

**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:            | España                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| b) Número de la notificación:                    | B/ES/26/04                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: | 21/01/2026                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| d) Título del proyecto:                          | <p>Ensayo clínico Fase I/IIa con células mesenquimales de nueva generación con expresión ectópica de CXCR4 e IL10 en pacientes con enfermedad injerto contra receptor* corticorrefractarios y refractarios o intolerantes a ruxolitinib.</p> <p>* Enfermedad Injerto contra Receptor (EICR) es el término recomendado por la SEHH/EBMT frente al clásico "Enfermedad Injerto contra Huésped" (EICH)</p> |
| e) Período propuesto para la liberación:         | <p>Fecha prevista inclusión primer paciente: Abril 2026</p> <p>Fecha prevista finalización Ensayo clínico: Abril 2028</p>                                                                                                                                                                                                                                                                               |

**2. Notificador**

|                                     |                                                          |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Nombre de la institución o empresa: | Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA) |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|

**3. Definición del OMG**

|                            |                                    |
|----------------------------|------------------------------------|
| a) Indíquese si el OMG 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 |
| Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                           |
| b) Identidad del OMG (género y especie): El OMG son células estromales mesenquimales derivadas de tejido adiposo de donantes sanos ( <i>Homo sapiens sapiens</i> ) transducidas con el vector lentiviral hPGK-CXCR4-IL10-Wpre*.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                           |
| c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:<br><br>La estabilidad genética de las células estromales mesenquimales (MSCs) modificadas es elevada. Una vez integrado el vector en el genoma, la presencia del promotor interno hPGK asegura la expresión ectópica de las proteínas CXCR4 e IL-10, contribuyendo a potenciar la eficacia terapéutica intrínseca de las MSCs. En casos poco frecuentes, puede producirse silenciamiento del vector, asociado a fenómenos de metilación en regiones promotoras o a la integración en áreas genómicas con baja actividad transcripcional, lo que podría conllevar una reducción en la expresión de los transgenes. Sin embargo, dado que se administrarán millones de células transducidas, la gran mayoría mantendrá una expresión estable, por lo que el posible silenciamiento carece de relevancia clínica. |                                                           |

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 type="checkbox"/>                     | No <input checked="" type="checkbox"/> |
| En caso afirmativo, indique el código del país: |                                        |

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: <ul style="list-style-type: none"><li>- Estado miembro de la notificación:</li><li>- Número de la notificación:</li></ul> |                                        |

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

El vector lentiviral utilizado y las células estromales mesenquimales (MSCs) transducidas presentan características biológicas que impiden su multiplicación y/o dispersión fuera del paciente trasplantado. No está descrito que las MSCs se dividan dentro del organismo receptor; su función se limita a ejercer un efecto inmunomodulador sobre la respuesta inmune exacerbada en pacientes con enfermedad injerto contra receptor (EICR). En consecuencia, no existe riesgo de supervivencia ni de replicación fuera del paciente tratado.

No existen ecosistemas en los que el OMG pueda diseminarse, y no se produce modificación genética de células germinales en el paciente, por lo que no existe riesgo de transmisión hereditaria.

El uso previsto del producto final se limita a la administración endovenosa, sin contemplarse otras vías o formas de interacción que pudieran implicar dispersión biológica.

Asimismo, no se anticipan interacciones relevantes del OMG con otros organismos. La terapia está contraindicada en pacientes con infección por VIH, de manera que se evita el riesgo teórico de recombinación entre secuencias residuales del vector lentiviral y el virus salvaje.

**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                                              | <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**

|                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| i) Orden y taxón superior (animales):<br>a. Orden: Primates<br>b. Taxón superior: <i>Mammalia</i> |
| ii) Género: <i>Homo</i>                                                                           |
| iii) Especie: <i>Homo Sapiens</i>                                                                 |
| iv) Subespecie: <i>Homo Sapiens Sapiens</i>                                                       |
| v) Cepa: No aplica                                                                                |
| vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): No aplica                                             |
| vii) Nombre vulgar: Humano                                                                        |

**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"/>                             |
| 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"/>                             |
| 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                                  | <input type="checkbox"/> |
| Otros , (especifíquense):                                  |                          |

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

Las células estromales mesenquimales derivadas de tejido adiposo (Ad-MSCs) residen de forma natural en el estroma del tejido adiposo, donde se localizan en la fracción vascular-estromal, donde participan en el mantenimiento de la homeostasis tisular y ejercen funciones de soporte estructural e inmunomodulación local.

Tras la administración intravenosa, las MSCs no establecen un nicho estable en el organismo receptor. Su permanencia es transitoria, con distribución inicial en la circulación sanguínea y posterior tránsito temporal hacia distintos tejidos.

**5. a) Técnicas de detección**

La detección y caracterización de las células estromales mesenquimales (MSCs) se lleva a cabo mediante una combinación de técnicas fenotípicas y moleculares.

A nivel fenotípico, se utiliza citometría de flujo multiparamétrica para confirmar la identidad de las MSCs de acuerdo con los criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT). Este análisis incluye la expresión positiva de CD73, CD90 y CD105, y la ausencia de marcadores hematopoyéticos (CD45, CD34, CD14/CD19, HLA-DR).

Paralelamente, pueden emplearse ensayos moleculares (por ejemplo, qPCR o RT-qPCR) orientados a verificar la identidad celular o la ausencia de contaminaciones genéticas indeseadas.

En conjunto, estas técnicas permiten confirmar la naturaleza mesenquimal de las células, su pureza y la estabilidad de su fenotipo tras los procesos de cultivo y manipulación *in vitro*.

**5. b) Técnicas de identificación**

La identificación se basa en técnicas que permiten diferenciar estas MSCs de otros tipos celulares. En primer lugar se utiliza la citometría de flujo multiparamétrica para demostrar la expresión de los marcadores fenotípicos característicos de las MSCs (CD73, CD90, CD105 positivos; CD45, CD34, CD14/CD19, HLA-DR negativos), según criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT). Esta técnica confirma que la población analizada mantiene la identidad mesenquimal esperada tras los procesos de cultivo y manipulación.

