmocitoides y mieloides.

Para un resumen más detallado del estudio consultar Anexo I.



2.13.4. Conclusiones

Los datos recogidos sugieren que el tratamiento con 4 dosis de CeTMAd, en pacientes con infección por VIH y respuesta inmune discordante, tiene un perfil de seguridad aceptable, pero no consigue modificar de forma sustancial la respuesta inmune. Este balance riesgo beneficio, condujo al promotor, asesorado por el CSMD, a detener el ensayo clínico tras la primera fase no aleatorizada.



3. Tabla de Contenidos del Informe

1. Información general del estudio.....	1
2. Resumen del Estudio	3
2.1. Título del Estudio	3
2.2. Nombre del producto terminado.....	3
2.3. Nombre de la sustancia activa.....	3
2.4. Investigador Principal y coinvestigadores.....	3
2.5. Centro (s) del Estudio.....	4
2.6. Comité Independiente de Monitorización de datos.....	4
2.7. Publicaciones.....	5
2.8. Objetivos del Ensayo Clínico.....	5
2.8.1. Objetivos Primarios.....	5
2.8.2. Objetivos Secundarios.....	5
2.9. Metodología.....	6
2.10. Número de pacientes.....	8
2.11. Población. Criterios de inclusión/ exclusión/ criterios de retirada del estudio y abandono.....	9
2.12. Producto en investigación: dosis y modo de administración.....	12
2.13. Criterios de evaluación y métodos estadísticos	12
2.13.1. Criterios de evaluación	12
2.13.2. Métodos estadísticos	14
2.13.3. Resumen de resultados	14
2.13.3.1. Características de los pacientes.....	15
2.13.3.2. Seguridad y tolerancia de la infusión de CeTMAd en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante	15



2.13.3.3. Eficacia de la infusión de CeTMAd en la recuperación inmunológica en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.....	15
3. Tabla de Contenidos del Informe	18
Índice de tablas.....	22
Índice de figuras.....	22
4. Lista de abreviaturas y definiciones.....	24
4.1. Abreviaturas	24
4.2. Definiciones	25
5. Aspectos Éticos del Ensayo.....	28
5.1. Consideraciones generales	28
5.2. Monitorización del Estudio.....	30
5.3. Conservación de la documentación del Estudio	30
5.4. Seguro del Ensayo.....	30
6. Investigadores y estructura administrativa del estudio	31
6.1. Investigadores.....	31
6.2. Estructura administrativa del ensayo.....	31
7. Introducción.....	33
8. Objetivos del Estudio.....	35
8.1. Objetivos Primarios.....	35
8.2. Objetivos secundarios	35
9. Plan de Investigación.....	36
9.1. Diseño general del estudio	36
9.2. Discusión del diseño general del estudio y descripción del plan de investigación	40
9.3. Selección de la población de estudio.....	41
9.3.1. Criterios de inclusión.....	41
9.3.2. Criterios de exclusión.....	42



9.3.3. Criterios de retirada del estudio	43
9.4. Tratamiento de estudio.....	44
9.5. Variables de eficacia y seguridad del estudio y diagrama de flujo.....	46
9.6. Garantía de calidad de los datos.....	48
9.7. Métodos estadísticos planificados en el protocolo y determinación del tamaño muestral.....	49
9.8. Cambios en la realización del estudio o los análisis planificados.....	52
10. Pacientes del Estudio.	56
10.1. Descripción de los pacientes de estudio.....	56
10.2. Desviaciones de protocolo.....	58
11. Evaluación de Eficacia.....	66
11.1. Grupos de pacientes analizados	66
11.2. Datos demográficos y otras características basales.....	67
11.3. Medidas de cumplimiento del tratamiento.	74
11.4. Resultados de eficacia y representación gráfica de los datos de los pacientes de manera individual.....	75
11.4.1. Variables que midieron la eficacia.....	75
11.4.2. Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento.....	76
11.4.2.1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK, y células T $\gamma\delta$	76
11.4.2.2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.	77
11.4.2.3. Mediadores solubles.....	80
11.4.2.4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.....	81
11.4.2.5. Cuantificación del ADN proviral integrado en PBMCs (Human Peripheral Blood Mononuclear Cell).	82



11.4.3. Análisis estadístico.....	82
11.4.3.1. Ajuste de Covarianzas.....	82
11.4.3.2. Manejo de los datos de pacientes discontinuados o datos faltantes.	82
11.4.3.3. Análisis intermedios y monitorización de los datos.....	83
11.5. Conclusiones de eficacia.	83
12. Evaluación de la seguridad.....	84
12.1. Grado de exposición.	84
12.2. Análisis de seguridad	85
12.3. Muertes, otros Acontecimientos Adversos Graves y otros Acontecimientos Adversos significativos.....	94
12.3.1. Listado de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos	94
12.3.2. Muertes	96
12.3.3. Otros acontecimientos adversos graves	96
12.3.4. Otros acontecimientos adversos significativos	96
12.3.5. Narrativa de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos.	96
12.3.6. Análisis y discusión de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos.	97
12.4. Evaluación Clínica de Laboratorio.....	97
12.5. Signos vitales, hallazgos físicos, y otras observaciones relacionadas con la seguridad	97
12.6. Conclusiones de seguridad	97
13. Discusión y Conclusiones Generales	97
14. Tablas, figuras, y gráficos referenciados, pero no incluidos en el texto.....	99
14.1. Datos demográficos	99
14.2. Datos de eficacia	100



14.3. Datos de seguridad	100
14.3.1. Gráficas de los acontecimientos adversos.....	100
14.3.2. Listado de las muertes y otros acontecimientos adversos graves o significativos	100
14.3.3. Narrativa de las muertes y otros acontecimientos adversos graves o significativos	100
14.3.4. Listado de los valores anómalos de laboratorio (por cada paciente).....	100
15. Lista de Referencias.....	101
16. APÉNDICES	108
ANEXOS.....	109
Anexo I. Sinopsis Informe Clínico.....	109
Anexo II. Descripción del tratamiento.	109

Índice de tablas

Tabla 1. Cronograma de visitas.....	39
Tabla 2. Listado de desviaciones al protocolo.....	58
Tabla 3. Datos demográficos y otras características.....	67
Tabla 4. Evolución inmunológica histórica paciente EC19-D04	68
Tabla 5. Historia médica/ Enfermedades concomitantes.....	69
Tabla 6. Medicación concomitante actual.	72
Tabla 7. Acontecimientos Adversos por grupo y paciente codificado con diccionario MedDRA V.25.00.....	86
Tabla 8. AA/AAG relacionados con reacciones asociadas al tratamiento con mesenquimales.....	93
Tabla 9. RA/RAG/RAGI notificadas por paciente después de recibir tratamiento.....	94
Tabla 10. Eventos trombóticos ocurridos después de la administración del medicamento en investigación.	94
Tabla 11. Listado de los apéndices disponibles en el informe final.....	108

Índice de figuras

Figura 1. Flujo de pacientes del estudio CeTMAd-VIH-2014.....	57
Figura 2. Evolución de la recuperación inmunológica tras 96 semanas de seguimiento.....	75



Figura 3. Efecto de la infusión de las células mesenquimales sobre las células NK, células T reguladoras, células dendríticas mieloides y células dendríticas plasmocitoides.....	76
Figura 4. Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ a lo largo de las 96 semanas de seguimiento.....	77
Figura 5. Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos T CD8+ a lo largo de las 96 semanas de seguimiento.....	78
Figura 6. Efecto de la transfusión de las células Mesenquimales en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD4+ a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.	79
Figura 7. Efecto de la transfusión de las células Mesenquimales en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD8+ a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.....	80
Figura 8. Evolución de los marcadores de inflamación a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.....	81
Figura 9. Evolución de los niveles en plasma de sCD14 a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.	81
Figura 10. Efecto de la transfusión de las células mesenquimales en el ADN integrado en las células mononucleadas de sangre periférica.....	82



4. Lista de abreviaturas y definiciones

4.1. Abreviaturas

Abreviaturas	Definición
AA	Acontecimientos Adversos
AAG	Acontecimientos Adversos Graves
AEMPS	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
Alp	Persistencia de un estado de activación inmunológica y de inflamación aberrantes
BPC	Buenas prácticas clínicas
CEIm	Comités de la Ética de la Investigación con medicamentos
CeTMAd	Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas.
CI	Consentimiento Informado
CIMD	Comité independiente de monitorización de datos
CM	Centrales de memoria
CMM	Células madres Mesenquimales
CMV	Citomegalovirus
CRD	Cuaderno de recogida de datos
CRO	<i>Clinical Research Organisation</i>
INR	<i>Immunologic non-responder</i>
IV	Intravenoso
IQR	Rangos intercuartílicos
ITT	Intención de tratar
PAE	Plan de Análisis estadístico
PBMCs	<i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
PCR:	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PNT	Procedimiento normalizado de trabajo
PP	Por protocolo
PT	Población total
PS	Población de seguridad



Abreviaturas	Definición
RID	Respuesta Inmunológica discordante
RAGI	Reacción Adversa Grave e Inesperada
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
TAR	Tratamiento antiretroviral
Treg	Células T reguladoras
UPCIT	Unidad de producción celular e Ingeniería Tisular
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

4.2. Definiciones

Acontecimiento Adverso (AA): se ha definido como cualquier episodio o experiencia médica desfavorable en un paciente o sujeto de ensayo clínico que recibe un tratamiento experimental, en este estudio la administración de las células mesenquimales adultas de tejido adiposo alogénico, sin importar la dosis o relación causal. Esto ha podido incluir cualquier signo o síntoma desfavorable o no intencional, un hallazgo anormal de laboratorio (incluyendo análisis de sangre, radiografías o escáneres), una enfermedad temporalmente asociada al uso de la terapia celular del estudio o un empeoramiento de un trastorno preexistente.

Además, todo acontecimiento asociado a una sobredosis del producto, también ha sido considerado como acontecimiento adverso.

Acontecimiento Adverso Grave (AAG): se ha definido como cualquier experiencia no deseada que ha afectado a un paciente, sea considerada o no relacionada con el tratamiento del protocolo. Los acontecimientos adversos graves han sido aquellos que han dado lugar a:

- La muerte.
- Un acontecimiento con riesgo para la vida (es decir, hubo un riesgo de muerte inmediata del paciente en el momento en que se observó la reacción).
- Hospitalización o prolongación de una hospitalización.
- Discapacidad/incapacidad persistente o significativa.
- Una anomalía congénita o un defecto de nacimiento en descendientes.



- Cualquier otra condición médica importante (es decir, reacciones adversas importantes que no hayan supuesto un riesgo inmediato para la vida y no han dado lugar a la muerte o a la hospitalización pero que han podido poner en peligro al paciente o se haya podido necesitar intervención para prevenir otro de los resultados listados arriba) según el criterio médico apropiado.
- Causa un cáncer.
- Se ha definido muerte tóxica como la muerte secundaria a la toxicidad. Esto debe especificarse en el formulario del informe de muerte: la causa de la muerte debe figurar como “toxicidad” . La valoración de las muertes tóxicas ha sido independiente de la valoración de la respuesta (los pacientes han podido morir por toxicidad después de una valoración completa de la respuesta al tratamiento).

Hospitalización: se ha definido como el ingreso oficial en un hospital. La hospitalización y la prolongación de una hospitalización han constituido criterios de gravedad de un AA; sin embargo, no se ha considerado por si mismas un AAG. Si no ha existido un AA, el investigador no ha debido notificar como AAG la hospitalización o la prolongación de una hospitalización. Esto habrá sido el caso en las siguientes situaciones:

- Se ha necesitado la hospitalización o la prolongación de una hospitalización para realizar un procedimiento que exige el protocolo.
- La hospitalización o la prolongación de una hospitalización ha formado parte de un procedimiento de rutina del centro (ejemplo, retirada de una endoprótesis vascular (Stent) después de una cirugía).
- Hospitalización debida a un trastorno preexistente que no ha empeorado.

Acontecimiento Adverso relacionado con el protocolo: es un AA que ha aparecido durante un estudio clínico y que no ha estado relacionado con el producto en investigación, pero que, en opinión del investigador, ha estado relacionado con los requisitos objeto de investigación. Por ej., un AA relacionado con el protocolo ha podido ser un episodio perjudicial que ha ocurrido durante un periodo de lavado o que ha estado relacionado con un procedimiento médico exigido por el protocolo.

Han debido registrarse y notificarse los AA y los AAG sufridos por los sujetos desde la firma del consentimiento informado hasta el final de su participación en el estudio.



El investigador o su colaborador han interrogado y/o examinado al paciente en busca de indicios de acontecimientos adversos. El interrogatorio de los pacientes en relación con la posible aparición de acontecimientos adversos se ha realizado en forma general (por ejemplo, ¿Cómo se ha sentido desde la última visita?). No se ha interrogado al paciente sobre la presencia o ausencia de acontecimientos adversos concretos.

LOS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS GRAVES HAN SIDO COMUNICADOS DE FORMA INMEDIATA, EN 24 HORAS TRAS SU CONOCIMIENTO AL PROMOTOR, SEGÚN EL PROCEDIMIENTO DETALLADO EN EL PROTOCOLO DEL PRESENTE ESTUDIO.

Trastorno persistente: se ha definido como toda afección clínica (incluido un trastorno que está siendo tratado) que se diagnosticó antes de que el sujeto firmara el consentimiento informado y que ha sido documentado en la historia médica del sujeto.

Reacción Adversa (RA): se ha definido como cualquier respuesta al tratamiento nociva y no intencionada, y que tuvo lugar a dosis que se apliquen normalmente en el ser humano para la profilaxis, diagnóstico o tratamiento de enfermedades, o para la restauración, corrección o modificación de funciones.

Reacción Adversa Grave e Inesperada (RAGI): se ha definido definió como cualquier RA cuya naturaleza o gravedad no se correspondió con la información referente al producto (por ejemplo, el Manual del Investigador en el caso de un medicamento en investigación no autorizado para su comercialización, o de la Ficha Técnica del producto en el caso de un medicamento autorizado).

Población Total (PT): La Población Total constó de todos los sujetos incluidos en este ensayo, incluidos los que se retiraran antes de la primera infusión (Visita 3 o día 0). No se realizó ningún análisis a esta población.

Población por Protocolo (PP): Según el Promotor, la Población por Protocolo constó de aquellos pacientes que, estando incluidos en el ensayo clínico, fueran seleccionados, aleatorizados (fase aleatorizada), o se confirmó la asignación del tratamiento (fase no aleatorizada), cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión, completaron su tratamiento (cuatro dosis) y se dispuso de la evaluación de las variables principales del estudio hasta completar al menos 48 semanas de seguimiento (visita 13), sin haber presentado criterios de retirada del ensayo ni haberse producido ninguna desviación mayor durante el ensayo.



La Población por Protocolo, si bien incluía también a los pacientes aleatorizados al grupo control (fase aleatorizada), esta fase no fue iniciada, siguiendo las recomendaciones del CSMD, por lo que la Población por Protocolo estuvo formada por los pacientes incluidos en la fase no aleatorizada que cumplieron los requisitos mencionados.

Población por Intención de Tratar (ITT): Según el IP (aclaración con fecha 04/04/2017), la Población de análisis por ITT constó de todos los pacientes que, estando incluidos en el ensayo clínico, cumplieron o no los criterios de selección, y que además fueron aleatorizados (fase aleatorizada), o se confirmó la asignación del tratamiento (fase no aleatorizada).

Según el Promotor (aclaración con fecha 07/04/2017), la población ITT constó de los pacientes que iniciaron el procedimiento de infusión de la primera dosis (por ejemplo, que marcaran una fecha de infusión en el CRD, aunque se indicara que no se completa por alguna incidencia).

Población de Seguridad: La Población de Seguridad incluiría a todos los pacientes aleatorizados y que hubieran sido tratados con el tratamiento objeto del presente ensayo, incluyendo también al grupo control (placebo).

Según el protocolo (página 26): “Los 5 primeros pacientes recibirán infusiones de CeTMAd. A partir del 6º paciente la asignación de tratamiento será aleatoria, a grupo experimental (CeTMAd), o placebo.” A pesar de que estos primeros pacientes no fueron aleatorizados, recibieron el tratamiento (infusión de CeTMAd), por lo que se incorporaron en la población de Seguridad.

5. Aspectos Éticos del Ensayo

5.1. Consideraciones generales

El promotor e investigador coordinador del ensayo presentaron al Comité Ético de Investigación con Medicamentos (CEIm) este protocolo y todos los materiales relacionados que se proporcionaron al sujeto (tales como hojas de información al sujeto o descripciones del estudio utilizadas para obtener el consentimiento informado), así como cualquier compensación proporcionada al paciente. Se obtuvo la aprobación del citado Comité y de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) antes de iniciar el estudio. El promotor e investigador también presentaron a evaluación por el CEIm y AEMPS cualquier modificación que se realizó en el protocolo después de recibir la aprobación, de acuerdo con los procedimientos y requisitos legales.



El Ensayo se realizó en conformidad con el protocolo siguiendo los procedimientos normalizados de trabajo del promotor y los establecidos en el hospital participante.

El Ensayo se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones para Ensayos Clínicos y evaluación de productos en fase de investigación en humanos, que figuran en la Declaración de Helsinki, revisada en las sucesivas asambleas mundiales (WMA, 2013), la actual Legislación Española en materia de Ensayos Clínicos (RD 1090/2015) y las normas ICH-GCP (CPMP/ICH/135/95, anexo 4).

El consentimiento informado del sujeto participante ha sido obtenido por escrito, firmado y fechado antes de que el sujeto haya sido incluido en el estudio. El sujeto ha recibido una copia de la hoja de información al paciente y del consentimiento informado una vez haya sido cumplimentado por él mismo (ambos documentos han sido facilitados por el investigador bien al sujeto o a su representante legal).

En el apéndice 16.1.3 se incluye un modelo de la hoja de información al paciente y de consentimiento informado.

Con el fin de garantizar la confidencialidad de los datos del ensayo, los datos originales han sido conservados en el hospital tendiendo acceso únicamente a los mismos, el investigador principal y su equipo de colaboradores, el monitor del ensayo y el Comité de la Ética de la Investigación con medicamentos del correspondiente centro o el que tutela el ensayo. El investigador ha permitido las auditorías y las inspecciones de las Autoridades Sanitarias españolas o europeas.

El contenido de los Cuadernos de Recogida de Datos (CRD) así como la confidencialidad de los datos de cada paciente ha sido respetada en todo momento cumpliendo la Protección de Datos de carácter personal vigente en el momento del estudio.

Además, los documentos generados durante el estudio han sido protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación y, por tanto, han sido considerados estrictamente confidenciales y no revelados a terceros excepto a los especificados anteriormente.

El investigador ha informado a los sujetos del estudio que los datos obtenidos en el ensayo han sido guardados y analizados informáticamente. Además, el investigador ha aceptado que el promotor haya tenido derecho a usar los resultados del ensayo clínico incluyendo las hojas de CRD o copias de éste, habiendo sido toda la información correspondiente a las pruebas realizadas durante el ensayo completas.



El producto en investigación se ajustó a la definición de “Medicamento de Terapia Celular” según lo descrito en el Reglamento (CE) n.º 1394/2007 de 13 de noviembre de 2007.

5.2. Monitorización del Estudio

La monitorización fue realizada por personal perteneciente a la Unidad de Coordinación del propio promotor. El monitor responsable contactó y visitó regularmente al investigador y se le permitió, inspeccionar los diversos registros del ensayo (CRD y otros datos pertinentes) y los documentos fuente, y se mantuvo siempre la confidencialidad de los pacientes, de acuerdo con los requisitos locales. El monitor fue responsable de inspeccionar los CRD a intervalos regulares durante el estudio, para verificar el cumplimiento con el protocolo y que los datos incluidos eran completos, consistentes y exactos. El monitor tuvo acceso a los informes de las pruebas de laboratorio y otros registros de los pacientes necesarios para verificar la información incluida en el CRD. El investigador (o su representante) aceptó colaborar con el monitor para asegurar que se resolvían todos los problemas detectados en el transcurso de estas visitas de monitorización.

5.3. Conservación de la documentación del Estudio

El Investigador mantuvo un registro adecuado y exacto que permitió que el estudio estuviera totalmente documentado y se pudieran verificar posteriormente los datos del estudio.

Se notificó la finalización del Ensayo Clínico de acuerdo a los requerimientos descritos en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. Toda la documentación relacionada con el ensayo clínico se ha quedado bajo la custodia del Investigador principal, Dr. Luis López Cortés, en el Almacén de Pasivos del Hospital Universitario Virgen del Rocío, según la legislación vigente.

5.4. Seguro del Ensayo

La Fundación Progreso y Salud como promotor del estudio, dispuso, de acuerdo con la legislación española, de un seguro de responsabilidad civil. El seguro fue contratado con la empresa HDI GLOBAL SE, con N° de Póliza: 08057850-14012. Esta póliza cubrió todos los posibles daños y perjuicios que el sujeto hubiera podido sufrir a consecuencia de la administración del producto en estudio, de acuerdo a la legislación vigente (RD 1090/2015, artículo 9).



6. Investigadores y estructura administrativa del estudio

6.1. Investigadores

A continuación, se indica el investigador principal y coinvestigadores de los centros participantes:

- Hospital Virgen del Rocío. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. Avda. Manuel Siurot, s/n. 41013 Sevilla
 - Dr. Luis Fernando López Cortés.
 - Dr. José M. Cisneros Herreros
 - Dra. Nuria Espinosa Aguilera
 - Dra. Alicia Gutiérrez Valencia
 - Dr. Pompeyo Viciano Fernández
 - Dr. César Sotomayor
- Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Avenida de las Fuerzas Armadas nº 2, 4ª Planta Ed. de Gobierno. 18014 – Granada
 - Dr. Salvador Arias Santiago
 - Dra. Olga Espinosa Ibáñez
 - Antonio Ruiz García

6.2. Estructura administrativa del ensayo

La gestión y monitorización del ensayo clínico fue asumida internamente por personal del promotor.

1. DOCUMENTACIÓN DEL PROYECTO	
Elaboración de documentos esenciales: Protocolo, Manual del Investigador, Hoja de	Promotor- Investigador Principal



Información al paciente y consentimiento informado	
Preparación Dossier del Medicamento en Investigación	Promotor-Sala GMP
Presentación autoridades y respuesta aclaraciones.	Promotor
Notificaciones y comunicaciones con autoridades.	Promotor
Plan de monitorización.	Promotor
Informe Clínico Final	Promotor
2. GESTIÓN DE DATOS Y BIOESTADISTICA	
Gestión centros	Promotor
Plan de Análisis Estadístico, Plan de Queries, Plan de Gestión de Datos y Gestión de inconsistencias.	SERMES CRO
Monitorización	Personal Promotor
BBDD y Análisis estadístico	Investigador principal
Decisiones éticas: parada prematura	CSMD
Solicitud financiación competitiva y gestión económica	IP-promotor

Los detalles de las diferentes personas y entidades en relación con el ensayo clínico se presentan en el apéndice 16.1.4.



7. Introducción

La persistencia de un estado de activación inmunológica y de inflamación aberrantes (Alp) juega un papel fundamental tanto en la pérdida progresiva de linfocitos T CD4+ como en el deterioro funcional y agotamiento progresivo del sistema inmune provocado por la infección VIH, así como en la aparición de eventos no directamente relacionados con el SIDA, siendo un marcador predictivo de progresión de la enfermedad incluso mejor que la viremia previa al inicio de tratamiento antirretroviral (TAR). Entre los mecanismos que contribuyen a esta Alp se encuentran:

i) la replicación del VIH, incluyendo la replicación de bajo nivel tras el inicio del TAR ii) el daño precoz durante la infección VIH del tejido linfático de la mucosa digestiva, incluyendo las células Th17, con el consiguiente aumento de la translocación microbiana, iii) la pérdida de subpoblaciones críticas de CD4+ y la proliferación homeostática de CD4+ memoria, iv) la pérdida en número y función de células T reguladoras y v) el aumento en la síntesis y secreción de distintas citoquinas proinflamatorias. Todos estos mecanismos pueden retroactivarse dando lugar a un círculo vicioso incontrolado (1-4). Si bien el TAR consigue el control de la viremia en un porcentaje muy elevado de pacientes que se traduce en un aumento del recuento de linfocitos T CD4+ helper (sobre todo, CD4+ de memoria) en sangre periférica, no consigue la restauración y el equilibrio de todas las subpoblaciones funcionalmente importantes (5,6). Además, entre el 15 y 30% de los pacientes presentan una respuesta inmune discordante (RID) en distintos estudios, es decir, no consiguen una recuperación inmunológica significativa a pesar del control continuo de la viremia (7,8). En esta situación existen dos factores que juegan un papel fundamental: la Alp y una disminución de la proliferación y salida de células precursoras tímicas. Desde el punto de vista clínico, en pacientes con RID se ha observado una mayor tasa de morbi-mortalidad asociada a neoplasias, eventos cardiovasculares y eventos SIDA, tanto más probables cuanto menores son los recuentos CD4+ (9-15). Además, es previsible que, conforme esta población envejezca, a esta situación se le añada el deterioro inmunológico propio del envejecimiento (16,17). Por ello, se han ensayado múltiples estrategias para controlar dicha Alp tales como intensificación del TAR, inmunomoduladores (estatinas, hidroxicloroquina, IL-2, IL-7 y hormona del crecimiento), inmunosupresores y probióticos con resultados poco alentadores por lo que, actualmente, no existen alternativas terapéuticas suficientemente efectivas para su aplicación clínica (18). Por otro lado, varios estudios, tanto in vitro como in vivo, han demostrado que las células madres mesenquimales (CMM) pueden modular la función tanto de los linfocitos T helper (Th1, Th2 y



Th17) como de linfocitos B, células NK y células dendríticas (CD) a la vez que estimulan a las células T reguladoras (Treg) dando lugar a un cambio desde un estado proinflamatorio a otro antiinflamatorio o tolerante mediante i) la inhibición de la producción de TNF- α e IFN- γ por los CD4⁺ Th1, ii) la inducción de la expresión de IL-10 e IL-4 por parte de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ y iii) la inducción de otros factores solubles como IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ , PGE2, VEGF, M-CSF, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y TGF- β 1 (19).

