



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/19)

Título del ensayo clínico

Estudio abierto, de dos partes, de administración génica sistémica, para evaluar la seguridad y la expresión de RO7494222 (SRP 9001) en sujetos menores de cuatro años con distrofia muscular de Duchenne.

Características del organismo modificado genéticamente

SRP-9001 es un virus adenoasociado, derivado del serotipo rh74, no replicativo, que contiene un gen de la microdistrofina humana bajo el control del promotor/potenciador MHCK7, que se ha optimizado para impulsar su expresión en el músculo cardíaco y esquelético (derivado de elementos promotores y potenciadores del gen de la creatina-cinasa muscular (CPKM) y un potenciador del gen de la cadena pesada de la α -miosina (α MHC)). El genoma del vector contiene los elementos mínimos necesarios para la expresión génica, incluyendo repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV2, el gen de la microdistrofina, un intrón SV40 (SD/SA) y una señal sintética de poliadenilación (Poly A), todos bajo el control del promotor/potenciador MHCK7.

SRP-9001 se fabrica mediante transfección transitoria de células de mamíferos, células adherentes de la línea celular de riñón embrionario humano (HEK293).

Características del ensayo

La duración prevista de este estudio es de octubre 2022 a diciembre 2032.

En el ensayo participará el Hospital Sant Joan de Deu de Barcelona. SRP-9001, se administrará a lo largo de aproximadamente 1-2 horas en una vena periférica de una extremidad a los pacientes con una dosis única de $1,33 \times 10^{14}$ gv/kg para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. Se reclutarán unos 21 pacientes en distintos países para los estudios clínicos fundamentales.

Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Ausencia de formación de virus con capacidad de replicación

Como parte de la estrategia general de pruebas de la seguridad, de cada lote de producción se analiza una muestra para detectar la presencia de virus competentes para la replicación (rcVAA) que pudieran surgir durante el proceso de producción.

Se utiliza un ensayo que consiste en pase por células HEK293 en presencia y ausencia de Ad5 y amplificación mediante qPCR de la secuencia de CAP del VAArh74, seguido de la detección del ADN de CAPrh74 del rcVAA mediante PCRC.

La especificación para el medicamento es “Negativo”, lo que significa que el producto no es competente para la replicación.

-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).

Se analiza en el producto final la estabilidad genética mediante secuenciación como por el método de Sanger siendo el criterio de aceptación que el ADN coincida con la secuencia esperada a excepción de los ITR. Los lotes analizados confirman la identidad de la secuencia.

-Biodistribución y diseminación

La biodistribución de SRP-9001 se ha evaluado en estudios en ratones y ratas. Los datos disponibles de estos estudios han confirmado la presencia en músculo esquelético, corazón e hígado, con números de copias del vector menores en otros tejidos no diana. La biodistribución es por lo general similar en ratones y ratas, así como en primates no humanos. La biodistribución en células no musculares no debe resultar en la expresión del transgén, dado el uso de un promotor esquelético y cardíaco específico.

Hay un estudio clínico SRP-9001-103 en marcha y todavía se están recogiendo muestras en todos los pacientes para estudio de la eliminación del vector. Aunque aún no se dispone del informe final, sí se dispone de sus resultados preliminares. En función de la dosis terapéutica de 1.33×10^{14} gv/kg, los datos preliminares han mostrado una disminución rápida y significativa de las cantidades de DNA del genoma del vector (medidas como copias de genoma del vector por ml), siendo de un 99% en las muestras analizadas de saliva, orina y heces.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Los viales llegarán en una caja de transporte rígida dentro de una bolsa de plástico sellada.

La preparación correrá a cargo del farmacéutico del centro.

El producto en investigación se transportará a la sala de infusión en bolsa. Como mínimo el producto en investigación se debe introducir en una bolsa con cierre hermético que luego se colocará dentro de una segunda bolsa con cierre, posteriormente se colocará en un contenedor resistente a derrames marcado con un símbolo de riesgo biológico.

Durante el ensayo el personal utilizará guantes (se valorará la posibilidad de usar guantes dobles), gafas de seguridad, bata desechable, EPI adecuado para la protección de los antebrazos, como manguitos o asegurar los guantes sobre los manguitos de la bata de laboratorio.

Tras la administración a los pacientes, la sala de intervención se desinfectará según el Manual de Farmacia que proporciona el promotor y las normas habituales del centro hospitalario. Todos los materiales utilizados para la preparación que entren en contacto con el OMG se sellarán en contenedores homologados estancos, para su eliminación como residuos biológicos peligrosos.

Las muestras de los pacientes se analizarán en un laboratorio central fuera de España.

Se darán instrucciones a los familiares de los pacientes para que eviten 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.

La CNB recuerda que si se transportan muestras de pacientes dentro de los centros hospitalarios se deberá utilizar un contenedor hermético para evitar derrames accidentales. Además, los laboratorios que analicen muestras de pacientes en los centros hospitalarios deberán aplicar medidas de bioseguridad para riesgo biológico de tipo 2.

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 7 de octubre de 2022