Como complemento, se realizan ensayos de PCR y ddPCR para verificar marcadores moleculares específicos de las MSCs y determinar su estabilidad genética, asegurando la homogeneidad de la población celular.

Esta estrategia integrada permite diferenciar las MSCs de otros tipos celulares y validar su idoneidad para el uso previsto.

**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:

Las células estromales mesenquimales (MSCs), como cultivos celulares humanos, se clasifican como agente biológico del grupo 1 conforme al artículo 3 del RD 664/1997 ("aquél que resulta poco probable que cause una enfermedad en el hombre"). No representan riesgo significativo para la salud humana ni el medio ambiente, no siendo transmisibles ni patógenas para humanos, animales o plantas.

7. ¿Es el organismo receptor, 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                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                        |                                     |
| a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:                                                                                                                                                                                                                                                      |                                        |                                     |
| humanos                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <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 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.                                                                                                                                           |                                        |                                     |
| Las células estromales mesenquimales (MSCs), vivas o muertas (incluidos sus productos extracelulares), no son apreciablemente patógenas ni nocivas de cualquier otra forma para la salud humana, animales, plantas o el medio ambiente.                                                           |                                        |                                     |
| Las MSCs están clasificadas como agente biológico grupo 1 (riesgo mínimo) según el RD 664/1997. No son patogénicas, infecciosas ni tóxicas. Sus huéspedes naturales son los estromas de tejidos humanos, con diseminación transitoria sin colonización y sin patogenicidad para otros organismos. |                                        |                                     |

## 8. Información sobre reproducción

|                                                                                                                                            |                                 |                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:                                                                                          |                                 |                                  |
| Las células estromales mesenquimales no pueden reproducirse en ningún ecosistema natural, únicamente en condiciones de cultivo especiales. |                                 |                                  |
| b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:                                                                    |                                 |                                  |
| No procede                                                                                                                                 |                                 |                                  |
| c) Modo de reproducción                                                                                                                    | Sexual <input type="checkbox"/> | Asexual <input type="checkbox"/> |
| No procede                                                                                                                                 |                                 |                                  |
| d) Factores que afectan a la reproducción: No procede                                                                                      |                                 |                                  |

## 9. Capacidad de supervivencia

### a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

- |       |                           |                          |
|-------|---------------------------|--------------------------|
| i)    | endosporas                | <input type="checkbox"/> |
| ii)   | quistes                   | <input type="checkbox"/> |
| iii)  | esclerocios               | <input type="checkbox"/> |
| iv)   | esporas asexuales(hongos) | <input type="checkbox"/> |
| v)    | esporas sexuales (hongos) | <input type="checkbox"/> |
| vi)   | huevos                    | <input type="checkbox"/> |
| vii)  | pupas                     | <input type="checkbox"/> |
| viii) | larvas                    | <input type="checkbox"/> |
| ix)   | otras (especifíquense)    |                          |

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

Las células estromales mesenquimales (MSCs) humanas son células eucariotas dependientes de condiciones fisiológicas específicas para su supervivencia y proliferación. Requieren un entorno controlado en cuanto a temperatura (aproximadamente 37 °C), pH fisiológico, aporte de nutrientes y presencia de factores de crecimiento. Fuera de estas condiciones, pierden viabilidad en un corto periodo de tiempo. No forman esporas ni estructuras resistentes, ni presentan mecanismos activos de dispersión en el medio ambiente.

Las MSCs presentan una capacidad replicativa limitada por la senescencia celular y no son capaces de establecer poblaciones estables de forma sostenida sin un entorno tisular o de cultivo apropiado. La supervivencia de las MSCs estará limitada por los mecanismos inmunológicos, metabólicos y fisiológicos del mismo, sin expectativa de integración o proliferación sostenida. Por tanto, la probabilidad de supervivencia prolongada o de diseminación significativa en el medio ambiente tras la liberación se considera muy baja o nula.

## 10. a) Vías de diseminación

No se prevén vías de diseminación de las MSCs en el medio ambiente. Estas células son adherentes y no móviles, por lo que no pueden desplazarse activamente ni difundirse a través del aire o el agua. La posible diseminación se limitaría a accidentes durante la manipulación o eliminación de material biológico, controlados mediante las medidas de contención y bioseguridad establecidas en el protocolo del ensayo.

En conjunto, se considera que las vías potenciales de diseminación son mínimas y controlables, y que la probabilidad de liberación o propagación inadvertida al medio ambiente es muy baja o nula.

**10. b) Factores que afectan a la diseminación**

Las células estromales mesenquimales (MSCs) humanas son células adherentes sin mecanismos biológicos de dispersión ambiental (ausencia de flagelos, esporas o estructuras volátiles). Su crecimiento depende exclusivamente de condiciones de cultivo controlado (superficies plásticas, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, medios ricos en suero), inexistentes en el medio ambiente, donde pierden viabilidad en horas.

No presentan modos de reproducción autónoma ni capacidad de colonización de sustratos naturales. En un organismo receptor, su diseminación es transitoria por circulación sanguínea, seguida de una eliminación inmunológica.

En conjunto, la capacidad de diseminación y persistencia ambiental es baja o nula.

**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)**

No existen notificaciones previas de liberación en el territorio nacional correspondientes a las modificaciones genéticas objeto de la presente solicitud.

**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 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**

La modificación genética de las células estomales mesenquimales (MSCs) humanas mediante un vector lentiviral no replicativo tiene como finalidad la expresión estable de los genes CXCR4 e IL-10, con objeto de potenciar sus propiedades terapéuticas.