Estas propiedades se han comprobado en múltiples modelos animales de enfermedad (20-41) y se han empleado con éxito en humanos en patologías tales como enfermedad injerto contra huésped (42,43), lupus eritematoso sistémico refractario a tratamiento, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y otras enfermedades autoinmunes (44-51). Además, su baja inmunogenicidad permite tanto el uso de CMM autólogas (52), como alogénicas (38, 46, 53), siendo sus efectos similares independientemente de su procedencia (médula ósea, tejido adiposo o cordón umbilical) (38, 40, 45, 50, 51).

Inicialmente se creía que la mayor parte de las CMM infundidas migraban a distintos tejidos donde se diferenciaban y ejercían sus efectos. Sin embargo, se observó que gran parte de ellas quedaban atrapadas en la microcirculación pulmonar donde sufrirían un proceso de apoptosis y serían fagocitadas por macrófagos y células dendríticas (54). Recientemente se ha publicado que las microvesículas liberadas a partir de las CMM, conteniendo receptores de superficie propios de las CMM, migran y ejercen los mismos efectos biológicos que las células de las que proceden (55-57).

En pacientes con infección por el VIH y RID se ha observado un aumento considerable de linfocitos T CD4 circulantes, tanto naïves como de memoria, y de las respuestas inmunes específicas frente a diversos péptidos de VIH-1 (gag-1, gag-2 y nef) y CMV (pp65) tras la infusión mensual (x3) de 0,5x10⁶/kg CMM obtenidas a partir de gelatina de cordón umbilical. Estos efectos estuvieron asociados a una disminución notable de la Alp celular y de los distintos mediadores solubles que participan en ella, no observándose efectos adversos importantes (tan sólo se registró fiebre tras la infusión de CMM en 1 de 7 pacientes) ni cambios en el control de la viremia tras un año de seguimiento (58,59).

En modelos animales también se ha observado que tras la infusión de CMM se produce una regeneración de la mucosa intestinal y disminución de la translocación microbiana (60) y, por otro lado, un aumento de la capacidad regenerativa de linfocitos T mediante la producción de CXCL-



12 e IL-7 (61); ambos factores serían claves en la mejoría de la Alp y la regeneración inmunitaria en estos pacientes.

8. Objetivos del Estudio

8.1. Objetivos Primarios.

- Evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de 4 dosis de células Mesenquimales troncales alogénicas de tejido adiposo (CeTMAd) en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.
- Evaluar la eficacia de la infusión intravenosa de 4 dosis de CeTMAd en la recuperación inmunológica tras 3 ciclos mensuales de infusión de CeTMAd y una infusión adicional en semana 20 en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.

8.2. Objetivos secundarios

Analizar la evolución de los siguientes parámetros a lo largo de un año tras las infusiones de CeTMAd:

1. Cambios en ADN proviral integrado en PBMCs.
2. Cambios en el porcentaje de linfocitos T CD4+.
3. Cambios en el porcentaje de linfocitos T CD8+.
4. Cambios en la función tímica en linfocitos T CD4+ naives.
5. Cambios en la activación inmunológica en diferentes subpoblaciones celulares.
6. Cambios en la proliferación en diferentes subpoblaciones celulares.
7. Cambios en la senescencia en diferentes subpoblaciones celulares.
8. Cambios en la apoptosis en diferentes subpoblaciones celulares.
9. Cambios en la disfunción en diferentes subpoblaciones celulares.
10. Cambios en el estado de activación monocítica mediante CD14s.
11. Cambios en el estado de inflamación mediante marcadores solubles.
12. Cambios en el porcentaje de linfocitos NK, células dendríticas y linfocitos T reguladores.



9. Plan de Investigación

9.1. Diseño general del estudio

El presente estudio se diseñó como un ensayo clínico fase I/II de prueba de concepto, doble ciego, controlado con placebo, en dos fases, una primera no aleatorizada, y una segunda fase aleatorizada, superada y evaluada la primera: durante la etapa de reclutamiento de la fase inicial, se incluyeron 5 paciente de forma secuencial, con 15 días entre cada uno de ellos (entre la infusión de la primera dosis en cada uno). Estos 5 primeros pacientes no fueron aleatorizados, siendo todos ellos tratados con el medicamento en investigación. Cuando el último de los 5 pacientes incluidos hubo recibido las cuatro dosis previstas, se evaluaron los datos de seguridad por parte de un Comité Independiente de Monitorización de Datos que, tras realizar un análisis preliminar de los datos de seguridad obtenidos, consideró no conveniente continuar con el ensayo.

El seguimiento de cada paciente dentro del estudio fue de 96 semanas. El estudio se dividió en 17 visitas. A continuación, se detalla la secuencia temporal y, se resume por visitas, la metodología del estudio:

Visita 1. Visita de selección

La selección de los pacientes candidatos se realizó desde la Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva del Hospital U. Virgen del Rocío. Durante esta visita, los pacientes firmaron el consentimiento informado, quedando reflejado en la historia clínica del paciente que éste aceptó a participar en el estudio. Tras la firma del consentimiento, se programaron los procedimientos necesarios para confirmar que el paciente cumplía los criterios de selección.

Visita 2. Aleatorización

NA, ya que, finalmente la segunda fase, aleatorizada, no llegó a realizarse.

Visita 3 (1ª infusión). Día 0. Visita de infusión

En esta visita, además de haberse realizado las pruebas indicadas en el esquema del estudio, se le preguntó al paciente si había ocurrido algún cambio en su medicación concomitante o había ocurrido algún acontecimiento adverso desde la última visita. Tras la realización de las pruebas necesarias, se procedió a realizar la infusión celular (1×10^6 CeTMAd/Kg de peso) a los pacientes.



Visita 4. Semana 3 (± 4 días) tras primera infusión. Visita de Seguridad

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 5 (2ª Infusión). Semana 4 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la segunda infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 6. Semana 7 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 7 (3ª Infusión). Semana 8 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la tercera infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 8. Semana 12 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

Se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visita 9. Semana 19 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó principalmente la situación clínica de los pacientes.

Visita 10 (4ª Infusión) Semana 20 (± 4 días) tras 1ª infusión. Visita de Infusión.

En esta visita, tras la realización de diferentes procedimientos, se realizó la cuarta infusión. Se recogieron los posibles AA y la medicación concomitante durante el procedimiento de administración del medicamento y desde la visita previa.

Visita 11. Semana 24 (± 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visita 12. Semana 36 (± 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguridad.

En esta visita se evaluó la situación clínica de los pacientes.



Visita 13. Semana 48 (± 7 días) tras 1ª infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

Visitas 14-16. Semanas 60, 72, 84 (± 7 días) tras 1ª Infusión. Visitas de Seguridad.

Una vez finalizado el seguimiento de cada paciente de 48 semanas, se realizaron otras 3 visitas coincidiendo con las semanas 60, 72 y 84 (± 7 días) después de la 1ª infusión.

En estas visitas se evaluó la situación clínica de los pacientes.

Visita 17: Semana 96 (± 7 días) tras 1ª Infusión. Visita de Seguimiento.

En esta visita se realizaron diferentes procedimientos y se recogieron los posibles AA y cambios en la medicación concomitante.

NOTA: en cada visita, además de la información indicada anteriormente, se realizaron las pruebas que se indican a continuación en el cronograma del estudio (ver página siguiente). Toda esta información debió ser registrada correctamente en el CRD.

El protocolo del estudio se incluye en el apéndice 16.1.1 y el cuaderno de recogida de datos en el apéndice 16.1.2.



Tabla 1. Cronograma de visitas.

Visitas	V1 Selecc. DIA -30	V2 Aleat. DIA -14	V3 Infusión DIA 0	V4 Segdad. SEM 3 (± 4 d)	V5 Infusión SEM 4 (± 4 d)	V6 Segdad. SEM 7 (± 4 d)	V7 Infusión SEM 8 (± 4 d)	V8 Segto. SEM 12 (± 4 d)	V9 Segdad. SEM 19 (± 4 d)	V10 Infusión SEM 20 (± 4 d)	V11 Segto. SEM 24 (± 7 d)	V12 Segdad. SEM 36 (± 7 d)	V13 Segto. SEM 48 (± 7 d)	V14-16 Segdad. SEM 60,72,84 (± 7 d)	V17 Fin estudio SEM 96 (± 7 d)
Consentimiento Informado	X														
Datos demográficos y antropométricos	X														
Antecedentes	X														
Elegibilidad	X	X													
Aleatorización		X													
Infusión celular			X		X		X			X					
Signos Vitales	X		X		X		X			X					
Análítica completa	X			X		X		X	X		X	X	X	X	X
Test embarazo	X			X		X			X						
Viremia VIH	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Subpoblaciones celulares	X		X		X		X	X		X	X		X		X
Estudios fenotípicos			X		X		X	X		X	X		X		X
Mediadores solubles			X		X		X	X		X	X		X		X
Resp. inmune VIH-1			X					X					X		X
ADN proviral			X		X		X	X		X	X		X		X
Trasloc. microbiana			X		X		X	X		X	X		X		X
Acontecimientos. adversos		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Medicamentos. concomitantes		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X



9.2. *Discusión del diseño general del estudio y descripción del plan de investigación*

El presente estudio se diseñó como un ensayo clínico fase I/II de prueba de concepto, doble ciego, controlado con placebo y aleatorizado, para evaluar la seguridad y eficacia de tratamiento con células Mesenquimales troncales adultas alogénicas procedentes de tejido adiposo (CeTMAd), en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

Participó un total de 5 pacientes, dentro de la fase inicial (no aleatorizada) del ensayo. La segunda fase del ensayo (fase aleatorizada), condicionada por la evaluación por parte de un Comité Independiente de Monitorización de datos de los datos de seguridad obtenidos en la fase inicial, finalmente no llegó a realizarse, ya que la evaluación del Comité no fue positiva.

9.2.1 Técnicas de enmascaramiento

A partir de la inclusión del sexto paciente (inclusive), el ensayo hubiera sido ciego para los sujetos participantes y para los investigadores hasta la apertura del ciego al finalizar el estudio, o cuando hubiera sido necesario realizar una apertura prematura del ciego según los criterios descritos recogidos en el apartado “Apertura prematura del ciego” .

Desde la UPCIT se facilitaría el producto (medicamento o placebo), envasado y etiquetado de forma que se garantizara el enmascaramiento para el sujeto participante. Sólo la persona del promotor responsable de la aleatorización y el equipo que se encargara de la fabricación del medicamento, conocería el tratamiento asignado.

9.2.2 Apertura del ciego

Una vez que hubiera finalizado el ensayo clínico (última visita del último paciente incluido), se abriría el ciego. Todos aquellos pacientes que hubiesen sido aleatorizados a grupo control, podrían haber sido tratados por la vía de uso compasivo previa solicitud de autorización a la AEMPS.



9.2.3. Apertura prematura del ciego

Desde la UPCIT, acompañando al producto celular debía enviarse para cada paciente un sobre cerrado que contendría el grupo al que habría sido aleatorizado (tratamiento o placebo). Estos sobres (sobres de emergencia) estarían custodiados en el Archivo del Investigador del Centro. En el caso de que se produjera un Acontecimiento Adverso Grave, que exigiese para su manejo conocer el producto administrado al paciente, el investigador principal, o el miembro del equipo investigador en quien delegara, contactando si es posible con el promotor, procedería a la apertura del sobre correspondiente al paciente en cuestión.

9.3. Selección de la población de estudio.

En el presente estudio se incluyeron pacientes adultos (≥ 18 años) con infección por el VIH en tratamiento antirretroviral estable, con viremia <20 copias/ml durante ≥ 1 año, recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ y respuesta inmunológica discordante definida como:

1. incremento <75 o <150 CD4+/ μl tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal, o bien
2. recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<20 copias/ml) ≥ 1 año.

Aunque se estimaba incluir un total de 15 pacientes (5 pacientes en la fase I y 10 pacientes en la fase II, de ellos 5 pacientes en el grupo CeTMAd y 5 pacientes en el grupo placebo), finalmente, tras la evaluación de los resultados de la fase inicial por parte del CIMD, la segunda fase no llegó a realizarse, por lo que solo se incluyeron 5 pacientes.

9.3.1. Criterios de inclusión.

Los criterios de exclusión del estudio fueron:

1. Infección por VIH-1
2. Edad > 18 años. Ambos sexos
3. En tratamiento antirretroviral
4. Carga viral VIH < 50 copias/ml durante ≥ 1 año
5. Valor de CD4+ $<350/\mu\text{l}$.
6. Respuesta Inmunológica discordante (RID) definida como:



- incremento <75 o <150 CD4 $^{+}$ /μl tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal
 - o bien,
 - recuento de CD4 $^{+}$ <350 /μl tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<50 copias/ml) ≥ 1 año.
7. Consentimiento informado por escrito del paciente
 8. Compromiso de utilización de un método anticonceptivo de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres durante la duración del ensayo clínico. Se describe como método anticonceptivo efectivo para las mujeres, los métodos hormonales que inhiban la ovulación (que combinen estrógenos con gestágenos, o gestágenos solo) de administración oral, transdérmica, intravaginal, inyectable, implantable; el DIU, la esterilización quirúrgica o la abstinencia total. Se describe como método anticonceptivo efectivo para los hombres, el uso combinado de preservativo más una crema espermicida.

9.3.2. Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión del estudio fueron:

1. Embarazo, lactancia, o negativa al uso de métodos anticonceptivos de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres.
2. Infecciones oportunistas en tratamiento durante los últimos 12 meses.
3. Coinfecciones activas por los virus B y C de la hepatitis
4. Cirrosis hepática estadio C de la clasificación de Child Pugh de cualquier etiología.
5. Hipertensión portal y/o hiperesplenismo de cualquier etiología.
6. Presencia de neoplasias malignas.
7. Tratamiento en los últimos doce meses con esteroides, inmunomoduladores, interferón, quimioterápicos o cualquier fármaco que pueda repercutir en la cifra de CD4.
8. Cualquier alteración analítica grado 3 o 4 (escala AIDS Clinical Trials Group), confirmada, en la analítica previa a la primera infusión de CeTMAd.

Como se ha comentado previamente, los pacientes incluidos en el estudio no debieron presentar/cumplir ninguno de los criterios de exclusión.



9.3.3. Criterios de retirada del estudio

En el presente estudio, independientemente de que el paciente pudiera retirar su consentimiento en cualquier momento y sin dar explicaciones, las especiales características del presente protocolo en el que la administración del producto en investigación se realizó en momentos puntuales (4 dosis), hizo que se puntualizara lo siguiente:

1. Los pacientes que fueron incluidos (hayan firmado el consentimiento informado), hubieran sido o no aleatorizados, pero sin recibir el producto en investigación, interrumpirían su participación en el ensayo clínico si se hubiese producido alguna de las siguientes situaciones:

- Presencia de acontecimiento adverso grave desde la inclusión del paciente en el estudio (firma del consentimiento informado) hasta la infusión de las CeTMAd, que a juicio del investigador o del promotor hubiera podido poner en riesgo la seguridad del paciente o afectara a los resultados del ensayo.
- Condiciones clínicas del paciente que hubieran impedido su continuidad.
- En caso de no poder elaborar, en el momento necesario, el Medicamento en Investigación.

En este caso, el paciente podría ser reevaluado cuando fuera posible una adecuada producción del mismo. El paciente hubiera conservado en este caso su número de asignación y grupo de aleatorización.

- Cuando el paciente no cooperara o no cumpliera los requerimientos del estudio.
- Valor(es) anormal(es) de laboratorio, siempre que a juicio del investigador y/o promotor hubiera estado en riesgo la seguridad del paciente o hubiese podido interferir en la interpretación de los resultados del estudio.
- Retirada del consentimiento por parte del paciente.
- Pérdida de seguimiento del paciente.

2. Los pacientes que hayan sido incluidos (hayan firmado el consentimiento informado), hayan sido aleatorizados y recibido al menos 1 dosis del producto en investigación, interrumpirían su participación en el ensayo clínico solamente si retiraban su consentimiento.



9.4. Tratamiento de estudio.

El producto en investigación consistió en una suspensión celular conteniendo células Mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeMTAd) a una concentración de 2 millones de células /ml en lactato de Ringer con 1% de albúmina humana de uso clínico IV. (ver Anexo II para más información sobre el manejo del producto en investigación).

La sustancia activa del producto de investigación consistió en células Mesenquimales troncales adultas autólogas de tejido adiposo, expandidas. Los excipientes añadidos a la sustancia activa fueron los siguientes:

1. Lactato de Ringer. Solución isotónica vehículo para la suspensión celular.
2. Albúmina humana 1%. Protector de la viabilidad celular

Placebo: El placebo es una solución inyectable de Lactato de Ringer-albúmina humana 1% de uso clínico IV.

Los 5 pacientes incluidos en el ensayo recibieron 4 dosis, cada una de 1×10^6 /Kg de peso administradas por infusión intravenosa a través de una vía periférica.

Forma farmacéutica: suspensión celular (2.000.000 células viables /ml) envasadas en bolsas de infusión para líquido IV.

El procedimiento de administración de las CeTMAd a la dosis de 1×10^6 /Kg se realizó mediante infusión intravenosa a través de una vía periférica a un ritmo de 2 ml/min máximo, usando premedicación previa (Metilprednisolona (0,5 mg/kg iv) y Dexclorfeniramina 5 mg parenteral (polaramine), opcionalmente paracetamol). A partir del paciente EC19-D-04 y para la tercera dosis del paciente EC19-D-02 y EC19-D-03 se añadió Heparina de bajo peso molecular desde la noche anterior a la infusión, y durante los tres días siguientes a la misma. Esta modificación se realizó mediante un informe Ad-Hoc que se envió a la AEMPS el 6 de junio de 2017. El personal responsable de la infusión de CeTMAd del centro comprobó y registró las constantes vitales, la temperatura corporal y la saturación de oxígeno del paciente, antes y después de realizar la infusión. El investigador anotó esta información en la historia clínica del paciente, así como la hora de inicio y fin de la infusión, y el volumen total infundido. La infusión de CeTMAd se suspendió si se registró cualquiera de los acontecimientos que se describen a continuación.



- Tensión arterial superior a 200/120 o inferior a 80/40.
- Fiebre muy elevada y escalofríos.
- Disnea o compromiso respiratorio.
- Urticaria o edema angioneurótico.
- Cualquier otro acontecimiento grave que a criterio del investigador del centro suponga la interrupción del tratamiento.

El investigador responsable del paciente procuró en todo momento el tratamiento necesario en cada una de estas situaciones y fue responsable de comunicar el evento al promotor del estudio. Si ocurrió una reacción leve durante la infusión de CeTMAd, se realizó un tratamiento sintomático según práctica clínica. Si fue necesario interrumpir la infusión para suministrar dicho tratamiento, la infusión se reanudó a un ritmo de 2 ml/min máximo en las mismas condiciones, utilizando una bomba sin filtro.

Una vez realizada la infusión de CeTMAd, el envase que contenía este material se eliminó en el lugar destinado para la destrucción de material biológico en dicho centro. Si hubiera habido material sobrante de la infusión debido a una interrupción en la administración o no se hubiese realizado la infusión de CeTMAd tras recibir el material, el producto de investigación se hubiera podido destruir en el centro. El investigador responsable del centro confirmará la destrucción del material de estudio al promotor.

Tratamientos concomitantes:

- **Permitidos:** Los pacientes mantuvieron el tratamiento antirretroviral habitual y cualquier otra medicación necesaria durante su evolución. Ésta fue anotada en el cuaderno de recogida de datos.
- **Prohibidos:** Tratamientos con esteroides, inmunomoduladores, interferón, quimioterápicos o cualquier fármaco que hubiese podido repercutir en la cifra de CD4.

A continuación, se expone la distribución general:



Datos Generales								
Nº Pacientes	Hombres	Mujeres	Nº Completados	Nº Abandonos	Nº Fallo Screening	Nº AAs	Nº AAGs	Nº Medicamentos Concomitantes
5	5	0	5	0	0	27	0	34

9.5. Variables de eficacia y seguridad del estudio y diagrama de flujo.

La variable empleada para evaluar la **eficacia** clínica en este estudio fue la valoración de los cambios en el recuento de linfocitos T CD4+/ μ l, su % y el cociente células T CD4+/CD8+ tras 48 semanas desde la primera infusión. Esta medida permitió evaluar si existía recuperación inmunológica tras la infusión de las células Mesenquimales procedentes de tejido adiposo. El recuento celular se realizó mediante citometría de flujo en sangre periférica.

Respecto a las variables de seguridad, se evaluó la incidencia de efectos adversos grado 3 y 4., incluyendo los relativos a alteraciones de parámetros de laboratorio, para los que se utilizó la escala. “Division of aids table for grading the severity of adult and paediatric adverse Events” . Publish Date: November, 2014. Así mismo, se estudió la incidencia de enfermedades oportunistas. Los acontecimientos adversos se clasificaron según la terminología MedDRA y su relación con la administración de las células mesenquimales.

Además de estas variables descritas, se evaluaron una serie de variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento:

1. **Identificación y recuento de subpoblaciones celulares:** Mediante citometría de flujo, se han identificado y contado las siguientes poblaciones celulares presentes en sangre periférica: células T CD3+ (definidas como CD3+), células T CD4+ (CD4+), células T CD8+ (CD8+), células dendríticas mieloides (Lin-HLADR+CD11c+CD123-), células dendríticas plasmocitoides (Lin-HLADR+CD11c-CD123+), células NK (CD3-CD56+) y células T reguladoras (CD4+CD25++Foxp3+ ó CD4+CD25+CD127low). Para ello, las PBMCs se



incubaron con anticuerpos durante 30 min en la oscuridad, se lavaron con PBS y centrifugaron a 1.500 rpm durante 5 min, se resuspendieron en paraformaldehído 4% y se almacenaron a 4°C hasta su paso por el citómetro Fortessa LSR II (BD Biosciences, Madrid, España).

2. **Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares:** El fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares se ha analizado mediante citometría de flujo utilizando los siguientes marcadores: CD38+ y HLA-DR+, como marcadores de activación celular; Ki67+, como marcador de proliferación celular; CD31+, como marcador de actividad tímica; CD57+, como marcador de senescencia replicativa; Anexina V como marcador de apoptosis, y PD1+ como indicador de disfunción inmune. Además, se han utilizado los marcadores CD45RA y CD27 como marcadores de memoria: CD45RA+CD27+ para fenotipo naive, CD27+CD45RA- para centrales de memoria, CD27-CD45RA- para efectoras de memoria y CD27-CD45RA+ para terminalmente diferenciadas.
3. **Mediadores solubles:** Se han cuantificado las concentraciones de IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ , IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β en las muestras de plasma de estos pacientes (kit Bio-Plex Pro Human Cytokine 10-plex Assay, BioRad, Hercules, EEUU). Para ello se ha utilizado un sistema Luminex 100 (BioRad, Hercules, EEUU). Las concentraciones plasmáticas de CD14 soluble se han cuantificado mediante CD14 Human ELISA Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA).
4. **Cuantificación de la viremia de VIH-1:** Las determinaciones de carga viral plasmática se han realizado mediante PCR (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0) con límite de detección de 20 copias/ml.
5. **Cuantificación del ADN proviral:** Se ha extraído el ADN genómico celular para la detección del ADN proviral integrado en PBMCs. Dicha extracción de ADN se realizó empleando el kit QIAmp DNA Blood Midi kit (Qiagen, Hilden, Alemania). Este ADN posteriormente se ha utilizado para determinar la carga proviral mediante una técnica PCR en tiempo real. El ensayo está basado en tecnología Taqman con sonda específica para VIH 5' - TACCGACGCTCTCGCACCCA-FAM-3' , empleando los cebadores específicos 5' - TAGCGGAGGCTAGAAGGAGA-3' y 5' -CCTGGCCTTAACCGAATT-3' para la amplificación de los nucleótidos 761-861 de la región LTR-gag de VIH-1. Las muestras han sido ensayadas



por duplicado en un termociclador Stratagene Mx3005P (Stratagene, La Jolla, CA, USA), realizando una mezcla de reacción de 50 µl consistente en 25 µl de Master Mix (2x, Kapa Biosystems, Woburn, MA, USA), 10 µl de ADN (control o muestra), 300 nM de cada cebador y 100 nM de sonda. Las condiciones de PCR han sido 50°C durante 2 min, 95°C durante 10 min y 40 ciclos a 95°C durante 15 s y 60°C durante 1 min. Los resultados se han normalizado a número de copias de ADN proviral por cada 1.000.000 de PBMCs.

9.6. Garantía de calidad de los datos.

El promotor, monitor e investigadores cumplieron las responsabilidades que se indican a continuación y que fueron establecidas por los Artículos 39, 40 y 41 de RD 1090/2015 (legislación vigente en el momento de la realización del estudio).

El Promotor cumplió con la responsabilidad de implantar y mantener sistemas de control y de garantía de la calidad con PNT por escrito para garantizar que se realizan los estudios y que se generan, documentan y comunican los datos cumpliendo el protocolo, las normas aceptadas sobre Buena Práctica Clínica y todas las leyes, normas y reglamentos relacionados con la ejecución del estudio clínico.

Al firmar el protocolo, el investigador aceptó permitir la monitorización, auditoría, y revisión por el comité ético de investigación clínica e inspección por las autoridades competentes de los documentos y procedimientos relacionados con el ensayo, y facilitar acceso directo a todos los datos y documentos originales relacionados con el estudio. El investigador tuvo que facilitar al promotor la documentación del estudio con prontitud y en su totalidad previa petición y además de mantener la documentación disponible en el centro del investigador a petición para inspección, copia, revisión y auditoría en momentos razonables por parte de representantes del promotor o de cualquier organismo regulador.

El monitor del estudio realizó visitas periódicas al centro en las que se revisó la información registrada por los investigadores en los Cuadernos de Recogida de Datos (CRD) y los contrastó con los documentos fuentes originales, para asegurar que los datos recogidos eran exactos, completos y fiables.

[Acceso a los datos del estudio](#)



Con el fin de garantizar la confidencialidad de los datos del ensayo, los datos originales fueron conservados en el hospital y sólo tuvieron acceso a los mismos, el investigador y su equipo de colaboradores, el monitor del ensayo y el Comité Ético de Investigación Clínica del correspondiente centro o el que tutela el ensayo, el Comité independiente de Monitorización de Datos y la CRO, Recerca Clínica, que fue contratada para realizar una auditoría interna del estudio.

