



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/26/06)

Título del ensayo

Estudio de fase I/II, el primero en humanos, abierto, multicéntrico y con dosis únicas para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia preliminar de NVC-001, un nuevo vector vírico adenoasociado (serotipo 9) que expresa un transgén SUN1 dominante negativo, en pacientes con miocardiopatía dilatada asociada a mutaciones en el gen LMNA, del promotor Nuevocor Pte. Ltd.

Características del ensayo

NVC-001 se introducirá en el paciente por administración directa mediante infusión intravenosa.

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

Se evaluará la excreción del vector de AAV9 en muestras de sangre, orina y saliva únicamente en la parte de la fase II del estudio.

Organismo modificado genéticamente

NVC-001 (AAV9-dnSUN1) es un vector de AAV9 recombinante, sin capacidad para replicarse, que expresa una forma dominante negativa de la proteína SUN1 natural (dnSUN1) bajo el control de un potenciador y un promotor sintético para limitar la expresión en los cardiomiocitos.

El vector se ha derivado del AAV9 natural, un miembro no patógeno de la familia Parvoviridae, mediante técnicas de ADN recombinante.

En el genoma de NVC-001 se han eliminado los genes *rep* y *cap* y se han sustituido por el casete de expresión génica terapéutica. Todos los AAV precisan un virus colaborador, como un adenovirus o el virus del herpes simple, para replicarse. Sin embargo, un AAV recombinante como NVC-001 carece de los genes *rep* y *cap* del AAV natural necesario para que el virus se replique y, por tanto, NVC-001 no puede replicarse.

NVC-001 se produce mediante la transfección transitoria de células HEK293 (Pro10TM) con tres plásmidos que contienen el casete de expresión del transgén, las funciones auxiliares (genes *rep/cap* del AAV2 y el gen *cap* del AAV9) y genes de un adenovirus, necesarios para la producción y el ensamblaje del AAV.

Evaluación del riesgo

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

La detección de la presencia de virus competentes para la replicación se realiza mediante un ensayo *in vitro* estandarizado en el que se evalúa la capacidad de replicación de diferentes concentraciones del AAV modificado genéticamente en presencia de adenovirus. La replicación se evalúa mediante la detección de *rep2* y los genes codificadores de proteínas de la cápside, *cap9*, mediante qPCR tras diferentes rondas de amplificación en células permisivas.

El ensayo ha sido validado, se ha establecido el límite de detección (LD) y el criterio de aceptación (sin replicación, si el resultado está por debajo del LD del ensayo) para la liberación de los lotes.



-Estabilidad

La identidad de la secuencia del genoma de NVC-001 en medio de las RTI del AAV se confirma para cada lote del principio activo mediante la secuenciación de Sanger.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding)

Está ampliamente documentado que los vectores de AAV pueden excretarse a través de los humores corporales, como la saliva, las heces, la orina y el plasma sanguíneo. Normalmente, los vectores de AAV se excretan a través de estos humores durante un período breve (de días a unas pocas semanas) en niveles muy reducidos, hasta que, con el tiempo, resultan indetectables. No se prevé que la carga vírica de estos humores sea tan alta como para poder provocar una expresión génica significativa en los seres humanos que entren en contacto con ellos.

La biodistribución y la excreción del vector NVC-001 se han estudiado como parte del estudio de seguridad y biodistribución conforme a las buenas prácticas de laboratorio (BPL) en ratones sin mutaciones. Los resultados mostraron que el NVC-001 se excretaba principalmente a través de las heces y la orina. El ADN del genoma vírico fue prácticamente indetectable en las muestras dos semanas después de la administración de NVC-001 e indetectable en todas las muestras después de los días 90-91.

Se evaluó la biodistribución tisular del NVC-001 como parte del estudio de farmacología / biodistribución / toxicología limitada no conforme con las buenas prácticas de laboratorio (BPL) en ratones jóvenes con MCD-LMNA y como parte de un estudio de seguridad y biodistribución conforme con las BPL en ratones adultos sin mutaciones. Además, se evaluó la biodistribución tisular en el estudio de seguridad y biodistribución no conforme con las BPL en macacos cangrejeros.

Los resultados de los tres estudios mostraron la amplia biodistribución esperada del vector NVC-001 para un producto AAV9 administrado por vía intravenosa, siendo el hígado el que presentó la mayor cantidad de vector, seguido del miocardio, el músculo esquelético y una menor distribución en otros tejidos. Se observó un aumento dependiente de la dosis en las copias del vector NVC-001 en el corazón en los dos estudios con ratones en los que se probaron múltiples niveles de dosis de NVC-001. También se observó un aumento dependiente de la dosis en las copias del vector NVC-001 en la mayoría de los demás tejidos no diana analizados. Los niveles de ADN del vector se mantuvieron estables hasta al menos 26 semanas después de la administración, tanto en ratones C57BL/6J sin mutaciones como en macacos cangrejeros sin mutaciones.

A diferencia de la distribución del vector, y en consonancia con el potenciador y promotor específicos del corazón en NVC-001, la expresión del ARNm del transgén dnSUN1 fue más alta en el corazón en los tres estudios, y más bajas en todos los demás tejidos probados en macacos cangrejeros. Cabe destacar que, a pesar del mayor número de copias del vector NVC-001 en el hígado en comparación con el corazón, la expresión del transgén dnSUN1 en el hígado fue menor que en el corazón en ratones y en macacos cangrejeros. Esto confirma la especificidad cardíaca de la expresión transgénica de NVC-001. En los dos estudios con ratones se observó un aumento dependiente de la dosis en las copias de ARNm transgénico en el corazón. Esto también se observó en la mayoría de los demás tejidos no diana analizados.

Asimismo, se observó que la expresión del transgén dnSUN1 en el corazón persistía a un nivel elevado tanto en ratones C57BL/6J sin mutaciones como en macacos cangrejeros sin mutaciones.



Manipulación, control y tratamiento de residuos

La preparación de la infusión se realizará de forma aséptica en cabina de seguridad biológica, utilizando una jeringuilla se transferirá la solución a la bolsa de infusión intravenosa. El transporte al lugar de administración se realizará en un contenedor estanco, resistente, desinfectable y cerrado, con material absorbente, para evitar derrames accidentales.

Como mínimo, el equipo de protección personal se compone de guantes (valorar el uso de doble guante), protección ocular (por ejemplo, gafas de seguridad) y una bata de aislamiento de un único uso. Además, deberá valorarse el uso de un EPI adecuado para los antebrazos, como cubremangas o guantes de seguridad encima de las mangas de la bata de laboratorio.

Todos los materiales empleados para la infusión, tales como jeringas, vías de infusión y filtros, que hayan entrado en contacto con NVC-001 se desecharán como material biopeligroso.

Después de la preparación de la dosis, los viales usados, parcialmente usados y sin usar (descongelados) de NVC-001 se destruirán como residuos biológicos.

La excreción del vector AAV9 en muestras de sangre, orina y saliva solo se evaluará en la parte de fase 2 del estudio. Las muestras podrán recogerse hasta que se alcance el límite inferior de cuantificación (LIC) en tres muestras consecutivas o hasta que se alcance una meseta en tres muestras consecutivas

La CNB señala que se deberá informar a los pacientes de que al menos durante los 15 días siguientes a la administración del medicamento en investigación deben mantener una higiene cuidadosa, lavándose las manos con frecuencia, especialmente después de ir al baño.

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 6 de abril de 2026