La expresión de CXCR4 está orientada a favorecer la migración dirigida de las MSCs hacia tejidos inflamados con alta expresión de la quimiocina SDF-1 (CXCL12), optimizando su *homing* tisular. La expresión de IL-10 pretende incrementar la capacidad inmunomoduladora y antiinflamatoria de las MSCs en el entorno local tras su administración.

En conjunto, el resultado perseguido es obtener MSCs con mayor capacidad de localización en tejidos diana y con un perfil antiinflamatorio mejorado, sin alterar su fenotipo ni su comportamiento de seguridad respecto a las células parentales, mejorando así su potencial terapéutico.

**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 type="checkbox"/>            |
| bacteriófago              | <input type="checkbox"/>            |
| virus                     | <input checked="" type="checkbox"/> |
| cósmido                   | <input type="checkbox"/>            |
| Elemento de transposición | <input type="checkbox"/>            |
| Otros (especifiquense):   |                                     |

b) Identidad del vector:

Se emplea un vector lentiviral bicistrónico diseñado para portar las secuencias codificantes optimizadas de CXCR4 e IL-10. Este vector es un lentivirus de tercera generación, lo que aumenta significativamente su seguridad mediante la utilización de cuatro plásmidos independientes para su producción.

El vector ha sido mejorado para optimizar la expresión, incluyendo elementos como cPPT (tracto central de polipurina) y WPRE (elemento post-regulador del virus de la hepatitis de marmota). Además, es autoinactivante, debido a delecciones en las LTR, de modo que una vez integrado en el genoma de la célula diana, las LTR no presentan actividad promotora.

Los vectores se basan en el virus VIH-1 al que se le han eliminado genes accesorios algunos reguladores, y el gen de la envuelta ha sido modificado para impedir la formación de partículas competentes para la replicación. Por tanto, se trata de virus defectivos en replicación, sin evidencia de formación de virus salvajes ni de partículas competentes.

La producción se realiza mediante cotransfección de cuatro plásmidos en células 293T: el plásmido transferente (vector que contiene las secuencias CXCR4 e IL-10), los plásmidos empaquetadores (gag-pol y rev) y el plásmido que codifica la envuelta VSV-G.

La construcción del vector se encuentra integrada en el genoma de la célula diana, garantizando expresión estable de los transgenes sin riesgo de replicación viral.

c) Gama de organismos huéspedes del vector:

El vector lentiviral se encuentra pseudotipado con la envuelta VSV-G, lo que le confiere la capacidad de transducir una amplia variedad de tipos celulares de distintas especies *in vitro*.

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

Sí ☐

No ☒

Resistencia a los antibióticos

☐

Otras, (especifíquense)

e) Fragmentos constituyentes del vector:

El vector utilizado para la modificación genética de las MSCs es un vector lentiviral tercera generación, para maximizar la seguridad biológica mediante la separación de las funciones virales esenciales en distintos plásmidos y la eliminación de los elementos necesarios para la replicación competente.

A continuación, se describen los fragmentos constituyentes del vector y los plásmidos auxiliares, incluyendo la función y tamaño de cada uno.

- **5' LTR ( $\Delta$ U3):** derivada del VIH-1, modificada (autoinactivada, SIN) para

eliminar elementos promotores y evitar la transcripción desde el provirus integrado. Tiene una longitud de 181pb.

- **Secuencia  $\Psi$  (psi):** señal de empaquetamiento del ARN viral, también derivada del VIH-1, necesaria para la incorporación del genoma vectorial en las partículas virales. Tiene una longitud de 126pb
- **Elemento cPPT/CTS:** secuencia del VIH-1 que facilita la importación nuclear del ADNc durante la transducción. Tiene una longitud de 118pb.
- **Promotor PGKh** (fosfoglicerato quinasa humana): promotor constitutivo de origen humano que dirige la expresión estable y moderada del transgén en diversos tipos celulares. Tiene una longitud de 511 pb.
- **Gen CXCR4:** secuencia optimizada que codifica el receptor de la quimiocina C-X-C tipo 4 humano, implicado en la migración y señalización celular. Tiene una longitud de 1058 pb.
- **Secuencia E2A:** péptido de autoescisión que permite la coexpresión de múltiples proteínas a partir de un único transcrito, promoviendo la separación postraducciona de las proteínas CXCR4 e IL10. Tiene una longitud de 60 pb.
- **Gen IL10:** secuencia optimizada que codifica la interleucina-10 humana, una citocina antiinflamatoria y reguladora de la respuesta inmunitaria. Tiene una longitud de 535 pb.
- **Elemento WPRE:** derivado del virus de la hepatitis de la marmota (WHV), mejora la estabilidad y exportación del ARN mensajero. Tiene una longitud de 618 pb.
- **3' LTR ( $\Delta$ U3):** LTR autoinactivada (SIN) que finaliza la transcripción y mantiene la seguridad del vector tras la integración. Tiene una longitud de 234 pb.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- |                             |                                     |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| i) transformación           | <input type="checkbox"/>            |
| ii) electroporación         | <input type="checkbox"/>            |
| iii) macroinyección         | <input type="checkbox"/>            |
| iv) microinyección          | <input type="checkbox"/>            |
| v) infección                | <input checked="" type="checkbox"/> |
| vi) otros, (especifíquense) |                                     |

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 fragmento de inserción comprende las siguientes secuencias, ordenadas de 5' a 3':</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 5' LTR (auto-inactivante)</li> <li>• Secuencia <math>\Psi</math> (psi)</li> <li>• Elemento cPPT/CTS</li> <li>• Promotor PGKh</li> <li>• Gen coCXCR4 (secuencia optimizada de CXCR4)</li> <li>• Secuencia E2A</li> <li>• Gen coIL10 (secuencia optimizada de IL10)</li> <li>• Elemento WPRE</li> <li>• 3' LTR (auto-inactivante)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>La fuente de cada parte constitutiva se detalla a continuación:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 5' LTR y 3'LTR: derivados del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), modificadas para eliminar la actividad promotora y evitar la transcripción tras la integración.</li> <li>• Secuencia <math>\Psi</math> (psi) y elemento cPPT/CTS: derivados del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), modificados para seguridad y eliminación de funciones replicativas.</li> <li>• Promotor PGKh: origen humano, derivado del gen fosfoglicerato quinasa.</li> <li>• Genes CXCR4 e IL10: codificaciones optimizadas para expresión en células humanas.</li> <li>• Secuencia E2A: péptido de autoescisión derivado del virus de la rinitis equina tipo A (ERAV).</li> <li>• Elemento WPRE: derivado del virus de la hepatitis de la marmota (WHV).</li> </ul> |

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG.