Protección de los datos obtenidos en el estudio

El contenido de los cuadernos de recogida de datos (CRD), así como los de confidencialidad de los datos de cada paciente fue respetada en todo momento. Se han seguido los procedimientos adecuados para asegurar el cumplimiento de lo recogido en la Ley Orgánica 15/99 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal. Los documentos generados durante el estudio fueron protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación y, por tanto, considerados estrictamente confidenciales y no fueron revelados a terceros excepto a los especificados en el apartado anterior. El investigador informó a los sujetos del estudio que los datos obtenidos en el presente ensayo fueron guardados y analizados por ordenador y que siguieron las regulaciones españolas sobre el manejo de datos computerizados. El investigador aceptó que el promotor haya tenido el derecho a usar los resultados del ensayo clínico incluyendo hojas del CRD o copias de éste. Para permitir el uso de la información obtenida en el ensayo clínico, el investigador comprendió su obligación en todo momento a suministrar los resultados completos de las pruebas y toda la información desarrollada durante el estudio al promotor.

Por otro lado, se mantuvo en todo momento el anonimato de los sujetos participantes en el ensayo. Los resultados o conclusiones del ensayo clínico se comunicaron prioritariamente en publicaciones científicas antes de ser divulgados al público no sanitario. No se dio a conocer de modo prematuro o sensacionalista, procedimientos de eficacia aún no determinada.

9.7. Métodos estadísticos planificados en el protocolo y determinación del tamaño muestral.

Aunque el Plan de Análisis Estadístico y Plan de Queries fue elaborado por la CRO Sermes CRO, Promotor e Investigador Principal acordaron que fuera el propio Investigador Principal, siguiendo el PAE elaborado, el encargado de realizar el análisis intermedio con los datos disponibles tras 48 semanas de seguimiento. Dicha decisión fue justificada basándose en la enorme experiencia del



equipo investigador en investigación clínica y en análisis de los datos, y a la simplicidad del análisis necesario al no haberse procedido a iniciar la fase aleatorizada.

El objetivo inicial del análisis intermedio fue realizar un análisis de los datos de seguridad, una vez que los 5 primeros pacientes de la fase no aleatorizada hubiesen completado las 4 dosis de terapia, y aunque no se contemplaba, finalmente fueron analizados también algunos datos de eficacia.

Posteriormente, dado que el ensayo no llegó a iniciar la fase II del ensayo o fase aleatorizada, ya que el Comité Independiente de Monitorización de datos recomendó la suspensión del mismo, y a que el análisis intermedio realizado hasta 48 semanas de seguimiento no arrojaba indicios de eficacia, el Promotor junto con el IP consideraron no justificado realizar un análisis final independiente, ni por tanto, ejecutar el PAE inicial (que incluía la fase aleatorizada), sino ampliar el análisis con los datos de seguimiento hasta 96 semanas de seguimiento, y preparar paralelamente la publicación de los mismos (Trujillo-Rodríguez, 2020), sin que se evidenciara ningún cambio respecto a los resultados obtenidos en el análisis intermedio.

Los cuadernos de recogida de datos (CRD) fueron procesados por un Sistema Informático de Datos Clínicos prefijado y validado. Tras la doble grabación de datos, resolución de todas las inconsistencias y codificación mediante diccionarios médicos, se aplicó un proceso de control de calidad final considerándose así la base de datos libre de errores lo que permitió realizar su congelamiento y realizar de la explotación estadística de los datos.

Respecto a las poblaciones (ver definición de las poblaciones en la sección 2.2. *Definiciones*) y los análisis se puede especificar:

- El análisis de eficacia se realizó en la población por protocolo (PP) y la población por intención de tratar (ITT).
- El de seguridad en la población de seguridad (PS).

Los pacientes incluidos en Población por Protocolo (PP), por Intención de Tratar (ITT) y Población de Seguridad (PS) fueron los 5 pacientes incluidos en la fase no aleatorizada. Los 5 pacientes completaron su tratamiento (cuatro dosis) que correspondían por protocolo y completaron las 96 semanas de seguimiento, sin presentar criterios de retirada ni desviaciones mayores durante el ensayo.



El análisis se ha llevado a cabo mediante el software estadístico IBM (SPSS, version 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL).

Tal como se recoge en el protocolo, las diferencias en la incidencia y severidad de los efectos adversos y fracasos virológicos (viremia VIH >200 copias/ml confirmada) se analizaron mediante los tests de χ^2 y Mann-Whitney U test. Las comparaciones en los mismos sujetos se han realizado mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas. En todos los casos se han utilizado test con dos colas y los valores $p < 0.05$ se han considerado significativos. Dado el escaso número de casos, incrementos o disminuciones persistentes mayores del 50% en pacientes individuales se interpretarían como significativos.

Respecto a la representación de las variables:

- Variables categóricas: se utilizaron tablas de distribución de frecuencias absolutas (número de casos en cada categoría) y relativas (porcentaje de respuesta sobre el total de casos).
- Variables continuas, describen los valores máximos y mínimos. Se calculó la mediana y rango intercuartil (pudiéndose incorporar la MEDA o MAD: mean absolute deviation) en caso de acusada asimetría y/o presencia.

A continuación, se especifican los análisis realizados en las diferentes variables:

- **Estadística descriptiva basal:** se analizaron los datos demográficos, nadir CD4+, recuento de linfocitos T CD4+/ μ l y su %, cociente células T CD4+/CD8+, meses de TAR previo y meses ARN-VIH <20 copias/ml.
- **Análisis de seguridad:** Para el análisis de los acontecimientos adversos se planteó, siguiendo el PAE, realizar un análisis descriptivo (frecuencias y porcentajes) de los mismos a lo largo del estudio, presentando un listado de ellos, agrupados según la gravedad, intensidad y relación con la medicación de estudio. El mismo sistema de trabajo y descripción se hubiese utilizado para los Acontecimientos Adversos Graves y para las Reacciones Adversas Graves e Inesperadas, si las hubiese habido.
Se realizó un análisis descriptivo de los acontecimientos adversos a semana 96 de seguimiento (Tabla 3).
- **Análisis de eficacia:** Se analizaron la variable principal y las variables secundarias de eficacia, haciendo una comparación de la evolución de las distintas variables dentro del



grupo experimental y la variación individual de las variables en el tiempo. En concreto se midió la evolución en el recuento de células T CD4⁺/μl y del cociente CD4⁺/CD8⁺ a lo largo de 48 semanas.

No se efectuó ningún cálculo de tamaño muestral para el presente estudio. El tamaño de la muestra seleccionada en este caso, se consideró suficiente para rechazar la hipótesis nula [H_0 : la diferencia entre las proporciones de respuesta en el grupo de tratamiento (estimada en un 90%) y el grupo de referencia (estimada en un 20%) es igual al límite de superioridad establecido (12%)] con una potencia del 80% mediante una prueba asintótica normal para proporciones unilateral (de superioridad) para dos muestras independientes, con un nivel de significación del 5%, con una proporción de sujetos en el grupo de placebo respecto el total del 33%, siendo necesario incluir 5 pacientes en el grupo de placebo y 10 en el grupo de tratamiento, totalizando 15 unidades en el estudio (Ene 3.0. Servei d'Estadística Aplicada. Universitat autònoma de Barcelona).

9.8. Cambios en la realización del estudio o los análisis planificados.

A continuación, se describen los principales cambios que se produjeron en el estudio:

- **Protocolo:** se realizó la siguiente enmienda:
 - **Enmienda nº 1, versión 2, del 21 de septiembre de 2016.** En la presente enmienda se realizaron los cambios que se indican a continuación:

1. Aclaración en el Manejo de la Medicación del Estudio, incluyendo el uso de premedicación antes de cada administración.

Las CeTMAd a la dosis de 1x10⁶/Kg se administrarán por infusión intravenosa a través de una vía periférica a un ritmo de 2 ml/min máximo, usando premedicación previa (Metilprednisolona (0,5 mg/kg iv) y Dexclorfeniramina 5 mg parenteral (polaramine), opcionalmente paracetamol).

2. Actualización del equipo de investigadores del hospital participante.

Dr. José M. Cisneros Herreros

Dra. Nuria Espinosa Aguilera



Dra. Alicia Gutiérrez Valencia

Dr. Pompeyo Viciano Fernández

Dr. César Sotomayor

3. Se añade el centro responsable de Producción Celular e Ingeniería de Tejidos del Complejo Hospitalario de Granada como centro implicado en el ensayo clínico.

Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular

Complejo Hospitalario Universitario de Granada

Avda. Fuerzas Armadas 2

18014 – Granada

4. Se añade el equipo investigador responsable de la producción:

Equipo investigador responsable de la producción del MEI:

Dr. Salvador Arias Santiago

Dra. Olga Espinosa Ibáñez

Antonio Ruiz García

5. Se actualiza la última versión de la escala para la gradación de los acontecimientos adversos.

“Division of aids table for grading the severity of adult and paediatric adverse Events” . Publish Date: November, 2014.

6. Se actualiza el calendario y fecha prevista de finalización.

Fecha estimada de inicio: enero de 2017

Fecha de evaluación intermedia: Aproximadamente en septiembre 2017, cuando el último de los 5 primeros pacientes haya recibido las tres primeras dosis previstas.

Fecha de fin del ensayo clínico: enero de 2020

7. Aclaración sobre el seguimiento total de los pacientes.



El seguimiento total es de 96 semanas (24 meses), ya que las visitas que se realizan durante el segundo año de seguimiento recogen datos tanto de seguridad (visitas 14, 15 y 16) como de eficacia (visita 17).

8. Aclaración sobre aspectos relativos a la seguridad y evaluación beneficio-riesgo para los sujetos de la investigación.

Es necesario resaltar que, la duración del seguimiento de estos pacientes dentro del ensayo clínico para el análisis de las variables de eficacia y seguridad será de 24 meses, considerándose los datos obtenidos en este sentido como parte del ensayo clínico y como tales serán hechos públicos.

9. Aclaración del número de visitas de evaluación.

A lo largo del ensayo clínico se llevarán a cabo 17 visitas dentro del seguimiento de 96 semanas.

Se realizarán evaluaciones adicionales en las semanas 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 (± 1 semana).

10. Aclaración sobre informes de seguimiento y final y comunicación de los resultados.

Tras el seguimiento de 96 semanas de los pacientes, se procederá al cierre de la base de datos, y su análisis. Los datos del ensayo se publicarán de acuerdo a lo descrito anteriormente.

11. Actualización de la normativa vigente.

Se modifica el texto del protocolo para suprimir la mención a la normativa derogada en materia de ensayos clínicos, en concreto el RD223/2004, sustituyéndola por el nuevo RD1090/2015. Se actualiza el CEIm de referencia que pasa a ser el Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía.

Se actualiza además el RD sobre calidad y seguridad para la donación de tejidos y células (el RD-Ley 9/2014) y el reglamento el Reglamento (CE) n.º 1394/2007 de 13 de noviembre de 2007 que incluye la definición de terapias avanzadas.

12. Se aclara el criterio de inclusión nº8.

Criterio de inclusión nº8: Se describe como método anticonceptivo efectivo para las mujeres, los métodos hormonales que inhiban la ovulación (que combinen estrógenos



con gestágenos, o gestágenos solo) de administración oral, transdérmica, intravaginal, inyectable, implantable; el DIU, la esterilización quirúrgica o la abstinencia total.

13. Se aclara el criterio de exclusión nº2.

Se matiza el criterio de exclusión 2 para considerar sólo la inclusión de sujetos que no hayan padecido infecciones oportunistas en el último año desde la inclusión. Esto se modifica porque existen determinados tipos de infecciones oportunistas que requieren tratamientos prolongados y con alta recurrencia.

14. Se aclaran detalles sobre la determinación y cuantificaciones del ensayo.

Se modifican algunos detalles de las determinaciones y cuantificaciones a realizar en las muestras de sangre y suero que se recogen durante las visitas de seguimiento: conteo de subpoblaciones celulares, estudios fenotípicos y cuantificación de mediadores solubles. Además, se añade la cuantificación de los linfocitos en el hemograma, y la realización de un test de gestación en la visita previa a cada infusión de medicamento en investigación (visitas 1, 4, 6, y 9). Además, en la visita 8 (semana 12), se añade una determinación analítica básica (bioquímica, hemograma y colagulación), ya que el periodo desde la última analítica (semana 7) y hasta la siguiente (semana 19) previstas en el protocolo justifica la realización de la misma.

15. Aclaración sobre la Visita 2.

Se aclara la posibilidad de suprimir la visita 2 (aleatorización) en los 5 primeros pacientes incluidos en la fase no aleatorizada del ensayo clínico. Además, se aclara la redacción sobre el plazo, pudiendo realizarse la visita hasta 14 días antes de la primera infusión celular.

16. Aclaración sobre Puntos críticos e intermedios de Sustancia Activa.

Se suprime el ensayo de endotoxinas y se añade un estudio de micoplasma en el acondicionamiento para criogenización de la suspensión celular.

17. FE DE ERRATA al Protocolo del ensayo clínico. Además de los cambios descritos en la Enmienda nº 1, versión 2, del 21 de septiembre de 2016, posteriormente, con fecha 03/07/2018 se elabora una fe de errata a dicha enmienda



(FE DE ERRATA al Protocolo del ensayo clínico CeTMAd/VIH/2014, versión 2.0 del 21 de septiembre de 2016) donde se modifica el momento de la evaluación de los datos de seguridad por parte del CISMD, que pasará a realizarse cuando el último de los 5 pacientes haya recibido la 4 dosis y no después de la tercera dosis como estaba estipulado en la enmienda.

10. Pacientes del Estudio.

10.1. Descripción de los pacientes de estudio.

En el presente estudio se incluyeron un total de 5 pacientes, todos recibieron tratamiento ya que fueron incluidos en la fase I del ensayo (Fase No aleatorizada). La distribución del grupo se muestra en el siguiente flujo grama (Figura 1).

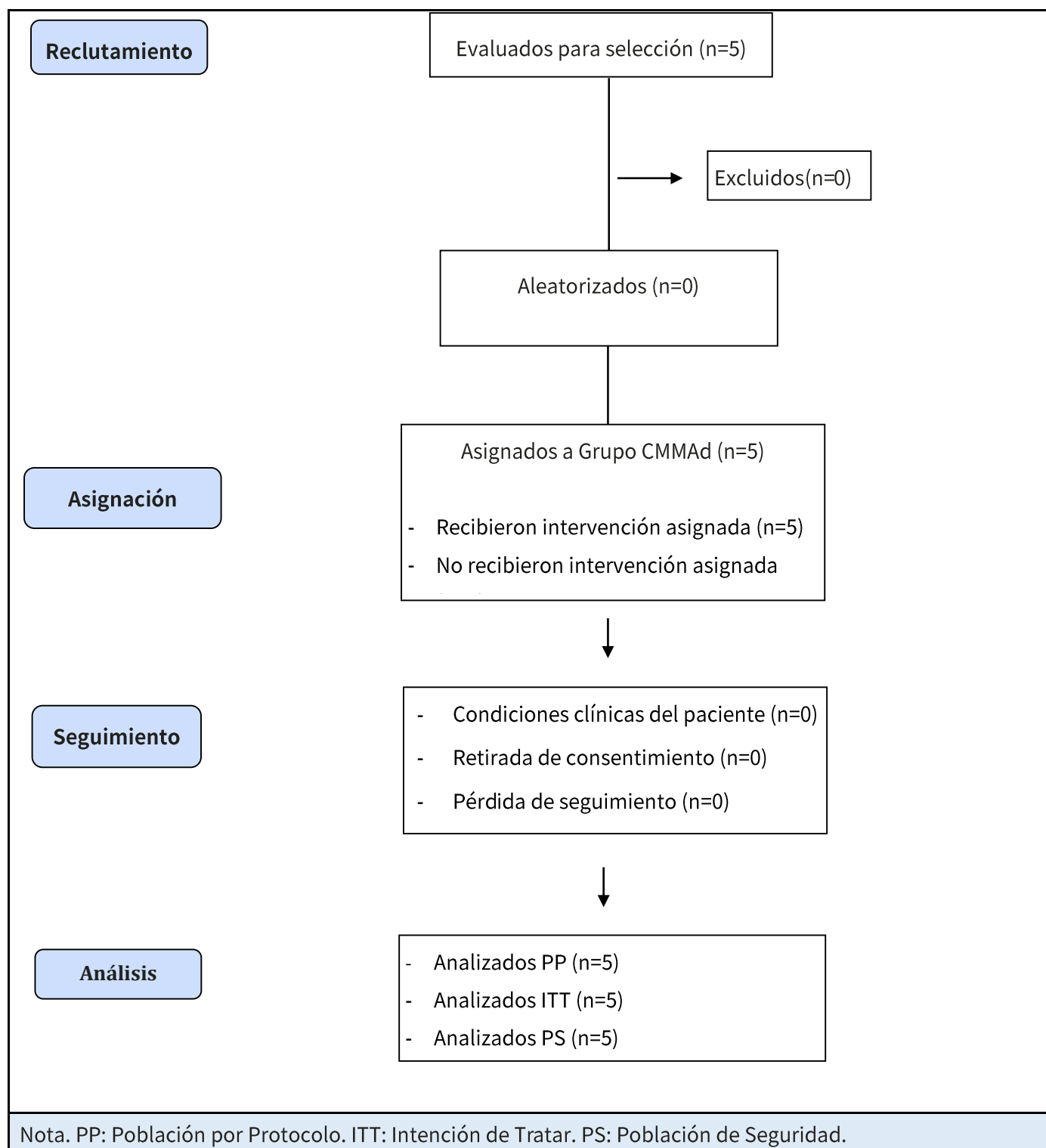


Figura 1. Flujo de pacientes del estudio CeTMAd-VIH-2014



10.2. Desviaciones de protocolo.

La Tabla 2 muestra las desviaciones de protocolo que se registraron a lo largo del estudio (Apéndice 16.2.2).

Del total de desviaciones detectadas a lo largo del estudio, solo una de ellas fue considerada desviación crítica, y como tal fue comunicado a la AEMPS y CEIm. Esta desviación fue detectada en el paciente EC19D01, el cual recibió la segunda dosis del medicamento a una velocidad por encima del límite máximo permitido por protocolo. Además, teniendo en cuenta los tiempos de recepción del medicamento y la hora de infusión, se pudo deducir que no fueron realizados de forma correcta los procedimientos de atemperamiento y agitación del producto. Para evitar una repetición de la desviación, el promotor mantuvo reuniones con el equipo investigador para repasar los procedimientos y resaltar la importancia de su cumplimiento de cara a la seguridad del paciente. (ver Anexo II para más información sobre el procedimiento de infusión).

Tabla 2. Listado de desviaciones al protocolo

Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D01	El sujeto EC19D01 recibe la segunda dosis de medicamento (visita 5, realizada el 3abril2017) a una velocidad de infusión por encima del límite máximo permitido por el protocolo (3 mL/min). También por los tiempos de recepción del medicamento y de inicio de la infusión se entiende que no se realizaron los procedimientos de atemperamiento y agitación del producto. Durante la infusión el paciente presenta eventos de trombosis venosas que obligan a detener la infusión.	SI	22/11/2017	Se mantienen reuniones con el equipo del centro para transmitir la relevancia de observar las instrucciones de administración del producto, cuidando especialmente puntos críticos como la agitación de la suspensión celular y la velocidad de infusión.



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D01	En el sujeto EC19D01, la tercera dosis de medicamento es reprogramada fuera de calendario de protocolo (desviación de 19 días) debido a un AA ocurrido en la infusión previa (trombosis venosa). La visita de seguridad se realiza dentro de calendario el día 20-abril-2017, aunque se repite en la semana previa a la fecha reprogramada de tercera infusión (con 12 días de desviación) para cumplir el objetivo de seguridad pre-infusión que persigue la misma. Se registra en el CRD del estudio los datos correspondientes a la visita de seguridad realizada el día 10-mayo-2017.	NO	22/11/2017	El equipo de investigadores informó previamente al promotor de la intención de realizar esta desviación, obteniendo el visto bueno para ello. En cualquier caso, se insiste al equipo investigador en la importancia de ajustar las visitas programadas al calendario establecido en el protocolo. Esta desviación se detectó en la visita de monitorización del 26sep2017, sin embargo no ha sido documentada en el informe.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D01	La visita 8 de seguimiento se realiza con un retraso de 19 días respecto a la fecha programada en el calendario del estudio.	NO	16/09/2017	Se insiste al equipo investigador en la importancia de ajustar las visitas programadas al calendario establecido en el protocolo. Esta desviación se detectó en la visita de monitorización del 26sep2017, sin embargo no ha sido documentada en el informe.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D01	El paciente EC19/D/01 perdió 6 kg durante las primeras 12 semanas, pero recibió la misma dosis en la 4ª infusión, es decir el paciente recibe una dosis de 1,07x106 cels/Kg. Se trata de una variación inferior al 10% respecto a la dosis media exigida por el protocolo, con lo	NO	21/11/2017	Se elabora un nuevo formulario para confirmar cada una de las dosis a recibir por el sujeto durante su participación en el ensayo. En dicho registro el equipo investigador debe actualizar el valor del peso en la semana previa a la infusión. De esta manera se



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
			que no se considera en ningún caso una sobredosis.			persigue un mejor ajuste de la dosis del medicamento.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	Algunos valores de las analíticas programadas no se han cuantificado: V1 (TP, TPTA, fibrinógeno) y V4 (GOT, GPT).	NO	23/06/2017	Se insiste a Inma Rivas en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo. Se le recomienda completar una petición tipo que sirva de plantilla para cada visita del estudio.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se miden las constantes vitales post-infusión en la visita 5.	NO	23/06/2017	Se hablará telefónicamente con el equipo de la unidad de fase I para recordarle la necesidad de recoger las constantes post-infusión.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se realiza estudio de coagulación de visita 8.	NO	06/10/2017	Se insiste a Inma Rivas en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo. Se le recomienda completar una petición tipo que sirva de plantilla para cada visita del estudio.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se realiza viremia de visita 10.	NO	06/10/2017	Se insiste a la Data Manager en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo. Se le recomienda completar una petición tipo que sirva de plantilla para cada visita del estudio.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	Las cuatro infusiones de este sujeto se realizan a una velocidad estimada que podría estar por encima del límite máximo permitido por el protocolo. En los cuatro casos la velocidad ha superado el límite permitido en menos del	NO	21/11/2017	Se mantienen reuniones con el equipo del centro para transmitir la relevancia de observar las instrucciones de administración del producto, cuidando especialmente puntos críticos como la agitación de la suspensión celular y la velocidad de infusión.



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
			10%, con lo que no se han considerado críticas.			
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	El paciente EC19/D/02 en la visita 9 incrementa su peso en 1.5 Kg, sin embargo, en la visita 10 (4ª infusión) recibe la dosis correspondiente a un peso de 106 Kg, es decir el paciente recibe una dosis equivalente a $0,99 \times 10^6$ cels/Kg. Se trata de una variación inferior al 10% respecto a la dosis media exigida por el protocolo, con lo que no se considera en ningún caso una infradosis.	NO	21/11/2017	Se elabora un nuevo formulario para confirmar cada una de las dosis a recibir por el sujeto durante su participación en el ensayo. En dicho registro el equipo investigador debe actualizar el valor del peso en la semana previa a la infusión. De esta manera se persigue un mejor ajuste de la dosis del medicamento.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se realizó el estudio de coagulación correspondiente a la visita 13.	NO	25-abr-2018	No es política del hospital realizar esta analítica con la frecuencia requerida por el protocolo del ensayo a no ser que el paciente presente unas características clínicas que lo justifiquen. Por este motivo no se considera necesario adoptar ninguna medida correctora.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se realizó el estudio de coagulación correspondiente a la visita 14.	NO	24-sep-2018	
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	No se realizó el estudio de coagulación correspondiente a la visita 15.	NO	24-sep-2018	
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D02	El paciente no ha realizado la visita 17	NO	12-mar-19	El paciente no acudió a la visita final del ensayo alegando que no tenía tiempo a causa de su trabajo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D03	Los valores de colesterol y triglicéridos no fueron realizados en las visitas 4 y 6.	NO	24/07/2017	Se pregunta a Inmaculada Rivas por esta cuestión e indica que el laboratorio del hospital no lo realiza porque ya tenía analíticas próximas a esas fechas.



