

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación: Spain
b) Número de la notificación: B/ES/25/18
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:
d) Título del proyecto: “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.”
e) Período propuesto para la liberación: 01/12/2025 – 31/01/2034

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Alexion Pharmaceuticals, Inc. clinicaltrials.eu@alexion.com Teléfono: +33630132746 121 Seaport Boulevard; Boston MA 02210, EEUU https://alexion.com/
-------------------------------------	---

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>
	- mamíferos <input type="checkbox"/>
	- insectos <input type="checkbox"/>

- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: dependoparvovirus

Especie: virus adenoasociado (AAV) serotipo 9

ALXN2350 es un AAV recombinante, deficiente en replicación, derivado del AAV9 natural y que codifica el transgén humano BAG3.

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

La evolución de los virus adenoasociados (AAV), como todos los demás virus, se produce por mutación espontánea o recombinación con otros virus de la misma especie, cuando dicha modificación genética confiere una ventaja selectiva. En la naturaleza, la recombinación genómica no homóloga entre los genomas virales de cepas de AAV puede ocurrir espontáneamente solo en la situación extremadamente improbable en la que una célula del organismo huésped es infectada simultáneamente por dos cepas diferentes de AAV, que es permisivo de infección en esa especie (tipo de célula permisiva que proporciona funciones auxiliares o infectada con un virus auxiliar [triple infección]). Además, por lo general, los virus de ADN tienen una mayor estabilidad genética que los virus de ARN. La replicación del ADN es un proceso menos propenso a errores que la replicación del ARN. Por lo tanto, los AAV demuestran un alto grado de estabilidad genética, como lo demuestra el alto grado de conservación de la secuencia de los genes rep y cap de múltiples serotipos de AAV. Las homologías de secuencia suelen ser >90 % y >80 % para los genes rep y cap, respectivamente. Con base en estas características del AAV de tipo salvaje, se espera que ALXN2350 sea altamente estable genéticamente.

El ALXN2350 se genera mediante transfección transitoria de una línea de células de producción de mamíferos utilizando plásmidos secuenciados y completamente caracterizados. La producción del vector clínico durante el proceso de fabricación se basa en la ADN polimerasa de la célula huésped, que se caracteriza por una polimerización de ADN de alta fidelidad y una actividad exonucleasa de corrección adicional, lo que genera una tasa de error muy baja en la replicación del ADN. La identidad del genoma ALXN2350 se confirmará mediante un ensayo basado en la PCR en el momento de la liberación del lote.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo, indique el código del país: Italia, Alemania, France and Poland

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

ALXN2350 es una terapia clínica que consiste en un AAV de serotipo 9, recombinante e incompetente en la replicación que codifica el transgén BAG3 humano. ALXN2350 no contiene ningún material genético dañino o tóxico, y se han eliminado todos los genes virales, dejando solo las repeticiones terminales invertidas (ITR) como secuencias de origen viral. ALXN2350 es incompetente en la replicación incluso en presencia de un virus auxiliar y, por tanto, no es capaz de proliferar en el medio ambiente. Además, ALXN2350 se somete a pruebas para confirmar la ausencia de AAV competentes en la replicación antes de ser liberado para su uso.

Aunque no existe experiencia clínica previa con ALXN2350, estudios de biodistribución no clínicos han demostrado que ALXN2350 se elimina gradualmente con el tiempo, lo que respalda su persistencia mínima en el medio ambiente. En consonancia con otras terapias basadas en AAV9, se espera que se produzca diseminación en sujetos humanos tratados con ALXN2350 en los días y semanas posteriores a la administración. Además, se espera que la concentración de ALXN2350 diseminada por los pacientes sea baja (por ejemplo, la diseminación de Zolgensma en la orina y la saliva representa entre el 0,1 y el 0,01 % de la dosis del paciente 1 día después de la administración, después de lo cual los niveles cayeron hasta cerca del límite de cuantificación; la diseminación de Zolgensma en las heces mostró una reducción de 10 000 veces a los 30 días posteriores a la administración). Según lo anterior, el riesgo medioambiental que plantea el uso de ALXN2350 se considera insignificante.

