



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/14)

Título del ensayo

Estudio de fase I para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la eficacia de VCN-01 en combinación con Durvalumab (MEDI4736) en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello recurrente / metastásico, del Institut Català d'Oncologia (ICO)

Características del OMG

VCN-01 es un adenovirus oncolítico derivado de Ad5 diseñado para el tratamiento de tumores con altos niveles de matriz extracelular.

Su genoma contiene diversas modificaciones que le confieren capacidad de replicación selectiva en células tumorales, lo que resulta en una potente capacidad de eliminación de tumores humanos sin afectar las células circundantes no tumorales. El mecanismo de acción de VCN-01 se basa en que el virus mata las células tumorales que permiten su replicación y además genera progenie viral que nuevamente infectará y eliminará selectivamente las células tumorales circundantes, en una cascada de auto-amplificación únicamente frenada por la presencia de células no tumorales.

La presencia en el genoma del virus de un casete de expresión de una forma soluble del enzima hialuronidasa bajo el promotor mayor tardío de adenovirus permite además la síntesis del enzima únicamente en las células tumorales (donde la replicación del virus activa este promotor) y provoca que el ácido hialurónico que rodea las células tumorales se degrade. Además la acción de la hialuronidasa provoca una reducción significativa de la presión intersticial de los tumores que permite que la progenie viral es capaz de difundir más eficientemente dentro las masas tumorales y el efecto terapéutico asociado a la replicación del virus se expande y un acceso más eficiente de los tratamientos administrados concomitantemente al paciente.

Las modificaciones genéticas son:

- 1) inserción de un promotor tumor-específico que inhibe la expresión de proteínas virales en células normales,
- 2) mutación en $\Delta 24$ del gen E1A que impide que el virus replique en células normales,
- 3) sustitución del dominio KKTK de la proteína de la fibra del adenovirus por RGDK, que reduce la llegada de virus al hígado y le confiere de más biodisponibilidad para llegar al tumor,
- 4) inclusión de una unidad de transcripción del gen de la hialuronidasa, enzima degradadora de matriz que hace aumentar la diseminación intratumoral del efecto oncolítico.

Características del ensayo

En el ensayo clínico participan los siguientes centros:

- Servicio de Oncología Médica del Institut Català d'Oncologia (ICO) – Hospital Duran i Reynals, donde tendrá lugar la preparación del OMG en farmacia, se administrará e



ingresará el paciente en una habitación individual durante las siguientes 24 horas post-administración

- Hospital Sant Rafael (Germanes Hospitalaries), donde se realizará la administración y hospitalización del paciente en una habitación individual durante las siguientes 24 horas post-administración de VCN-01. La preparación del OMG se realizará en el Servicio de Farmacia del Hospital Vall d'Hebrón

En el presente estudio se propone utilizar dos niveles de escalado de dosis (entre 3.3×10^{12} y 1×10^{13} partículas virales (vp)/paciente). Cada paciente recibirá una única infusión endovenosa del OMG a la dosis que le corresponda.

Se estima que serán necesarios aproximadamente un máximo de 20 pacientes, en una pauta de escalado de dosis. La cantidad total administrada de VCN-01 a lo largo de todo el ensayo a los pacientes podría ser de hasta 1.4×10^{14} vp.

La frecuencia del seguimiento del tratamiento será el siguiente:

- La excreción de genomas de VCN-01 se evaluará mediante muestras de esputo y heces a días 1 (pre y post administración), 8, 15 y 22 post-administración de virus durante el primer ciclo, después en los siguientes ciclos a día 1 cada cuatro semanas hasta progresión de enfermedad o discontinuación por toxicidad inaceptable.
- La presencia de genomas de VCN-01 se evaluará en sangre total a días 1 (pre y post administración), 2, 3, 8, 15, 22 durante el primer ciclo post-administración de virus, después en los siguientes ciclos a día 1 cada cuatro semanas hasta progresión de enfermedad o discontinuación por toxicidad inaceptable, y en la visita final de tratamiento.