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D03	No se realizaron las determinaciones de Colesterol, Triglicéridos, Bilirrubina y estudio de Coagulación en la visita de seguimiento 8.	NO	15/09/2017	Se insiste a Inma Rivas en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo. Se le recomienda completar una petición tipo que sirva de plantilla para cada visita del estudio.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D03	La analítica de serología necesaria para comprobar que el paciente no cumple el criterio de exclusión nº 3 (co-infección activa por VHC) fue realizada el día de la 1ª infusión, 8May2017. Por tanto, el paciente fue infundido sin que se conocieran los resultados de serología.	NO	24/10/2017	Se le recuerda al equipo la necesidad de solicitar una serología en la visita de selección que confirme los criterios de selección del sujeto en cuanto a infecciones activas por VHB.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D03	No se realiza estudio de coagulación de visita 9.	NO	17/10/2017	Se insiste a Inma Rivas en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo. Se le recomienda completar una petición tipo que sirva de plantilla para cada visita del estudio.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D03	El paciente recibe una dosis inferior a la establecida en el protocolo ($0,95 \times 10^6$ cels/Kg). Se trata de una variación inferior al 10% respecto a la dosis media exigida por el protocolo, con lo que no se considera en ningún caso una infradosis.	NO	21/11/2017	Se indica al equipo de la unidad de producción celular que en la fabricación deben ajustar el volumen de producto/celularidad al peso del paciente en cada una de las infusiones.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D04	El sujeto EC19D04 fue incluido en el ensayo clínico presentado un valor de linfocitos CD4+ de 412 cels/ μ L (02/05/2017). Este valor es inferior al criterio de	NO	04/08/2017	La medida de los niveles de CD4+ puede presentar fluctuaciones, y es necesario valorar la relevancia clínica de cada caso teniendo en cuenta el contexto clínico de cada



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
			selección especificado en el protocolo (<350 cels/ μ L), aunque se comprueba que todos los valores de CD4+ medidos en este paciente desde el 31/07/2009 han sido inferiores al límite especificado en el protocolo.			sujeto. En el caso del sujeto EC19D04, consideramos que el valor desviado no tiene relevancia clínica, ya que presenta un historial de 7 años de valores por debajo del límite especificado, y, en determinaciones posteriores a la inclusión, los niveles de CD4+ se han mantenido nuevamente por debajo de <350 cels/ μ L. Consideramos por lo tanto que el sujeto EC19D04 cumple adecuadamente con la definición de un diagnóstico de respuesta inmunológica discordante. El promotor no ha considerado esta desviación crítica porque, aunque afecta a los criterios de selección del sujeto, ni la seguridad del sujeto, ni la integridad de los datos se han visto comprometidos.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D04	El sujeto es incluido en el estudio el día 20-06-2017, y en dicha visita no se le repite la medida del linfocito CD4+ (realizada el 02-05-17, y con un valor que no cumple los requisitos de selección del protocolo.	NO	21/11/2017	Se insiste al equipo en la importancia de realizar todas las evaluaciones requeridas por el protocolo para valorar la elegibilidad del sujeto. Además se le recuerda que el plazo de validez de evaluaciones realizadas con anterioridad a la visita de selección es tan sólo de 7 días.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D04	No fue realizado el Estudio de Coagulación correspondiente con la visita 9.	NO	19/12/2017	Se insiste a Inma Rivas en la necesidad de realizar las analíticas que requiere el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D04	El paciente recibe una dosis superior a la establecida en el protocolo (1,08 x 10 ⁶ cels/Kg). Se trata de una variación	NO	21/11/2017	Se indica al equipo de la unidad de producción celular que en la fabricación deben ajustar el volumen de producto/celularidad



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
			inferior al 10% respecto a la dosis media exigida por el protocolo, con lo que no se considera en ningún caso una sobredosis.			al peso del paciente en cada una de las infusiones.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D04	El paciente EC19/D/04 en la visita 7 pesó 2 kg más que al principio, pero recibió la misma dosis que en la 2ª infusión, es decir el sujeto recibe una dosis de $0,97 \times 10^6$ cels/Kg. Se trata de una variación inferior al 10% respecto a la dosis media exigida por el protocolo, con lo que no se considera en ningún caso una infradosis.	NO	21/11/2017	Se elabora un nuevo formulario para confirmar cada una de las dosis a recibir por el sujeto durante su participación en el ensayo. En dicho registro el equipo investigador debe actualizar el valor del peso en la semana previa a la infusión. De esta manera se persigue un mejor ajuste de la dosis del medicamento.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 4 fue realizada el día 30Oct2017, 3 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	19/12/2017	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 5 fue realizada el día 06Nov2017, 3 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	19/12/2017	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 6 fue realizada el día 27Nov2017, 3 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	19/12/2017	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 7 fue realizada el día 12Dic2017, 3 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	19/12/2017	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 4 fue realizada el día 30Oct2017, 3 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	19/12/2017	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La fecha de la visita 8 tuvo lugar el día 03-01-18, lo que supuso 5 días después de la fecha máxima permitida por protocolo.	NO	09/02/2018	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo. Si bien el periodo de fiestas en el que caían las posibles fechas de visita hizo complicado cuadrar la misma.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	No se realiza el estudio de coagulación de la visita 8.	NO	09/02/2018	No es política del hospital realizar esta analítica con la frecuencia requerida por el protocolo del ensayo a no ser que el paciente presente unas características clínicas que lo justifiquen. Por este motivo no se considera necesario adoptar ninguna medida correctora.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	No se realizó la viremia de la visita 10	NO	25/04/2018	Se recuerda al equipo que es necesario realizar todas las pruebas indicadas por protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 10 se realizó el día 26-02-2018, fuera del periodo de ventana, que tenía como fecha máxima el 23-02-2018.	NO	25/04/2018	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	No se realizó el estudio de coagulación de la visita 11.	NO	25/04/2018	Se recuerda al equipo que es necesario realizar todas las pruebas indicadas por protocolo.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	La visita 11 se realizó el día 27-03-2018, fuera del periodo de ventana que tenía como fecha máxima el 26-03-2018.	NO	25/04/2018	Se insiste al equipo en la necesidad de ajustarse al calendario de visitas previsto en el protocolo.



Código	Centro	Paciente	Descripción Desviación	Crítica	Fecha detección	Acción Tomada
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	No se realizó el estudio de coagulación de la visita 13	NO	25/04/2018	No es política del hospital realizar esta analítica con la frecuencia requerida por el protocolo del ensayo a no ser que el paciente presente unas características clínicas que lo justifiquen.
D	Hospital U. Virgen del Rocío	EC19D05	No se realizó la coagulación en la visita 14	NO	28/01/2019	No es política del hospital realizar esta analítica con la frecuencia requerida por el protocolo del ensayo a no ser que el paciente presente unas características clínicas que lo justifiquen.

11. Evaluación de Eficacia.

11.1. Grupos de pacientes analizados

El análisis de eficacia, según se indicó en el PAE (pág. 16), se realizó en la Población por Intención de Tratar (ITT), es decir, “todos los pacientes que, estando incluidos en el ensayo clínico, cumplieron o no los criterios de selección, y que además fueron aleatorizados (fase aleatorizada), o se confirmó la asignación del tratamiento (fase no aleatorizada).

En el presente estudio, se incluyeron, para este análisis a todos los pacientes de la fase No Aleatorizada: EC19D01, EC19D02, EC19D03, EC19D04 y EC19D05.

La prueba de los rangos con signo de Wilcoxon fue realizada para comparar cambios en variables continuas a lo largo del tiempo. En todos los casos se han utilizado test con dos colas y los valores $p < 0.05$ se han considerado significativos. Dado el escaso número de casos, incrementos o disminuciones persistentes mayores del 50% en pacientes individuales se interpretarían como significativos.

Las variables consideradas para el análisis de eficacia fueron las que se citan a continuación:



- Variables de eficacia: las variables implicadas para el análisis de eficacia se midieron como el incremento del cociente CD4+/CD8+, CD4+/μl absolutos (aCD4) y % CD4+ tras 4, 8, 12, 20, 24, 36, 48 y 96 semanas tras la primera infusión de CeTMAd.

- Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento:

1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK y células Tγδ.
2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.
3. Mediadores solubles.
4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.
5. Cuantificación del ADN proviral.

11.2. Datos demográficos y otras características basales.

Todos los pacientes fueron hombres y completaron el estudio, con una adherencia al tratamiento antiretroviral (TAR) del 100%. La mediana de edad basal fue de 53 años (45-58), Nadir CD4+/μ 16 (2-108), CD4/μ 253 (211-340), ratio CD4+/CD8+ 0,42 (0,19-0,48), % CD4+ 24,1% (11,4-25,5), meses TAR previo 109 (73-210), y 69 meses (53-84) ARN-VIH < 20 copias/ml antes de la inclusión en el estudio (Tabla 3, Apéndice 16.2.4).

Tabla 3. Datos demográficos y otras características.

Código Paciente	Edad (años)	IMC, kg/m ²	Factor riesgo VIH	Casificación CDC	Meses de tratamiento	Meses con ARN-VIH < 20 copias/ml	Células T Nadir CD4+/μ	Células T CD4+/μL	% Células T CD4+	Cociente CD4+/CD8+
EC19-D01	47	31.5	UDI	A3	109	52	3	269	24.10	0.46
EC19-D02	56	33.7	HTS	C3	184	69	16	251	11.44	0.20
EC19-D03	53	18.0	UDI	C3	237	77	2	171	11.49	0.19
EC19-D04	61	27.4	HTS	C3	93	91	37	412	24.30	0.42
EC19-D05	43	30.8	HTS	A3	54	54	180	253	26.70	0.50

Abreviaturas: IMC, índice de masa corporal; CDC, centros para el control de enfermedades; UDI, usuario de drogas inyectables; HTX, contacto heterosexual.



Si bien el paciente EC19-D04 no cumplía estrictamente el criterio de ≤ 350 CD4+ en la determinación previa, dado su historial (ver tabla 4), el equipo médico consideró su evolución dentro de la consideración de respuesta discordante, lo que fue ratificado por el promotor. El día de la 1ª infusión se repitió la determinación, pero, desgraciadamente, no se dispone del resultado. A continuación, se muestra la evolución inmunológica desde el inicio del tratamiento antirretroviral:

Tabla 4. Evolución inmunológica histórica paciente EC19-D04

Fecha	CD4	CD4%	CD8	CD4/CD8
31/07/2009	41	6.59	432	0,09
04/08/2009	29	5.38	370	0,08
02/09/2009	104	13.1	501	0,21
05/10/2009	108	7.98	955	0,11
15/10/2009	128	10.64	834	0,15
02/12/2009	104	8.34	891	0,12
18/02/2010	99	13.07	446	0,22
19/05/2010	162	12.21	906	0,18
08/09/2010	119	14.12	541	0,22
09/03/2011	161	14.52	737	0,22
07/09/2011	79	16.31	314	0,25
15/03/2012	191	16.22	789	0,24
05/09/2012	218	17.65	795	0,27
06/03/2013	181	16.42	746	0,24
19/09/2013	284	17.22	1111	0,26



Fecha	CD4	CD4%	CD8	CD4/CD8
13/03/2014	256	20.35	798	0,32
10/09/2014	258	21.38	757	0,34
26/03/2015	583	44.71	386	1,51
26/03/2015	265	17.61	952	0,28
24/09/2015	281	19.89	860	0,33
03/02/2016	318	20.56	923	0,34
09/09/2016	295	20.6	858	0,34
08/03/2017	MNR	MNR	MNR	
02/05/2017	412	24.38	987	0,42
10/07/2017	MNR	MNR	MNR	

Historia médica/ enfermedades concomitantes: la Tabla 5 muestra la información de la historia médica por paciente Esta información ha sido codificada con la versión 25.0 del diccionario MedDRA.

Tabla 5. Historia médica/ Enfermedades concomitantes.

Paciente	Diagnóstico	MedDRA PT	MedDRA SOC	Fecha inicio	Fecha fin	¿Precisa tratamiento?
EC19/D/01	TRASTORNO DE HUESO Y CARTILAGO NO ESPECIFICADO	Trastorno óseo [10005956] Condropatía	Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo [10028395]	30/04/2008	Continúa	No



Paciente	Diagnóstico	MedDRA PT	MedDRA SOC	Fecha inicio	Fecha fin	¿Precisa tratamiento?
		[10061762]	Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo [10028395]			
EC19/D/01	CONDILOMAS ACUMINADOS	Verrugas anogenitales [10059313]	Neoplasias benignas, malignas y no especificadas (incl quistes y pólipos) [10029104]	01/01/2007	06/07/2007	No
EC19/D/01	HEPATITIS C CRÓNICA SIN MENCION DE COMA HEPATICO	Hepatitis C crónica [10008912]	Infecciones e infestaciones [10021881]	10/01/2008	22/05/2009	No
EC19/D/02	TUBERCULOSIS	Tuberculosis [10044755]	Infecciones e infestaciones [10021881]	19/07/2001	ND/06/2002	No
EC19/D/02	HEPATITIS C	Hepatitis C [10019744]	Infecciones e infestaciones [10021881]	12/07/2001	11/02/2003	No
EC19/D/02	HEPATITIS B	Hepatitis B [10019731]	Infecciones e infestaciones [10021881]	ND/ND/ND	ND/ND/ND	No
EC19/D/02	DIABETES TIPO II	Diabetes mellitus tipo 2 [10067585]	Trastornos del metabolismo y de la nutrición [10027433]	29/09/2016	Continúa	No



Paciente	Diagnóstico	MedDRA PT	MedDRA SOC	Fecha inicio	Fecha fin	¿Precisa tratamiento?
EC19/D/02	PROTEINURIA	Proteinuria [10037032]	Trastornos renales y urinarios [10038359]	ND/ND/ND	Continúa	No
EC19/D/03	TUBERCULOSIS PULMONAR NEOM/DGCO POR MICROSCOPIA	Tuberculosis pulmonar [10037440]	Infecciones e infestaciones [10021881]	01/05/1990	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	ENDOCARDITIS BACTERIANA AGUDA Y SUBAGUDA	Endocarditis bacteriana [10014666]	Infecciones e infestaciones [10021881]	05/05/1995	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	TUBERCULOSIS PULMONAR NEOM/DGCO POR MICROSCOPIA	Tuberculosis pulmonar [10037440]	Infecciones e infestaciones [10021881]	05/02/2002	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	CANDIDIASIS (MUGUET)	Candidiasis oral [10030963]	Infecciones e infestaciones [10021881]	20/01/2004	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	HEPATITIS C CRÓNICA SIN MENCIÓN DE COMA HEPÁTICO	Hepatitis C crónica [10008912]	Infecciones e infestaciones [10021881]	16/06/2010	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	NEUMONÍA ORGANISMO SIN ESPECIFICAR	Neumonía [10035664]	Infecciones e infestaciones [10021881]	27/08/2012	ND/ND/ND	No
EC19/D/03	ANEMIA NO ESPECIFICADA	Anemia [10002034]	Trastornos de la sangre y del sistema linfático [10005329]	27/08/2012	ND/ND/ND	No



Paciente	Diagnóstico	MedDRA PT	MedDRA SOC	Fecha inicio	Fecha fin	¿Precisa tratamiento?
EC19/D/04	HERNIA INGUINAL SIN OBSTR O GANGRENA	Hernia inguinal [10022016]	Trastornos gastrointestinales [10017947]	23/10/2006	ND/ND/ND	No
EC19/D/04	HERNIA INGUINAL SIN OBSTR O GANGRENA	Hernia inguinal [10022016]	Trastornos gastrointestinales [10017947]	10/06/2008	ND/ND/ND	No
EC19/D/04	CANDIDIASIS ESOFAGICA	Candidiasis esofágica [10030154]	Infecciones e infestaciones [10021881]	30/07/2009	ND/ND/ND	No
EC19/D/04	HELICOBACTER PYLORI	Infección por Helicobacter [10054263]	Infecciones e infestaciones [10021881]	30/07/2009	ND/ND/ND	No

- **Medicación actual:** en la tabla 6 se muestran los datos de la medicación actual (según codificación ATC) de cada paciente.

Tabla 6. Medicación concomitante actual.

Paciente	Medicación	Código ATC	Dosis	Vía	Fecha inicio	Fecha fin
EC19-D01	HEPARINA	B01AB01	80 MG	SC	18-04-2017	02-05-2017
EC19-D01	CLOPERASTINA	R05DB21	10 MG	PO	09-05-2017	ND-ND-ND
EC19-D01	AMOXICILINA/CLAVULANICO	J01CR02	875 MG/125 MG	PO	08-05-2017	ND-ND-ND
EC19-D01	HEPARINA	B01AB01	80 MG	SC	14-05-2017	ND-ND-ND



Paciente	Medicación	Código ATC	Dosis	Vía	Fecha inicio	Fecha fin
EC19-D01	LAGRIMAS ARTIFICIALES	S01XA20	ND	O	29-06-2017	Continúa
EC19-D01	DICLOFENACO/ TOBRAMICINA COLIRIO	S01CC01	1 MG/ML/ 3 MG/ML	O	29-06-2017	18-07-2017
EC19-D01	ACICLOVIR POMADA	D06BB03	3 MG/ML	T	10-07-2017	22-07-2017
EC19-D01	TOBRAMICINA COLIRIO	S01AA12	80 MG	O	10-07-2017	19-07-2017
EC19-D01	HEPARINA	B01AB01	20 MG	SC	23-07-2017	ND-ND-ND
EC19-D01	OMEPRAZOL	A02BC01	20 MCG	PO	15-07-2018	ND-07-2018
EC19-D01	BROMURO DE IPRATROPIO	R01AX03	40 MG	INH	08-05-2017	ND-ND-ND
EC19-D02	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	08-05-2017	18-05-2017
EC19-D02	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	21-05-2017	25-05-2017
EC19-D02	HEPARINA	B01AB01	60 MG	SC	18-06-2017	23-06-2017
EC19-D02	HEPARINA	B01AB01	80 MG	SC	10-09-2017	15-09-2017
EC19-D02	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	31-05-2017	10-06-2017
EC19-D02	IBUPROFENO	M01AE01	400 MG	PO	31-05-2017	10-06-2017
EC19-D03	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	07-05-2017	11-05-2017
EC19-D03	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	04-06-2017	06-06-2017
EC19-D03	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	02-07-2017	06-07-2017
EC19-D03	HEPARINA	B01AB01	40 MG	SC	24-09-2017	28-09-2017
EC19-D03	LEVOFLOXACINO	J01MA12	750 MG	PO	15-01-2018	21-01-2018
EC19-D03	VACUNA DE LA GRIPE	J07BB02	ND	IM	05-11-2018	05-11-2018
EC19-D03	LEVOFLOXACINO	J01MA12	500 MG	PO	29-01-2019	31-01-2019



Paciente	Medicación	Código ATC	Dosis	Vía	Fecha inicio	Fecha fin
EC19-D03	AMOXICILINA/CLAVULANICO	J01CR02	875 MG/125 MG cada 8 horas	PO	01-02-2019	05-02-2019
EC19-D04	HEPARINA	S01XA09	0,6 ML	SC	09-07-2017	13-07-2017
EC19-D04	HEPARINA	B01AB01	0,6 ML	SC	06-08-2017	10-08-2017
EC19-D04	HEPARINA	B01AB01	0,6 ML	SC	03-09-2017	07-09-2017
EC19-D04	ROSUVASTATINA	C10AA07	5 MG	PO	15-10-2018	Continua
EC19-D04	EBASTINA	B01AB01	20 MG	PO	15-05-2019	ND-ND- 2019
EC19-D05	HEPARINA	B01AB01	ND	SC	09-10-2017	11-10-2017
EC19-D05	HEPARINA	B01AB01	ND	SC	05-11-2017	08-11-2017
EC19-D05	CALCIO CARBONATO/COLECALCIFEROL	A12AX	1,25 G/400 UI	PO	10-05-2019	22-05-2019
EC19-D05	DOLUTEGRAVIR/LAMIVUDINA	J05AR25	50MG/300MG/24H	PO	10-05-2019	Continua

- **Pruebas analíticas:** las variables de hemograma, coagulación, bioquímica y viremia VIH fueron evaluados, todos los pacientes presentaron parámetros dentro de la normalidad clínica y la carga viral de VIH fue indetectable en todos los pacientes incluidos (ver Apéndice 12.2.8 para consultar los parámetros analíticos).

11.3. Medidas de cumplimiento del tratamiento.

Los 5 pacientes de la fase no aleatorizada cumplieron el tratamiento, recibieron las 4 dosis previstas por protocolo, sin presentar criterios de retirada ni desviaciones mayores durante el ensayo.



11.4. Resultados de eficacia y representación gráfica de los datos de los pacientes de manera individual.

El análisis de eficacia se llevó a cabo en la Población por Intención de Tratar (ITT) (ver sección 4. Lista de abreviaturas y definiciones) la cual incluye a todos los pacientes de la fase no aleatorizada: EC19-D01, EC19-D02, EC19-D03, EC19-D04 y EC19-D05.

La eficacia de las infusiones de CeTMAd en la recuperación inmunológica en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante se midió como el incremento del cociente CD4+/CD8+, CD4+/ μ l absolutos (aCD4) y % CD4+ tras 4, 8, 12, 24, 36, 48 y 96 semanas tras la infusión de CeTMAd, sin que se observaran cambios ni clínica ni estadísticamente significativos en ninguno de los pacientes. La figura 2 muestra la evolución de la recuperación inmunológica de los pacientes a lo largo del seguimiento.

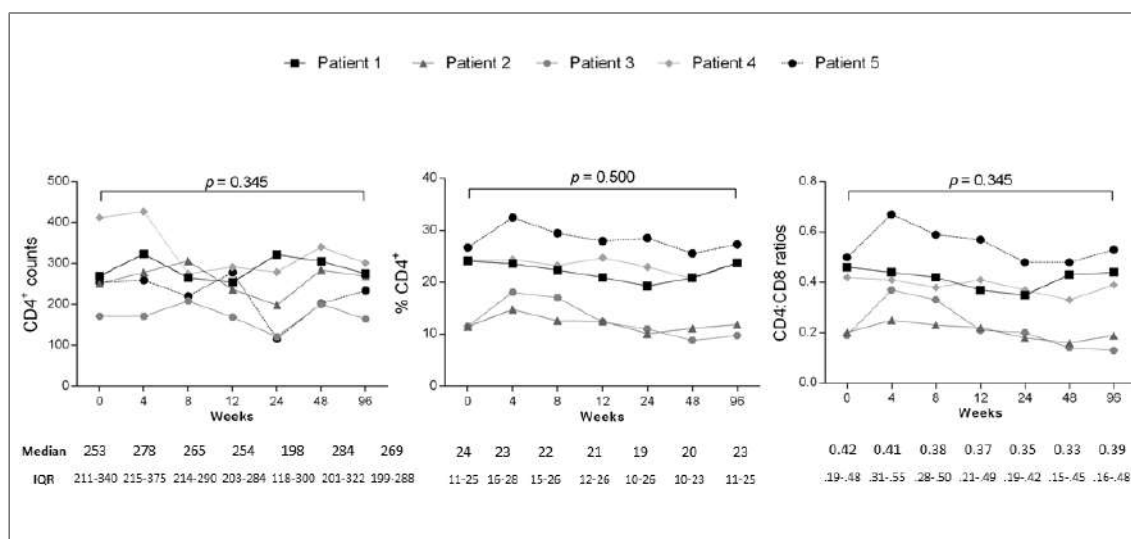


Figura 2. Evolución de la recuperación inmunológica tras 96 semanas de seguimiento

11.4.1. Variables que midieron la eficacia.

- Variables que midieron la eficacia: Diferencia en el recuento de linfocitos T CD4+/ μ l, su % y el cociente células T CD4+/CD8+ tras 28 semanas desde la cuarta infusión de CeTMAd/Placebo determinados mediante citometría de flujo.

- Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento:

1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK y células T $\gamma\delta$.



2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.
3. Mediadores solubles.
4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.
5. Cuantificación del ADN proviral.

11.4.2. Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento.

11.4.2.1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK, y células T $\gamma\delta$.

No hubo cambios en el porcentaje de células NK, células T reguladoras, células dendríticas mieloides y células dendríticas plasmocitoides (Figura 3).

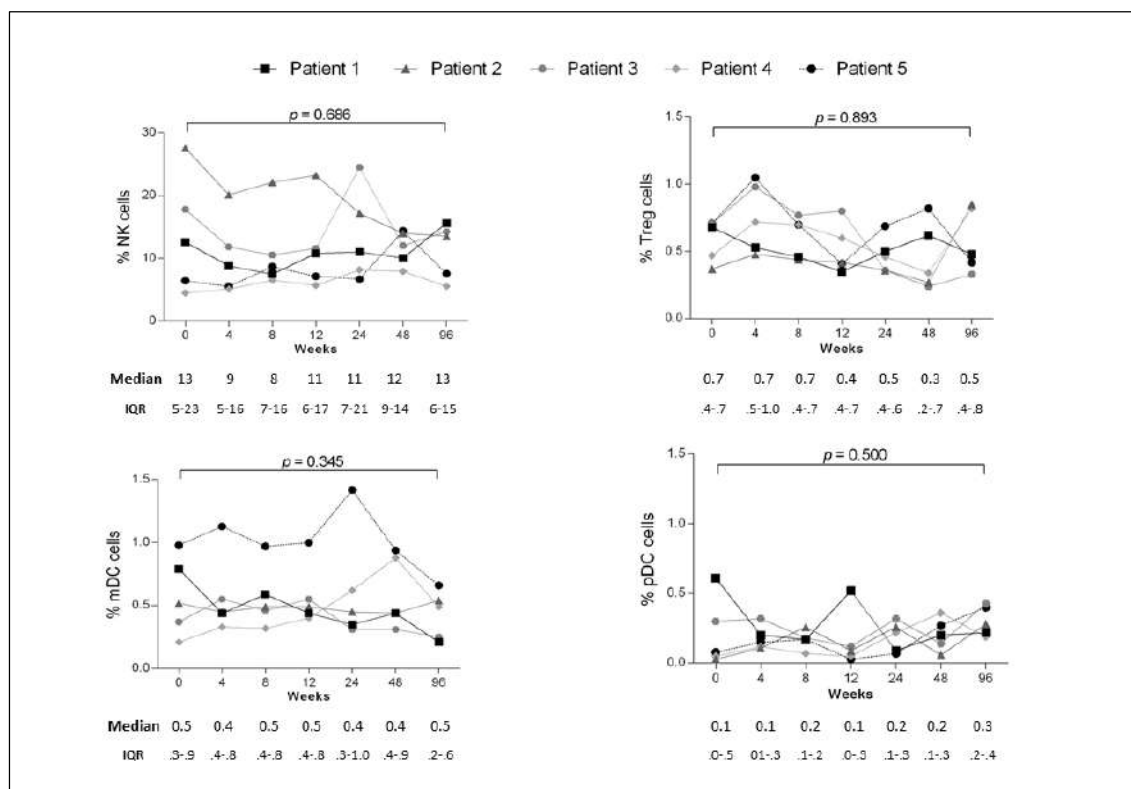


Figura 3. Efecto de la infusión de las células mesenquimales sobre las células NK, células T reguladoras, células dendríticas mieloides y células dendríticas plasmocitoides



11.4.2.2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.

No hubo cambios significativos en las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ (T Naive, T CD4+ naives emigrantes recientes del timo, T centrales de memoria, T efectoras de memoria y terminalmente diferenciadas), excepto un aumento en la subpoblación T CD8+ efectoras de memoria en todos los pacientes. Las figuras 4 y 5 muestran la evolución del porcentaje de las distintas subpoblaciones de linfocitos T CD4+ y T CD8+, respectivamente, a lo largo de las 96 semanas de seguimiento.

