



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENO-ASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (GT005) (Notificación B/ES/19/24)

Título del ensayo

Estudio de fase II, con enmascaramiento para el evaluador de los resultados, multicéntrico y aleatorizado para evaluar la seguridad y la eficacia de dos dosis del virus adeno-asociado (VAA) GT005 administradas en una única inyección subretiniana en sujetos con atrofia geográfica secundaria a la degeneración macular relacionada con la edad, de la empresa Gyroscope Therapeutics Limited.

Características del ensayo

La finalidad del ensayo es el tratamiento de la degeneración macular atrófica relacionada con la edad (DMRE) asociada a variantes genéticas raras del gen del FIC.

La DMRE es una enfermedad progresiva produce una zona borrosa o una mancha blanca en el centro de la visión y es la principal causa de ceguera entre las personas de 55 o más años en el mundo occidental. Se han identificado variantes frecuentes y raras asociadas a un mayor riesgo de DMRE, de las que cuatro son proteínas del complemento que intervienen en la vía alternativa: FHC (factor H del complemento), FIC, factor B del complemento y C3. Estos resultados indican que existe una correlación entre las mutaciones de estos genes y la probabilidad de desarrollar DMRE. En otro estudio se confirmaron estos resultados y se demostró, además, que la población con FIC «haploinsuficiente», caracterizada por presentar concentraciones séricas bajas de FIC asociadas a la presencia de variantes genéticas raras del FIC, se asocia a un riesgo mucho mayor de aparición de DMRE avanzada, lo que refuerza la función del FIC en la fisiopatología de la DMRE.

El período propuesto para la liberación es de marzo de 2020 a julio de 2021.

En el ensayo participarán el Servicio de Oncología de la Clínica Universidad de Navarra, y el Instituto de Microcirugía Ocular de Barcelona.

Los pacientes serán tratados con una inyección sub-retiniana única de GT005 a una concentración de 2×10^{10} ó 2×10^{11} genomas virales.

La observación de los pacientes se realizará mediante vigilancia posterior a la administración. Se hará un seguimiento de los sujetos durante 48 semanas después de la administración. Todos los pacientes serán incluidos en un ensayo clínico específico para el seguimiento a largo plazo.

Características del organismo modificado genéticamente (OMG)

GT005 es un OMG derivado del virus adeno-asociado de serotipo 2, recombinante y no replicativo que contiene un casete de expresión para un factor de complemento endógeno, FIC.

GT005 se produce transfectando células de riñón embrionario humano 293 (HEK293) con tres tipos de plásmidos:

- Plásmido de transferencia que contiene el casete de expresión del FIC flanqueado por las repeticiones terminales invertidas del virus (ITR).
- Plásmido de empaquetamiento del VAA que contiene los genes *rep* y *cap* de VAA2 que codifican proteínas no estructurales y estructurales, respectivamente.



- c. Plásmido auxiliar de adenovirus, que codifica los genes del adenovirus tipo 2 E2A, E4 y ARN necesarios para la replicación del VAA en células HEK-293.

Identificación de riesgos potenciales

-Estabilidad genética.

Los virus adeno-asociados contienen un genoma lineal de DNA monocatenario. En general, los virus ADN presentan mayor estabilidad genética que los virus ARN. Por otra parte, GT005 no puede replicarse, ni siquiera en presencia de un virus auxiliar, ya que se han eliminado los genes indispensables para la replicación. Las modificaciones genéticas introducidas para generar GT005 no alteran la estabilidad del vector vírico en comparación con el VAA2 de tipo silvestre. Por consiguiente, cabe esperar que la estabilidad sea equivalente a la del VAA de tipo silvestre.

Cada lote de GT005 se secuenció para confirmar que el ADN coincide con la secuencia prevista en los plásmidos. En conjunto, la secuenciación del ADN confirma la ausencia de modificaciones no deseadas de las secuencias en los plásmidos y en el vector vírico.

-Patogenicidad.

La gama de hospedadores, la especificidad tisular y el tropismo del VAA están determinados por la cápside. La cápside de GT005 está compuesta de las mismas proteínas que la del VAA2 de tipo silvestre, por lo que la gama de hospedadores y el tropismo del vector GT005 y del VAA2 de tipo silvestre son los mismos.

