



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN ADENOVIRUS MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/13/18)

Título del ensayo:

“Estudio en fase I de la combinación del virus oncolítico Delta 24-RGD con una pauta corta de temozolomida, en el tratamiento de pacientes con primera recidiva de glioblastoma”.

Características del ensayo:

La Clínica Universidad de Navarra presenta una solicitud para realizar un ensayo cuyo objetivo es estudiar la toxicidad de la combinación de la administración intracerebral del adenovirus Delta 24-RGD con temozolomida oral en pacientes en primera recidiva de glioblastoma. Como objetivo secundario se estudiará el beneficio del tratamiento sobre la supervivencia libre de progresión y supervivencia global. El ensayo se llevará a cabo en la Clínica Universidad de Navarra.

Se inyectará en una sola sesión el agente en el tejido cerebral del paciente. Se empleará una dosis de 3×10^{10} partículas virales en 1 ml. Puede hacerse en dos situaciones diferentes: pacientes a los que se les hace solo una biopsia y a continuación por la misma aguja se inyecta el virus o pacientes a los que se les hace una extirpación del tumor y después se les inyecta el OMG en las paredes de la cavidad quirúrgica, para tratar las células tumorales que son invasivas y que no pueden extirparse. En ambos casos, el adenovirus se inyecta en el interior del parénquima cerebral y a continuación se cierra la duramadre y la piel. El ensayo clínico contempla dos semanas de recuperación y luego el paciente inicia la segunda parte del tratamiento, con temozolomida, agente quimioterápico que se espera que actúe en sinergia con el virus.

El acceso y manipulación del virus antes de su administración estará bajo la responsabilidad del farmacéutico de la Clínica Universitaria, que entregará la medicación al investigador en un contenedor hermético cerrado y etiquetado. La dosis se cargará en una jeringa bajo condiciones asépticas (cabina de seguridad clase II, tipo B). Toda la medicación restante y el material empleado para la preparación de la dosis serán destruidos.

En el quirófano, el neurocirujano sacará la jeringa precargada del envase cerrado de farmacia con doble guante, gafas protectoras y bata desechable, y lo inyectará en el tejido cerebral del paciente, previamente expuesto. El personal presente en el quirófano deberá usar bata desechable, guantes, gafas de seguridad y mascarilla protectora tipo FFP3. Antes de empezar el tratamiento con Delta 24-RGD se colocará en la puerta del quirófano un letrero visible advirtiendo del tratamiento, las restricciones y los posibles riesgos y se colocarán dentro del quirófano los contenedores de residuos de tipo III. Tras la administración del OMG, todo el equipo y las superficies de trabajo que potencialmente pudieran entrar en contacto con el agente, así como el resto del quirófano, serán desinfectados.

El notificador pretende llevar a cabo el ensayo clínico entre Mayo de 2013 y Abril de 2015, realizando aproximadamente una inyección cada 3 – 4 semanas.



Características del OMG:

El OMG (Delta 24-RGD) es un adenovirus oncolítico, cuya replicación es selectiva para células tumorales.

- organismo receptor: Adenovirus humano salvaje del serotipo 5 (HAd5)
- inserto: secuencia corta que codifica el péptido RGD-4C, ligando de integrinas.

El genoma de Delta 24-RGD contiene dos modificaciones genéticas con respecto a la forma salvaje del adenovirus HAd5:

- una deleción de 24 pares de bases (Delta 24) introducida en el dominio CR2 de unión a pRb del gen de la proteína E1 A, que consigue que la replicación viral sea imposible en células normales con la proteína Rb intacta
- una inserción en el gen de la fibra viral de una secuencia corta que codifica el péptido RGD-4C, que es un ligando de integrinas. Como consecuencia las células de glioblastoma, que presentan baja expresión de receptores para HAd5 pero alta de integrinas, pueden ser infectadas por el OMG.

Identificación de riesgos potenciales:

1) Estabilidad genética:

La estabilidad genética de Delta 24-RGD se ha confirmado y no se espera que revierta al virus salvaje.

Se llevaron a cabo análisis de la secuencia genómica completa y de la estabilidad genética de la deleción de 24 pares de bases de la región adenoviral E1 A mediante qPCR, tanto en el Banco Maestro de Virus (Master Viral Bank) como en el producto en bruto filtrado y purificado (Purified Filtered Bulk Product). La ausencia de copias salvajes de E1 A y por tanto de adenovirus salvaje, fue confirmada en tres muestras independientes de producto final filtrado bruto del OMG, con una sensibilidad de 1:2.000.