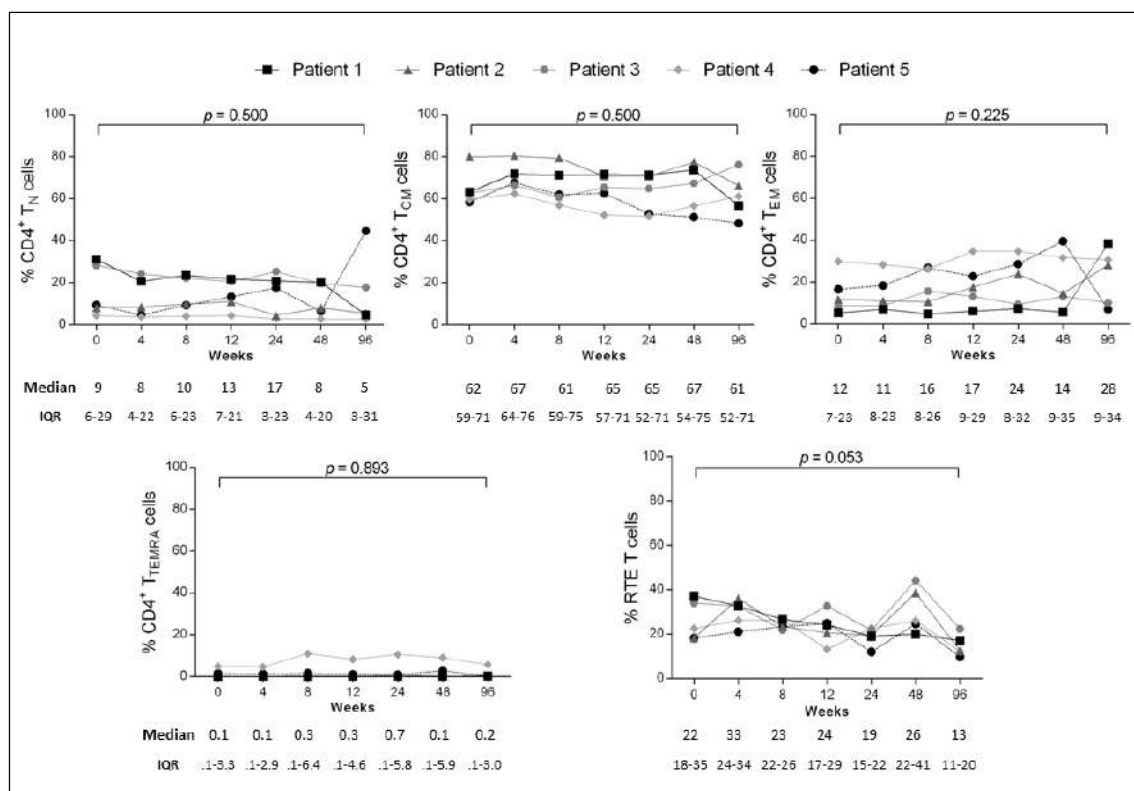


Figura 4. Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ a lo largo de las 96 semanas de seguimiento

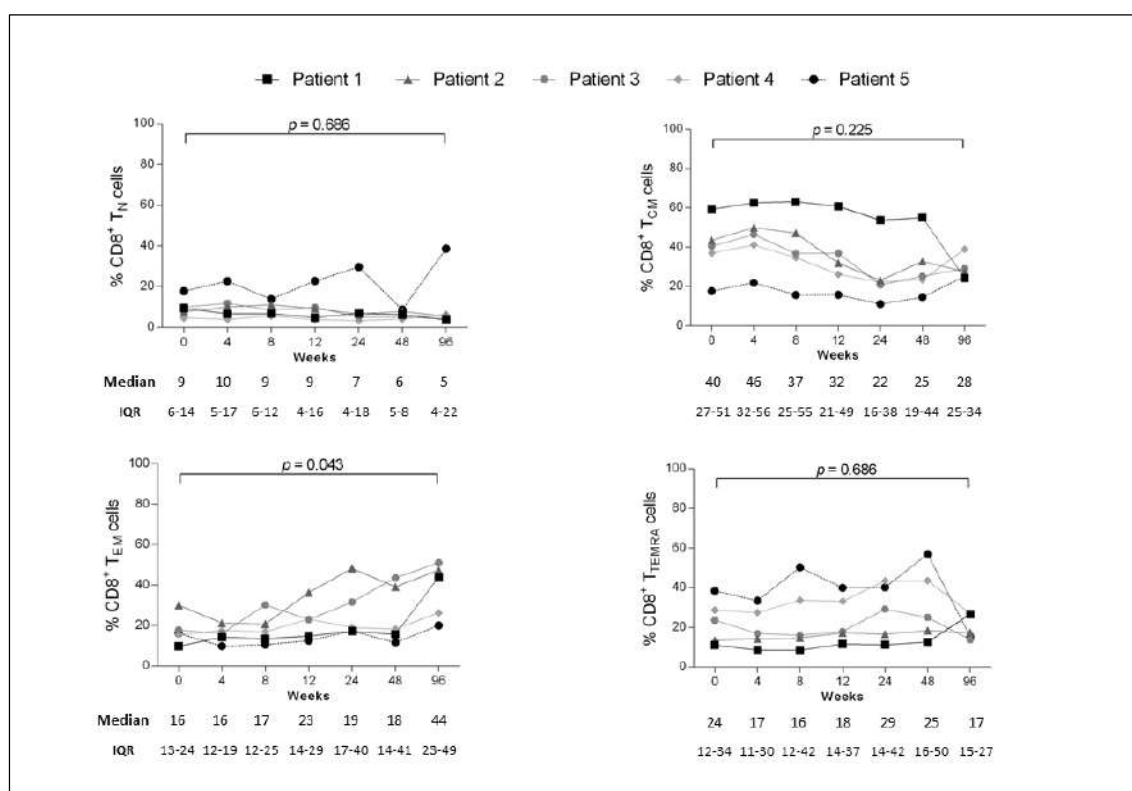


Figura 5. Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos T CD8+ a lo largo de las 96 semanas de seguimiento

No se observaron cambios significativos en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD4+ o CD8+. Se observó una disminución en la expresión de PD1+ en los linfocitos T CD4+ (5.2 vs 1.6; $P=0.043$) y una tendencia a la disminución de la expresión de PD1+ en los linfocitos T CD8+ (0.9 vs 0.4; $P=0.080$) en la semana 96.

Las figuras 6 y 7 muestran el efecto de la transfusión de las células Mesenquimales en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD4+ y CD8+, respectivamente, a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.

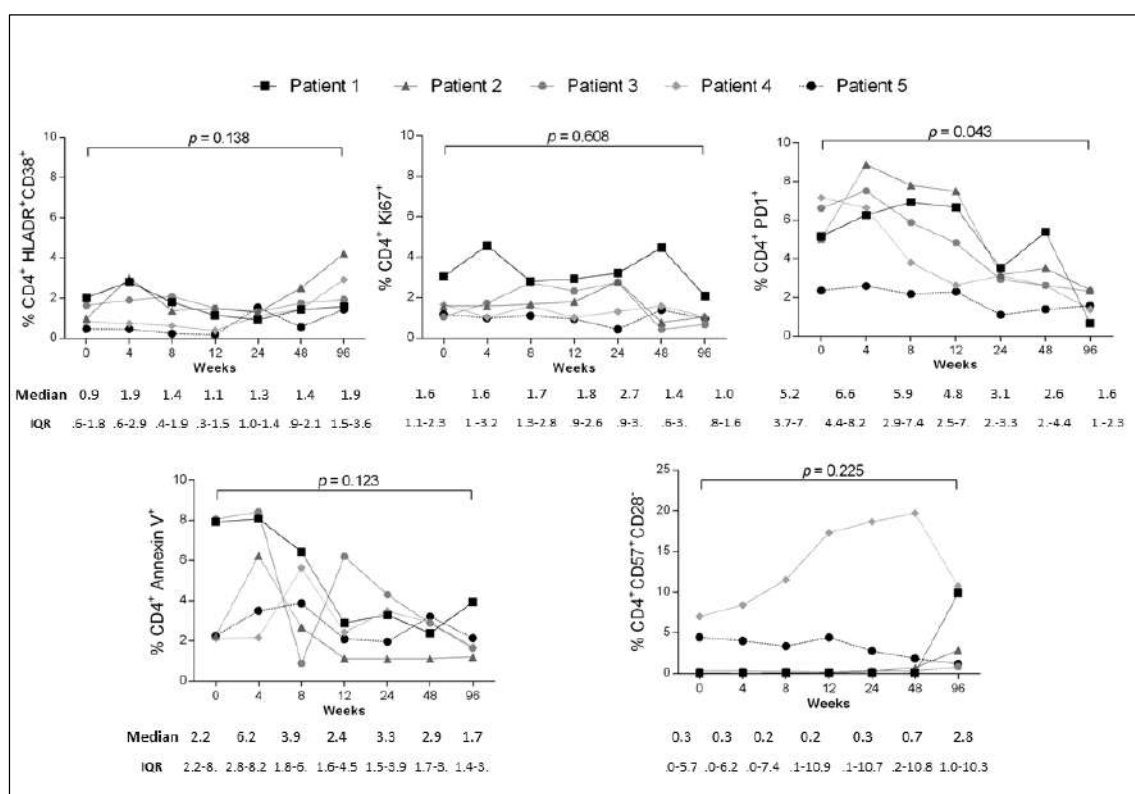


Figura 6. Efecto de la transfusión de las células Mesenquimales en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD4⁺ a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.

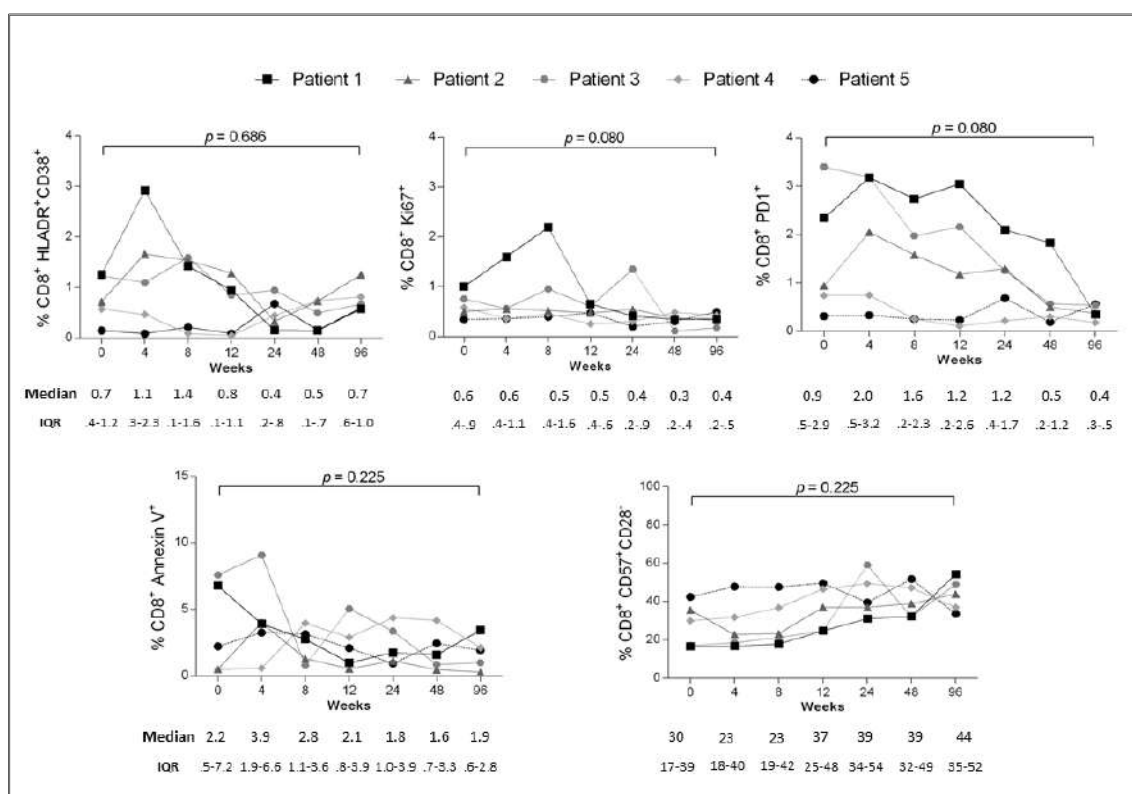


Figura 7. Efecto de la transfusión de las células Mesenquimales en los marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD8⁺ a lo largo del seguimiento de las 96 semanas

11.4.2.3. Mediadores solubles.

Inicialmente estaba prevista la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de IL-1 β , IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ , IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β mediante el kit Bio-Plex Pro Human Cytokine 10-plex Assay, BioRad, Hercules, EEUU. Sin embargo, tan solo se obtuvieron resultados de IL-1 α , IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β estando el resto de ellas por debajo del límite de detección. Se cuantificó la concentración de IL-6 mediante Human IL-6 Quantikine HS ELISA Kit.

No se observaron cambios significativos en las diferentes proteínas proinflamatorias a lo largo del seguimiento (Fig. 8), salvo en el paciente 3, que muestra una disminución en la concentración de IL-6 de >50% en la semana 48 con respecto a la determinación basal, manteniéndose hasta fin del seguimiento.

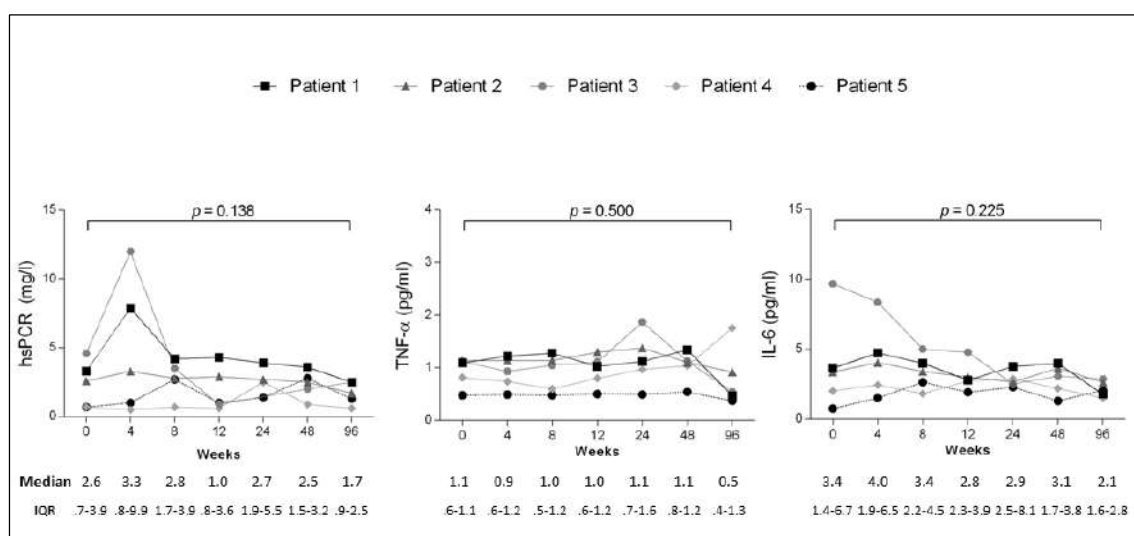


Figura 8. Evolución de los marcadores de inflamación a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.

Por otro lado, no se han observado cambios en la activación monocítica evaluada mediante las concentraciones plasmáticas de sCD14 en ninguno de los pacientes (Figura 9).

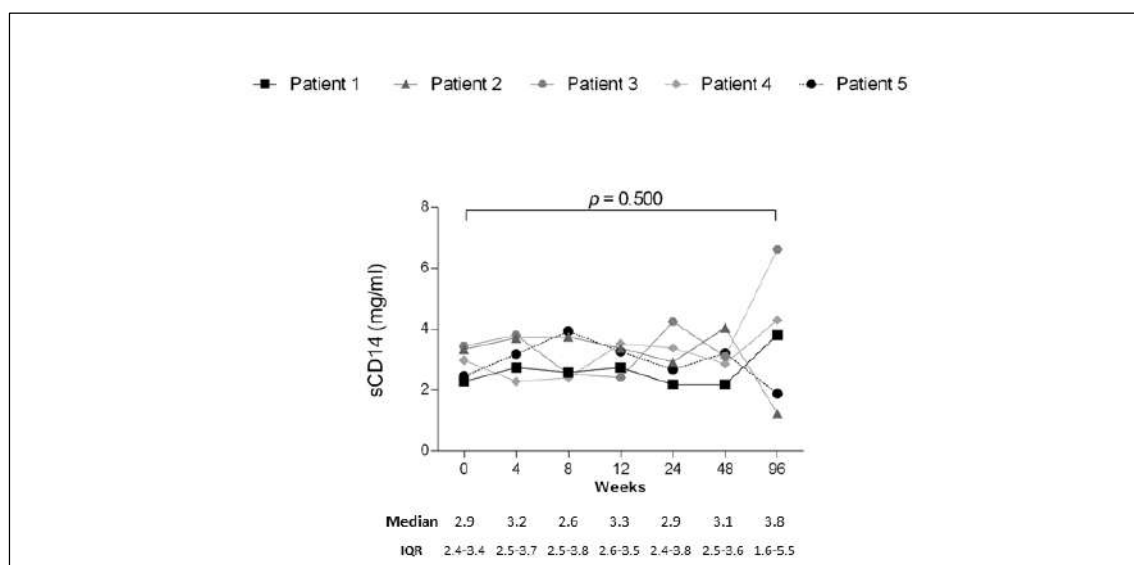


Figura 9. Evolución de los niveles en plasma de sCD14 a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.

11.4.2.4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.

La carga viral plasmática se mantuvo indetectable (< 20 copias/ml) en el conjunto de pacientes durante el seguimiento de 96 semanas.



11.4.2.5. Cuantificación del ADN proviral integrado en PBMCs (Human Peripheral Blood Mononuclear Cell).

Los valores de ADN-VIH total en PBMCs (\log_{10} copias/ 10^6 células) se mantuvieron estables a lo largo del seguimiento de las 96 semanas. La figura 10 muestra el efecto de la transfusión de las células mesenquimales en el ADN integrado en las células mononucleadas de sangre periférica.

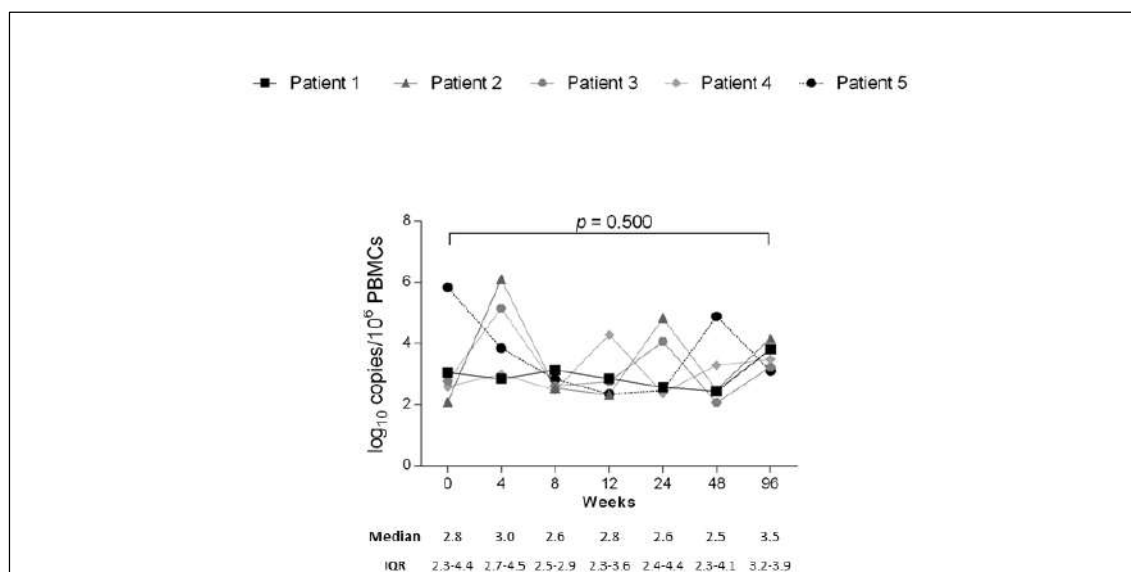


Figura 10. Efecto de la transfusión de las células mesenquimales en el ADN integrado en las células mononucleadas de sangre periférica.

11.4.3. Análisis estadístico.

Para el análisis de datos se redactó el plan de análisis estadístico (Apéndice 16.1.9).

11.4.3.1. Ajuste de Covarianzas.

No se realizó ningún ajuste de covariables en el presente estudio

11.4.3.2. Manejo de los datos de pacientes discontinuados o datos faltantes.

Ningún paciente fue discontinuado. Los análisis se realizarán en base a los datos disponibles, no realizándose imputaciones de valores faltantes (Available Data Only (ADO)). Los análisis de eficacia y seguridad se realizaron en todos los pacientes del ensayo.



11.4.3.3. Análisis intermedios y monitorización de los datos.

Se realizó un análisis intermedio a las 48 semanas de seguimiento donde se evaluó los datos de seguridad de los 5 pacientes de la primera fase del ensayo, una vez completadas las 4 dosis de terapia. Tras la evaluación de los datos por parte del Comité independiente de Monitorización de Datos, el Promotor junto con el Investigador principal decidieron no continuar con la segunda fase del ensayo.

La monitorización del estudio se llevó a cabo de forma periódica para asegurar que se salvaguardaron los derechos y el bienestar de los pacientes, que se cumplió el protocolo, la normativa aplicable, los requisitos éticos, que la documentación necesaria ha estado disponible y que los datos recogidos han reflejado exactamente los datos del CRD.

11.5. Conclusiones de eficacia.

Las conclusiones de eficacia se dividieron en los siguientes puntos:

1. **Diferencia en el recuento de linfocitos T CD4+/ μ l, su % y el cociente células T CD4+/CD8+ tras infusión de CeTMAd:** no han existido cambios evaluados por cociente CD4+/CD8+, CD4+/ μ l absolutos y porcentaje de CD4+. Asimismo, no se han observado cambios ni en el porcentaje ni en los valores absolutos de las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4+, incluyendo los linfocitos T CD4+ naïves emigrantes recientes del timo, ni en los linfocitos T CD8+.
2. **Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK y células T γ δ :** no hubo cambios en el porcentaje de células NK, células T reguladoras, células dendríticas mieloides y células dendríticas plasmocitoides.
3. **Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares:** No se observaron cambios significativos en las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ (T Naive, T CD4+ naïves emigrantes recientes del timo, T centrales de memoria, T efectoras de memoria y terminalmente diferenciadas), excepto un aumento en la subpoblación T CD8+ efectoras de memoria en todos los pacientes.
4. **Mediadores solubles:** no se observaron cambios significativos en las diferentes proteínas proinflamatorias a lo largo del seguimiento, salvo en el paciente 3, que mostró una



disminución en la concentración de IL-6 de >50% en la semana 48 con respecto a la determinación basal, manteniéndose hasta fin del seguimiento.

5. **Cuantificación de la viremia de VIH-1:** la carga viral plasmática se mantuvo indetectable en el conjunto de pacientes durante el seguimiento de 96 semanas.
6. **Cuantificación del ADN proviral:** no se observaron cambios significativos a lo largo de las 96 semanas de seguimiento.

12. Evaluación de la seguridad.

12.1. Grado de exposición.

En el presente estudio, se incluyeron un total de 5 pacientes, todos incluidos en la primera fase del ensayo (fase no aleatorizada) donde todos los pacientes recibieron el tratamiento en investigación.

El **producto en investigación** consistió en una suspensión celular conteniendo células Mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeMTAd) a una concentración de 2 millones de células /ml en lactato de Ringer con 1% de albúmina humana de uso clínico IV.

La **sustancia activa** del producto en investigación consistió en células Mesenquimales troncales adultas autólogas de tejido adiposo, expandidas. Los excipientes añadidos a la sustancia activa fueron los siguientes:

1. Lactato de Ringer. Solución isotónica vehículo para la suspensión celular.
2. Albúmina humana 1%. Protector de la viabilidad celular

Placebo: aunque no se alcanzó la segunda fase del ensayo, estaba previsto que tuviera igual composición que el producto en investigación a excepción de la sustancia activa.

Cada paciente incluido en el ensayo recibió 4 dosis, cada una de 1×10^6 /Kg de peso administradas por infusión intravenosa a través de una vía periférica.



12.2. Análisis de seguridad

El análisis de seguridad se realizó en la Población de Seguridad (ver apartado 4. *Lista de abreviaturas y definiciones*), que incluye los 5 pacientes incluidos en la primera fase del ensayo: EC19-D01, EC19-D02, EC19-D03, EC19-D04 y EC19-D05.

Para evaluar la seguridad, se analizaron los siguientes puntos:

- 1. Análisis descriptivo (frecuencias y porcentajes) de los mismos a lo largo del estudio, presentando un listado, agrupados según la gravedad, intensidad y relación con la medicación en estudio** (Ver tabla 7, Apéndice 16.27).



Tabla 7. Acontecimientos Adversos por grupo y paciente codificado con diccionario MedDRA V.25.00.

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
CeTMAd	EC19D01	10022117	Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones de procedimientos terapéuticos	10000369	Accidente	Traumatismo accidental	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	9 (33,33%)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10037660	Pirexia	Tos y fiebre	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	



Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
			el lugar de administración								
		10021881	Infecciones e infestaciones	10028810	Nasofaringitis	Catarro	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10010741	Conjuntivitis	Conjuntivitis en OD	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10062004	Herpes oftálmico	Queratitis herpética en OD	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	



Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
		10017947	Trastornos gastrointestinales	10020028	Hernia de hiato	Hernia de hiato	No	1	No relacionado	1 (11,11%)	
	EC19D02	10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	4 (14,81%)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	



Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
	EC19D03	10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	7 (25,92%)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	



Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10037660	Pirexia	Febrícula y tos	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10035664	Neumonía	Neumonía comunitaria	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10038738	Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	10013968	Disnea	Tos con expectoración verdosa y disnea	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10040785	Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	10037087	Prurito	Prurito generalizado	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
	EC19D04	10029205	Trastornos del sistema nervioso	10042772	Síncope	Síncope	No	1	No relacionado	1 (50%)	2 (7,40%)
		10022117	Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones	10022116	Lesión traumática	Traumatismo	No	1	No relacionado	1 (50%)	



Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (% por paciente)	Nº de AA (% sobre total de AA)
			de procedimientos terapéuticos								
	EC19D05	10037175	Trastornos psiquiátricos	10002855	Ansiedad	Episodio de ansiedad	No	1	No relacionado	1 (20%)	5 (18,52%)
		10021881	Infecciones e infestaciones	10044008	Amigdalitis	Amigdalitis	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10017947	Trastornos gastrointestinales	10012735	Diarrea	Diarrea	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10027433	Trastornos del metabolismo y de la nutrición	10047626	Déficit de vitamina D	Hipovitaminosis D	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10038359	Trastornos renales y urinarios	10027525	Microalbuminuria	Microalbuminuria	No	1	No relacionado	1 (20%)	



2. Incidencia de efectos adversos grado 3 y 4 incluyendo alteraciones de parámetros de laboratorio

Se han recogido 10 eventos grado 3, todos fueron trombosis venosas que ocurren de 24 a 48 horas después de la infusión de CeTMAd. Cinco de estos eventos, ocurridos en 3 pacientes (EC19-D-01, EC19-D-02, EC19-D-03), requirieron tratamiento con heparina de bajo peso molecular. Por su cronología estuvieron relacionados con la perfusión de CeTMAd, pudiendo ser factores facilitadores el acceso venoso periférico en venas de pequeño calibre en manos, una agitación insuficiente de las células o, como está descrito en la literatura, la liberación de plasminógeno tisular. Por otro lado, no se observaron variaciones significativas en los parámetros bioquímicos y hematológicos de los pacientes ni repuntes de la carga viral del VIH.

Se observó una disminución en la aparición de eventos trombóticos al aplicar un tratamiento con heparina de bajo peso molecular (-1, 0, +1, +2 días infusión; 80 mg de enoxaparina/día), junto con un curso de reentrenamiento sobre el procedimiento de infusión celular.

3. Incidencia de enfermedades e infecciones oportunistas

Se observaron otros acontecimientos adversos no relacionados con el tratamiento experimental a juicio de los investigadores:

- 1 episodio de conjuntivitis del ojo derecho en semana 13 (dudas sobre su etiología herpética en opinión del oftalmólogo que atendió al paciente) que se resolvió en menos de una semana.
- 1 faringoamigdalitis de 4 días de evolución en semana 36 (episodios frecuentes en el paciente previo al inicio del ensayo).
- 1 neumonía sin criterios de gravedad por *Hemophilus influenzae* en semana 37.
- Un paciente presentaba proteinuria desde antes del inicio del ensayo sin que se modificara con el tratamiento experimental.



4. Fracasos virológicos

La carga viral plasmática se mantuvo indetectable (< 20 copias/ml) en el conjunto de pacientes durante el seguimiento de 96 semanas (Figura 10).

5. Búsqueda de AA/AAG relacionados con reacciones asociadas al tratamiento con mesenquimales

Se ha recogido en la tabla 8 una agrupación de AA/AAG que ha sido extraída del Manual del Investigador (version 2).

Tabla 8. AA/AAG relacionados con reacciones asociadas al tratamiento con mesenquimales.

AA/AAG	Tratados
Bradicardia	0/0
Hipertensión	0/0
Somnolencia	0/0
Pirexia	0/0
Rash cutáneo	0/0
Adenoflemón	0/0
Trombosis	3/60%
Eritema	0/0
Edema	0/0
Dolor	0/0
Prurito	0/0
Mareos	0/0
Embolia	0/0
Parada cardiorrespiratoria	0/0
Flebitis	0/0

6. Acontecimientos adversos graves

No se han notificado acontecimientos adversos graves a lo largo del ensayo.

7. Reacciones adversas



Las reacciones adversas observadas son 10 eventos de trombosis venosas ocurridos en 3 pacientes (ver punto 2 de este apartado). Un 60% de los pacientes tratados han sufrido alguna reacción adversa durante el periodo de tratamiento. Desde el inicio del ensayo no ha habido ninguna reacción adversa grave.

Tabla 9. RA/RAG/RAGI notificadas por paciente después de recibir tratamiento.

Tratados	Durante el periodo de tratamiento (V3-V10)	Durante el periodo de seguimiento (V11-V17)
5	3/ 60%	0/0%

12.3. Muertes, otros Acontecimientos Adversos Graves y otros Acontecimientos Adversos significativos

12.3.1. Listado de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos

En el presente ensayo no se han presentado Reacciones Adversas Graves e inesperadas relacionadas con el tratamiento en investigación. Si se han presentado 10 reacciones adversas con término PT trombosis en la localización de una infusión (ver tabla 10). El listado de AAG registrado durante el estudio ha sido expuesto con anterioridad en el presente informe en la Tabla 7.

Tabla 10. Eventos tromboticos ocurridos después de la administración del medicamento en investigación.

Sujeto	Nº de infusión	Régimen de dosis por protocolo	Tiempo de inicio transcurrido en días	Preferred Term (PT)	System Class (SOC)	Organ
EC19-D-01	3 ^a	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	3	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	



Sujeto	Nº de infusión	Régimen de dosis por protocolo	Tiempo de inicio transcurrido en días	Preferred Term (PT)	System Class (SOC)	Organ
EC19-D-01	4 ^a	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	0	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-02	1 ^{a*}	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	1	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-02	2 ^{a*}	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	3	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-02	3 ^{a*}	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	1	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-02	4 ^{a*}	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	1	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-03	1 ^a	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	2	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	
EC19-D-03	2 ^a	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	17	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	



Sujeto	Nº de infusión	Régimen de dosis por protocolo	Tiempo de inicio transcurrido en días	Preferred Term (PT)	System Class (SOC)	Organ
EC19-D-03	3 ^a	1x10 ⁶ CeTMAd/Kg	1	Infusion site thrombosis 10065489	General disorders and administration site conditions 10018065	

* Velocidad de infusión por encima de velocidad detallada en protocolo >2ml/min

En los dos últimos sujetos que han recibido tratamiento en investigación, EC19-D04 y EC19-D05 no han ocurrido eventos tromboticos después de la administración de Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas PEI 16-020.

12.3.2. Muertes

Según lo descrito en el PAE se definió éxitus como *“una muerte de un sujeto participante del estudio durante la duración del estudio (desde la infusión de la medicación (V3) hasta la finalización del seguimiento (V17)”* .

En el presente estudio clínico no hubo muertes en ninguno de los periodos del estudio.

12.3.3. Otros acontecimientos adversos graves

No se han registrado otros acontecimientos graves en el estudio.

12.3.4. Otros acontecimientos adversos significativos

Se han presentado 10 reacciones adversas con término PT trombosis en la localización de una infusión ocurridos en 3 pacientes.

12.3.5. Narrativa de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos.

A fin de estudio no hubo ningún paciente fallecido.



12.3.6. Análisis y discusión de las muertes, otros acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos.

A fin de estudio no hubo ningún paciente fallecido.

12.4. Evaluación Clínica de Laboratorio

No se observaron variaciones significativas en los parámetros bioquímicos y hematológicos de los pacientes ni repuntes de la carga viral del VIH.

12.5. Signos vitales, hallazgos físicos, y otras observaciones relacionadas con la seguridad

No se observaron alteraciones ni acontecimientos adversos asociados al producto celular o con la infusión relacionados con los signos vitales y físicos.

12.6. Conclusiones de seguridad

En total, ocurrieron 27 Acontecimientos Adversos a lo largo de todo el estudio. De estos 27 AA, 10 fueron trombosis venosas en la zona de infusión. En este contexto, en 5 de estas reacciones adversas la infusión del medicamento en investigación se realizó a una velocidad de infusión por encima del límite máximo indicado en el protocolo ($> 2\text{ml/min}$): 2ª infusión del paciente EC19-D-01 e infusiones 1ª, 2ª, 3ª y 4ª del paciente EC19-D-02. El tiempo medio de aparición de los diez eventos desde la administración del medicamento ha sido de 2,6 días. Por su cronología estuvieron relacionados con la perfusión de CeTMAd, pudiendo ser factores facilitadores el acceso venoso en venas de pequeño calibre en manos, una agitación insuficiente de las células o, como está descrito en la literatura, la liberación de plasminógeno tisular. Todos los eventos fueron resueltos sin secuelas.

13. Discusión y Conclusiones Generales

El presente ensayo clínico planteó como objetivos primarios evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de 4 dosis de células Mesenquimales troncales alogénicas de tejido adiposo (CeTMAd) en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante, así como evaluar la eficacia de estas infusiones.



El ensayo se diseñó en dos fases, una fase inicial donde se trataron los 5 pacientes de forma secuencial, y una segunda fase aleatorizada, condicionada a la evaluación de los datos de seguridad del análisis intermedio por parte del Comité independiente de Monitorización de Datos.

Finalmente, la segunda fase no llegó a realizarse, ya que los cinco miembros del mencionado Comité coincidieron en que la ausencia de indicios de eficacia clínica en los cinco sujetos evaluados hasta la fecha no justificaba los riesgos e incomodidades que supone la participación en el ensayo clínico y por este motivo aconsejaban no continuar con la segunda fase del ensayo. Esta decisión fue tomada por el promotor e investigador principal el 17 de abril de 2019, fecha en la que se confirmó la finalización de la selección de sujetos para este ensayo clínico.

Esta decisión fue adoptada, principalmente, debido a la falta de eficacia observada en los resultados del análisis intermedio y a la existencia de un elevado número de eventos de trombosis venosa observados que pudo tener una causalidad multifactorial compleja. Por un lado, los sujetos del estudio podían tener un mayor riesgo de ETV debido a los antecedentes de uso de fármacos por vía parenteral de los pacientes (2/5), un mayor riesgo de recurrencia en casos de episodios trombóticos previos, o una tasa de infusión alta (>3 mL/min) registrada en algunas infusiones, cuando la velocidad recomendada según las instrucciones de manejo de la medicación era de un ritmo de 2 mL/min máximo. De hecho, el total de 10 eventos ocurrió en solo tres sujetos, todos habían recibido cuatro dosis de la suspensión de CeTMAd.

Además, en uno de los pacientes, los eventos de trombosis venosa podrían haber sido causados por el pequeño calibre de las venas del dorso de las manos, que tuvieron que ser empleadas para las infusiones, ya que en este paciente no era posible la administración en el brazo. Adicionalmente, se ha informado de que las CeTMAd expresan factor tisular y tienen actividad procoagulante, observándose con mayor frecuencia en las Mesenquimales de tejido adiposo que en las de otras fuentes. Todo ello unido a que la dosis de células, las condiciones de manipulación, los medios de cultivo y los factores asociados al donante, también podrían influir en la actividad procoagulante.

Estos eventos dejaron de manifestarse tras adoptar una serie de medidas correctoras, uso de heparina de bajo peso molecular como profilaxis y un curso de reentrenamiento sobre el procedimiento de infusión celular al equipo implicado. (Apéndice 16.2.2).



Ha sido descrito ampliamente en la literatura, que la baja inmunogenicidad de las células Mesenquimales, tanto autólogas como alogénicas, hace que estas puedan ser administradas de forma segura (42, 51, 45, 52). En un único estudio realizado con MSC en sujetos infectados por el VIH en los que transfundieron CeTMAd de cordón umbilical a una dosis de $0,5 \times 10^6$ células por kilogramo de peso corporal en el día 0, mes 1 y mes 2 a siete INR, no observaron efectos adversos clínicos a corto plazo ni un rebote de la carga del VIH-1, y seis de los siete sujetos mostraron un fuerte aumento en los recuentos de células T CD4+ de más del 50 % en comparación con los valores iniciales (58). En este estudio, las MSC del cordón umbilical expandieron preferentemente los recuentos de células T CD4+ centrales de memoria y naive, mientras que las subpoblaciones de efectoras de memoria y terminalmente diferenciadas se redujeron gradualmente.

Los resultados del presente estudio no arrojaron cambios en los recuentos de células T CD4+, porcentajes o proporciones de CD4+/CD8+, y no se observaron cambios consistentes en las diferentes subpoblaciones y fenotipos de células T CD4+ y CD8+ o porcentaje de mDC, pDC, células NK o células Treg. Asimismo, las infusiones de CeTMAd no tuvieron efectos sobre los niveles plasmáticos de sCD14, IL-6, TNF- α y hsCRP. En general, no se encontró una disminución en la activación, el agotamiento, apoptosis y senescencia en la semana 96. Solo se encontró una disminución significativa en las células T CD4+ PD1+, pero su significado no está claro y este cambio no influyó en la recuperación de las células T CD4+.

Por otro lado, un mayor número de pacientes y un grupo control previsto en la segunda fase del ensayo, habría permitido valorar mejor las fluctuaciones que presentaban algunos pacientes en varios parámetros inmunológicos.

En conclusión, los datos del presente ensayo clínico no han permitido demostrar que la infusión de células Mesenquimales de tejido adiposo favorezca la recuperación inmunológica, ni han logrado reducir la activación inmune o los niveles de marcadores inflamatorios en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante, al menos con el esquema de dosificación seleccionado.

14. Tablas, figuras, y gráficos referenciados, pero no incluidos en el texto.

14.1. Datos demográficos

No aplica.



14.2. Datos de eficacia

No aplica

14.3. Datos de seguridad

No aplica

14.3.1. Gráficas de los acontecimientos adversos

No aplica

14.3.2. Listado de las muertes y otros acontecimientos adversos graves o significativos

No aplica

14.3.3. Narrativa de las muertes y otros acontecimientos adversos graves o significativos

No aplica

14.3.4. Listado de los valores anómalos de laboratorio (por cada paciente)

No aplica



15. Lista de Referencias

1. Sachdeva M, Fischl MA, Pahwa R, et al. Immune exhaustion occurs concomitantly with immune activation and decrease in regulatory T cells in viremic chronically HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010; 54:447-54.
2. Simonetta F, Lecuroux C, Girault I, et al. Early and long-lasting alteration of effector CD45RAFoxp3 (high) regulatory T-cell homeostasis during HIV infection. *J Infect Dis*. 2012; 205:1510-9.
3. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Bredt B, Hagos E, Lampiris H, et al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2003; 187:1534-43.
4. Paiardini M, Müller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev*. 2013; 254:78-101.
5. Ronsholt FF, Ullum H, Katzenstein TL, et al. T-cell subset distribution in HIV-1-infected patients after 12 years of treatment-induced viremic suppression. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012; 61:270-8.
6. Wilson EM, Sereti I. Immune restoration after antiretroviral therapy: the pitfalls of hasty or incomplete repairs. *Immunol Rev*. 2013; 254:343-54.
7. Gazzola L, Tincati C, Bellistri GM, et al. The absence of CD4+ T cell count recovery despite receipt of virologically suppressive highly active antiretroviral therapy: clinical risk, immunological gaps and therapeutic options. *Clin Infect Dis*. 2009; 48:328-37.
8. Gilson RJ, Man SL, Copas A, et al. Discordant responses on starting highly active antiretroviral therapy: suboptimal CD4 increases despite early viral suppression in the UK Collaborative HIV Cohort (UK CHIC) Study. *HIV Med*. 2010; 11:152-60.
9. Moore DM, Hogg RS, Chan K, et al. Disease progression in patients with virological suppression in response to HAART is associated with the degree of immunological response. *AIDS*. 2006; 20:371-7.



10. Negro E, Massanella M, Puig J, et al. Nadir CD4 T cell count as predictor and high CD4 T cell intrinsic apoptosis as final mechanism of poor CD4 T cell recovery in virologically suppressed HIV-infected patients: clinical implications. Clin Infect Dis. 2010; 50:1300-8.
11. Nakanjako D, Ssewanyana I, Mayanja-Kizza H, et al. High T-cell immune activation and immune exhaustion among individuals with suboptimal CD4 recovery after 4 years of antiretroviral therapy in an African cohort. BMC Infect Dis. 2011; 11:43.
12. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. Lancet 2008; 372:293-9.
13. van Lelyveld SF, Gras L, Kesselring A, et al. Long-term complications in patients with poor immunological recovery despite virological successful HAART in Dutch ATHENA cohort. AIDS. 2012; 26:465-74.
14. Young J, Psychogiou M, Meyer L, et al. CD4 cell count and the risk of AIDS or death in HIV-infected adults on combination antiretroviral therapy with a suppressed viral load: a longitudinal cohort study from COHERE. PLoS Med. 2012; 9:e1001194.
15. Helleberg M, Kronborg G, Larsen CS, et al. CD4 decline is associated with increased risk of cardiovascular disease, cancer, and death in virally suppressed patients with HIV. Clin Infect Dis. 2013; 57:314-21.
16. Molina-Pinelo S, Vallejo A, Díaz L, et al. Premature immunosenescence in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy with low-level CD4 T cell repopulation. J Antimicrob Chemother. 2009; 64:579-88.
17. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. J Pathol. 2007; 211:144-56.
18. Rajasuriar R, Khoury G, Kamarulzaman A, et al. Persistent immune activation in chronic HIV infection: do any interventions work? AIDS. 2013; 27:1199-208.



19. English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol.* 2013; 91:19-26.
20. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature.* 2001; 410:701-5.
21. Li Y, Chen J, Chen XG, et al. Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery. *Neurology.* 2002;59:514-23.
22. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp. Hematol.* 2002; 30,42-8.
23. Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood.* 2005; 106:1755-61.
24. Almeida-Porada G, Porada CD, Tran N, et al. Cotransplantation of human stromal cell progenitors into preimmune fetal sheep results in early appearance of human donor cells in circulation and boosts cell levels in bone marrow at later time points after transplantation. *Blood.* 2000; 95:3620-7.
25. Lee RH, Seo MJ, Reger RL, et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103:17438-43.
26. Tögel F, Hu Z, Weiss K, et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289:F31-42.
27. Gerdoni E, Gallo B, Casazza S, et al. Mesenchymal stem cells effectively modulate pathogenic immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann. Neurol.* 2007; 61:219-27.
28. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104:11002-7.



29. Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007; 56:1175-86.
30. Inoue Y, Iriyama A, Ueno S, et al. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. *Exp. Eye Res.* 2007; 85: 234-41.
31. Gupta N, Su X, Popov B, et al. Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice. *J. Immunol.* 2007; 179:1855-63.
32. Imberti B, Morigi M, Tomasoni S, et al. Insulin-like growth factor-1 sustains stem cell mediated renal repair. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18:2921-8.
33. Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS ONE.* 2007; 2:e941.
34. Urbán VS, Kiss J, Kovács J, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells.* 2008; 26:244-53.
35. Constantin G, Marconi S, Rossi B, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Stem Cells.* 2009; 27:2624-35.
36. Duffy MM, Ritter T, Ceredig R, Griffin MD. Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways. *Stem Cell Res Ther.* 2011;2:34.
37. Bassi ÊJ, Moraes-Vieira PM, Moreira-Sá CS, et al. Immune regulatory properties of allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of experimental autoimmune diabetes. *Diabetes.* 2012; 61:2534-45.
38. Xu J, Wang D, Liu D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell treatment alleviates experimental and clinical Sjögren syndrome. *Blood.* 2012; 120:3142-51.



39. Zhou Y, Yuan J, Zhou B et al. The therapeutic efficacy of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on experimental autoimmune hearing loss in mice. *Immunology*. 2011; 133:133-40.
40. Zhou B, Yuan J, Zhou Y et al. Administering human adipose-derived mesenchymal stem cells to prevent and treat experimental arthritis. *Clin Immunol*. 2011; 141:328-37.
41. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*. 2008; 371:1579-86.
42. Fang B, Song Y, Liao L, Zhang Y, Zhao RC. Favorable response to human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Transplant Proc*. 2007; 39:3358-62.
43. Fang B, Song Y, Zhao RC, Han Q, Cao Y. Treatment of resistant pure red cell aplasia after major ABO-incompatible bone marrow transplantation with human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Am J Hematol*. 2007; 82:772-3.
44. Sui W, Hou X, Che W, et al. Hematopoietic and mesenchymal stem cell transplantation for severe and refractory systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol*. 2013; 148:186-97.
45. Wang D, Zhang H, Liang J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus: 4 years experience. *Cell Transplant*. 2013; 22:2267-2277.
46. Liang J, Li X, Zhang H, Wang D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA. *Clin Rheumatol*. 2012 Jan; 31(1):157-61.
47. MacDonald GI, Augello A, De Bari C. Role of mesenchymal stem cells in reestablishing immunologic tolerance in autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2011; 63:2547-57.
48. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros et al, A phase I clinical trial of the treatment of Crohn' s fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005; 48:1416-23.



49. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula including Crohn' s disease. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8:1417-23.
50. Duijvestein M, Vos AC, Roelofs H, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn' s disease: results of a phase I study. *Gut*. 2010;59:1662-9.
51. Ra JC, Kang SK, Shin IS, et al. Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells. *J Transl Med*. 2011; 9:181.
52. Liu P, Chen S, Li X, et al. Low immunogenicity of neural progenitor cells differentiated from induced pluripotent stem cells derived from less immunogenic somatic cells. *PLoS One*. 2013; 8:e69617.
53. Cho PS, Messina DJ, Hirsh EL, et al. Immunogenicity of umbilical cord tissue derived cells. *Blood*. 2008; 111:430-8.
54. Eggenhofer E, Benseler F V, Kroemer F A, Popp FC, Geissler EK, Schlitt F HJ, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol* 2012; 3:297.
55. Baglio SR, Pegtel DM, Baldini N. Mesenchymal stem cell secreted vesicles provide novel opportunities in (stem) cell- free therapy. *Front Physiol* 2012; 3:359.
56. Biancone L, Bruno S, Deregibus MC, Tetta C, Camussi G. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived microvesicles. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:3037-42.
57. Maijenburg MW, van der Schoot CE, Voermans C. Mesenchymal stromal cell migration: possibilities to improve cellular therapy. *Stem Cells Dev* 2012; 21:19-29.
58. Zhang Z, Fu J, Xu X, et al. Safety and immunological responses to human mesenchymal stem cell therapy in difficult-to-treat HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2013; 27:1283-93.



59. Allam O, Samarani S, Ahmad A. Mesenchymal stem cell therapy in HIV-infected HAART-treated nonimmune responders restores immune competence. *AIDS*. 2013; 27:1349-52.
60. Yabana T, Arimura Y, Tanaka H, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, et al. Enhancing epithelial engraftment of rat mesenchymal stem cells restores epithelial barrier integrity. *J Pathol*. 2009; 218:350-9.
61. Nemoto Y, Kanai T, Takahara M, Oshima S, Nakamura T, Okamoto R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic CD4 memory T cells. *Gut*. 2013; 62:1142-52.



16. APÉNDICES

Tabla 11. Listado de los apéndices disponibles en el informe final

Información del Estudio
16.1.1. Protocolo del estudio.
16.1.2. Cuaderno de recogida de datos (CRD).
16.1.3. Listado de CEIC - muestras representativas de la hoja de información al paciente y del consentimiento informado.
16.1.4. Listado y descripción de investigadores y otros participantes en el estudio.
16.1.5. Firmas del investigador o coordinador principal o del responsable médico del promotor dependiendo de la autoridad regulatoria.
16.1.6. Listado de pacientes recibiendo el medicamento en investigación de un lote específico si se usa más de un lote.
16.1.7. Esquema de aleatorización y códigos (identificación del paciente y tratamiento asignado).
16.1.8. Certificados de auditoría.
16.1.9. Documentación de métodos estadísticos.
16.1.10. Documentación de estandarización de métodos entre laboratorios y garantía de calidad de los procedimientos.
16.1.11. Publicaciones basadas en el estudio.
16.1.12. Publicaciones importantes referenciadas en el informe clínico final.
Listado de datos de pacientes
16.2.1. Pacientes discontinuados
16.2.2. Desviaciones de protocolo
16.2.3. Pacientes excluidos del análisis de eficacia
16.2.4. Datos demográficos
16.2.7. Listado de acontecimientos adversos (cada paciente)
12.2.8. Listados de las mediciones de laboratorio individuales por si lo requieren las autoridades.



ANEXOS.

Anexo I. Sinopsis Informe Clínico

Anexo II. Descripción del tratamiento.

ANEXO I. SINOPSIS INFORME CLÍNICO

SINOPSIS INFORME CLÍNICO

CeTMAd-VIH-2014

Ensayo clínico Fase I/II, de prueba de concepto, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, para valorar la seguridad y eficacia del tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas, en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

Promotor: Fundación Progreso y Salud- Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas – Fundación Progreso y Salud

Versión 1 de 15 de junio de 2022

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 1/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

Tabla de contenido

A. INFORMACIÓN SOBRE EL ENSAYO CLÍNICO.....	5
1. Identificación del ensayo clínico	5
2. Identificadores.....	5
3. Promotor	5
4. Datos pediátricos.....	6
5. Fase de análisis de resultado.....	6
6. Información general sobre el ensayo clínico.....	8
7. Población de los sujetos de ensayo	14
B. Disposición de los sujetos del ensayo.....	14
8. Selección	14
C. Características basales.....	18
D. Criterios de valoración	19
E. Acontecimientos Adversos.....	22
1. Información sobre acontecimientos adversos.....	22
2. Acontecimientos adversos graves.....	28
3. Fallecimientos.....	28
F. INFORMACIÓN ADICIONAL	28
1. Modificaciones globales sustanciales	28
2. Interrupciones globales y reanudaciones.....	28
3. Limitaciones.....	28
4. Conclusiones.....	29
5. Declaración del solicitante respecto a la exactitud de la información presentada.....	30



Índice de Tablas

Tabla 1. Datos demográficos y otras características basales.....	18
Tabla 2. Acontecimientos Adversos por grupo y pacientes codificados con diccionario MEDRA V 25.00.	23

Índice de figuras

Figura 1. Flujo de pacientes estudio CeTMAd-VIH-2014.....	15
Figura 2. Evolución de la recuperación inmunológica tras 96 semanas de seguimiento.....	21

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 3/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviaturas	Definición
AA	Acontecimientos Adversos
AAG	Acontecimientos Adversos Graves
AEMPS	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
Alp	activación inmunológica y de inflamación aberrantes
BPC	Buenas prácticas clínicas
CeTMAd	Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas.
CI	Consentimiento Informado
CIMD	Comité independiente de monitorización de datos
CMM	Células madres Mesenquimales
CRD	Cuaderno de recogida de datos
CRO	<i>Clinical Research Organisation</i>
IV	Intravenoso
ITT	Intención de tratar
PAE	Plan de Análisis estadístico
PBMCs	<i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
PCR:	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PP	Por protocolo
PT	Población total
PS	Población de seguridad
RID	Respuesta Inmunológica discordante
RAGI	Reacción Adversa Grave e Inesperada
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
TAR	Tratamiento antirretroviral
Treg	Células T reguladoras
UPC	Unidad de Producción Celular
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



A. INFORMACIÓN DEL ENSAYO CLÍNICO

1. Identificación del ensayo clínico

Título:

Ensayo clínico Fase I/II, de prueba de concepto, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, para valorar la seguridad y eficacia del tratamiento con células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas, en pacientes con infección por el VIH con viremia controlada y respuesta inmunológica discordante.