La infección por VAA es asintomática; no se ha demostrado que cause ninguna enfermedad apreciable. Además, GT005 carece de los genes *rep* y *cap* presentes en el VAA2 de tipo silvestre, por lo que el vector carece de capacidad de replicación. Incluso en presencia de un virus auxiliar, el genoma del vector GT005 no se replicará ni se formarán cápsides.

En lo que respecta a la biodistribución, tras la inyección subretiniana no cabe esperar exposición sistémica y no se prevé que el transgén se exprese, excepto en tejidos que están expuestos al virus y presentan los componentes necesarios para expresar la proteína FIC. La retina es una fuente de proteína FIC, es decir, el transgén se expresa en un entorno natural. Por tanto, no se prevén respuestas adversas locales a la expresión del FIC mediada por el OMG.

-Genotoxicidad.

El riesgo de mutagénesis por inserción causada por la integración del genoma del VAA en el genoma de las células hospedadora de las células infectadas se considera insignificante. No se ha descrito relación causal documentada entre la infección por VAA y las neoplasias malignas en seres humanos. Recientemente, se ha observado integración clonal del VAA2 de tipo silvestre en genes causantes de cáncer conocidos en 11 de 193 (<6 %) carcinomas hepatocelulares (CHC) humanos, lo que indica una posible actuación del VAA2 de tipo silvestre en la carcinogenicidad hepática mediante mutagénesis por inserción en seres humanos. Sin embargo, en un análisis similar realizado por Park (2016) se observó ADN de VAA2 en tejido tumoral de tan solo 2 de 289 pacientes con CHC (<1 %). Por tanto, actualmente, la correlación entre VAA2 y CHC es incierta y se considera, a lo sumo, un acontecimiento raro. En todo caso, GT005 presenta un riesgo de integración genómica similar al del VAA.



-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de partículas competentes para la replicación.

El vector GT005 carece de capacidad de replicación incluso en presencia de una infección por un virus auxiliar, pero, en teoría, pueden formarse virus con capacidad replicativa durante la producción del OMG, aunque se prevé que el riesgo sea insignificante. En caso de que se forme un VAA con capacidad de replicación, no cabe esperar que origine síntomas patológicos o de enfermedades, ya que la infección por VAA es asintomática.

-Transferencia génica.

El OMG es incapaz de replicarse. Las modificaciones genéticas no afectan su tropismo por el huésped ni el tropismo tisular naturales. No se prevé que se produzca transferencia de material genético entre el OMG y otros organismos.

Por tanto, la transferencia de material genético se limitaría, teóricamente, al intercambio genético de ADN mediante recombinación homóloga con el VAA de tipo silvestre, lo que solo podría producirse si las células humanas se infectaran simultáneamente con el VAA de tipo silvestre y GT005, en presencia de un virus cooperador.

Se espera que esta situación se dé en raras ocasiones y, de producirse, únicamente provocaría la producción de VAA de tipo silvestre y partículas GT005 (que tampoco presentarían los genes *rep* and *cap* y, por lo tanto, no serían replicativas).

El ADN del VAA de tipo silvestre y de vectores basados en VAA persiste en las células transducidas en forma de concatémeros episómicos circulares (extracromosómicos). Debido a la carencia de los genes víricos *rep* y *cap*, se espera que GT005 permanezca en las células en forma de episomas y no se replicará ni producirá partículas víricas.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Se han obtenido datos sobre la biodistribución de GT005 como parte del estudio de toxicología en primates no humanos (PNH). Se determinó el número de copias de GT005 en humor acuoso, corazón, riñón, hígado, pulmón, quiasma óptico, nervio óptico, cintilla óptica, ovario, retina, EPR y coroides en el lugar de administración y fuera de este, muestras de bazo, testículos y humor vítreo, 183 días después de la administración en dos grupos de dosis.

En los dos grupos de dosis el patrón de biodistribución fue similar, detectándose concentraciones más altas en el lugar de administración. Aparte del lugar de administración, las concentraciones de GT005 fueron similares en los grupos de dosis baja y alta. Las muestras en bazo mostraron concentraciones esporádicas y relativamente bajas de GT005, mientras que las muestras de corazón, riñón, hígado, pulmón, ovario y testículos presentaron resultados por debajo del límite de detección, lo que indica ausencia de diseminación o biodistribución sostenida y sistémica del vector 183 días después de una inyección única sub-retiniana.