El laboratorio encargado para el análisis de las muestras es el Laboratori de Recerca Tranlacional (LRT-1), Institut Català d'Oncologia (ICO) (instalación autorizada con número de notificación A/ES/05/I-14 y actividad autorizada con número de notificación A/ES/05/15).

Identificación de riesgos potenciales

Estabilidad genética

La estabilidad genética de VCN-01 se ha confirmado y no se espera que éste revierta al virus parental, ni que cambie sus interacciones con el medio.

Los adenovirus genéticamente modificados son generalmente estables siempre y cuando el tamaño de su genoma no exceda el 105% del tamaño del genoma del adenovirus salvaje. Genomas más grandes hacen que el virus crezca más lentamente, y sufra reordenaciones espontáneas que resultan en la pérdida de secuencias de ADN no esenciales, normalmente los insertos.

La estabilidad genética de VCN-01 se ha garantizado a nivel de diseño y a nivel de su producción:

- En primer lugar, el diseño del virus se ha efectuado de forma que el tamaño génico resultante después de haber incluido las distintas modificaciones genéticas deseadas no supere el 105%. Además, el virus no incluye ningún elemento genético repetido dentro de su genoma que permita la recombinación homóloga intragenómica (un mecanismo que se ha postulado que introduce inestabilidad y recombinaciones en los adenovirus oncolíticos).



- En segundo lugar, se ha seleccionado una línea productora de virus que no contiene ninguna secuencia genética del adenovirus integrado.

Patogenicidad

El adenovirus humano tipo 5 está clasificado como nivel de bioseguridad de clase 2. Ad5 puede causar una serie de enfermedades clínicas, la mayoría de las cuales se presentan en niños menores de 5 años. Las infecciones por adenovirus son de naturaleza leve, mayoritariamente asintomáticas y sólo el 45% de las infecciones se manifiestan como enfermedad del sistema respiratorio, enfermedad febril de la infancia, enfermedad del tipo de la tos ferina y hepatitis. El modo de transmisión es a través de la vía respiratoria u oral-fecal. También puede propagarse a través de superficies contaminadas, los dedos, las soluciones oftálmicas, y partículas en suspensión en el aire.

El OMG, VCN-01, es defectivo en su replicación en células normales humanas, y solo afecta a células tumorales humanas. En cuanto a la comparación de su patogenicidad con la cepa silvestre hay que considerar que la ruta de administración/transmisión del VCN-01 es completamente distinta, intravenosa en el caso de VCN-01 versus inhalación por vía bucal o en las mucosas nasales en el caso del Ad5 silvestre, y esto conlleva una sintomatología distinta asociada a la infección productiva en los distintos tejidos permisivos.

En el interior del organismo, los mecanismos de selectividad por célula tumoral incorporados en el genoma de VCN-01 provocan una disminución drástica de la posibilidad de que el virus establezca una infección persistente en el organismo huésped ya que la replicación del virus se auto-limita a las células del tumor y se ha demostrado que los niveles de replicación de VCN-01 células epiteliales primarias humanas o fibroblastos humanos son prácticamente nulos.

Formación de virus recombinantes

En pacientes inmunodeprimidos se ha descrito la recombinación entre adenovirus de los subgrupos B1 y E, y este mecanismo parece jugar un papel importante en la evolución de nuevas cepas con distintas propiedades inmunogénicas. Pese a ello, hasta la fecha no se han detectado híbridos espontáneos con secuencias del Ad5 subgrupo C.

Funcionalmente se ha minimizado la posibilidad de recombinación o de reversión del virus VCN-01 a la versión nativa del adenovirus mediante estrategias científicas y de control de calidad. Como línea productora de virus se utiliza la línea celular que no contiene ninguna secuencia genética del adenovirus integrada. