



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/13)

Título del ensayo

Estudio clínico J3Z-MC-OJAE: Estudio de fase 1/2, abierto y de búsqueda de dosis para evaluar la seguridad y la tolerabilidad de una dosis intravenosa única de LY3884961 en pacientes con manifestaciones periféricas de la enfermedad de Gaucher, del promotor Prevail Therapeutics.

Organismo Modificado Genéticamente

LY3884961 es un vector recombinante derivado del AAV9 que contiene el gen humano *GBA1* que codifica la proteína glucocerebrosidasa (GCasa) flanqueada por las RTI del AAV2 y en el que se han eliminado los genes *rep* y *cap* que hace que no sea competente para la replicación incluso en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus.

El AAV9, cuando se inyecta por vía intravenosa, tiene una biodistribución generalizada y cabe esperar que esté presente en todos los órganos. La proteína expresada es idéntica a la proteína endógena. Esta distribución y expresión generalizadas de la proteína GCasa es el efecto deseado para tratar los síntomas periféricos de la enfermedad de Gaucher que se debe a mutaciones en el gen *GBA* (1q21) que codifica la GCasa.

El vector viral se produce mediante un sistema de coinfección doble por baculovirus en cultivo de células Sf9 en suspensión y un proceso de purificación. Un baculovirus proporciona el casete de expresión del gen *GBA1* humano y el otro codifica las proteínas *rep* del AAV2 y las tres proteínas VP de la cápside del AAV de tipo silvestre del serotipo 9.

Características del ensayo

El promotor propone un período de liberación de noviembre 2022 a diciembre de 2024.

El OMG se administrará una sola vez por vía intravenosa y a distintas dosis, baja ($6,8 \times 10^{11}$ vg/kg), intermedia ($2,0 \times 10^{12}$ vg/kg) y alta ($6,1 \times 10^{12}$ vg/kg).

Participarán un máximo de 15 pacientes con EG que presenten respuesta subóptima al tratamiento habitual y tengan entre 18 y 50 años en el momento del consentimiento informado.

En el ensayo participarán el Hospital Universitario Ramón y Cajal y el Hospital Quironsalud Zaragoza.

Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Determinación de virus competentes para la replicación (rcAAV)

A fin de analizar la presencia de rcAAV, se utiliza un ensayo de amplificación y pases celulares en ausencia y presencia de Ad5, seguido de detección de *rep* mediante PCR cuantitativa en tiempo real (PCRc). Los resultados obtenidos para los lotes analizados están por debajo de límite de detección del ensayo considerándose aptos.



-Estabilidad

Los AAV son virus de ADN monocatenario con una gran estabilidad genética, según pone de manifiesto la estrecha relación existente entre los genes *rep* y *cap* de distintos serotipos y genotipos. Normalmente, el gen *rep* muestra una mayor conservación de secuencia que el gen *cap*, aunque la conservación suele ser mayor del 90 % para el primero y mayor del 80 % para el segundo. Además, el AAV utiliza las ADN-polimerasas del huésped para la replicación vírica, que se caracterizan por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad adicional de exonucleasa de corrección de errores que da lugar a una tasa de error muy baja de replicación del ADN, en comparación, por ejemplo, con las ARN-polimerasas utilizadas por los virus de ácido ribonucleico (ARN).

En apoyo de la estabilidad genética está la observación de que los episomas de ADN proviral de AAV aislados de diferentes muestras de tejidos humanos poseen sistemáticamente las secuencias *rep* y *cap* canónicas esperadas.

Basándose en esto, se espera también que LY3884961 sea genéticamente estable. Además, cada lote de medicamento LY3884961 destinado a este ensayo clínico está sujeto a los siguientes análisis:

- Identidad del genoma del vector: se determina mediante la purificación del ADN del vector encapsidado seguida de la creación y secuenciación de una genoteca. Para la liberación del producto terminado, la secuencia de ADN debe coincidir con la esperada.
- Identificación de la cápside del vector: se analiza mediante inmunotransferencia utilizando anticuerpos específicos contra las proteínas VP1, 2 y 3 del AAV. El resultado debe ser positivo para la proteína de la cápside del AAV.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

Excreción del vector en animales

En el estudio BPL PRV-2020-016 se administró LY3884961 a macacos de Java de ambos sexos el día 1 mediante infusión intravenosa en una vena safena o cefálica en un volumen de 2,5 ml/kg. Las dosis utilizadas equivalen a una dosis baja de 3×10^{12} vg/kg y a una dosis alta de 3×10^{13} vg/kg. Se sacrificó a los animales y se recogieron tejidos los días 7, 30 o 183 después de la administración.