La administración clínica de ALXN2350 solo será realizada en centros clínicos por profesionales médicos cualificados. Por lo tanto, no se prevé que el OMG entre en contacto directo con el medio ambiente antes de su administración. Los profesionales sanitarios manipularán ALXN2350 de acuerdo con las directrices locales para el manejo de materiales biopeligrosos y utilizarán un equipo de protección personal (EPP) adecuado. Los residuos contaminados y el producto sobrante se eliminarán de acuerdo con las directrices locales sobre residuos

biopeligrosos. Los lugares de trabajo y las zonas potencialmente contaminadas se desinfectarán adecuadamente para evitar la exposición involuntaria a ALXN2350.

Teniendo en cuenta los resultados de la evaluación de riesgos medioambientales y las medidas de control aplicadas, se espera que la liberación de ALXN2350 tenga un impacto medioambiental insignificante.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces

- otro animal

(especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifiquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Virus ADNmc

ii) Género: Dependoparvovirus

iii) Especie: Adeno-associated virus

iv) Subespecie: NA

v) Cepa: AAV9

vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): NA

vii) Nombre vulgar:

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí <input checked="" type="checkbox"/>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico	<input checked="" type="checkbox"/>
Mar Negro	<input checked="" type="checkbox"/>
Mediterráneo	<input checked="" type="checkbox"/>
Boreal	<input checked="" type="checkbox"/>
Alpino	<input checked="" type="checkbox"/>
Continental	<input checked="" type="checkbox"/>
Macaronésico	<input checked="" type="checkbox"/>
Panónico	<input checked="" type="checkbox"/>
Estepario	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) No	<input type="checkbox"/>
iii) No se sabe	<input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>

En simbiosis con animales

Otros, (especifíquense): Los huéspedes específicos son los animales vertebrados, incluidos los humanos.

b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: NA

5. a) Técnicas de detección

El ADNmc del AAV se puede detectar mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) dirigida a elementos de inserción genética o mediante técnicas inmunológicas y biofísicas (como la espectroscopia de masas) dirigidas a las proteínas de la cápside viral.

5. b) Técnicas de identificación

El AAV puede identificarse mediante PCR con cebadores específicos, secuenciación y técnicas inmunológicas desarrolladas para identificar diferentes serotipos de AAV.

6. ¿Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí No

En caso afirmativo, especifíquese:

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí No No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El ciclo de vida del AAV de tipo salvaje consta de fases líticas y latentes. El AAV es de replicación defectuosa, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar. En presencia de un virus

<p>auxiliar (coinfeción), el AAV experimenta su infección lítica y replicación en una célula huésped infectada durante un periodo de entre 24 y 48 horas.</p>
<p>b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: El mismo que arriba</p>
<p>c) Modo de reproducción Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/></p>
<p>d) Factores que afectan a la reproducción:</p> <p>Los AAV de tipo salvaje solo son competentes en la replicación en presencia de un virus auxiliar. La presencia de un virus auxiliar, como un adenovirus o un virus del herpes simple, en la misma célula que el AAV es necesaria para la expresión del gen del AAV, la replicación del genoma y la producción de viriones. Téngase en cuenta que el OMG final (ALXN2350), al ser un AAV recombinante, es incompetente en la replicación incluso en presencia de virus auxiliar porque carece de los genes virales rep y cap (véase la sección E.1.b).</p>

