



## **EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN VECTOR DE TERAPIA GÉNICA MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/12/35)**

### **Título del ensayo:**

“Fase I, multicéntrico, abierto, dosis única, ensayo clínico de escalada de dosis para investigar la seguridad y tolerabilidad del vector de terapia génica rAAV2/5-PBGD para el tratamiento de la Porfiria Aguda Intermitente (PAI)”.

### **Características del ensayo:**

La empresa Digna Biotech presenta un ensayo clínico que comprende una única administración intravenosa del vector recombinante rAAV/5-PBGD a pacientes diagnosticados con Porfiria Aguda Intermitente (PAI).

El objetivo de la esta modificación es la preparación de un vehículo eficiente en el transporte de la secuencia correcta de la PBGD humana al interior de los hepatocitos de un paciente con PAI. La transducción del hígado con el vector rAAV/5-PBGD podría permitir la producción correcta de la enzima PBGD, para corregir la disfunción metabólica causada por la enfermedad, y por lo tanto el control de las manifestaciones clínicas tales como la neuropatía y ataques agudos recurrentes.

El OMG se administrará por vía intravenosa a ocho pacientes en una habitación individual de la Clínica Universitaria de Navarra. La preparación de la medicación se realizará dentro de una cabina de flujo laminar del departamento de Farmacia de la Clínica Universidad de Navarra. Las áreas de manipulación y administración del producto serán adecuadamente señalizadas con indicadores de riesgo biológico, con acceso restringido a personal autorizado. Los pacientes permanecerán hospitalizados durante 48 horas tras la administración.

Dado que este es un ensayo clínico de fase I de terapia génica, y es la primera vez que se administrará en humanos un vector adeno-asociado del serotipo 5, se utilizarán cuatro niveles de escalado de dosis, con dos pacientes por dosis. Los niveles de dosis propuestos son  $5 \times 10^{11}$ ,  $2 \times 10^{12}$ ,  $6 \times 10^{12}$  y  $1,8 \times 10^{13}$  copias genómicas por kilogramos de peso corporal.

Todos los profesionales de salud que estén involucrados en la preparación y administración de este vector estarán correctamente vestidos, usarán guantes, mascarilla apropiada y protección de ojos cuando participen en cualquier procedimiento relacionado con el producto.

Las instalaciones que hayan sido utilizadas para la administración del producto serán limpiadas y descontaminadas utilizando agentes virocidas.

Los pacientes que participen en el estudio serán observados durante un año tras la administración del vector, y este seguimiento será llevado a cabo en la Clínica Universidad de Navarra (Pamplona) o en el Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid), según la proximidad a su lugar de residencia.



Teniendo en cuenta que el genoma del vector puede llegar a integrarse al azar en un 0,01 % de los casos, se realizará un seguimiento de todos los pacientes tratados en el estudio por un total de 10 años. Este seguimiento será realizado en los centros seleccionados como parte de la práctica clínica habitual.

El periodo estimado para llevar a cabo el ensayo clínico será de un año, comenzando en 2012 y terminando en 2013.

### **Características del OGM:**

El OGM es conocido como rAAV/5-PBGD, y es un vector recombinante adeno-asociado derivado de un virus AAV naturalmente deficiente en su replicación (genoma del serotipo 2, y cápside del serotipo 2 y 5), que contiene una versión optimizada de la porfobilinogeno deaminasa humana (cohPBGD). La eliminación de las secuencias del virus natural ha generado que el vector adeno-asociado no sea competente en su replicación.

El organismo receptor es un virus adeno-asociados serotipos 2 y 5 (AAV2 y AAV5). Los vectores recombinantes AAV son clasificados en el nivel de bioseguridad del grupo 1. Los vectores adeno-asociados infectan frecuentemente a humanos y animales (el 80% de la población humana de origen europeo es seropositivo para al menos un serotipo AAV), pero no son patogénicos, ni virulentos, ni alergénicos o ni portadores de patógenos.

El vector rAAV2/5-PBGD está compuesto por: los ITRs de AAV2 (sin secuencias codificantes del virus salvaje como las proteínas Rep y Cap), una versión funcional del gen porfobilinógeno deaminasa humana (cohPBGD), así como una secuencia regulatoria para la expresión de PBGD, la combinación de la secuencia enhancer de la albúmina (Ealb) y el promotor alfa-1-antitripsina (hAAT) como promotor específico del hígado, la secuencia de poliadenilación del gen PBGD en humanos, la región 3' terminal no traducida del gen PBGD humano y una secuencia de la poliadenilación sintética para aislar el casete de expresión de la actividad de transcripción de secuencia ITR 5'.

En el proceso de modificación se ha utilizado tres construcciones de baculovirus conteniendo las secuencias requeridas para la generación y fabricación del vector rAAV2/5-PBGD en células de insecto.

La administración de estos OGM tendrá como consecuencia la generación de una respuesta inmune celular en el paciente hospedador que impedirá una infección futura por un vector con una estructura de cápside similar.

### **Identificación de riesgos potenciales:**

#### **1) Estabilidad genética:**

El notificador señala que la estabilidad genética del vector es equivalente a la del tipo salvaje de AAV, sin embargo, como su replicación es deficiente la estabilidad tras la replicación no es



relevante. La estabilidad genética de los stocks de baculovirus utilizadas para la fabricación es confirmada en cada pase mediante Q-PCR, calculando los ratios entre el inserto genético y el ORF más cercano al inserto y a una región específica del baculovirus (HR3). Este ratio debería de ser estable al menos hasta el pase 6 para la liberación de los stocks de baculovirus para la fabricación del producto.

## 2) Patogenicidad:

Los virus adeno-asociados (AAV) no se asocian con ninguna enfermedad en humanos y son clasificados como vectores de nivel de bioseguridad grupo 1. Estos virus infectan frecuentemente humanos y animales, pero no son patogénicos, ni virulentos, ni alergénicos, ni vectores portadores de un patógeno.

En condiciones naturales, el AAV salvaje se describe como vector de transmisión en humanos en presencia de un virus ayudante. Este vector no es capaz de activar virus latentes ni de colonizar otros organismos.

## 3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:

El vector recombinante rAAV2/5-PBGD no es capaz de replicarse ya que ha perdido todas las secuencias codificantes para proteínas virales salvajes, por lo tanto, el genoma del vector permanecerá a largo plazo únicamente en las células inicialmente transducidas por el vector. Además, no tiene capacidad de colonización a pesar de que puede persistir en las células infectadas en formas episomales.

Los resultados de excreción del vector en primates no humanos indican que rAAV2/5-PBGD es excretado tras su administración por suero, saliva, heces, orina y semen por un periodo máximo de 30 días; sin embargo, el vector rAAV2/5-PBGD excretado puede suponerse no infeccioso.

Durante el ensayo clínico se realizará un seguimiento de la excreción del vector hasta la desaparición en todos los fluidos biológicos en dos análisis consecutivos. Se analizará la excreción del vector mediante PCR en suero, saliva, secreción nasal, heces y orina antes del tratamiento con el vector y posteriormente al tratamiento tras 1, 2 y 7 días así como tras 2, 3, y 4 semanas de la administración. De manera opcional se realizará el análisis de la excreción del vector en el semen de los pacientes masculinos participantes. **La Comisión Nacional de Bioseguridad considera necesario que se aporten los resultados de estos estudios de excreción de vector tan pronto como estén disponibles.**

El notificador destaca que los niveles esperados basados en los resultados preclínicos son extremadamente bajos, y por ello no existe riesgo de infección de otros organismos. La orina representa el mayor volumen de excreción con niveles esperados alrededor de  $1/10^8$  a  $1/10^{10}$  de la dosis durante el primer día después de la administración a los pacientes. El agua residual puede considerarse como el mayor contenedor del vector excretado, pero no es un ecosistema en el que el vector pueda persistir y diseminarse.



La CNB considera necesario que el notificador introduzca en la hoja informativa al paciente una advertencia sobre el riesgo de transmisión sexual. En dicha hoja se indicará que los pacientes deben abstenerse de mantener relaciones sexuales durante 15 días como mínimo después de cada inyección, y que utilicen métodos de barrera durante el período del tratamiento y durante al menos 6 semanas después del último tratamiento.

#### **4) Efectos sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente:**

Se espera que el OMG sea degradado en su mayor parte después de la administración en humanos por proteínas endógenas y las vías catabólicas del ADN. La administración del vector estará limitada a un centro hospitalario, y el número de pacientes a tratar es muy reducido. Además, las secreciones de este vector al medio ambiente serán muy bajas.

La liberación de este OMG estará controlada. Todo el personal involucrado estará formado en buenas prácticas de bioseguridad para la recepción, envío y manejo antes y después de la administración del OMG y la eliminación de los desechos. Los profesionales de la salud que participen en el ensayo irán adecuadamente vestidos, con bata, guantes, mascarilla y protección de los ojos.

En el caso de propagación no esperada (como por ejemplo, derrames) se utilizará material absorbente, y la zona será descontaminada utilizando desinfectantes adecuados.

El notificador señala que debido a la baja cantidad de partículas de vector rAAV2/5-PBGD que puede ser potencialmente liberado al medio ambiente a través de la liberación por secreción, la transferencia génica horizontal es improbable. Incluso en el caso de que ocurriera una transferencia génica horizontal, la secuencia de rAAV2/5-PBGD no podría conferir una ventaja selectiva a las bacterias, ya que no contiene ningún promotor procariota, ningún antibiótico o algún otro tipo de resistencia genética o gen que pudiera estimular o disminuir su crecimiento.

#### **5) Control y tratamiento de residuos.**

Tras la administración del vector, los viales usados de rAAV2/5-PBGD, así como todos los componentes que ha sido utilizado para la administración (tubo guía, cánula, aguja de inyección y jeringa) serán desechados siguiendo la práctica clínica habitual de la institución de materiales biopeligrosos incluyendo cortantes.

Además todo el material quirúrgico desechable y otros materiales usados durante el procedimiento de administración del virus u obtención de muestras de excreción con altas cargas de vector (suero) serán desechados siguiendo la práctica clínica habitual de la institución de materiales biopeligrosos incluyendo cortantes.

Todo el material quirúrgico no desechable y otros materiales usados durante el procedimiento de administración del vector o obtención de muestras de excreción con altas cargas de vector (suero) serán limpiados utilizando un desinfectante químico capaz con actividad virocida (por ejemplo, una



solución de hipoclorito al 1%) y a continuación esterilizar por autoclave de forma consistente a la práctica clínica habitual de la institución.

**En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad.**

**CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, los ensayos no suponen un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.**

Una vez concluidos estos ensayos se remitirá un **informe de resultados** de los mismos a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En dicho informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 8 de octubre de 2012