La función de cada parte constitutiva se detalla a continuación:

- 5' LTR: necesario para la transcripción inicial del vector durante la producción y para la integración en el genoma de la célula diana.
- Ψ (psi): señal de empaquetamiento que permite la incorporación del ARN vectorial en las partículas virales.
- cPPT/CTS: facilita la importación nuclear del ADNc durante la transducción.
- Promotor PGKh: dirige la expresión estable y moderada del cassette bicistrónico.
- Gen CXCR4: codifica el receptor de quimiocina C-X-C tipo 4 humano, implicado en migración y señalización celular.
- Secuencia E2A: permite la coexpresión de CXCR4 e IL10 a partir de un único transcrito, asegurando la separación postraducciona de las proteínas.
- Gen IL10: codifica la interleucina-10 humana, citocina inmunorreguladora y antiinflamatoria.
- WPRE: mejora la estabilidad y exportación del ARN mensajero, aumentando la eficiencia de expresión.
- 3' LTR: termina la transcripción y asegura que el vector sea seguro tras la integración (sin actividad promotora).

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre ☐
- integrado en el cromosoma ☒
- Otros especifíquense):

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)**

1. Indíquese si es:

|                        |                                                              |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Viroide                | <input type="checkbox"/>                                     |
| Virus ARN              | <input checked="" type="checkbox"/>                          |
| Virus ADN              | <input checked="" type="checkbox"/>                          |
| Bacteria               | <input type="checkbox"/>                                     |
| Hongo                  | <input type="checkbox"/>                                     |
| Animal                 | <input 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):                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: Primate</li><li>• 5' LTR, 3'LTR, fragmentos no codificantes <math>\Psi</math> y cPPT/CTS: <i>Ortevirales</i></li><li>• Péptido E2A: <i>Picornavirales</i></li><li>• WPRE: <i>Blubervirales</i></li></ul>            |
| ii) Familia (plantas):                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: <i>Hominidae</i></li><li>• 5' LTR, 3'LTR, fragmentos no codificantes <math>\Psi</math> y cPPT/CTS: <i>Retroviridae</i></li><li>• Péptido E2A: <i>Picornaviridae</i></li><li>• WPRE: <i>Hepadnaviridae</i></li></ul> |

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| iii)  | Género:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: <i>Homo</i></li> <li>• 5' LTR, 3'LTR, fragmentos no codificantes <math>\Psi</math> y cPPT/CTS: <i>Lentivirus</i></li> <li>• Péptido E2A: <i>Aphthovirus</i></li> <li>• WPRE: <i>Orthohepadnavirus</i></li> </ul>                                                                           |
| iv)   | Especie:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: <i>Homo sapiens</i></li> <li>• 5' LTR, 3'LTR, fragmentos no codificantes <math>\Psi</math> y cPPT/CTS: <i>Human immunodeficiency virus type 1</i> (VIH-1)</li> <li>• Péptido E2A: <i>Equine rhinitis A virus</i> (ERAV)</li> <li>• WPRE: <i>Woodchuck hepatitis virus</i> (WHV)</li> </ul> |
| v)    | Subespecie:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: <i>Homo sapiens sapiens</i></li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                     |
| vi)   | Cepa: No aplica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| vii)  | Cultivar/línea de reproducción: No aplica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| viii) | Patovar: No aplica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| ix)   | Nombre vulgar:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promotor PGKh y genes CXCR4 e IL10: Humano</li> <li>• 5' LTR, 3'LTR, fragmentos no codificantes <math>\Psi</math> y cPPT/CTS: Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1</li> <li>• Péptido E2A: Virus de la rinitis equina tipo A</li> <li>• WPRE: Virus de la hepatitis de la marmota</li> </ul>                            |

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 ☐

No ☒

No se sabe ☐

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 ☒

No ☐

En caso afirmativo, especifíquese:

De los organismos donantes incluidos en el fragmento de inserción, únicamente el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) está clasificado como agente biológico del grupo 3 conforme a la Directiva 2000/54/CE y al Real Decreto 664/1997. No obstante, en el presente vector lentiviral solo se emplean secuencias parciales no codificantes derivadas del VIH-1 ( $\Psi$  y cPPT/CTS), que no confieren capacidad replicativa ni propiedades infecciosas, por lo que su manipulación requiere un nivel de contención biológica 2.

Los demás organismos donantes, virus de rinitis equina tipo A (ERAV), virus de la hepatitis de la marmota (WHV) y Homo sapiens, no están clasificados como agentes biológicos en las normas comunitarias vigentes, y las secuencias derivadas son sintéticas, no patógenas y no infecciosas.

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

Sí ☐

No ☒

No se sabe ☐

#### 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

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?

