



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/21/07)

Título del ensayo

Desarrollo clínico y prueba de la nueva terapia regenerativa VEGF-D para el tratamiento coste-efectivo de la angina refractaria. Un estudio de fase II aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, del promotor Kuopio University Hospital, Heart Center.

Características del ensayo

En el ensayo participará el Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Se inyectará una dosis total de 1×10^{11} vpu en un volumen total de 2 ml (0,2 ml por lugar de inyección, 10 inyecciones).

El producto en investigación se inyecta con el sistema NOGA Myostar®, asegurando que todo queda en el miocardio de los pacientes.

Se espera que el organismo modificado genéticamente (OMG) modifique la producción en las células cardiacas de la proteína VEGF, el resultado esperado es la vascularización del tejido dañado, mejorando la perfusión miocárdica, con el objetivo de alcanzar la mejora del flujo. El objetivo del estudio es investigar si esta terapia génica se puede utilizar para mejorar el éxito terapéutico en los pacientes que, a pesar de la medicación óptima, sufren de angina de pecho y que no pueden ser tratados con intervencionismo coronario percutáneo (ICP) o cirugía de revascularización coronaria (CABG). Además, el estudio investiga el efecto del procedimiento sobre la perfusión miocárdica, los síntomas del paciente, la calidad de vida, el uso de medicamentos y la seguridad del procedimiento.

Características del OMG

El OMG, AdVEGF-D^{ΔNΔC}, es un adenovirus del serotipo 5 (Ad5) que contiene deleciones genómicas de las regiones E1 y E3B e inserciones de las secuencias génicas que codifican el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular D (VEGFD^{ΔNΔC}) y regulan su expresión.

El gen VEGF-D^{ΔNΔC} insertado produce la forma madura del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular D controlado por un promotor de citomegalovirus (CMV). Además, se han insertado secuencias que codifican la etiqueta FLAG y el péptido señal de IL3, una secuencia de intrón que aumenta el rendimiento de VEGF-D^{ΔNΔC}, así como la cola sv40 poli-A para terminar la transcripción.

VEGF-D^{ΔNΔC} es un factor de crecimiento normalmente presente en el sistema, que aumenta la angiogénesis, linfangiogénesis y vasodilatación. La producción de VEGF-D^{ΔNΔC} aumenta, por ejemplo, durante el desarrollo embrionario y juega un papel importante en ciertos procesos patológicos, como el cáncer y la retinopatía diabética.



Evaluación del riesgo para la salud y el medio ambiente

Identificación de riesgos potenciales

-Estabilidad fenotípica y genotípica

Los Ad5 modificados genéticamente son estables desde el punto de vista genético porque el tamaño del genoma recombinado no supera el 105 % del genoma del virus de tipo salvaje. En comparación con los controles, los vectores que tienen un genoma más grande que éste, se replicarán a un ritmo más lento y perderán sus inserciones de ADN adicionales rápidamente.

Se ha secuenciado el lote que se utilizará en el ensayo clínico y no se han detectado cambios entre el genoma del Stock Viral Maestro (MVSS) y el lote clínico derivado del MVSS, lo que indica que el producto ha permanecido inalterado en el proceso de fabricación.

-Adenovirus competentes para la replicación (RCA)

Los adenovirus con la región E1 suprimida son incapaces de replicarse en las células humanas, ya que dicha región genética codifica factores de transcripción esenciales para la replicación del adenovirus. Si algunos de los vectores recuperan la región E1 eliminada por recombinación, serán capaces de replicarse casi con la misma eficacia que los adenovirus de tipo salvaje.

Los RCA no se eliminarán durante la purificación, ya que sus propiedades fisicoquímicas serán indistinguibles de los adenovirus no competentes en replicación. La presencia de RCA se analizará mediante PCR digital de gota (ddPCR) para lo que se utilizarán cebadores específicos de la región E1.

En comparación con el lote estándar de referencia, es decir, el lote clínico de Fase I, que fue seguro para los pacientes, el lote para el ensayo contiene menor cantidad de RCA, por lo que se considera que el riesgo es insignificante.

-Patogenicidad

La infección por adenovirus de tipo silvestre normalmente se resuelve por sí sola y suele causar sólo síntomas leves del tracto respiratorio superior y fiebre en individuos inmunocompetentes. Hasta la mitad de todas las infecciones por adenovirus son asintomáticas o sólo causan síntomas muy leves.

En el caso del vector clínico, existen varias posibilidades de propiedades patogénicas pero que son poco probables; (i) el vector puede tener factores de inmunogenicidad, y (ii) la expresión del transgen podría ser inapropiada. Por este último punto, hay que saber que el VEGFD^{ΔNAC} es un factor de crecimiento producido normalmente en el cuerpo, pero el aumento deliberado de su concentración puede acelerar la progresión de otras enfermedades en curso de los sujetos. Ejemplos de estos procesos patógenos incluyen la retinopatía proliferativa diabética y la metástasis del cáncer, por ejemplo. Por esta razón, los sujetos que han sido diagnosticados o que se sospecha que tienen una malignidad en curso o complicaciones vasculares diabéticas graves no se incluyen en el estudio.