Por otro lado, el OMG tiene un tamaño genómico menor del 101 % del tamaño del virus salvaje; los adenovirus modificados son estables cuando el total del genoma no supera el 105 % del de la forma salvaje.

2) Patogenicidad:

La modificación Delta 24 supone una reducción de la patogenicidad del virus salvaje HAd5, al impedir la replicación del OMG en células quiescentes normales con la vía Rb intacta.

La modificación RDG-4C podría potencialmente aumentar la patogenicidad del OMG comparada con la forma salvaje, ya que células que no expresan receptores de alta afinidad para el adenovirus pero sí expresan ciertos tipos de integrinas podrían ser infectadas por el OMG. Sin embargo, distintos ensayos de biodistribución no han mostrado un patrón distinto entre el OMG y el virus salvaje.

Además, la ampliación de la infectividad gracias a la modificación RGD-4C no afecta a la atenuación de la replicación por la modificación Delta 24: las células normales en división que no presentan receptores



de alta afinidad para el adenovirus pero que expresan integrinas para la unidad RGD-4C podrían sufrir una infección por el OMG, pero el virus no replicaría.

3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:

Los adenovirus pierden su bioactividad rápidamente a temperatura ambiente.

La vía común de transmisión de los adenovirus es la inhalación o contacto con los ojos de aerosoles producidos por tos o estornudos de las personas afectadas. Aunque no se puede excluir que el OMG se disemine del receptor primario tras la inyección intracerebral, es altamente improbable. Si esto ocurriera, el virus podría infectar las células del tracto respiratorio superior, al igual que lo hace la forma salvaje. En estas condiciones, el OMG, dadas sus propiedades para replicar específicamente en células tumorales, no se replicará en células sanas de un segundo receptor, por lo que se previene la diseminación.

Teóricamente, el OMG se podría recombinar con la forma salvaje en un receptor infectado por ambos virus, pero es muy improbable encontrarse con esta situación en la práctica. La imposibilidad del OMG para replicar fuera de células tumorales hace que esta teórica recombinación sea casi imposible. Aún así, suponiendo que la recombinación tuviera lugar, la transmisión de este nuevo OMG ocurriría mediante la infección del tracto respiratorio similar al adenovirus salvaje, causando los mismos síntomas leves y siendo autolimitada. No se han observado variantes recombinantes del HAd5 con otros tipos de adenovirus.

Los adenovirus no se integran en el ADN del huésped, por lo que no es posible su transmisión al genoma del huésped ni la transmisión a la descendencia.

4) Efectos sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

Debido a la alta especificidad de huésped del HAd5, la transmisión a otras especies no humanas es altamente improbable.

Una vez concluida la administración del OMG, el paciente permanecerá ingresado en una habitación individual de la Unidad de Cuidados Intensivos donde será monitorizado durante 24 horas antes de darle el alta médica. Las visitas quedarán restringidas al acompañante del paciente, que deberá llevar bata desechable, guantes y mascarilla. Los pacientes serán seguidos estrechamente dentro del protocolo de ensayo clínico, hasta 18 semanas después de la administración. Cualquier efecto adverso inesperado será notificado dentro del protocolo de reacciones adversas del ensayo clínico. El seguimiento incluye evaluaciones clínicas, exploración física y neurológica cada dos semanas o cuando aparezcan nuevos síntomas, analítica cada dos semanas. A partir de las 18 semanas se mantendrá un seguimiento menos frecuente, incluyendo notificación de efectos adversos, hasta el fallecimiento del paciente o dos años.



5) Control y tratamiento de residuos

El acceso y manipulación del virus Delta 24- RGD antes de su administración estará bajo responsabilidad del farmacéutico. Antes de comenzar la intervención, se colocarán dentro del quirófano los contenedores de residuos biopeligrosos de tipo III. Todos los materiales que hayan estado en contacto directo con el OMG (restos de viales, agujas, guantes, etc.) se colocarán dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III. Los residuos son procesados y eliminados por una compañía especializada.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad.

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, los ensayos no suponen un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluidos los ensayos, se remitirá un **informe de resultados** de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 7 de Mayo de 2013.