9. Capacidad de supervivencia

<p>a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo</p> <p>i) endosporas <input type="checkbox"/></p> <p>ii) quistes <input type="checkbox"/></p> <p>iii) esclerocios <input type="checkbox"/></p> <p>iv) esporas asexuales(hongos) <input type="checkbox"/></p> <p>v) esporas sexuales (hongos) <input type="checkbox"/></p> <p>vi) huevos <input type="checkbox"/></p> <p>vii) pupas <input type="checkbox"/></p> <p>viii) larvas <input type="checkbox"/></p> <p>ix) otras (especifíquense):</p> <p>El AAV no forma estructuras que mejoren la supervivencia. En ausencia de un virus auxiliar, el wtAAV establece una infección latente persistiendo en las células huésped como concatenador episomal o, más raramente, integrándose en el ADN de la célula huésped (los genes rep son necesarios para la integración específica del sitio en el genoma de las células huésped).</p>

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia:

Los miembros de la familia del parvovirus, como el AAV, son virus estables que pueden persistir en el medio ambiente durante largos períodos de tiempo (se cree que del orden de varias semanas). Las partículas del AAV son resistentes a un amplio rango de pH (pH 3-9) y pueden resistir temperaturas elevadas (55 °C durante 1 hora). El AAV no forma estructuras de supervivencia, pero debido a la gran estabilidad de la cápside, el AAV puede seguir siendo infeccioso durante al menos un mes a temperatura ambiente. Sin embargo, como ocurre con todos los virus, la replicación del AAV no puede producirse fuera de una célula huésped. El tratamiento con sustancias como lejía al 10 % o soluciones alcalinas (pH > 9,5) o la esterilización mediante autoclave durante 30 minutos a 121 °C destruirá las partículas víricas.

10. a) Vías de diseminación

El AAV puede transmitirse por contacto directo o indirecto. El AAV puede transmitirse a través de la inhalación de aerosoles o gotitas, ingestión, contacto con membranas mucosas y posiblemente por transmisión sexual.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Las condiciones ambientales que pueden afectar a la supervivencia del AAV fuera del huésped son la temperatura, el pH y la humedad. Aunque el AAV es un virus no envuelto con cierta estabilidad física, sigue siendo susceptible a la desecación y a las temperaturas extremas, y se inactiva rápidamente con la luz ultravioleta y desinfectantes comunes como la lejía y el etanol. Es importante destacar que los AAV de tipo salvaje no son capaces de replicarse a menos que se produzca una coinfección con un virus auxiliar. Incluso en el caso de diseminación del virus por parte de personas tratadas, se espera que la concentración de AAV en las matrices ambientales sea muy baja debido a la dilución, lo que reduce aún más el potencial de persistencia medioambiental o actividad biológica. Por último, ALXN2350 es incompetente en la replicación, por lo que los niveles ambientales solo pueden disminuir con el tiempo.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

Ninguna. El promotor no ha notificado ninguna modificación genética previa del virus AAV9 parental para su liberación en la UE.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base | <input type="checkbox"/> |

iv) Fusión celular	<input type="checkbox"/>
v) Otro (especifíquese)	

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado previsto de la modificación genética era la generación de una terapia clínica de AAV recombinante. Entre las ITR, los genes virales se sustituyen por el casete de expresión que codifica el transgén BAG3 (atanogén 3 asociado al linfoma de células B 2 [Bcl2]). Esto requirió la eliminación de los genes rep y cap, haciendo que ALXN2350 quedara incompetente en la replicación. Los únicos elementos virales restantes son las ITR, necesarias para la producción del vector clínico AAV.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector:	
El plásmido transgénico que contiene el casete de expresión y las ITR se utilizó para crear el vector clínico ALXN2350. ALXN2350 está compuesto por la cápside AAV9 y el casete de expresión y las ITR empaquetadas dentro de la cápside.	

c) Gama de organismos huéspedes del vector:
 El plásmido transgénico se produce en la bacteria E. coli. El AAV recombinante se fabrica mediante transfección transitoria de tres plásmidos de una línea celular de mamífero HEK293.

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:
 El gen de resistencia a la kanamicina está presente en el plásmido transgénico.

e) Fragmentos constituyentes del vector:

El plásmido transgénico contiene el casete de expresión BAG3 flanqueado por ITR, así como un origen bacteriano de replicación y el gen de resistencia a la kanamicina para permitir la producción del plásmido en células bacterianas E.coli. Obsérvese que sólo las secuencias que abarcan la ITR 5', el casete de expresión BAG3 y la ITR 3' están presentes en el genoma final del AAV (ALXN2350 no contiene ningún gen de resistencia a antibióticos, origen bacteriano de replicación u otras secuencias plasmídicas).

Se utilizan otros dos plásmidos para suministrar todos los componentes necesarios para producir ALXN2350. Contienen los genes virales rep/cap (plásmido de empaquetamiento) y los genes auxiliares adenovirales (plásmido auxiliar).

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): Transfección transitoria de una línea de células de producción de mamíferos con el plásmido transgénico, el plásmido de empaquetamiento y el plásmido auxiliar, lo que da como resultado la producción de partículas de AAV recombinantes.

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>El casete de expresión del transgén contiene los siguientes elementos:</p> <p>Promotor cardíaco</p> <p>Secuencia intrónica</p> <p>Transgén BAG3</p> <p>Secuencia de poliadenilación</p> <p>Secuencia de relleno.</p> <p>El casete de expresión está flanqueado por ITR de AAV.</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>Promotor cardíaco: pollo</p> <p>Secuencia intrónica: virus simio 40</p> <p>Transgén BAG3: humano</p> <p>Secuencia de poliadenilación: virus simio 40</p> <p>Secuencia de relleno: humana</p>
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>Promotor cardíaco: impulsa la expresión del transgén</p> <p>Secuencia intrónica: potencia la expresión del transgén</p> <p>Transgén BAG3: transgén terapéutico que expresa la proteína BAG3</p> <p>Secuencia de poliadenilación: poliadenilación y terminación de la transcripción</p> <p>Secuencia de relleno: aumenta el tamaño de la carga útil y disminuye el empaquetamiento de ADN no objetivo</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <p>- en un plásmido libre <input type="checkbox"/></p> <p>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/></p>

- Otros especifíquense): Con respecto al genoma ALXN2350, el inserto está entre las ITR.

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí

No

En caso afirmativo , especifíquese:

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

La siguiente información se refiere al organismo del que procede el transgén insertado (BAG3).

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input checked="" type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): NA
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo Sapiens
v) Subespecie: NA

vi) Cepa: NA
vii) Cultivar/línea de reproducción: NA
viii) Patovar: NA
ix) Nombre vulgar: Humano

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>		
Después de una infección natural con AAV de tipo salvaje, se demostró que los genomas virales están presentes principalmente como episomas circulares en las células humanas, pero la integración en el genoma del huésped también puede ocurrir con una baja frecuencia. Los AAV recombinantes también se integran en el genoma humano con una baja	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

frecuencia.		
-------------	--	--

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Dado que no se realizaron modificaciones en las proteínas de la cápside, se espera que el vector clínico tenga un rango de huésped, estabilidad de la cápside, supervivencia fuera del organismo huésped y sensibilidad a las condiciones ambientales o agentes inactivadores similares a los del AAV9 de tipo salvaje parental.</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: En ALXN2350, los genes rep y cap del AAV parentales se sustituyeron por el casete de expresión del transgén. Los AAV de tipo salvaje dependen de un virus auxiliar, como el adenovirus humano o el virus del herpes simple, para poder replicarse. ALXN2350 es incompetente en la replicación, incluso si está presente un virus auxiliar, debido a la ausencia de los genes rep y cap virales. La replicación solo podría ocurrir en el caso extremadamente improbable de que una sola célula huésped fuera infectada simultáneamente por el agente terapéutico clínico, un AAV de tipo salvaje y un virus auxiliar (triple infección).</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Como la replicación del ALXN2350 solo podría ocurrir en el caso extremadamente improbable de que una sola célula huésped sea infectada simultáneamente por el agente terapéutico clínico, un wtAAV y un virus auxiliar, la probabilidad de diseminación es mucho menor que la del wtAAV. Además, dado que el ALXN2350 se liberará para su uso en un estudio clínico, la diseminación se limita a la administración a los pacientes en un entorno controlado.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p>