Sí ☐

No ☒

No se sabe ☐

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Especifíquese:</p> <p>El organismo modificado (MSCs humanas transducidas con un vector lentiviral bicistrónico PGKh-CXCR4-E2A-IL10) no presenta diferencias significativas en su capacidad de supervivencia con respecto a las células madre mesenquimales no modificadas.</p> <p>La modificación genética únicamente introduce la expresión de las secuencias CXCR4 e IL10 bajo el control del promotor constitutivo PGKh, sin afectar rutas metabólicas relacionadas con la proliferación, la apoptosis o la respuesta al estrés celular.</p> <p>Además, las MSCs no son células immortalizadas ni transformadas, por lo que no presentan capacidad de persistencia ni replicación <i>in vivo</i> una vez administradas.</p> <p>En consecuencia, se considera que la modificación genética no altera la capacidad de supervivencia ni la estabilidad biológica del organismo receptor.</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 type="checkbox"/>                      No <input checked="" type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>El organismo modificado (MSCs humanas transducidas con un vector lentiviral bicistrónico PGKh-CXCR4-E2A-IL10) no presenta diferencias en el modo ni en el índice de reproducción respecto al organismo receptor.</p> <p>La modificación genética no afecta genes ni rutas implicadas en la regulación del ciclo celular, proliferación o senescencia. Las células mantienen las características inherentes a las MSCs humanas primarias, incluyendo una capacidad proliferativa limitada, ausencia de immortalización y pérdida progresiva de potencial replicativo tras varios pases <i>in vitro</i>.</p> <p>El vector lentiviral empleado no tiene capacidad de replicación, por lo que no puede propagarse entre células ni conferir capacidad replicativa a las MSCs transducidas.</p> <p>En consecuencia, el modo de reproducción y el índice de proliferación permanecen inalterados con respecto al organismo receptor no modificado.</p> |
| <p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/>                      No <input checked="" type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

Especifíquese:

El organismo modificado (MSCs humanas transducidas con el vector lentiviral bicistrónico PGKh-coCXCR4-E2A-IL10) no presenta diferencias en cuanto a la capacidad de diseminación respecto al organismo receptor.

Las células estromales mesenquimales humanas son células adherentes y no migratorias de forma significativa fuera del entorno tisular *in vitro*. Estas células pierden viabilidad progresivamente si se liberan en condiciones ambientales.

La modificación genética introducida únicamente confiere expresión de los genes CXCR4 e IL10, sin alterar propiedades relacionadas con resistencia ambiental o secreción de factores que aumenten su dispersión. La expresión ectópica de CXCR4 puede conferir a las MSCs una mayor capacidad de migración dirigida hacia gradientes de CXCL12, como se observa *in vitro* y en modelos preclínicos *in vivo*. No obstante, esta migración sigue siendo dependiente de señales específicas y no permite la propagación descontrolada de las células fuera del entorno tisular.

El vector lentiviral no tiene capacidad replicativa, por lo que no puede generar nuevas partículas virales que faciliten la propagación del transgén.

En consecuencia, aunque el OMG puede mostrar una migración dirigida ligeramente aumentada, no difiere significativamente del organismo receptor en términos de diseminación ambiental.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?

Sí ☐

No ☒

No se sabe ☐

Especifíquese:

El OMG no presenta diferencias en cuanto a patogenicidad respecto al organismo receptor. La modificación genética introduce únicamente la expresión de los genes CXCR4 e IL10, que no confieren capacidad de causar enfermedad. Además, el vector lentiviral no tiene capacidad replicativa, por lo que no puede generar partículas virales capaces de inducir patogenicidad.

Las MSCs son células somáticas humanas no transformadas, con un comportamiento bien caracterizado y un perfil de seguridad favorable demostrado tanto en estudios preclínicos como en ensayos clínicos previos. En consecuencia, el OMG conserva el mismo perfil de seguridad biológica que las MSCs no modificadas y no supone un riesgo de patogenicidad para los seres humanos, los animales ni el medio ambiente.

## 2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El organismo modificado genéticamente (MSCs humanas transducidas con el vector lentiviral bicistrónico PGKh-CXCR4-E2A-IL10) presenta estabilidad genética a corto y medio plazo *in vitro*.

La integración del vector lentiviral en el genoma de las MSCs es estable, y las secuencias codificantes de CXCR4 e IL10 se mantienen funcionales durante varios pases celulares.

Debido a la naturaleza de las MSCs humanas, que poseen capacidad proliferativa

limitada, no se espera que ocurra expansión clonal descontrolada ni pérdida significativa del transgén que afecte la seguridad biológica del OMG.

La probabilidad de recombinación, mutación o pérdida de la inserción genética es muy baja, y la modificación cumple los criterios de estabilidad genética esperados.

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"/> |
| <p>En caso afirmativo:</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes? <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-left: 400px;"> <span>animales</span> <span><input type="checkbox"/></span> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-left: 400px;"> <span>plantas</span> <span><input type="checkbox"/></span> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-left: 400px;"> <span>otros</span> <span><input type="checkbox"/></span> </div> <p>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</p> <p>El organismo modificado genéticamente (MSCs humanas transducidas con el vector lentiviral bicistrónico PGKh-CXCR4-E2A-IL10) es un organismo vivo y no presenta propiedades apreciablemente patógenas o nocivas.</p> <p>Las MSCs son células somáticas humanas no transformadas, con proliferación limitada y sin capacidad tumorigénica. El vector lentiviral utilizado no tiene capacidad replicativa, por lo que no genera partículas virales capaces de inducir patogenicidad o diseminación.</p> <p>Aunque el virus VIH-1 es conocido por su patogenicidad, el presente vector no tiene infectividad ni capacidad de propagación. Debido a su envuelta VSV-G podría transducir múltiples tipos celulares, pero en el ensayo clínico la transducción se realiza <i>ex vivo</i>, y únicamente se infundirán las células modificadas en el paciente. Por tanto, no habrá transducción de otras células. La integración del vector en la célula diana no activaría virus latentes ni permitiría colonizar otros organismos.</p> <p>La modificación genética introduce únicamente la expresión de CXCR4 e IL10. Si bien la sobreexpresión de CXCR4 puede aumentar la migración dirigida hacia gradientes de CXCL12, esto no implica riesgo de enfermedad ni capacidad de propagación descontrolada.</p> <p>En consecuencia, el OMG mantiene un perfil de seguridad equivalente al de las MSCs no modificadas, sin riesgos apreciables para la salud humana ni para el medio ambiente.</p> |                                        |                                     |

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

|                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:</p> <p>El OMG puede detectarse mediante técnicas que identifican las MSCs o el transgén</p> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

específico:

- PCR/qPCR/ddPCR para regiones específicas del vector o genes transducidos ( $\Psi$ , coCXCR4, coIL10, WPRE).
- RT-qPCR, ELISA o Western blot para detectar la expresión de los genes transducidos.
- Citometría de flujo para detectar proteínas transgénicas específicas, como CXCR4, en las células transducidas.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El OMG (MSCs humanas que expresan ectópicamente CXCR4 e IL10) puede identificarse mediante técnicas dirigidas a la presencia del vector o de los genes transducidos y la expresión de proteínas transgénicas:

- Citometría de flujo: puede detectar la expresión ectópica de CXCR4 en la superficie celular. Dado que CXCR4 está presente de forma endógena en las MSCs, esta técnica se utiliza como indicador complementario, siempre junto con la detección molecular del vector.
- PCR, qPCR o ddPCR: permiten detectar regiones específicas del vector (WPRE,  $\Psi$ ) o de los genes insertados (coCXCR4, coIL10), y cuantificar el número de copias integradas por célula (VCN).
- RT-qPCR: permite evaluar la transcripción de los genes transducidos (coCXCR4, coIL10), confirmando la expresión activa del transgén.
- Western blot o ELISA: permiten detectar la proteína IL10 producida por las células, así como cuantificar su secreción.

Estas técnicas permiten la identificación y seguimiento del OMG, así como la cuantificación de la integración y expresión del vector, asegurando un control adecuado en estudios preclínicos y ensayos clínicos *ex vivo*.

## F. Información sobre la liberación

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

La liberación del organismo modificado genéticamente tiene como finalidad su uso en un ensayo clínico de terapia celular avanzada dirigido al tratamiento de pacientes con enfermedad de injerto contra receptor (GvHD) refractaria a corticoides y a ruxolitinib.

El OMG consiste en células madre mesenquimales humanas (MSCs) modificadas genéticamente mediante un vector lentiviral de tercera generación, para expresar las secuencias optimizadas de CXCR4 e IL10.

Esta modificación busca aumentar la capacidad de migración dirigida de las MSCs hacia los tejidos inflamados (por sobreexpresión de CXCR4) y potenciar su actividad inmunomoduladora y antiinflamatoria (por expresión de IL10), con el objetivo de mejorar la eficacia terapéutica en pacientes que no responden a las

terapias convencionales.

La transducción se realiza *ex vivo*, y las células modificadas se administran posteriormente al paciente, por lo que no se prevé la liberación directa de partículas virales ni de células modificadas al medio ambiente.

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 <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                             | No <input type="checkbox"/> |
| En caso afirmativo, especifíquese:<br>El lugar de liberación (centros hospitalarios) difiere sustancialmente del hábitat natural o ecosistema habitual de las MSCs, que es el estroma vascular de tejidos humanos (adiposo, médula ósea), donde residen en condiciones homeostáticas fisiológicas. |                             |

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

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Clínica Universidad de Navarra.<br/>Avda. Pío XII, 36. Pamplona. Comunidad Foral de Navarra.<br/>Coordenadas: 42.8058° N, -1.6641° O</li><li>• Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz.<br/>Avda. de los Reyes Católicos, 2. Madrid. Comunidad Autónoma de Madrid.<br/>Coordenadas: 40.4741° N, -3.8721° O</li><li>• Hospital Clínico Universitario de Salamanca<br/>Paseo de la Transición Española s/n. Salamanca. Comunidad Autónoma de Castilla y León.<br/>Coordenadas: 40.9635° N, -5.6779° O</li><li>• Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla<br/>Avda. Manuel Siurot S/N. Sevilla. Comunidad Autónoma de Andalucía.<br/>Coordenadas: 37.36167° N, -5.98056° O</li><li>• Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca<br/>Carretera Madrid-Cartagena S/N. El Palmar. Comunidad Autónoma de Murcia<br/>Coordenadas: 37.93293° N, -1.1628° O</li></ul> |
| <p>b) Área del lugar (m<sup>2</sup>): No aplica. El medicamento se administra a un paciente mediante perfusión intravenosa en un entorno clínico hospitalario. No se espera que el OMG se libere al medio ambiente.</p> <p>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): No aplica.</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): No aplica.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

No. La liberación del OMG se realiza exclusivamente en hospitales urbanos controlados, sin proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente, zonas protegidas ni depósitos de agua potable. No existe riesgo de impacto sobre ecosistemas o recursos hídricos.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

No. La liberación del OMG se realiza exclusivamente en hospitales urbanos, sin contacto con flora, fauna, cultivos agrícolas, ganado ni especies migratorias. Por tanto, no existen interacciones posibles con organismos del entorno natural.

#### 4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Se administrarán las MSCs modificadas genéticamente a 15 pacientes, administrando 4 dosis por paciente, cada dosis de 2 millones de células por kilogramo de peso corporal (dosis total por paciente de 8 millones de células/kg).

Se estima que la cantidad total de MSCs modificadas genéticamente que se infundirán en el ensayo clínico será de  $8,4 \times 10^9$  células en bolsas criopreservadas de  $30-50 \times 10^6$  células/bolsa.

b. Duración de la operación:

La administración de las MSCs modificadas genéticamente se realizará mediante 4 infusiones intravenosas por paciente, espaciadas 1 semana entre dosis (cronograma total por paciente: 28 días).

Las bolsas criopreservadas se descongelarán a pie de cama en baño maría (37°C), seguido de infusión intravenosa inmediata al paciente.

Duración estimada del reclutamiento: 1 año para los 15 pacientes.

c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

La administración de las MSCs modificadas se realizará exclusivamente en salas hospitalarias controladas, manteniendo las células criopreservadas hasta su administración.

