



## **EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/25/17)**

### **Título del ensayo**

Ensayo en fase III, aleatorizado, con doble enmascaramiento y controlado con tratamiento activo de una única inyección intravítrea de 4D-150 en adultos con neovascularización macular secundaria a degeneración macular asociada a la edad (4FRONT-2), del promotor Therapeutics, Inc.

### **Características del ensayo clínico**

El medicamento en investigación se administrará mediante una única inyección intravítrea (IVT) por paciente.

El ensayo se realizará en el Institut Catala de Retina S.L., el instituto Miranza Galicia S.L. (Miranza Instituto Gomez-Ulla) y el Hospital Universitario Virgen Macarena.

### **Organismo modificado genéticamente**

El OMG, 4D-150, es un virus adenoasociado que expresa aflibercept (un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A/B Trap) y un micro ARN (miR-(VEGFC)-coAFLB) dirigido a la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular C (VEGF-C). Ambos transgenes están contenidos en un único casete transgénico que se expresa a partir del mismo promotor híbrido. El casete transgénico está flanqueado en sus extremos 5' y 3' por secuencias de repetición terminal invertida (ITR) derivadas del virus adenoasociado de tipo 2 (VAA2).

El VEGF-C favorece la proliferación y migración de las células endoteliales para formar vasos sanguíneos. El VEGF-C favorece la permeabilidad de los vasos y las fugas vasculares, y se ha observado que se regula de forma positiva tras el tratamiento con anti-VEGF en ojos de pacientes con Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) húmeda, por lo que actuar sobre el VEGF-C además de sobre el VEGF-A puede mejorar la eficacia en pacientes con DMAE húmeda.

La proteína aflibercept se une a VEGF-A, VEGF-B y PlGF (factor de crecimiento placentario). Los tratamientos actualmente aprobados para la DMAE húmeda bloquean la señalización a través del VEGF-A. Actuar inhibiendo a VEGF-B y PlGF, además de VEGF-A, puede mejorar la eficacia en pacientes con DMAE húmeda.

El producto 4D-150 se obtiene mediante la cotransfección de tres plásmidos de ADN en células de riñón embrionario humano 293 (HEK293).

La cápside del vector deriva de un VAA2 que ha evolucionado de forma selectiva para dirigirse eficazmente a las células de la retina, incluidos los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR), es idéntica en un 98,5 % a la cápside VAA2 pero presenta una modificación puntual y una inserción.

### **Evaluación del riesgo**

#### **-Demostración de la ausencia de formación de virus competentes para la replicación**

La metodología de la detección de VAA competentes para la replicación (VAArc) es un ensayo *in vitro* que incluye la expansión del VAArc en células con controles positivos y no infectados, la preparación de muestras de PCR y la QF-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa Cuantitativa



Fluorescente,) con cebadores y sondas dirigidos a la región diana Rep2. La ejecución de la cualificación incluyó a diferentes operadores durante diferentes días para mayor solidez. La cualificación del método incluyó el límite de detección (LD) del ensayo PCR, la linealidad, la precisión (repetibilidad, precisión de intermediación), la especificidad y el límite de detección (LD) para la diana Rep2.

Los resultados se comunican como prueba límite con niveles de VAArc por encima o por debajo del límite de detección.

### **-Estabilidad**

En general, los virus de ADN tienen mayor estabilidad genética que los virus de ARN. El ADN es más estable termodinámicamente que el ARN y la replicación del ADN es un proceso menos propenso a errores que la replicación del ARN. La estabilidad genética de 4D-150 está avalada por la producción en condiciones de Buenas Prácticas de Fabricación y verificada mediante pruebas de pureza, potencia y composición. La estabilidad genética se demostró a tres niveles: estabilidad de la secuencia del genoma del vector, estabilidad indicada por la producción de proteínas funcionales *in vitro* y estabilidad indicada por la producción de proteínas funcionales *in vivo*.

La secuenciación del ADN del 4D-150 demostró que la integridad del genoma del vector se mantenía al final del proceso de fabricación. Un ensayo de potencia celular verificó que el 4D-150 produce aflibercept funcional y miARN dirigido al VEGF-C *in vitro*, y da lugar a la correspondiente reducción dependiente de la dosis de los transcritos y la proteína del VEGF-C en un ensayo celular. Se ha demostrado la expresión funcional de la proteína aflibercept y miRNA *in vivo* en el humor acuoso, humor vítreo y tejidos retina-coroides de primates no humanos (PNH) inyectados con 4D-150.

### **-Biodistribución y diseminación**

Los vectores VAA pueden diseminarse a través de la sangre, las heces, el semen y la orina. La cantidad de vector que se disemina depende de la dosis y disminuye gradualmente con el tiempo, en parte porque el paciente desarrolla anticuerpos neutralizantes contra la cápside. En un ensayo clínico con un vector basado en VAA2/5, el vector se eliminó a través del semen, la saliva y las heces durante varias semanas. Sin embargo, cuando se encuentra ADN del vector en fluidos o tejidos corporales, por ejemplo, mediante análisis PCR, esto no significa necesariamente que el vector sea infeccioso. Los vectores VAA diseminados al medio ambiente no son replicativos y no se propagarán. Por lo tanto, se considera que los riesgos medioambientales resultantes de la diseminación del vector VAA son insignificantes.

Se evaluó la diseminación en muestras de sangre completa, lágrimas, saliva, fecal, nasal, orina y semen en el contexto de un estudio de toxicología y biodistribución en primates no humanos machos a dosis más altas con productos en investigación basados en VAA con la misma cápside que 4D-150, utilizando un método sensible basado en qPCR capaz de detectar específicamente el ADN del vector a 10 copias por muestra.

Se detectó diseminación en pequeña medida en cada una de las diferentes muestras en los primeros momentos, pero los niveles de ADN disminuyeron rápidamente y no se detectaron en ningún tipo de muestra en la semana 26.

Dada la naturaleza de la administración del producto (intravítrea) y los niveles transitorios/bajos de diseminación previstos, el riesgo de exposición no intencionada a 4D-150 en humanos y otras biotas es mínimo.



Después de la administración de 4D-150, es bastante raro cubrir el ojo del paciente con un apósito. No obstante, para abordar estos casos poco frecuentes se recomendará a los pacientes mantener medidas de higiene básicas y eliminar los apósitos o cualquier otro residuo que pueda contener el OMG colocándolos en dos bolsas (doble embolsado) y asegurándose de que no haya fugas.

### **Medidas de control**

Dada la naturaleza no replicativa del organismo modificado genéticamente, la naturaleza del transgén y el hecho de que no se sabe que el organismo parental sea patógeno, son apropiados en el entorno clínico los procedimientos para un nivel 1 de contención biológica NCB-1 o BSL-1 (por sus siglas en inglés).

Se utilizarán como equipos de protección batas de laboratorio, guantes y gafas.

Todos los materiales desechables (incluidos, entre otros, guantes, mascarillas, jeringuillas, agujas y viales) que entren en contacto con el producto en investigación se desecharán como materiales con peligro biológico.

La superficie de trabajo utilizada para la preparación del tratamiento del estudio debe limpiarse con un paño desinfectante o con IPA al 70 %. Todos los demás suministros, como el espéculo con tapa, deben esterilizarse en autoclave o de forma similar.

**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 24 de septiembre de 2025