Especifíquese: En general, se considera que el AAV no es patógeno. No se espera que la introducción del casete de expresión, que codifica BAG3, dé lugar al desarrollo de patogenicidad. Se espera que la eliminación de los genes víricos en la fabricación del agente terapéutico clínico reduzca aún más cualquier riesgo de patogenicidad.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus de ADN monocatenario que demuestra un alto grado de estabilidad genética (consulte también la sección A.3.c). El riesgo de modificación de la secuencia genética está relacionado con los errores de síntesis del ADN que se producen durante la replicación vírica. Como el OMG no puede replicarse, no puede producirse ninguna modificación del genoma de ALXN2350. Además, una vez administrado al paciente, la formación de partículas virales competentes en la replicación que contengan el casete terapéutico se considera altamente improbable principalmente porque 1) se requeriría una coinfección simultánea con un virus auxiliar y un wtAAV para obtener una partícula viral competente en la replicación dentro de la misma célula, y 2) la eficiencia de empaquetamiento se verá profundamente disminuida debido a la necesidad de empaquetar una secuencia de ADN por encima de la capacidad de 4,7 kb del AAV.

Con base en la estabilidad genética conocida del AAV de tipo salvaje y la ausencia de un mecanismo intrínseco para la variación o inestabilidad genética, se espera que los rasgos genéticos de ALXN2350 sean estables.

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

Ni el AAV de tipo salvaje ni ALXN2350 son patógenos para el ser humano. De hecho, aunque las infecciones por AAV son frecuentes, normalmente no se asocian a síntomas de enfermedad y, cuando aparecen síntomas, estos son leves. El casete de expresión en ALXN2350 no contiene secuencias de ADN nocivas y su producto de expresión, la proteína BAG3 humana, no es nocivo. Además, el AAV suele persistir como ADN episomal, lo que reduce el riesgo de mutagénesis por inserción en comparación con los virus integrativos.

Los estudios toxicológicos no clínicos realizados con ALXN2350 avalan su seguridad en el intervalo de dosis que se va a administrar. En todo el mundo se han realizado estudios clínicos con AAV recombinantes en más de 3000 pacientes (DA Kuzmin, MV Shutova, NR Johnston, OP Smith, VV Fedorin. The clinical landscape for AAV gene therapies. Nature Reviews. Drug Discovery, 20 (2021), pp. 173-174). Según datos de estudios de toxicología no clínicos que evalúan ALXN2350 y literatura que describe la experiencia con otros AAV, los riesgos potenciales incluyen: aumento de las transaminasas hepáticas, microangiopatía trombótica, lesión cardíaca (p. ej., miocarditis), toxicidad del ganglio de la raíz dorsal, reacciones relacionadas con la infusión e inmunogenicidad. Estos riesgos potenciales se monitorizarán y mitigarán cuidadosamente durante el ensayo clínico.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR).

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR).

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

La liberación se limitará al uso del OMG en un estudio de fase I/II, abierto, multicéntrico, de búsqueda y expansión de la dosis para investigar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de la terapia génica con ALXN2350 en participantes adultos con miocardiopatía dilatada asociada a la mutación BAG3.