En macacos de Java se analizó la presencia de LY3884961 en orina y heces mediante un análisis de PCRc. No se detectaron concentraciones medibles en ningún momento en las muestras de orina de todos los animales tratados en todas las dosis. En heces no se detectaron concentraciones medibles a día 183 en ninguno de los animales ni en ninguna de las dosis. La detección de partículas excretadas se logró mediante un análisis de PCRc específico del producto LY3884961.

Excreción de vectores en seres humanos

No se dispone todavía de datos de excreción en seres humanos tratados con LY3884961 mediante inyección intravenosa.

Como parte del ensayo clínico previsto, la excreción del vector, es decir, la excreción o secreción de partículas del vector vírico que puedan transmitirse a otras personas se evaluará mediante PCRc en muestras de saliva, orina y heces. Se obtendrán muestras hasta 12 meses después de la administración de LY3884961 los días -1 (basal), 7 y 21 y los meses 2, 3, 6, 9 y 12.

Sin embargo, los análisis de excreción detectan copias de genoma, no partículas víricas encapsidadas, por lo que no aportan información sobre las partículas infecciosas.



No cabe esperar que la exposición a la cantidad de vector que se prevé que se disemine, aun cuando fuera infeccioso, pueda ser un riesgo ya que la cantidad excretada sería varios órdenes de magnitud menor que la dosis eficaz más baja. Además, la muy baja cantidad de partículas del vector sería inactivada por las defensas antivirales de la piel y por la función de esta como barrera física frente a la infección.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

La jeringa preparada se transportará directamente desde el lugar de almacenamiento del producto en investigación hasta la sala donde se administrará. Ésta se introducirá en un equipo complementario y se sellará. A continuación, se colocará el kit en una bolsa sellable para materiales biopeligrosos para su transporte. Los envases se etiquetarán con un símbolo de riesgo biológico.

Se aplicarán medidas de bioseguridad de acuerdo con las normas para el nivel 1 (BSL-1) utilizando una técnica aséptica estándar, en una cabina de bioseguridad con protección contra salpicaduras, en una sala limpia.

Todas las superficies se descontaminarán con hipoclorito sódico al 1 % durante 10 minutos. Al finalizar este tiempo de contacto, podrá limpiarse la zona de acuerdo con los procedimientos habituales del centro.

El personal del centro y todos los que estén presentes durante la preparación (descongelación) y la administración deben llevar un equipo de protección personal (EPP) estándar para la manipulación de los agentes del grupo de riesgo 1 según se describe en el manual de farmacia. Se recomienda batas (preferiblemente desechables), guantes de quimioterapia, cubrezapatos, cubrepelo y, en caso de vertido, mascarilla facial, protección ocular y protección respiratoria.

Los consumibles utilizados en la preparación y administración del OMG que puedan haber estado en contacto con LY3884961 se descontaminarán antes de su eliminación como residuos biopeligrosos (mediante autoclave o tratamiento con hipoclorito sódico al 1 %) o se incinerarán. Los residuos líquidos se descontaminarán con hipoclorito sódico al 1 % o mediante autoclave.

En el centro, el transporte de muestras de los pacientes dentro de un mismo edificio se llevará a cabo conforme a la práctica local del centro para el transporte de material biopeligroso y al manual de laboratorio del estudio. Los recipientes usados para la transferencia deberán estar adecuadamente etiquetados con identificación del contenido y las superficies deberán descontaminarse antes de salir de cada sala.

Para el transporte de muestras de pacientes entre el domicilio y el centro sanitario, podrán usarse bolsas sellables de plástico, tubos con tapón de rosca o recipientes de plástico con un sistema de cierre. Además, las muestras irán en un recipiente exterior rígido, opaco (es decir, protegido de la luz), a prueba de fugas, a prueba de derrames y cerrado, conforme a los requisitos locales para el transporte de materiales biopeligrosos. Se usarán materiales absorbentes entre las capas de acondicionamiento para absorber todas las sustancias infecciosas en caso de producirse una fuga. La bolsa para el transporte del recipiente se etiquetará con la mención “Contiene organismos modificados genéticamente” y se colocará una pegatina con el símbolo de riesgo biológico, y estará etiquetada de modo que el remitente, el destinatario y el contenido del embalaje sean claramente identificables.

Los residuos de muestras generados en los domicilios de los pacientes se trasladarán a los centros hospitalarios para su tratamiento y eliminación como residuos bio-peligrosos. Los residuos de material utilizados en domicilio serán transferidos a los centros en contenedor de seguridad para deshechos



identificado como material biopeligroso. Se utilizará material absorbente para cubrir las superficies cuando se obtengan o empaqueten las muestras.

Se dará información al paciente para evitar la diseminación del OMG.

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), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 5 de octubre de 2022