Teniendo en cuenta la posible presencia del OMG en las lágrimas de los pacientes, deberán pasar la noche en el hospital tras la administración de GT005. El ojo del paciente estará cubierto con apósito quirúrgico una vez que se administre el producto. El apósito se eliminará como desecho biopeligroso. Además, se aconsejará a los pacientes que eviten tocarse los ojos y que mantengan medidas de higiene básicas como el lavado de manos.

La diseminación del VAA se produce principalmente a través de las vías respiratorias, aunque se ha planteado la hipótesis de la transmisión sexual, por lo que se indicará a los sujetos incluidos en el



ensayo clínico que utilicen dos métodos anticonceptivos, uno de los cuales será un método de barrera, durante 90 días después de la administración, si procede.

-Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

La posibilidad de diseminación involuntaria en el ambiente se considera baja. La transmisión de GT005 a un receptor humano no deseado muy probablemente sea aislada, ya que el producto se administrará a un número limitado de personas y será manipulado por un número reducido de profesionales sanitarios en un entorno hospitalario.

GT005 carece de capacidad de replicación, incluso en presencia de un virus auxiliar, ya que carece de los genes *rep* y *cap* necesarios para el rescate/empaquetamiento. Por consiguiente, la probabilidad de que GT005 se vuelva persistente o invasivo es insignificante.

No cabe esperar que ninguna de las modificaciones genéticas introducidas durante la construcción de GT005 permita la transferencia o el mantenimiento del material genético en el medio ambiente (fuera de su especie hospedadora) ni afecte a la sensibilidad a agentes inactivadores o la capacidad de supervivencia. Por tanto, el riesgo de interacciones con organismos no diana se considera insignificante.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Todo el personal implicado del centro recibirá formación sobre las prácticas correctas de bioseguridad que se aplicarán durante la descongelación, el transporte a la sala de administración, las precauciones durante la administración y la eliminación de cualquier residuo biológico. Dicha formación comprende, entre otras cosas, el uso de ropa y guantes protectores, la presencia de material contra derrames y la eliminación de los residuos. Se aplicarán medidas de bioseguridad de nivel 1.

El almacenamiento y la preparación se realizarán en una instalación de acceso restringido hasta la administración a los pacientes. Las precauciones habituales que se aplican en la farmacia del hospital, o en un entorno equivalente, para controlar la exposición a sustancias peligrosas son adecuadas y se aplicarán durante la preparación de GT005. Durante la preparación de GT005, el personal llevará ropa y guantes protectores.

El transporte de GT005 se realizará en doble envase, siendo el externo un envase hermético. GT005 se transportará al quirófano a temperatura ambiente. Una vez recibidos en el quirófano, GT005 y el diluyente se conservarán en sus cajas respectivas a temperatura ambiente. Se administrarán GT005 mediante jeringa para inyección subretiniana directamente en el espacio subretiniano. Los pacientes deberán pasar la noche en el hospital tras la administración de GT005. El ojo del paciente estará cubierto con apósito quirúrgico una vez que se administre el producto. El apósito se eliminará como desecho biopeligroso.

El material desechable que haya estado en contacto con el OMG se eliminará como residuos biopeligrosos. El material no desechable se limpiará con un desinfectante con actividad virucida después de su uso. Las superficies de contacto se desinfectarán, por ejemplo, con lejía de cloro al 10 %, Virkon al 2 % o desinfectante a base de detergente (p. ej., Viricide) según las instrucciones del fabricante.

Tras la administración, la sala de tratamiento se descontaminará con un desinfectante. En caso de derrame, la zona afectada se descontaminará con un desinfectante, como una lejía de cloro al 10 %, Virkon al 2 % o un desinfectante a base de detergente (p. ej., Virucide), según las instrucciones del fabricante.



Se obtendrán muestras de humor vítreo para evaluar los factores del complemento y los biomarcadores de la DMRE durante la intervención quirúrgica, así como 12 y 48 semanas después de la administración. Durante el estudio se obtendrán muestras de sangre para evaluar la seguridad y los biomarcadores de la DMRE.

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 a 19 de febrero de 2020.