No se espera ningún beneficio medioambiental potencial.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>Centros participantes previstos para la administración de ALXN2350 y evaluaciones de seguimiento:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, C/ Manuel de Falla, 1 28220 Majadahonda (Madrid) España - Hospital Universitario Vall d'Hebrón, Passeig Vall d'Hebrón 119-129; 08035 Barcelona (Spain)
<p>b) Área del lugar (m²):</p> <ul style="list-style-type: none"> i) lugar real de la liberación (m²): No aplicable. La administración de ALXN2350 se realizará únicamente en un entorno hospitalario controlado. ii) área de liberación más amplia (m²): No aplicable.
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No procede. ALXN2350 se administrará mediante una única infusión intravenosa en un entorno hospitalario. Por lo tanto, no se prevé que entre en contacto con ningún biotopo reconocido ni con zonas protegidas.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>Ninguno. La administración de ALXN2350 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por lo tanto, no se prevé que el fármaco entre en contacto con plantas, animales o el suelo.</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>El OMG se administrará a pacientes inscritos en un ensayo clínico en un entorno hospitalario controlado y no está prevista su liberación en el medio ambiente en general. La dosificación de ALXN2350 se basará en el peso y se prevé que sea de hasta 6 x10¹³ vg/kg. Se prevé que aproximadamente 5 pacientes sean tratados en España en este ensayo clínico.</p> <p>Las cantidades que se liberarán al medio ambiente por diseminación serán una proporción muy pequeña del número total de genomas virales.</p>
<p>b. Duración de la operación:</p> <p>Se espera que el procedimiento de administración i.v., incluida la preparación del sistema de infusión, dure unas horas.</p>
<p>c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:</p> <p>La administración de ALXN2350 tendrá lugar en un entorno hospitalario cualificado. El promotor proporcionará un manual de farmacia con instrucciones</p>

sobre el uso, almacenamiento y destrucción del producto en investigación (PEI). ALXN2350 se enviará a los centros de estudio de acuerdo con las recomendaciones estándar para el transporte de materiales biopeligrosos (BSL 1). ALXN2350 se almacenará en un área segura y de acceso restringido, y el transporte interno del PEI se realizará en un contenedor cerrado, estanco e irrompible. El PEI será administrado por profesionales médicos formados, que llevarán equipo de protección personal (EPP) en todo momento durante la manipulación del PEI. Durante el procedimiento de administración intravenosa, los profesionales sanitarios deben emplear precauciones universales. Cada centro seguirá los procedimientos y prácticas habituales para el almacenamiento, limpieza y gestión de residuos diseñados para el manejo de material biopeligroso e infeccioso. Todos los residuos, restos y consumibles utilizados en la preparación del PEI se eliminarán como residuos de riesgo biológico tras la preparación siguiendo los procedimientos de eliminación de residuos clínicos.

Los pacientes recibirán ALXN2350 mediante una infusión intravenosa única en un entorno clínico y permanecerán en el lugar de administración de la dosis durante 14 días después de recibirla. Además, en este estudio se evaluará la diseminación viral en sangre completa, heces, semen, saliva y orina, tal y como se describe en el protocolo del estudio. Como ALXN2350 es no replicativo, las partículas virales diseminadas no pueden multiplicarse y, por tanto, la propagación del OMG es inherentemente limitada.

A los participantes, familias y cuidadores se les dará recomendaciones para limitar la exposición de los contactos cercanos al virus diseminado (por ejemplo, mediante el uso de guantes protectores si se entra en contacto directo con fluidos corporales y/o desechos del participante, uso de mascarillas y una buena higiene de manos durante un mínimo de cuatro semanas después de la infusión). Además, se indicará a los participantes que eviten donar sangre y esperma hasta el final de la exposición sistémica. Las participantes femeninas se comprometerán a no donar óvulos (ovocitos) con fines reproductivos durante el período de tratamiento de la intervención del estudio y durante al menos 1 año después de la administración de la intervención del estudio.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

ALXN2350 se administrará en el entorno hospitalario en condiciones ambientales previstas. No se prevé que el OMG se libere directamente en el medio ambiente.

6. 6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

No se dispone de datos sobre este OMG en particular. Sin embargo, con base en los datos clínicos de otros productos conocidos basados en el serotipo AAV9, se espera que el impacto sobre el medio ambiente y la salud humana sea insignificante.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i)	Orden y taxón superior (animales): Primate
ii)	Familia (plantas): NA
iii)	Género: Homo
iv)	Especie: Homo Sapiens
v)	Subespecies: NA
vi)	Cepa: NA
vii)	Cultivar/Línea de reproducción: NA
viii)	Patovar: NA
ix)	Nombre vulgar: Humano

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

El organismo diana es el sujeto inscrito en el ensayo clínico. El objetivo del tratamiento con ALXN2350 en pacientes con miocardiopatía dilatada BAG es aumentar la expresión funcional de la proteína BAG3, preservar la función de los cardiomiocitos y detener la progresión de la enfermedad.