2. Identificadores

Código del Protocolo:

CeTMAd-VIH-2014

EudraCT:

2014-000307-26

3. Promotor

Datos de contacto:

Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas-Fundación Progreso y Salud
Avda. Américo Vespucio, 15 • Edificio S-2. Parque Científico y Tecnológico Cartuja 41092 • Sevilla
Tel.: (+34) - (+34) Fax: (+34)
www.juntadeandalucia.es/terapiasavanzadas
Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud
Parque Científico y Tecnológico Cartuja, Calle Américo Vespucio, 15, 41092 Sevilla
Tel (+34) 954 712 388 Fax +34 955 040 457
www.juntadeandalucia.es/fundacionprogresoysalud

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 5/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



4. Datos pediátricos

El ensayo clínico no permitió la inclusión de pacientes pediátricos.

5. Fase de análisis de resultado

El diseño del ensayo incluía 2 etapas, una primera no aleatorizada, y una segunda fase aleatorizada, superada y evaluada la primera. Durante la etapa de reclutamiento de la fase inicial, se incluyeron 5 paciente de forma secuencial, con 15 días entre cada uno de ellos (entre la infusión de la primera dosis en cada uno). Estos 5 primeros pacientes no fueron aleatorizados, siendo todos ellos tratados con el medicamento en investigación.

El protocolo establecía la realización de una evaluación de los datos de seguridad, por el Comité Independiente de Monitorización de Datos, cuando el último de estos 5 pacientes hubiera recibido las tres primeras dosis previstas, tras lo cual se debería tomar la decisión de pasar o no a la Fase II. Finalmente, este análisis pudo ser realizado con los datos de los 5 pacientes tras recibir el tratamiento completo (las 4 dosis). En este análisis, que tuvo carácter de análisis intermedio y se ha tratado como tal a todos los efectos, redactándose el informe correspondiente, se incluyeron los datos de eficacia además de los de seguridad, y ante la ausencia de indicios de eficacia, se consideró no conveniente continuar con el ensayo con la Fase II.

El seguimiento de cada uno de estos 5 paciente se completó según lo previsto en el estudio hasta las 96 semanas, realizándose las 17 visitas previstas para cada uno de ellos.

Tras finalizar el ensayo, con la última visita del último paciente incluido, procedió a ampliar el análisis de los datos hasta semana 96, y elaborar el presente informe final, así como la correspondiente publicación (Trujillo-Rodríguez M, Viciano P, Rivas-Jeremías I, et al. Mesenchymal stromal cells in Human Immunodeficiency Virusinfected patients with discordant immune response: Early results of a phase I/II clinical trial STEM CELLS Transl Med. 2020;1–8).

Enmascaramiento:

A partir de la inclusión del sexto paciente (inclusive), el ensayo hubiera sido ciego para los sujetos participantes y para los investigadores hasta la apertura del ciego al finalizar el estudio, o cuando hubiera sido necesario realizar una apertura prematura del ciego según los criterios descritos recogidos en el apartado “Apertura prematura del ciego” .

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 6/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



Desde la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular se facilitaría el producto placebo, envasado y etiquetado para garantizar el enmascaramiento para el sujeto participante. Sólo la persona del promotor responsable de la aleatorización y el equipo encargado de la fabricación del medicamento, CetMAd, o placebo, conocería el tratamiento asignado.

Apertura de ciego:

Una vez que hubiera finalizado el ensayo clínico (última visita del último paciente incluido), se abriría el ciego. Todos aquellos pacientes que hubiesen sido aleatorizados a grupo control, podrían haber sido tratados por la vía de uso compasivo previa autorización a la AEMPS.

Apertura prematura de ciego:

Desde la UPC, acompañando al producto celular, se enviaría para cada paciente, un sobre cerrado que contendría el grupo al que habría sido aleatorizado (tratamiento o placebo). Estos sobres (sobres de emergencia) estarían custodiados en el Archivo del Investigador del Centro. En el caso de que se produjera un Acontecimiento Adverso Grave, que exigiese para su manejo conocer el producto administrado al paciente, el investigador principal, o el miembro del equipo investigador en quien delegara, contactando si es posible con el promotor, procedería a la apertura del sobre correspondiente al paciente en cuestión.

Fecha de inicio del ensayo:

Fecha de inclusión del primer paciente en el ensayo: 08/02/2017.

Fecha de finalización del ensayo:

Fecha de la última visita del último paciente: 30/07/2019.

El presente documento constituye el Anexo 1 del Informe clínico del ensayo.

Persona responsable del informe clínico

Rosario Mata: Coordinadora Médica y de Asuntos Regulatorios. Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas (RADYTTA). Email: rosario.mata@juntadeandalucia.es. Teléfono: 955890124.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 7/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



6. Información general sobre el ensayo clínico

6.1 Objetivos del estudio.

Objetivos primarios.

- Evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de 4 dosis de células Mesenquimales troncales alogénicas de tejido adiposo en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.
- Evaluar la eficacia de la infusión intravenosa de 4 dosis de CeTMAd en la recuperación inmunológica tras 3 ciclos mensuales de infusión de CeTMAd y una infusión adicional en semana 20 en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante.

Objetivos secundarios.

Analizar la evolución de los siguientes parámetros a lo largo de un año tras 4 infusiones de CeTMAd

1. Cambios en la Alp, mediante marcadores celulares y solubles.
2. Cambios en ADN proviral integrado en PBMCs y/ en CD4+.
3. Evaluar la relación entre los cambios en los recuentos de linfocitos T CD4+ y sus % porcentajes con los observados en la Alp.

6.2 Medicamentos en Investigación

Tratamiento experimental:

Suspensión de células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas

Dosis: 1×10^6 CeTMAd/Kg de peso.

Sustancia activa:

Células mesenquimales troncales adultas alogénicas de tejido adiposo expandidas (CeTMAd).

Excipientes:

1. Lactato de Ringer. Solución isotónica vehículo para la suspensión celular.
2. Albúmina humana 1%. Protector de la viabilidad celular

Comparador:

Solución inyectable de Lactato de Ringer-albúmina humana 1% de uso clínico IV.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 8/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



6.3 Patología de estudio

Infección por el virus de inmunodeficiencia humana.

6.4 Diseño del ensayo

El presente estudio se diseñó como un ensayo clínico fase I/II de prueba de concepto, doble ciego, controlado con placebo y aleatorizado. El reclutamiento incluía 2 etapas, una primera no aleatorizada, y una segunda fase aleatorizada, superada y evaluada la primera

Participó un total de 5 pacientes, dentro de la fase inicial (no aleatorizada) del ensayo. La segunda fase del ensayo (fase aleatorizada), condicionada por la evaluación por parte de un *Comité Independiente de Monitorización de datos* de los datos de seguridad obtenidos en la fase inicial, finalmente no llegó a realizarse, ya que la evaluación del Comité no fue positiva.

6.5 Investigadores Principales

Dr. Luis Fernando López Cortés.

Hospital Universitario Virgen del Rocío.

Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva

Avda. Manuel Siurot, s/n

41013 Sevilla

6.6 Fabricante del medicamento en investigación

Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Avenida de las Fuerzas Armadas nº 2, 4ª Planta Ed. de Gobierno. 18014 – Granada

6.7 Comité independiente de monitorización de datos

El ensayo contó con un Comité Independiente de Monitorización de datos formado por 4 miembros con el siguiente perfil: dos asesores clínicos: uno de ellos experto en el área terapéutica en la que se desarrolló el ensayo clínico, un metodólogo clínico y un experto en cuestiones éticas.

6.8 Antecedentes científicos y justificación

La persistencia de un estado de activación inmunológica y de inflamación aberrantes juega un papel fundamental tanto en la pérdida progresiva de linfocitos T CD4+ como en el deterioro funcional y agotamiento progresivo del sistema inmune provocado por la infección VIH, así como

Sinopsis Informe clínico CeTMAd-VIH-2014
Versión 1 de 15 de junio de 2022

Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 9/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



en la aparición de eventos no directamente relacionados con el SIDA, siendo un marcador predictivo de progresión de la enfermedad incluso mejor que la viremia previa al inicio TAR. Entre los mecanismos que contribuyen a esta Alp se encuentran:

i) la replicación del VIH, incluyendo la replicación de bajo nivel tras el inicio del TAR ii) el daño precoz durante la infección VIH del tejido linfático de la mucosa digestiva, incluyendo las células Th17, con el consiguiente aumento de la translocación microbiana, iii) la pérdida de subpoblaciones críticas de CD4+ y la proliferación homeostática de CD4+ memoria, iv) la pérdida en número y función de células T reguladoras y v) el aumento en la síntesis y secreción de distintas citoquinas proinflamatorias. Todos estos mecanismos pueden retroactivarse dando lugar a un círculo vicioso incontrolado. Si bien el TAR consigue el control de la viremia en un porcentaje muy elevado de pacientes que se traduce en un aumento del recuento de linfocitos T CD4+ helper (sobre todo, CD4+ de memoria) en sangre periférica, no consigue la restauración y el equilibrio de todas las subpoblaciones funcionalmente importantes. Además, entre el 15 y 30% de los pacientes presentan una respuesta inmune discordante (RID) en distintos estudios, es decir, no consiguen una recuperación inmunológica significativa a pesar del control continuo de la viremia. En esta situación existen dos factores que juegan un papel fundamental: la Alp y una disminución de la proliferación y salida de células precursoras tímicas. Desde el punto de vista clínico, en pacientes con RID se ha observado una mayor tasa de morbi-mortalidad asociada a neoplasias, eventos cardiovasculares y eventos SIDA, tanto más probables cuanto menores son los recuentos CD4+ . Además, es previsible que, conforme esta población envejezca, a esta situación se le añada el deterioro inmunológico propio del envejecimiento. Por ello, se han ensayado múltiples estrategias para controlar dicha Alp tales como intensificación del TAR, inmunomoduladores (estatinas, hidroxycloquina, IL-2, IL-7 y hormona del crecimiento), inmunosupresores y probióticos con resultados poco alentadores por lo que, actualmente, no existen alternativas terapéuticas suficientemente efectivas para su aplicación clínica. Por otro lado, varios estudios, tanto in vitro como in vivo, han demostrado que las células madres mesenquimales (CMM) pueden modular la función tanto de los linfocitos T helper (Th1, Th2 y Th17) como de linfocitos B, células NK y células dendríticas a la vez que estimulan a las células Treg, dando lugar a un cambio desde un estado proinflamatorio a otro antiinflamatorio o tolerante mediante i) la inhibición de la producción de TNF- α e IFN- γ por los CD4+ Th1, ii) la inducción de la expresión de IL-10 e IL-4 por parte de linfocitos CD4+ y CD8+ y iii) la inducción de otros factores solubles como IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ , PGE2, VEGF, M-CSF, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y TGF- β 1.

Sinopsis Informe clínico CeTMAd-VIH-2014
Versión 1 de 15 de junio de 2022

Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 10/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



Estas propiedades se han comprobado en múltiples modelos animales de enfermedad y se han empleado con éxito en humanos en patologías tales como enfermedad injerto contra huésped, lupus eritematoso sistémico refractario a tratamiento, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y otras enfermedades autoinmunes. Además, su baja inmunogenicidad permite tanto el uso de CMM autólogas como alogénicas, siendo sus efectos similares independientemente de su procedencia (médula ósea, tejido adiposo o cordón umbilical).

Inicialmente se creía que la mayor parte de las CMM infundidas migraban a distintos tejidos donde se diferenciaban y ejercían sus efectos. Sin embargo, se observó que gran parte de ellas quedaban atrapadas en la microcirculación pulmonar donde sufrirían un proceso de apoptosis y serían fagocitadas por macrófagos y células dendríticas. Recientemente se ha publicado que las microvesículas liberadas a partir de las CMM, conteniendo receptores de superficie propios de las CMM, migran y ejercen los mismos efectos biológicos que las células de las que proceden.

En pacientes con infección por el VIH y RID se ha observado un aumento considerable de linfocitos T CD4 circulantes, tanto naïves como de memoria, y de las respuestas inmunes específicas frente a diversos péptidos de VIH-1 (gag-1, gag-2 y nef) y CMV tras la infusión mensual (x3) de 0,5x10⁶/kg CMM obtenidas a partir de gelatina de cordón umbilical. Estos efectos estuvieron asociados a una disminución notable de la Alp celular y de los distintos mediadores solubles que participan en ella, no observándose efectos adversos importantes (tan sólo se registró fiebre tras la infusión de CMM en 1 de 7 pacientes) ni cambios en el control de la viremia tras un año de seguimiento.

En modelos animales también se ha observado que tras la infusión de CMM se produce una regeneración de la mucosa intestinal y disminución de la translocación microbiana y, por otro lado, un aumento de la capacidad regenerativa de linfocitos T mediante la producción de CXCL-12 e IL-7; ambos factores serían claves en la mejoría de la Alp y la regeneración inmunitaria en estos pacientes.

6.8 Métodos estadísticos

Las diferencias en la incidencia y severidad de los efectos adversos y fracasos virológicos (viremia VIH >200 copias/ml confirmada) se analizaron mediante los tests de χ^2 y Mann-Whitney U test. Las comparaciones en los mismos sujetos se han realizado mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas. En todos los casos se han utilizado test con dos colas y los valores $p < 0.05$ se han considerado significativos. Dado el escaso número de casos, también se han considerado,

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 11/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



arbitrariamente, como significativos incrementos o disminuciones persistentes mayores del 50% en pacientes individuales. El análisis estadístico fue realizado usando el software IBM (SPSS, version 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL).

Los resultados se expresaron como valores medianos con rangos intercuartílicos para variables continuas y como números y porcentajes de casos para variables categóricas. La prueba de los rangos con signo de Wilcoxon fue realizada para comparar cambios en variables continuas a lo largo del tiempo.

Aunque el Plan de Análisis Estadístico y Plan de Queries fue elaborado por la CRO Sermes CRO, Promotor e Investigador Principal acordaron que fuera el propio Investigador Principal, siguiendo el PAE elaborado, el encargado de realizar el análisis intermedio con los datos disponibles tras 48 semanas de seguimiento. Dicha decisión fue justificada basándose en la enorme experiencia del equipo investigador en investigación clínica y en análisis de los datos, y a la simplicidad del análisis necesario al no haberse procedido a iniciar la fase aleatorizada.

El objetivo inicial del análisis intermedio fue realizar un análisis de los datos de seguridad, una vez que los 5 primeros pacientes de la fase no aleatorizada hubiesen completado las 4 dosis de terapia, y aunque no se contemplaba, finalmente fueron analizados también algunos datos de eficacia.

Tras este análisis, no se llegó a iniciar la fase II del ensayo o fase aleatorizada, ya que el Comité Independiente de Monitorización de datos recomendó la suspensión del mismo, dado que hasta 48 semanas de seguimiento no se observaban indicios de eficacia. El Promotor junto con el IP consideraron no justificado realizar un análisis final independiente, sino ampliar el análisis con los datos de seguimiento hasta 96 semanas de seguimiento, y preparar paralelamente la publicación de los mismos (Trujillo-Rodríguez, 2020), sin que se evidenciara ningún cambio respecto a los resultados obtenidos en el análisis intermedio.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 12/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



6.9. Descripción de las poblaciones de análisis

Población por Protocolo (PP): Según el Promotor, la Población por Protocolo constó de aquellos pacientes que, estando incluidos en el ensayo clínico, fueran seleccionados, aleatorizados (fase aleatorizada), o se confirmó la asignación del tratamiento (fase no aleatorizada), cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión, completaron su tratamiento (cuatro dosis) y se dispuso de la evaluación de las variables principales del estudio hasta completar al menos 48 semanas de seguimiento (visita 13), sin haber presentado criterios de retirada del ensayo ni haberse producido ninguna desviación mayor durante el ensayo.

La Población por Protocolo, si bien incluía también a los pacientes aleatorizados al grupo control (fase aleatorizada), esta fase no fue iniciada, siguiendo las recomendaciones del CSMD, por lo que la Población por Protocolo estuvo formada por los pacientes incluidos en la fase no aleatorizada que cumplieron los requisitos mencionados.

Población por Intención de Tratar (ITT): Según el IP (aclaración con fecha 04/04/2017), la Población de análisis por ITT constó de todos los pacientes que, estando incluidos en el ensayo clínico, cumplieron o no los criterios de selección, y que además fueron aleatorizados (fase aleatorizada), o se confirmó la asignación del tratamiento (fase no aleatorizada).

Según el Promotor (aclaración con fecha 07/04/2017), la población ITT constó de los pacientes que iniciaron el procedimiento de infusión de la primera dosis (por ejemplo, que marcaran una fecha de infusión en el CRD, aunque se indicara que no se completa por alguna incidencia).

Población de Seguridad: La Población de Seguridad incluiría a todos los pacientes aleatorizados y que hubieran sido tratados con el tratamiento objeto del presente ensayo, incluyendo también al grupo control (placebo).

Según el protocolo (página 26): “Los 5 primeros pacientes recibirán infusiones de CeTMAd. A partir del 6º paciente la asignación de tratamiento será aleatoria, a grupo experimental (CeTMAd), o placebo.” A pesar de que estos primeros pacientes no fueron aleatorizados, recibieron el tratamiento (infusión de CeTMAd), por lo que se incorporaron en la población de Seguridad.

6.10 Codificaciones

La historia médica previa de los pacientes y los acontecimientos adversos ocurridos durante el transcurso del ensayo fueron codificados con la versión 25.0 del diccionario MedDRA.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 13/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



La medicación concomitante fue codificada mediante el código ATC.

7. Población de los sujetos de ensayo

Pacientes adultos (≥ 18 años) con infección por el VIH en tratamiento antirretroviral estable, con viremia <20 copias/ml durante ≥ 1 año, recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ y respuesta inmunológica discordante definida como:

1. incremento <75 o <150 CD4+/ μl tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal, o bien
2. recuento de CD4+ $<350/\mu\text{l}$ tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<20 copias/ml) ≥ 1 año.

Aunque se estimaba incluir un total de 15 pacientes (5 pacientes en la fase I y 10 pacientes en la fase II, de ellos 5 pacientes en el grupo CeTMAd y 5 pacientes en el grupo placebo), finalmente, tras la evaluación de los resultados de la fase inicial por parte del CIMD, la segunda fase no llegó a realizarse, por lo que solo se incluyeron 5 pacientes.

B. Disposición de los sujetos del ensayo

1. Selección

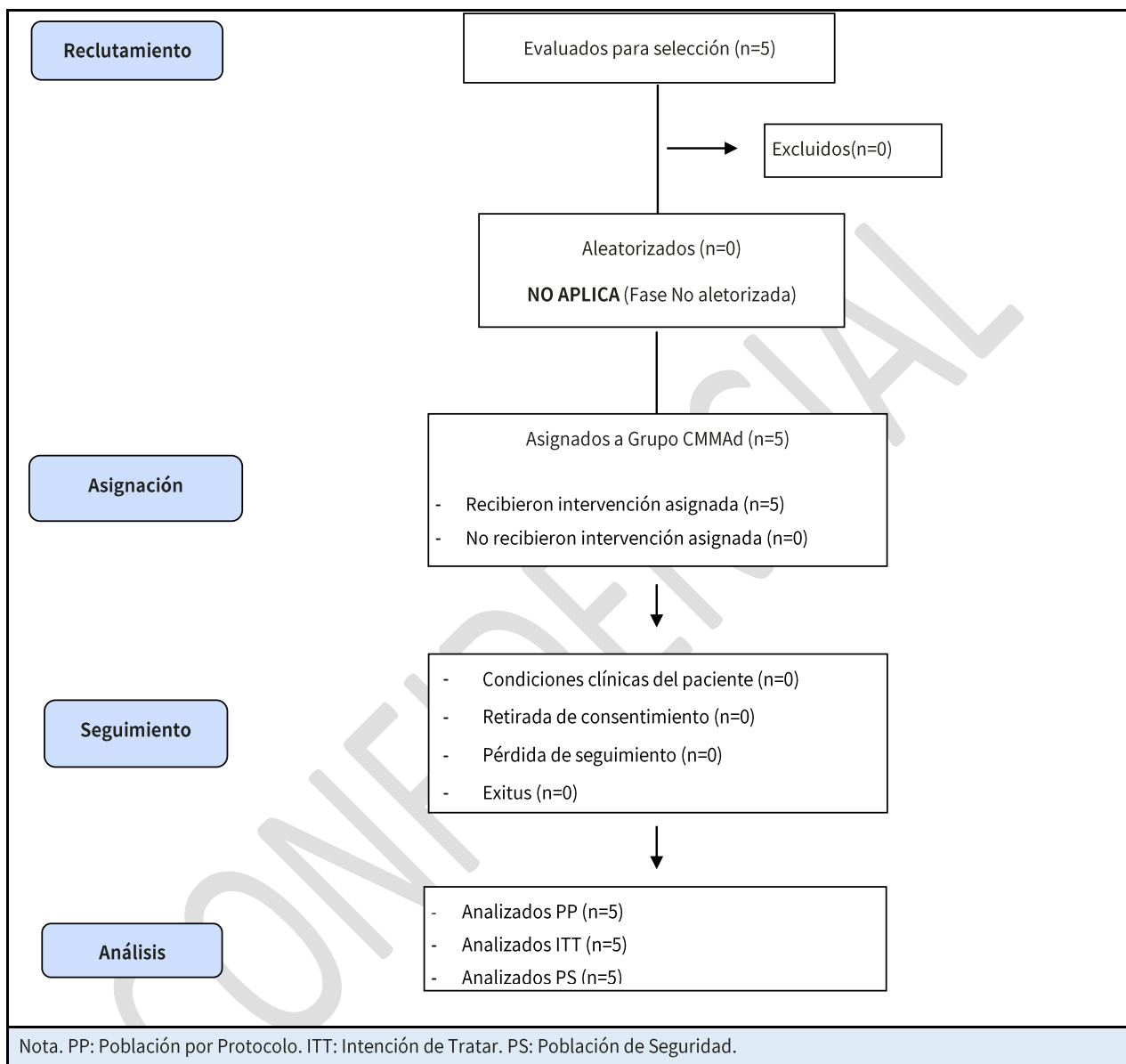
La selección de los pacientes candidatos se realizó desde la Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva del Hospital U. Virgen del Rocío. Después de la firma del consentimiento informado se realizaron los procedimientos necesarios para confirmar que el paciente cumplía los criterios de selección.

En el estudio se incluyeron y trataron un total de 5 pacientes de forma secuencial, (Fase I No aleatorizada), con 15 días mínimo de cadencia entre cada uno. La distribución del grupo se muestra en el siguiente flujo de pacientes.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 14/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



Figura 1. Flujo de pacientes estudio CeTMAd-VIH-2014



Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión.

1. Infección por VIH-1
2. Edad > 18 años. Ambos sexos
3. En tratamiento antirretroviral

Sinopsis Informe clínico CeTMAd-VIH-2014
Versión 1 de 15 de junio de 2022

Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 15/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



4. Carga viral VIH < 50 copias/ml durante ≥ 1 año
5. Valor de CD4+ <350/ μ l.
6. Respuesta Inmunológica discordante (RID) definida como:
 - incremento <75 o <150 CD4+/ μ l tras uno o dos años de viremia indetectable, respectivamente, con respecto a la determinación basal o bien,
 - recuento de CD4+ <350/ μ l tras 3 años de tratamiento antirretroviral y viremia indetectable (<50 copias/ml) ≥ 1 año.
7. Consentimiento informado por escrito del paciente
8. Compromiso de utilización de un método anticonceptivo de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres durante la duración del ensayo clínico.

Criterios de exclusión.

1. Embarazo, lactancia, o negativa al uso de métodos anticonceptivos de eficacia probada tanto en hombres como en mujeres.
2. Infecciones oportunistas en tratamiento durante los últimos 12 meses.
3. Coinfecciones activas por los virus B y C de la hepatitis
4. Cirrosis hepática estadio C de la clasificación de Child Pugh de cualquier etiología.
5. Hipertensión portal y/o hiperesplenismo de cualquier etiología.
6. Presencia de neoplasias malignas.
7. Tratamiento en los últimos doce meses con esteroides, inmunomoduladores, interferón, quimioterápicos o cualquier fármaco que pueda repercutir en la cifra de CD4.
8. Cualquier alteración analítica grado 3 o 4 (escala AIDS Clinical Trials Group), confirmada, en la analítica previa a la primera infusión de CeTMAd.

Criterios de retirada del tratamiento o de la evaluación

En el presente estudio, independientemente de que el paciente pudiera retirar su consentimiento en cualquier momento y sin dar explicaciones, las especiales características del presente protocolo en el que la administración del producto en investigación se realizó en momentos puntuales (4 dosis), hizo puntualizar lo siguiente:

1. Los pacientes que fueron incluidos, hubieran sido o no aleatorizados, pero sin recibir el producto en investigación, interrumpirían su participación en el ensayo clínico si se hubiese producido alguna de las siguientes situaciones:

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 16/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPDS9PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



- Presencia de acontecimiento adverso grave desde la inclusión del paciente en el estudio hasta la infusión de las CeTMAd, que a juicio del investigador o del promotor hubiera podido poner en riesgo la seguridad del paciente o afectara a los resultados del ensayo.
- Condiciones clínicas del paciente que hubieran impedido su continuidad.
- En caso de no poder elaborar, en el momento necesario, el Medicamento en Investigación.
- Cuando el paciente no cooperara o no cumpliera los requerimientos del estudio.
- Valor(es) anormal(es) de laboratorio, siempre que a juicio del investigador y/o promotor hubiera estado en riesgo la seguridad del paciente o hubiese podido interferir en la interpretación de los resultados del estudio.
- Retirada del consentimiento por parte del paciente
- Pérdida de seguimiento del paciente

2. Los pacientes que hayan sido incluidos, hayan sido aleatorizados y recibido al menos 1 dosis del producto en investigación, interrumpirán su participación en el ensayo clínico solamente si retiran su consentimiento.

