



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/20/17)

### **Título del ensayo**

Estudio de fase I/II de dosis ascendente para evaluar la seguridad y los efectos en los niveles de progranulina de PR006A en pacientes con demencia frontotemporal con mutaciones de progranulina (DFT-GRN), del promotor de la empresa Prevail Therapeutics, Inc.

### **Características del ensayo**

El promotor propone un período de liberación de marzo de 2021 hasta septiembre de 2027.

Un neurocirujano o radiólogo intervencionista administrará una única dosis de PR006A en la cisterna magna (en el interior de la cisterna magna, ICM) mediante inyección suboccipital guiada por la imagen, a una dosis de  $3,5 \times 10^{13}$  gv,  $7,0 \times 10^{13}$  gv o  $1,4 \times 10^{14}$  gv (correspondientes a  $2,7 \times 10^{10}$  gv/g de peso cerebral,  $5,4 \times 10^{10}$  gv/g de peso cerebral y  $1,08 \times 10^{11}$  gv/g de peso cerebral, suponiendo el peso cerebral en adultos de 1,3 kg).

La excreción vírica se evaluará en muestras de saliva, orina y heces los días -1 (inicio) y 14, y los meses 1, 2, 3 y 6.

En el ensayo participarán el Hospital Universitario de Donostia y el Hospital Clinic de Barcelona.

### **Organismo Genéticamente Modificado**

El OMG, PR006A, es un virus adenoasociado no replicativo derivado de AAV9 que contiene el gen que codifica la GRN humana cuyo el producto génico es la progranulina.

Todos los genes víricos se han eliminado y se han sustituido por un casete de expresión que contiene una versión del gen GRN con codones optimizados, entre las regiones ITR procedentes de AAV2.

PR006A se obtiene por transfección de células de riñón embrionario humano (HEK293) con tres plásmidos: un plásmido que porta los genes *rep* del AAV2 y *cap* del AAV9, un plásmido auxiliar que aporta los genes que codifican para las proteínas auxiliares de adenovirus para la replicación y el empaquetamiento eficientes del vector (que carece de los genes estructurales y de replicación adenovíricos esenciales para la generación de adenovirus) y un plásmido que contiene la casete de expresión del GRN humano.

### **Identificación de riesgos potenciales**

#### **Virus contaminantes competentes en replicación**

La presencia de AAV infecciosos con capacidad de replicación (AAVcr) y de AAV tipo silvestre (AAVn) se analizan mediante un análisis de amplificación de la infección. Se analiza una muestra del principio activo.

Para que se formen partículas con capacidad de replicación, tanto los genes *rep* como los *cap* deben quedar empaquetados en la misma partícula. Por tanto, si existe un AAV con capacidad de replicación, se amplificarán ambos genes y ambos serían detectables. La presencia de uno de ellos



confirma la presencia de AAVcr. Si el gen *rep* o *cap* no es detectable, se confirma la ausencia de AAVcr.

Por tanto, un resultado negativo en el análisis dirigido al gen *cap* es concluyente en cuanto a la ausencia de AAVcr y el análisis adicional del gen *rep* sería repetitivo.

El criterio de liberación es “ninguno detectado con LdD notificado”. No se pudo detectar AAVcr en  $1 \times 10^{10}$  DRP (partículas resistentes a DNAsas) con un Límite de detección de 10 unidades infecciosas.

### Estabilidad

El virus adenoasociado es un 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 genovares del AAV. Por lo general, el grado de conservación de la secuencia génica del gen *rep* es mayor que el de *cap*, si bien suele ser  $>90\%$  y  $>80\%$ , respectivamente.

Además, el AAV utiliza las ADN polimerasas del huésped para la replicación viral, que se caracterizan por una polimerización de ADN de alta fidelidad y una actividad de exonucleasa de corrección adicional que conduce a una tasa de error de replicación del ADN muy baja.

Se cree que se ha producido recombinación homóloga entre los serotipos AAV2 y AAV3, a tenor de un análisis filogenético del virus híbrido AAV2/3; sin embargo, esta no se ha observado en otros serotipos, lo cual respalda que únicamente en la circunstancia presumiblemente rara de que una célula sea infectada de manera simultánea por dos serotipos diferentes de AAV y un virus colaborador (infección triple) se darían las condiciones adecuadas para que se produjera tal recombinación.