ALXN2350 entrega la expresión de BAG3 principalmente al corazón de los pacientes mediante el uso de un promotor cardíaco.

Dado que las terapias clínicas con AAV recombinante no codifican proteínas que ayuden a la integración en el genoma del huésped y en ausencia de la proteína REP, se espera que los rAAV persistan extracromosómicamente como episomas en células que no se dividen, como los cardiomiocitos.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

No se prevé ninguno.

Debido a la estrategia de minimización de riesgos que se implementará (véanse las secciones F.4.c, I, J), la probabilidad de propagación inesperada de ALXN2350 en el medio ambiente es insignificante.

Las personas que no sean los sujetos humanos que reciban el medicamento no estarán expuestas a niveles de ALXN2350 que pudieran representar una expresión genética significativa o riesgos potenciales de seguridad. La exposición mínima, como la exposición ambiental, a otros organismos del entorno no sería suficiente como para representar un peligro potencial. Además, como ALXN2350 es incompetente en la replicación, se espera que se elimine rápidamente de cualquier

organismo no diana sin causar efectos nocivos.
 Aparte del huésped humano diana, no se espera que la exposición a ALXN2350 afecte a ningún organismo no diana, ni directa ni indirectamente.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
----	--	------------

Especifíquese:
 El genoma viral de ALXN2350 se ha modificado significativamente en comparación con el virus parental para hacerlo incompetente en la replicación, lo que supone una gran desventaja competitiva en comparación con el wtAAV (véase también la sección E.1). No se espera que el casete transgénico modifique esta desventaja para la replicación/supervivencia del vector clínico. Además, dado que no se realizaron modificaciones genéticas en las proteínas de la cápside, se espera que el vector clínico tenga un rango de huésped y un tropismo tisular, estabilidad de la cápside, supervivencia fuera del organismo huésped y sensibilidad a las condiciones ambientales y a los agentes inactivadores similares a los del AAV9 de tipo salvaje parental.

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

Como ALXN2350 es incapaz de replicarse, no se espera que se propague al medio ambiente en un grado significativo y no es capaz de establecerse en ningún ecosistema.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

i) Orden y taxón superior (animales): NA
ii) Familia (plantas): NA
iii) Género: NA
iv) Especie: NA
v) Subespecie: NA
vi) Cepa: NA
vii) Cultivar/línea de reproducción: NA
viii) Patovar: NA
ix) Nombre vulgar: NA

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: La probabilidad es insignificante. ALXN2350 no es replicativo y solo se espera que se disemine a través de los fluidos corporales de los sujetos del estudio en una medida limitada; la transmisión y transferencia de genes a organismos distintos de los sujetos del estudio se considera altamente improbable.

b) De otros organismos al OMG: La probabilidad es insignificante. La probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podrían dar lugar a variantes del OMG se reduce fuertemente, ya que las ITR (las únicas secuencias virales que quedan en ALXN2350) representan un pequeño porcentaje de la secuencia de ALXN2350. No se espera que el ADN de ningún organismo pueda transferirse a los episomas virales e incorporarse al genoma de ALXN2350.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Insignificante. Aunque la recombinación entre ALXN2350 y un AAV de tipo salvaje para generar un genoma AAV híbrido que contenga tanto el transgén como los genes rep y cap del AAV sigue siendo una posibilidad teórica, dicho genoma híbrido sería demasiado grande para empaquetar el ADN híbrido en una partícula de AAV. Además, dicha molécula, incluso si se generara en una célula, no se replicaría a menos que también estuviera presente un adenovirus/virus del herpes auxiliar. Por lo tanto, la recombinación conduciría a la formación de virus que serían, de forma similar a los AAV recombinantes, incompetentes en la replicación. Por lo tanto, se considera que los riesgos asociados a la transferencia de genes de AAV de tipo salvaje a ALXN2350 son insignificantes.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