Criterios de interrupción:

El estudio hubiera sido interrumpido en cualquiera de las siguientes circunstancias:

1. Toxicidad grave relacionada con la infusión de células mesenquimales en ≥ 2 pacientes.
2. Infecciones graves relacionadas con el procedimiento de extracción o infusión celular en ≥ 2 pacientes.
3. Mortalidad relacionada con el procedimiento de infusión en 1 paciente.

Aleatorización

No aplica, ya que, finalmente la segunda fase, aleatorizada, no llegó a realizarse.

Enmascaramiento

A partir de la inclusión del sexto paciente (inclusive), el ensayo hubiera sido ciego para los sujetos participantes y para los investigadores. Desde la UPCIT se facilitaría el producto (medicamento o placebo), envasado y etiquetado de forma que se garantizara el enmascaramiento para el sujeto participante. Sólo la persona del promotor responsable de la aleatorización y el equipo que se encargara de la fabricación del medicamento, conocería el tratamiento asignado.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 17/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



2. Periodos pre y post aleatorización

La preselección de los pacientes se realizó desde la Unidad de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva del H. U. Virgen del Rocío de Sevilla. Durante esta visita, los pacientes firmaron el CI, quedando reflejado en la historia clínica. Tras la firma del CI se programaron los procedimientos necesarios para confirmar que el paciente cumplía los criterios de selección. Todos los pacientes incluidos recibieron la medicación de estudio.

C. Características basales

Todos los pacientes fueron hombres y completaron el estudio, con una adherencia al TAR del 100%. La mediana de edad basal fue de 53 años (45-58), Nadir CD4+/ μ 16 (2-108), CD4/ μ 253 (211-340), ratio CD4+/CD8+ 0,42 (0,19-0,48), % CD4+ 24,1% (11,4-25,5), meses TAR previo 109 (73-210), y 69 meses (53-84) ARN-VIH < 20 copias/ml antes de la inclusión en el estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Datos demográficos y otras características basales.

Código Paciente	Edad (años)	IMC, kg/m ²	Factor riesgo VIH	Casificación CDC	Meses de tratamiento	Meses con ARN-VIH < 20 copias/ml	Células T Nadir CD4+/ μ	Células T CD4+/ μ L	% Células T CD4+	Cociente CD4+/CD8+
EC19-D01	47	31.5	UDI	A3	109	52	3	269	24.10	0.46
EC19-D02	56	33.7	HTS	C3	184	69	16	251	11.44	0.20
EC19-D03	53	18.0	UDI	C3	237	77	2	171	11.49	0.19
EC19-D04	61	27.4	HTS	C3	93	91	37	412	24.30	0.42
EC19-D05	43	30.8	HTS	A3	54	54	180	253	26.70	0.50

IMC, índice de masa corporal; CDC, centros para el control de enfermedades; UDI, usuario de drogas inyectables; HTX, contacto heterosexual.

Si bien el paciente EC19-D04 no cumplía estrictamente el criterio de ≤ 350 CD4+ en la determinación previa, dado su historial, el equipo médico consideró su evolución como respuesta discordante, lo que fue ratificado por el promotor.



D. Criterios de valoración

1. Definiciones.

Para la evaluación de los objetivos primarios y secundarios, se analizaron las siguientes variables:

Variable principal de seguridad:

- Incidencia de efectos adversos grado 3 y 4, incluyendo los relativos a alteraciones de parámetros de laboratorio, para los que se utilizó la escala. “Division of aids table for grading the severity of adult and paediatric adverse Events” . Publish Date: November, 2014.
- Incidencia de enfermedades oportunistas.

Variable principal de eficacia:

Diferencia en el recuento de linfocitos T CD4+/μl, su % y el cociente células T CD4+/CD8+ tras 28 semanas desde la cuarta infusión de CeTMA/Placebo determinados mediante citometría de flujo.

Variables que midieron los cambios evolutivos durante las 96 semanas de seguimiento:

1. Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3+, T CD4+, T CD8+, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK, células TNK y células Tγδ.
2. Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares.
3. Mediadores solubles.
4. Cuantificación de la viremia de VIH-1.
5. Cuantificación del ADN proviral.

2. Seguridad

Eventos adversos No graves:

El análisis de seguridad se realizó en la Población de Seguridad, que incluyó los 5 pacientes incluidos en la primera fase del ensayo. Entre los efectos adversos observados cabe destacar un

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 19/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



total de 10 eventos de trombosis venosas (grado 1-2 y hasta grado 3 en dos pacientes), 24 a 48 horas después de la infusión de CeTMAd, que requirieron tratamiento con heparina de bajo peso molecular en 3 pacientes. Estos eventos no tuvieron la consideración de graves, pero por su cronología estuvieron relacionados con la perfusión de CeTMAd, pudiendo ser factores facilitadores el acceso venoso en venas de pequeño calibre en manos, una agitación insuficiente de las células o, como está descrito en la literatura, la liberación de plasminógeno tisular.

Esta elevada incidencia determinó establecer un plan de medidas, consistente en:

- Implementar tratamiento con heparina de bajo peso molecular (-1, 0, +1, +2 días infusión; 80 mg de enoxaparina/día), previo informe Ad-Hoc que se envió a la AEMPS el 6 de junio de 2017.
- Realizar, una actualización del curso de formación sobre el procedimiento de infusión celular.
- Supervisar algunas de las infusiones

Además, se observaron otros 17 acontecimientos adversos no relacionados con el tratamiento experimental a juicio de los investigadores.

Eventos adversos graves

No se ha notificado ningún acontecimiento adverso grave ni reacción adversa grave a lo largo del ensayo.

3. Eficacia

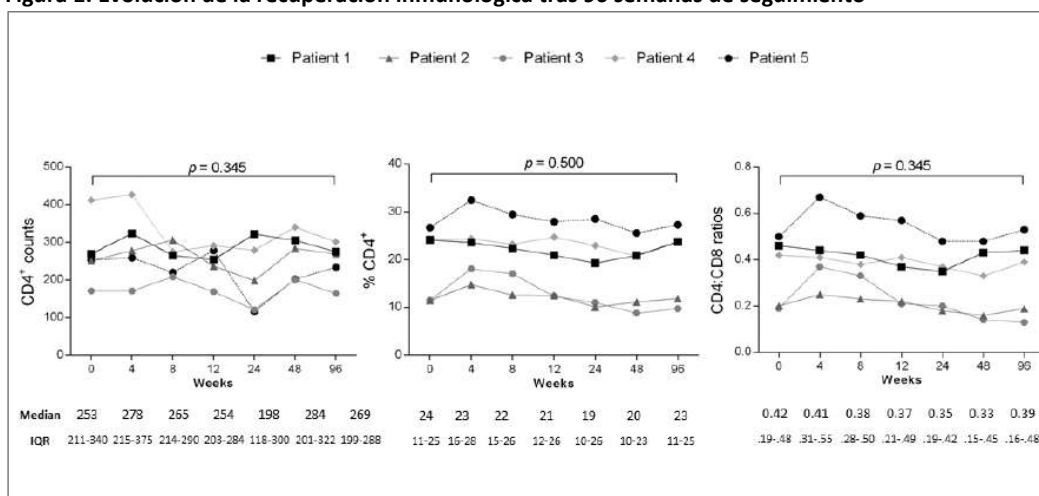
Cambios en el cociente CD4+/CD8+, CD4+/μl absolutos (aCD4) y % CD4+:

La eficacia de las infusiones de CeTMAd en la recuperación inmunológica se midió como el incremento del cociente CD4+/CD8+, CD4+/μl absolutos (aCD4) y % CD4+ tras 4, 8, 12, 24, 36, 48 y 96, sin que se observaran cambios ni clínica ni estadísticamente significativos en ninguno de los pacientes (Figura 2)

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 20/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



Figura 2. Evolución de la recuperación inmunológica tras 96 semanas de seguimiento



Identificación y conteo de distintas subpoblaciones celulares T CD3⁺, T CD4⁺, T CD8⁺, células B, células dendríticas mieloides, células plasmocitoides, células NK, y células T $\gamma\delta$. No hubo cambios en el porcentaje de células NK, células T reguladoras, células dendríticas mieloides y células dendríticas plasmocitoides a semana 96

Fenotipo de las distintas subpoblaciones celulares. No hubo cambios significativos en las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ (T Naive, T CD4⁺ naives emigrantes recientes del timo, T centrales de memoria, T efectoras de memoria y terminalmente diferenciadas), excepto un aumento en la subpoblación T CD8⁺ efectoras de memoria en todos los pacientes.

Marcadores de activación, proliferación, senescencia y apoptosis, o de disfunción celular de las células T CD4⁺ o CD8⁺. No se observaron cambios significativos. Se observó una disminución en la expresión de PD1⁺ en los linfocitos T CD4⁺ (5.2 vs 1.6; P= 0.043) y una tendencia a la disminución de la expresión de PD1⁺ en los linfocitos T CD8⁺ (0.9 vs 0.4; P= 0.080) en la semana 96.

Mediadores solubles: solo se obtuvieron resultados de IL-1 α , IP-10, MIP-1 α y MIP-1 β estando el resto de concentraciones plasmáticas por debajo del límite de detección: No se observaron cambios significativos en las diferentes proteínas proinflamatorias a lo largo del seguimiento, salvo en el paciente 3, que muestra una disminución en la concentración de IL-6 de >50% en la semana 48 con respecto a la determinación basal, manteniéndose hasta fin del seguimiento. Por



otro lado, no se han observado cambios en la activación monocítica evaluada mediante las concentraciones plasmáticas de sCD14 en ninguno de los pacientes.

Cuantificación de la viremia de VIH-1. La carga viral plasmática se mantuvo indetectable (< 20 copias/ml) en el conjunto de pacientes durante el seguimiento de 96 semanas.

Cuantificación del ADN proviral integrado en PBMCs. Los valores de ADN-VIH total en PBMCs (log10 copias/106 células) se mantuvieron estables a lo largo del seguimiento de las 96 semanas.

E. Acontecimientos Adversos

1. Información sobre acontecimientos adversos

Un total de 27 Acontecimientos adversos ocurrieron a lo largo de todo el estudio. De estos 27 AA, 10 fueron trombosis venosas localizadas en la zona de infusión. Las trombosis tuvieron lugar en 3 de los 5 pacientes incluidos, lo que supone un 60% de los pacientes tratados. Los 17 acontecimientos adversos restantes se consideraron no relacionados con el tratamiento experimental.

Se observaron como posibles enfermedades oportunistas, no relacionadas con el tratamiento experimental a juicio de los investigadores:

- 1 episodio de conjuntivitis del ojo derecho en semana 13 (dudas sobre su etiología herpética en opinión del oftalmólogo que atendió al paciente) que se resolvió en menos de una semana.
- 1 faringoamigdalitis de 4 días de evolución en semana 36 (episodios frecuentes en el paciente previo al inicio del ensayo).
- 1 neumonía sin criterios de gravedad por *Hemophilus influenzae* en semana 37.

La información extraída de la base de datos del ensayo clínico fue codificada de acuerdo a la terminología del diccionario MedDRA versión 25.00 con niveles SOC (Clasificación por Órganos y Sistemas del inglés *System Organ Class*) y PT (Término Preferente del inglés *Preferred Term*) con el fin de homogeneizar los términos y facilitar el análisis (Tabla 2).

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 22/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

Tabla 2. Acontecimientos Adversos por grupo y pacientes codificados con diccionario MEDRA V 25.00.

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (%) por paciente)	Nº de AA (%) sobre total de AA)
CeTMAd	EC19-D01	10022117	Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones de procedimientos terapéuticos	10000369	Accidente	Traumatismo accidental	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	9 (33,33%)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10037660	Pirexia	Tos y fiebre	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10028810	Nasofaringitis	Catarro	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	

A

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (%) por paciente)	Nº de AA (%) sobre total de AA)
			el lugar de administración								4 (14,81%)
		10021881	Infecciones e infestaciones	10010741	Conjuntivitis	Conjuntivitis en OD	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10062004	Herpes oftálmico	Queratitis herpética en OD	No	ND	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (11,11%)	
		10017947	Trastornos gastrointestinales	10020028	Hernia de hiato	Hernia de hiato	No	1	No relacionado	1 (11,11%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	
		EC19-D02									

A

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (%) por paciente)	Nº de AA (%) sobre total de AA)
EC19-D03		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (25%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	7 (25,92%)
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	
		10018065	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10065489	Trombosis en la localización de una infusión	Trombosis venosa en la zona de infusión	No	3	Relacionado	1 (14,28%)	

A

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (%) por paciente)	Nº de AA (%) sobre total de AA)
			el lugar de administración								
			Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	10037660	Pirexia	Febrícula y tos	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10018065									
		10021881	Infecciones e infestaciones	10035664	Neumonía	Neumonía comunitaria	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10038738	Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	10013968	Disnea	Tos con expectoración verdosa y disnea	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10040785	Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	10037087	Prurito	Prurito generalizado	No	1	No relacionado	1 (14,28%)	
		10029205	Trastornos del sistema nervioso	10042772	Síncope	Síncope	No	1	No relacionado	1 (50%)	
		EC19-D04	Lesiones traumáticas, intoxicaciones y complicaciones de	10022117			No	1	No relacionado	1 (50%)	
				10022116	Lesión traumática	Traumatismo	No	1			
											2 (7,40%)

A

Grupo	Paciente	Código SOC	Descripción SOC	Código PT	Descripción PT	Definición AAG	AAG	Severidad	Relación con el tratamiento	Nº AA (%) por paciente)	Nº de AA (%) sobre total de AA)
EC19-D05			procedimientos terapéuticos								
		10037175	Trastornos psiquiátricos	10002855	Ansiedad	Episodio de ansiedad	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10021881	Infecciones e infestaciones	10044008	Amigdalitis	Amigdalitis	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10017947	Trastornos gastrointestinales	10012735	Diarrea	Diarrea	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10027433	Trastornos del metabolismo y de la nutrición	10047626	Déficit de vitamina D	Hipovitaminosis D	No	1	No relacionado	1 (20%)	
		10038359	Trastornos renales y urinarios	10027525	Microalbuminuria	Microalbuminuria	No	1	No relacionado	1 (20%)	5 (18,52%)

2. Acontecimientos adversos graves

No se han notificado acontecimientos adversos graves a lo largo del ensayo.

3. Fallecimientos

Según lo descrito en el PAE se definió éxitus como “una muerte de un sujeto participante del estudio durante la duración del estudio (desde la infusión de la medicación (V3) hasta la finalización del seguimiento (V17)” .

En el presente estudio clínico no hubo muertes en ninguno de los periodos del estudio.

F. INFORMACIÓN ADICIONAL

1. Modificaciones globales sustanciales

A lo largo del estudio fue realizada una sola enmienda al protocolo inicial. Dicha enmienda fue una modificación sustancial.

2. Interrupciones globales y reanudaciones

Tras la evaluación de los resultados obtenidos en la primera fase del ensayo por parte del CSMD, la segunda fase del ensayo (fase aleatorizada) no fue iniciada.

3. Limitaciones.

La principal limitación del ensayo es la escasa “n” , ya que los resultados del análisis intermedio no mostraban indicios de eficacia en los 5 primeros pacientes, lo que sumado a la aparición de un elevado número de eventos de trombosis, condujeron al promotor a detener el ensayo clínico tras la fase no aleatorizada.

La falta de grupo control en esta primera fase, impidió valorar los escasos cambios encontrados. Así, aunque no se encontró una disminución en la activación, el agotamiento, apoptosis y senescencia de las diferentes subpoblaciones celulares en la semana 96, sí se observaron

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 28/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPDS9PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



fluctuaciones en varios parámetros inmunológicos en algunos pacientes, no pudiendo ser valoradas estadísticamente por el escaso número de pacientes y la falta de un grupo control.

4. Conclusiones

El presente ensayo clínico planteó como objetivos primarios evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de 4 dosis de CeTMAd en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante, así como evaluar la eficacia de estas infusiones. El ensayo se diseñó en dos fases, una fase inicial donde se trataron los 5 pacientes de forma secuencial, y una segunda fase aleatorizada, condicionada a la evaluación de los datos de seguridad del análisis intermedio por parte del Comité independiente de Monitorización de Datos. Finalmente, la segunda fase no llegó a realizarse, ya que los cinco miembros del mencionado Comité coincidieron en el balance beneficio-riesgo desaconsejaba la continuidad del ensayo. Esta decisión fue tomada por el promotor e investigador principal el 17 de abril de 2019, fecha en la que se confirmó la finalización de la selección de sujetos para este ensayo clínico.

Esta decisión fue adoptada, principalmente, debido a la falta de eficacia observada en los resultados del análisis intermedio y a la existencia de un elevado número de eventos de trombosis venosa observados que pudo tener una causalidad multifactorial compleja. Por un lado, los sujetos del estudio podían tener un mayor riesgo de ETV debido a los antecedentes de uso de fármacos por vía parenteral de los pacientes (2/5), un mayor riesgo de recurrencia en casos de episodios trombóticos previos, o una tasa de infusión alta (>2 mL/min) registrada en 5 infusiones de 2 pacientes (EC19-D01 y EC19D-02), cuando la velocidad recomendada según las instrucciones de manejo de la medicación era de un ritmo de 2 ml/min máximo. De hecho, el total de 10 eventos ocurrió en solo tres sujetos, todos recibieron las cuatro dosis previstas de la suspensión de CeTMAd. Además, en uno de los pacientes, los eventos de trombosis venosa podrían haber sido favorecidos por el pequeño calibre de las venas del dorso de las manos, que tuvieron que ser empleadas para las infusiones ante la imposibilidad de utilizar otra vía de mayor calibre. Adicionalmente, se ha informado de que las CMM expresan factor tisular y tienen actividad procoagulante, observándose con mayor frecuencia en las Mesenquimales de tejido adiposo que en las de otras fuentes.

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 29/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



Estos eventos dejaron de manifestarse tras adoptar una serie de medidas correctoras: uso de heparina de bajo peso molecular como profilaxis y un curso de reentrenamiento sobre el procedimiento de infusión celular al equipo implicado.

Los resultados del presente estudio no arrojaron cambios en los recuentos de células T CD4+, porcentajes o proporciones de CD4+/CD8+, y no se observaron cambios consistentes en las diferentes subpoblaciones y fenotipos de células T CD4+ y CD8+ o porcentaje de mDC, pDC, células NK o células Treg. Asimismo, las infusiones de CeTMAd no tuvieron efectos sobre los niveles plasmáticos de sCD14, IL-6, TNF- α y hsCRP. En general, no se encontró una disminución en la activación, el agotamiento, apoptosis y senescencia en la semana 96. Solo se encontró una disminución significativa en las células T CD4+ PD1+, pero su significado no está claro y este cambio no influyó en la recuperación de las células T CD4+.

En conclusión, los datos del presente ensayo clínico no han permitido demostrar que la infusión de células Mesenquimales de tejido adiposo favorezca la recuperación inmunológica, ni han logrado reducir la activación inmune o los niveles de marcadores inflamatorios en pacientes con infección por VIH y respuesta inmunológica discordante, al menos con el esquema de dosificación seleccionado.

5. Declaración del solicitante respecto a la exactitud de la información presentada

La Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas, a través de la Fundación Progreso y Salud, promotor del presente estudio, declara que la información presentada es veraz, que han sido monitorizados el 100% de los datos incluidos en el cuaderno de recogida de datos y que estos han sido contrastados con la historia clínica de los pacientes.

Sinopsis Informe clínico CeTMAd-VIH-2014
Versión 1 de 15 de junio de 2022


Junta de Andalucía
Consejería de Salud y Familias
Fundación Progreso y Salud
Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas

FIRMADO POR	GONZALO BALBONTIN CASILLAS	25/07/2022 20:19:22	PÁGINA 30/30
VERIFICACIÓN	UUM32TCADWE5HSFLWPD59PW8LM3LR2	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	



ANEXO II. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO

Manejo del Producto de Investigación

El tejido fuente fue tejido adiposo, obtenido mediante técnica de exéresis quirúrgica estéril o liposucción en condiciones estériles a partir de grasa subcutánea donantes idóneos con edad máxima de 60 años. La provisión de tejido fuente se gestionó a través del Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz.

El proceso de fabricación se realizó en la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular (UPCIT) del Complejo Hospitalario Universitario de Granada (CHUGr), concretamente en la cuarta planta del Edificio de Gobierno del Hospital Universitario Virgen de la Nieves (HUVN).

Una vez emitida la certificación de la Dirección Técnica y tras la liberación administrativa por parte del promotor, el medicamento se distribuyó desde las instalaciones del fabricante hasta el centro, utilizando un sistema de transporte previamente validado que mantuvo las condiciones adecuadas de almacenamiento del mismo durante el tiempo previsto de transporte (0 y 8° C durante todo el transporte). No se excedió en ningún caso el tiempo máximo permitido (límite de utilización) desde que se finalizó el envasado hasta la infusión del producto al paciente (16 horas máximo).

Procedimiento de Infusión de Células Mesenquimales de Tejido Adiposo

Nos llegan las bolsas de CeTMAd, descongeladas y preparadas para la infusión en la misma mañana del día programado (sobre las 13:00 horas). El volumen total envasado (25-50 mL) se calcula de acuerdo con el peso del paciente y dosificación, con lo que no es necesario ninguna manipulación del contenido de la bolsa. Estas unidades se encuentran debidamente identificadas con el número de lote y el código del paciente del ensayo. La pauta de administración de CeTMAd será de 1×10^6 cels/Kg en infusión intravenosa a través de una vía periférica en una pauta de 4 dosis: 1ª dosis el día 0, 2ª dosis la semana 4, la 3ª dosis la semana 8 y 4ª dosis la semana 20.

Los pasos a seguir para la infusión, serán los siguientes:

- Cuando llegaron las bolsas de CeTMAd a la unidad, se cumplimentó el formulario de recepción, indicando la fecha y hora de llegada y el estado de la recepción (bolsa hermética, temperatura inferior a 8°C, etiquetado correcto). Si se detectó alguna disconformidad se puso el medicamento en cuarentena, notificó a la unidad de producción, y se esperaron instrucciones sobre su uso o destrucción.



- Se colocó la bolsa en el agitador automático durante 10-15 minutos a una velocidad media, para ayudar a resuspender células que hubieran podido depositarse durante el transporte, y para que el contenido de la bolsa se atemperara (25° C) para su administración al paciente.
- Se dispuso de la solicitud de infusión de CeTMAd cumplimentada por el facultativo de la unidad clínica correspondiente, habiendo previamente revisado los resultados de la visita de seguridad pre-infusión. Se verificó que la identificación de la bolsa de CeTMAd, y el paciente era la que constaba en la solicitud de infusión.
- Antes de iniciar la infusión se recogieron las muestras necesarias para las analíticas previstas y las determinaciones a realizar en el IBIS (6 CPTs y 4 plasma). Dichos tubos se etiquetaron conforme a los procedimientos locales, o bien con las etiquetas previstas por el equipo del IBIS
- Al paciente se le cogió una vía periférica con un bocal de 18 (o de 20 si el acceso era difícil), para administrar premedicación, las células y mantener una vía.
- El personal responsable del centro comprobó y registró en la hoja de infusión las constantes vitales (PAS/PAD, T^a corporal, saturación de O₂, frecuencia cardiaca y respiratoria) antes y después de realizar la infusión. Se anotó además el acceso venoso, la hora de inicio y fin de la infusión, así como el volumen total y dosis infundidos.
- Se administró la pre-medicación 15-30 minutos antes de la infusión: Metilprednisolona (0,5 mg/kg iv) y Dexclorfeniramina 5 mg parenteral (polaramine), opcionalmente paracetamol.
- Se colocó una llave de 3 vías conectada a un sistema de transfusión sin filtro o con un filtro de 200 µm, conectado a una bomba de perfusión. Por una vía se colocó la bolsa de CeTMAd y por la otra, suero salino fisiológico, de forma que la proporción de infusión fue de 1:5 respectivamente (1 gota de CeTMAd, por 5 de SF). La duración de la infusión dependió de la tolerancia del paciente y del volumen de la bolsa, a un ritmo de 2 ml/min máximo (entre 15 y 30 min). Se agitó manualmente la bolsa cada 5-10 minutos durante la infusión, para evitar la formación de agregados celulares.
- Una vez finalizada la infusión se añadieron 20 mL de suero fisiológico para lavar la bolsa, que se infundieron al mismo ritmo.



- El paciente fue monitorizado en todo momento durante la infusión, con el carro de parada preparado. Se mantuvo al paciente en observación durante los 90 minutos posteriores a la infusión.
- La infusión de CeTMAd se suspendió si se registraron cualquiera de los acontecimientos que se describen a continuación: 1.- Tensión arterial superior a 200/120 o inferior a 80/40; 2.- Fiebre muy elevada y escalofríos; 3.- Disnea o compromiso respiratorio; 4. Urticaria o edema angioneurótico; 5. Cualquier otro acontecimiento grave que a criterio del investigador del centro suponga la interrupción del tratamiento. El investigador responsable del paciente procuró el tratamiento necesario en cada una de estas situaciones y era responsable de notificar el evento al promotor del estudio en caso necesario.
- Si ocurrió una reacción leve durante la infusión de las CeTMAd, se realizó un tratamiento sintomático según práctica clínica. Si fue necesario interrumpir la infusión para suministrar dicho tratamiento, la infusión se reanudó a un ritmo de 2 ml/min máximo en las mismas condiciones, utilizando una vía sin filtro.
- Si hubo incidencias durante la infusión, estas quedaron registradas en la hoja de infusión (que fue considerada como documento fuente) y en el CRD del estudio. Además, se recogió en el CRD del estudio los medicamentos concomitantes pertinentes.
- Una vez realizada la infusión de CeTMAd, el envase que contenía este material se eliminó en el centro, en el lugar destinado para la destrucción de material biológico. Si hubo material sobrante de la infusión debido a una interrupción/cancelación de misma, el producto de investigación se podría destruir en el centro, confirmando en dicho caso la destrucción el investigador responsable del centro con el promotor.