Las bolsas conteniendo las MSCs modificadas genéticamente se descongelarán y administrarán inmediatamente al paciente por vía intravenosa.

Las MSCs modificadas carecen de capacidad de diseminación autónoma fuera del paciente receptor.

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

La liberación del OMG se realiza en salas hospitalarias controladas, con temperatura de 20-24°C y humedad relativa 40-60% según los protocolos establecidos en cada

centro hospitalario.

Las bolsas criopreservadas se descongelan en baño maría a 37°C y se infunden inmediatamente al paciente, por lo que las condiciones ambientales externas no afectan su estabilidad ni permiten propagación.

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 existen datos de liberaciones anteriores del mismo OMG.

**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): Primates |
| ii)   | Familia (plantas): <i>Hominidae</i>         |
| iii)  | Género: <i>Homo</i>                         |
| iv)   | Especie: <i>Homo sapiens</i>                |
| v)    | Subespecies: <i>Homo sapiens sapiens</i>    |
| vi)   | Cepa: NO APLICA                             |
| vii)  | Cultivar/Línea de reproducción: NO APLICA   |
| viii) | Patovar: NO APLICA                          |
| ix)   | Nombre vulgar: Humano                       |

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

Tras la infusión de las MSCs modificadas genéticamente, estas células migrarán hacia los tejidos inflamados del paciente gracias a la expresión ectópica de CXCR4. Una vez allí, la expresión de IL10 ejercerá un efecto antiinflamatorio e inmunomodulador, regulando la actividad de células T y otras células inmunitarias. El resultado esperado es la reducción de los síntomas de GvHD refractaria.

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

No se prevén interacciones significativas con otros organismos en el medio ambiente, ya que las MSCs modificadas genéticamente se manipulan y administran exclusivamente en instalaciones controladas y el vector lentiviral no tiene capacidad replicativa.

**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 |
| <p>Especifíquese:</p> <p>No se espera selección posterior a la liberación del OMG, dado que las células se administran exclusivamente en pacientes y no se replican ni se dispersan en el medio ambiente.</p> |                                        |            |

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

No se prevé que el OMG se extienda a ecosistemas naturales ni que se establezca fuera del paciente, ya que las MSCs modificadas genéticamente se administran exclusivamente en entornos clínicos controlados.

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): No aplica

ii) Familia (plantas): No aplica

iii) Género: No aplica

iv) Especie: No aplica

v) Subespecie: No aplica

vi) Cepa: No aplica

vii) Cultivar/línea de reproducción: No aplica

viii) Patovar: No aplica

ix) Nombre vulgar: No aplica

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

c) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

Muy baja o inexistente. El OMG se administra exclusivamente en entornos clínicos controlados, sin contacto con organismos ambientales, y el vector lentiviral no tiene capacidad replicativa, por lo que no puede transferir genes a otros organismos

d) De otros organismos al OMG:

Muy baja o inexistente. No existen organismos ambientales que puedan transferir material genético a las MSCs modificadas genéticamente *ex vivo*.

En pacientes con infección activa por VIH, existe un riesgo teórico muy bajo de recombinación. Por este motivo, pacientes VIH positivos no serán incluidos en el ensayo, minimizando cualquier posibilidad de intercambio genético.

e) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

No se esperan consecuencias, ya que no se prevé que ocurra intercambio genético en los entornos de liberación ni en los pacientes incluidos.

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 aplica. Las MSCs modificadas genéticamente se administran exclusivamente en entornos clínicos controlados y no se liberan al medio ambiente. No existen estudios sobre su comportamiento en ecosistemas naturales o microcosmos, dado que no hay interacción con organismos o hábitats ambientales.

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

No aplica. Las MSCs modificadas genéticamente se administran exclusivamente en pacientes en entornos clínicos controlados y no se liberan al medio ambiente, por lo que no afectan a procesos biogeoquímicos.

## **H. Información sobre el seguimiento**

### **1. Métodos de seguimiento de los OMG**

El seguimiento del OMG en los pacientes se realizará tras cada infusión (Día 1 (D1), D8, D15 y D22) y durante las visitas programadas del ensayo clínico (D3-4, D10-11, D17-18, D24-25, Semana 4 (S4), S6, S8, S10, S12, S16, S25 y S52), evaluando eficacia y seguridad. La monitorización continuará hasta la finalización del periodo de observación definido en el protocolo (Semana 104), asegurando la detección de posibles efectos adversos relacionados con las MSCs modificadas genéticamente.

### **2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema**

No se prevé seguimiento de repercusiones en el ecosistema, ya que las MSCs modificadas genéticamente se manipulan y administran exclusivamente en entornos clínicos controlados, sin liberación al medio ambiente.

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

No aplica. No se prevé transferencia de material genético a otros organismos, ya que las MSCs modificadas se administran exclusivamente en pacientes y no hay liberación al medio ambiente.

### **4. Tamaño del área de seguimiento (m2)**

No aplica. La liberación se realiza únicamente en entornos clínicos controlados y no hay seguimiento ambiental.

### **5. Duración del seguimiento**

La duración del seguimiento del OMG corresponde al periodo definido en el protocolo clínico, que incluye todas las visitas posteriores a la infusión de MSCs modificadas genéticamente y se extiende hasta 104 semanas, asegurando la evaluación completa de seguridad y eficacia en los pacientes.

### **6. Frecuencia del seguimiento**

El seguimiento clínico de los pacientes se realizará según las visitas programadas del ensayo: Día 1, Día 3-4, Día 8, Día 10-11, Día 15, Día 17-18, Día 22, Día 24-25, Semana 4, Semana 6, Semana 8, Semana 10, Semana 12, Semana 16, Semana 25 y Semana 52. Durante estas visitas se evaluarán seguridad, eficacia y posibles efectos adversos de las MSCs modificadas genéticamente.