-Potencial de recombinación con el virus parental *in vivo* y descripción de posibles recombinantes

Los adenovirus con delección E1 no pueden replicarse en las células humanas, porque la región génica antes mencionada codifica factores de transcripción que son esenciales para su replicación. Si algunos de los vectores recuperan la región E1 eliminada por recombinación, serán capaces de replicarse casi tan eficientemente como los adenovirus de tipo silvestre.



Se ha demostrado que una fracción muy pequeña de los vectores AdVEGF-D^{ΔNΔC} producidos todavía es capaz de replicarse en condiciones favorables después de la recombinación de las regiones génicas eliminadas. En estos casos, es muy probable que la replicación de los vectores AdVEGF-D^{ΔNΔC} recombinantes E1 sea aún menos eficiente que para los virus de tipo silvestre, ya que la mayoría de los vectores recombinantes E1 carecen de la región E3 y, por lo tanto, su propagación a células proximales se vería obstaculizada.

Incluso, si ocurriera alguna complementación entre AdVEGF-D^{ΔNΔC} y los adenovirus de tipo silvestre presentes simultáneamente en el sistema, es probable que este efecto sea de corta duración porque el fenómeno depende de la presencia intracelular simultánea de los virus de tipo silvestre y vectores competentes para la replicación AdVEGF-D^{ΔNΔC}. Además, a menos que se produzca la recombinación, la complementación promueve la replicación de AdVEGF-D^{ΔNΔC} solo durante la duración de un ciclo de replicación.

-Biodistribución

En cerdos, se detectó ADN de Ad5 en los pulmones y el hígado después de una inyección intravenosa de adenovirus de tipo silvestre a una dosis de 2×10^{12} vp. Además, se observó una pequeña biodistribución del ADN de Ad5 en el riñón, el corazón, el músculo esquelético, el cerebro y las gónadas, pero la concentración del ADN viral fue muchos miles de veces menor que en los pulmones.

Desde el punto de vista de la seguridad, los vectores adenovirales tienen una capacidad muy baja de incorporarse al genoma de las células infectadas, por lo que se consideran vectores extremadamente seguros para su uso en terapia génica. Además, el AdVEGF-D^{ΔNΔC} no es competente para la replicación. El material genético detectable de los vectores adenovirales parece eliminarse del organismo en los dos meses siguientes al tratamiento dado que a partir de ese momento es indetectable. La eliminación se haría vía el reconocimiento del sistema inmune ya que se ha descrito que la mayoría de los adultos son seropositivos a los anticuerpos antiadenovirus tipo 5, debido a infecciones previas con virus de tipo silvestre. En la bibliografía existente, no se ha reportado la detección de liberación de adenovirus por la nariz, garganta u orina después de la administración intramiocárdica de genes usando vectores adenovirales del serotipo 5 con delección E1 y E3. En el estudio Fase 1 KAT301 se está analizando la posible eliminación de AdVEGF-D^{ΔNΔC} y se ha detectado ADN en plasma dos días después de la administración, pero no después, lo que no significa que el vector pudiera estar presentes en circulación. Además, en ningún momento del estudio KAT301, el ADN adenoviral pudo detectarse en la orina de los sujetos incluidos en el mismo. En base a esto, el único riesgo potencial de propagación del virus sería un contacto directo con la sangre del paciente durante 1 o 2 días después de la administración. Por tanto, el mayor riesgo de contacto con el OMG ocurre durante e inmediatamente después de los procedimientos en el laboratorio de hemodinámica, si se produjera un contacto con la sangre del paciente.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El vector AdsVEGF-D^{ΔNΔC} se mantendrá criopreservado a -80°C . En el momento de su uso se reconstituirá, en cabina de Bioseguridad de clase II. No procede ninguna medida especial más allá de las utilizadas de forma rutinaria del trabajo en las cabinas de Bioseguridad de clase II. Se debe tener especial cuidado en mantener los viales en posición vertical, siempre encima de toallitas absorbentes, limpiando continuamente con toallitas impregnadas en hipoclorito sódico al 1% para ir descontaminando de forma continua. Se utilizarán batas de tejido no liberador de partículas y guantes.



Una vez preparadas las jeringas se colocarán en una caja de transporte con control continuo de temperatura validado en la que se incluirá además un kit para derrames que consistirá en dos toallitas impregnadas en hipoclorito sódico al 1%.

Durante la administración todo el personal utilizará batas, guantes y protección ocular (si fuera necesario).

Si se produce un derrame, se inactivará *in situ* o se eliminará directamente mediante aplicación de material absorbente antes de su posterior eliminación. Para ello, antes del manejo del medicamento, se preparará todo el material para paliar un posible derrame. Este "kit para derrames" incluirá toallas absorbentes, desinfectante virucida (por ejemplo, hipoclorito sódico 1%, glutaraldehído al 2%, solución Virkon al 1-2%, etc.), protección para los ojos y guantes.

Los materiales contaminados se consideran residuos peligrosos. Los artículos desechables que hayan estado en contacto con el producto deben colocarse en bolsas de riesgo biológico (u otros contenedores designados) y gestionarse siguiendo los protocolos habituales del centro. Los artículos no desechables deben descontaminarse en autoclave o con un agente virucida apropiado (hipoclorito de sodio al 1% o soluciones de Virkon al 2% durante al menos 30 minutos).

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

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

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). 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 24 de enero de 2022