Se espera que PR006A también sea genéticamente estable. Además, cada lote del medicamento PR006A cuyo uso está previsto en este ensayo clínico está sujeto a análisis, entre otros:

- Identidad del genoma del vector: se determina mediante purificación del ADN del vector encapsidado, seguido de construcción de genotecas y secuenciación. La secuencia de ADN debe coincidir con la secuencia esperada para la liberación del fármaco.
- Identidad de la cápside del vector: se analiza mediante Western Blot con anticuerpos específicos frente a VP1, 2 y 3 de AAV. El resultado debe ser positivo para las proteínas de la cápside del AAV.

Hasta el momento, no se han detectado desviaciones con respecto a los valores esperados.

### Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

La excreción del vector se evaluó en heces y orina en el estudio PRV-2018-028 realizado en primates no humanos. Se administraron dosis de PR006A de  $6,5 \times 10^9$  o  $6,5 \times 10^{10}$  gv/g de peso cerebral mediante inyección en el interior de la cisterna magna (ICM).

La detección de partículas excretadas se realizó mediante un análisis qPCR específico para el producto PR006A. El límite inferior de cuantificación fue de 50 copias vectoriales/ADN  $\mu$ l (extraído de 150  $\mu$ l de orina o 100 mg de heces). El límite de detección se determina estadísticamente como 8,73 copias/5 $\mu$ l.

No hubo ADN de PR006A detectable en ninguno de los grupos de tratamiento en ninguno de los puntos temporales de la necropsia (D30, D183).

En el estudio para el que se solicita la autorización, la excreción se evaluará mediante el mismo análisis qPCR que el utilizado en el estudio en primates no humanos. La evaluación de la seguridad y



la eficacia se llevarán a cabo durante todo el ensayo clínico. La excreción vírica se evaluará en muestras de saliva, orina y heces los días -1 (inicio) y 14, y los meses 1, 2, 3 y 6.

Dado que PR006A se administrará en condiciones controladas mediante una única inyección, la vía más probable de dispersión biológica es la excreción. Sin embargo, los análisis de excreción basados en qPCR detectan copias del genoma, no partículas víricas encapsidadas y, por tanto, no reflejan la presencia de partículas infecciosas. Además, incluso si el vector fuera infeccioso, no se espera que la exposición a la cantidad de vector presumiblemente excretada provoque un nivel de transducción de relevancia biológica. Esta suposición se basa en que la cantidad de vector excretado se prevé que sea varios órdenes de magnitud inferior a la dosis mínima eficaz y en que la administración efectiva es por vía intracraneal. Asimismo, la escasa cantidad de partículas del vector quedaría inactivada por el sistema de defensa de la piel frente a los virus y su función como barrera física contra las infecciones. Por tanto, no se espera que la reducida cantidad de vector que se pudiera excretar durante un breve período de tiempo vaya a representar un problema para la seguridad de la población general ni para el medio ambiente.

#### **-Manipulación, control y tratamiento de residuos**

El producto se almacenará en cada centro hospitalario en un área de acceso restringido.

El personal debe utilizar batas, preferiblemente desechables, guantes de quimioterapia, cubre zapatos, gorros para el pelo y, en el caso de derrames, mascarilla facial, protección ocular y protección respiratoria).

El transporte del producto se reducirá al mínimo. La jeringa preparada se transportará desde el lugar de preparación hasta la sala donde se administrará. Después de la preparación de la jeringa, esta se coloca en un kit suplementario y se sella. El kit se coloca en el interior de una bolsa con cierre hermético para material de riesgo biológico para el transporte. Los envases se etiquetarán con un símbolo de riesgo biológico.

Toda superficie contaminada se descontaminará utilizando un agente viricida adecuado, por ejemplo, una dilución de lejía 1:10 durante 10 minutos. Una vez transcurrido este tiempo de contacto, la zona puede limpiarse de acuerdo con los procedimientos hospitalarios.

Los materiales desechables utilizados en la preparación y administración del OMG que puedan haber estado en contacto con PR006A se eliminarán como residuos biopeligrosos.

Los viales usados, sin usar o parcialmente usados se destruirán en el centro como residuos de riesgo biológico. Si se decide que los viales sin usar deben devolverse al promotor se colocarán nuevamente en su embalaje original y seguro. Se deberá garantizar que los viales se han embalado protegidos contra roturas y fugas.

Se solicitará a los pacientes que mantengan buenas prácticas de higiene antes y después de recibir el medicamento del estudio. Por ejemplo, lavarse las manos después de usar el baño, antes de comer, después de sonarse la nariz, toser, etc. con el fin de limitar el contacto con otras personas.

**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 de los mismos 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 23 de noviembre de 2020