



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/25/18)

Título del ensayo

Estudio de Fase 1/2, abierto, multicéntrico, para la determinación y expansión de dosis para investigar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de la terapia génica ALXN2350 en participantes adultos con miocardiopatía dilatada relacionada con la mutación BAG3, del promotor Alexion Pharmaceuticals, Inc.

Características del ensayo

ALXN2350 se administrará mediante una única infusión intravenosa.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario Puerta de Hierro y Hospital Universitario Vall d'Hebron.

Organismo modificado genéticamente

El OMG, ALXN2350, es un virus adenoasociado del serotipo 9 (AAV9) que administra un transgén, BAG3, al corazón. El transgén BAG3, con optimización codónica, está bajo el control transcripcional de un promotor cardíaco de gallina.

BAG3 es una proteína multifuncional que se expresa de forma ubicua y resulta especialmente importante en el músculo cardíaco, el músculo esquelético, el cerebro y muchos tipos de cáncer. Respaldar la autofagia de proteínas mal plegadas y orgánulos dañados, inhibe la apoptosis, mantiene la homeostasis de las mitocondrias y facilita el acoplamiento de excitación y contracción a través del canal de calcio de tipo L y el receptor adrenérgico β . Los niveles altos de BAG3 se asocian a insensibilidad a la quimioterapia en células malignas, mientras que tanto la pérdida de función como las variantes de ganancia de función se asocian a miocardiopatía.

La secuencia de ADN del transgén ALXN2350 codifica la secuencia canónica de la proteína BAG3 humana de tipo natural y longitud completa, y su expresión en el corazón compensa la deficiencia de BAG3 debida a mutaciones de BAG3 causantes de enfermedades.

ALXN2350 se fabrica mediante transfección transitoria de células HEK293 con tres plásmidos (plásmido que contienen el transgén, plásmido que codifica *rep/cap* de AAV y un plásmido auxiliar que contiene las secuencias necesarias de un adenovirus para la replicación y el empaquetamiento del vector).

La producción de ALXN2350 se realizó en la línea celular Pro10™.

El banco celular maestro (MCB) se sometió a pruebas de identidad, esterilidad, micoplasma, virus adventicios y retrovirus, y todos los resultados de las pruebas cumplieron los criterios de aceptación. En concreto, el MCB se analizó mediante PCR para detectar AAV natural de tipos 1-4, 6-10 y 13, y todos los resultados han sido negativos.



El banco celular de trabajo se sometió a pruebas de identidad, esterilidad, micoplasma y virus adventicios.

Evaluación del riesgo

-Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación (RCV).

El AAV solo puede replicarse en cultivos celulares tras la coinfección por un virus auxiliar, normalmente un adenovirus o un herpesvirus. En ausencia de virus auxiliares, las partículas víricas de AAV pueden penetrar en el núcleo celular donde las secuencias víricas pueden persistir de forma episomal. Al igual que los adenovirus, los genes víricos pueden eliminarse en el intento por optimizar un vector. Los vectores de AAV recombinantes como ALXN2350 conservan las secuencias ITR víricas, pero no contienen genes de AAV en el plásmido transgénico. No hay genes *rep*, *cap* ni auxiliares en la secuencia de ADN del transgén destinada al empaquetamiento. Aunque los genes víricos se eliminan de la carga útil de AAV prevista y del plásmido transgénico, los genes *rep* y *cap* están presentes en plásmido que los codifica en la transfección triple y cabe la posibilidad de que estos genes se empaqueten en AAV en caso de un evento de recombinación. Estos eventos de recombinación tienen la capacidad de generar AAV competentes para la replicación (rcAAV).

Se realiza un ensayo celular para cuantificar los posibles rcAAV generados durante la fabricación a fin de ayudar a garantizar la seguridad del principio activo. La especificación del control de la calidad del principio activo ALXN2350 incluye este ensayo como parte del grupo de pruebas para su liberación.

El ensayo consta de dos partes, un método celular seguido de amplificación y detección mediante PCR en tiempo real para amplificar *rep* de AAV2.

Se determina el límite de detección para cada análisis qPCR y el criterio de aceptación para la liberación de los lotes.