No se han realizado estudios específicos sobre la transmisión de ALXN2350 entre humanos o animales.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No procede. No se tiene constancia de que el AAV participe en ningún proceso biogeoquímico.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se controlará la diseminación de ALXN2350 en la sangre, la saliva, la orina, las heces y el semen del paciente en varios momentos tras la administración mediante qPCR.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No está previsto ni se considera necesario ningún seguimiento del medio ambiente o

de los receptores no previstos, ya que el riesgo para el medio ambiente se considera insignificante.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

No se prevé transferencia de material genético donado del paciente a otros organismos.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No aplica.

5. Duración del seguimiento

Hasta 5 años a partir de la fecha de infusión

6. Frecuencia del seguimiento

Se recogerán muestras para la evaluación de la diseminación viral mediante qPCR en varios momentos después de la administración, siguiendo el protocolo del estudio clínico. La recogida de cada tipo de muestra se interrumpirá cuando se observen al menos 3 resultados negativos consecutivos.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Las superficies, los materiales potencialmente contaminados, los equipos no desechables usados y otros elementos que puedan haber estado en contacto con el OMG se descontaminarán mediante autoclave o utilizando un agente desinfectante apropiado (por ejemplo, lejía) disponible en el sitio.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Las dosis de ALXN2350 no utilizadas deben devolverse o destruirse de acuerdo con las normativas y procedimientos locales. Los sitios que puedan destruir los kits del PEI usados y proporcionar un certificado de destrucción o equivalente deberán hacerlo de acuerdo con los procedimientos estándar de eliminación y destrucción de PEI del centro (eliminación de desechos biológicos peligrosos). Los centros que no puedan destruir los kits pueden devolver los kits no utilizados o dañados al promotor y consultar el manual de farmacia para obtener orientación.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los residuos generados consisten en materiales desechables en contacto con el OMG durante la preparación y administración del PEI. Los residuos de OMG pueden consistir en viales, tubos, bolsas de infusión, jeringuillas, agujas, EPP, etc.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos generados (material en contacto con el OMG durante la

preparación y administración del PEI) se eliminarán como residuos de riesgo biológico siguiendo los procedimientos hospitalarios para la eliminación de residuos clínicos.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

La actual estrategia de minimización de riesgos incluye el uso de almacenamiento seguro con acceso restringido, la formación de todo el personal en los centros (rutinas de bioseguridad estándar, procedimientos hospitalarios locales e instrucciones del Manual de farmacia), la limitación de la manipulación y aplicación a personal formado que use equipo de protección personal (EPP), las indicaciones a los pacientes sobre el uso de medidas básicas de higiene, el registro de cualquier exposición humana accidental y, por último, la limpieza y la gestión de residuos siguiendo los procedimientos de eliminación de residuos clínicos. Por lo tanto, la probabilidad de propagación inesperada de ALXN2350 en el medio ambiente es insignificante.

En caso de derrame accidental durante la preparación y administración de la dosis al paciente, el producto derramado debe adsorberse/eliminarse de acuerdo con los procedimientos locales del centro utilizando cualquier material adsorbente adecuado, y el profesional sanitario deberá garantizar la protección personal adecuada durante la eliminación de los derrames.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

Los materiales, superficies y zonas potencialmente contaminados se limpiarán y descontaminarán de acuerdo con la hoja de datos de seguridad, así como con los procedimientos y directrices locales.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

La administración de ALXN2350 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por lo tanto, no se prevé que el fármaco entre en contacto con plantas, animales o el suelo.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

Teniendo en cuenta el riesgo insignificante para la salud humana y el medio ambiente, no se consideran necesarios planes específicos de protección del medio ambiente.