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

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

La administración del producto final (MSCs modificadas genéticamente) se

realizará mediante infusión intravenosa al paciente.

El área de preparación e infusión se descontaminará antes y después de la manipulación mediante el uso de desinfectantes convencionales (por ejemplo, soluciones de hipoclorito sódico). Todo el personal implicado estará formado en la manipulación de productos biológicos de nivel de bioseguridad 2, incluyendo procedimientos de limpieza, gestión de residuos y actuación ante incidentes.

Los materiales y superficies se desinfectarán con lejía u otro desinfectante validado y las agujas y jeringas se eliminarán en contenedores de bioseguridad.

Todos los residuos generados durante la manipulación de las MSCs modificadas genéticamente (pipetas, tubos, material absorbente, jeringas, agujas y bolsas de infusión vacías) se considerarán residuos biológicos de riesgo y serán eliminados en contenedores específicos de bioseguridad para su posterior incineración o tratamiento por autoclave, según los procedimientos del hospital.

En caso de derrame o contacto accidental con el producto, se aplicarán los protocolos estándar de descontaminación del centro, utilizando lejía u otros desinfectantes aprobados. Las superficies contaminadas se limpiarán y desinfectarán inmediatamente.

Si se produce una punción accidental o exposición del personal al producto, se seguirá el protocolo de seguridad laboral del hospital, informando al responsable de bioseguridad y al investigador principal del ensayo.

Los pacientes serán infundidos conforme a los protocolos clínicos establecidos del ensayo clínico. Una vez dado de alta, no se contemplan medidas específicas adicionales a las habituales en el hospital.

En caso de que un paciente presente complicaciones tras la infusión, se aplicarán los protocolos clínicos establecidos en cada centro.

## 2. Tratamiento del OMG tras la liberación

No se aplica tratamiento al OMG tras la liberación, ya que la administración consiste en la infusión de MSCs modificadas genéticamente en el paciente como parte del tratamiento terapéutico. No se prevé recuperación ni eliminación posterior del OMG; únicamente se realizará seguimiento clínico del paciente conforme al protocolo del ensayo.

## 3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Lo residuos generados serán los siguientes:

- Residuos generados durante la preparación y manipulación del OMG. Incluyen material desechable de un solo uso (guantes, jeringas, agujas, tubos, filtros, gases, material absorbente y envases del producto). Todo el material se gestionará como residuo biológico tipo II, siendo eliminado mediante incineración o tratamiento autorizado conforme a los procedimientos del hospital.
- Residuos derivados de la infusión al paciente del OMG. Comprenden las bolsas de infusión vacías, líneas de administración y consumibles utilizados durante la administración del producto. Se depositarán en contenedores

específicos de residuos biológicos y se eliminarán siguiendo la normativa sanitaria aplicable.

- Residuos derivados de la limpieza de las zonas de trabajo. Incluyen materiales de limpieza y desinfección (toallitas, papel, guantes, gasas) empleados en la descontaminación de las superficies antes y después de la manipulación. Se gestionarán como residuos biológicos del mismo nivel de contención.

El volumen de residuos generados va a ser el habitual en un procedimiento de este tipo y no van a ser grandes volúmenes.

### 3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos generados durante la administración del OMG (materiales en contacto con las MSCs modificadas y OMG no administrado) se clasificarán como residuos con riesgo biológico y se eliminarán siguiendo los procedimientos estándar de bioseguridad de cada centro hospitalario autorizado.

## 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

Durante la administración del OMG en el ensayo clínico se aplicarán medidas de bioseguridad nivel 2 (BSL-2).

En caso de dispersión accidental del OMG durante la liberación, se aplicarán las siguientes medidas:

- Aislamiento inmediato del área afectada y restricción de acceso.
- Absorción con material desechable (toallas absorbentes).
- Desinfección con hipoclorito sódico 5%, NaOH 0,5% o Virkon®.
- Recogida en bolsas plásticas resistentes etiquetadas para residuos biológicos.
- Limpieza final con agua y material desechable adicional.
- Higiene personal: Cambio de guantes y equipos de protección personal y lavado exhaustivo de manos.

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

En caso de derrame del producto:

- En todas las áreas donde se manipule, almacene o transporte el OMG deberá disponerse de un desinfectante adecuado (p. ej., hipoclorito sódico o Virkon®).
- El personal encargado de la limpieza deberá seguir las normas de bioseguridad establecidas para la manipulación de material celular humano transducido.

- Todas las superficies potencialmente contaminadas deberán ser limpiadas y desinfectadas de forma inmediata con los desinfectantes mencionados, garantizando la completa inactivación del producto.

**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**

Dado que el uso del organismo modificado genéticamente se limita a la administración intravenosa en un entorno clínico controlado, no se prevé exposición de plantas, animales o suelos al mismo. Las células estromales mesenquimales modificadas genéticamente no pueden sobrevivir ni replicarse fuera del organismo humano receptor, por lo que el riesgo de dispersión en el medio ambiente es despreciable.

En caso de manipulación accidental del producto fuera del paciente, las medidas de eliminación se basarán en los procedimientos estándar de bioseguridad de nivel 2 aplicables a material celular humano transducido: inactivación mediante desinfectantes apropiados (ej. hipoclorito sódico, etanol al 70%) y eliminación como residuo biológico siguiendo la normativa vigente.

Por lo tanto, no son necesarios métodos específicos de saneamiento en plantas, animales o suelos, dado que no existe riesgo de exposición ambiental real.

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

En el ensayo clínico, los pacientes serán monitorizados durante un período mínimo de un año tras la administración de la última dosis del tratamiento, con el fin de detectar y gestionar cualquier acontecimiento adverso clínicamente significativo. De acuerdo con la evaluación de riesgos presentada y considerando las características del producto, no se considera necesario establecer planes específicos adicionales de protección del medio ambiente, dado que no se anticipan impactos relevantes en este ámbito.