-Estabilidad

El AAV ALXN2350 se genera mediante la transfección transitoria de una estirpe celular de producción utilizando plásmidos secuenciados y completamente caracterizados. La producción del vector durante el proceso de fabricación depende de la ADN polimerasa de la célula hospedadora, que se caracteriza por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad exonucleasa de corrección adicional, lo que da lugar a una tasa de error de replicación del ADN muy baja.

Se analizará la identidad genómica del vector ALXN2350 mediante secuencia de nueva generación (NGS por sus siglas en inglés) y mediante un ensayo de qPCR con cebador específico para el transgén BAG3 para la liberación de los lotes de principio activo y de producto final.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

No hay experiencia de exposición humana con diseminación vírica de ALXN2350. En el estudio clínico planificado ALXN2350-DCM-201, la cinética de diseminación, incluido el tiempo hasta la eliminación, en sangre completa, heces, semen, saliva y orina se evaluará mediante análisis qPCR. Las muestras se recogerán en distintos momentos del ensayo. La recogida de cada tipo de muestra se detendrá cuando se observen al menos 3 resultados negativos consecutivos.

La biodistribución y la diseminación de ALXN2350 se evaluaron después de una única inyección intravenosa a macacos en un estudio conforme a las BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio).



Las muestras se analizaron en busca de ADN de ALXN2350 utilizando un método de qPCR validado para la diseminación vírica. El ensayo es específico para el ADN transgénico del vector. Las concentraciones de ADN más altas se observaron en la matriz de sangre completa. En general, se observó una relación dependiente de la dosis para la diseminación del vector.

En ensayos clínicos con otros vectores clínicos derivados de AAV con los que ALXN2350 comparte la misma cápside y vía de administración intravenosa, se ha observado diseminación en la orina, la saliva y las heces, fundamentalmente, de los pacientes.

Sobre la base del estudio en animales y el resultado de la diseminación de estos vectores clínicos, cabe esperar una diseminación similar en los participantes del ensayo clínico previsto.

Medidas de control

La preparación del medicamento en investigación la llevará a cabo personal cualificado con formación en la preparación aséptica de productos parenterales de acuerdo con las instrucciones del promotor proporcionadas en el manual de farmacia. La preparación debe llevarse a cabo en una cabina de bioseguridad de clase II o superior.

El lugar de administración al paciente se limpiará de acuerdo con los métodos de limpieza habituales para la manipulación de materiales de riesgo biológico y de acuerdo con los procedimientos que rigen la limpieza y la descontaminación de las salas de aislamiento en los centros.

El personal llevará equipos de protección individual (EPI) en todo momento cuando manipule el medicamento en investigación. Los EPI incluyen bata de laboratorio o bata impermeable, gafas de seguridad y guantes de protección.

El material/equipo no desechable se descontaminará mediante esterilización por autoclave o utilizando un desinfectante validado adecuado.

En caso de vertido accidental durante la preparación de la dosis o durante la administración al paciente, la descontaminación/limpieza de los materiales, superficies y zonas potencialmente contaminados se llevará a cabo de acuerdo con la ficha de datos de seguridad, así como con los procedimientos del centro.

El medicamento en investigación no utilizado debe devolverse o destruirse según el procedimiento del centro. Los centros que puedan destruir deben hacerlo de acuerdo con los procedimientos habituales para la eliminación de residuos biopeligrosos. Los centros que no puedan destruirlo podrán devolverlo al promotor, de acuerdo con el manual de farmacia.

Todos los consumibles utilizados en la preparación del medicamento en investigación son de un solo uso y se eliminarán como residuos biopeligrosos tras la preparación, siguiendo los procedimientos de eliminación de residuos clínicos del centro. Esto incluye todos los EPI, jeringas, agujas y viales.

Se proporcionarán instrucciones a los participantes, las familias y los cuidadores sobre el uso de guantes protectores en caso de contacto directo con líquidos corporales o desechos de los participantes, así como sobre la buena higiene de las manos durante un mínimo de cuatro semanas después de la inyección.

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 10 de julio de 2025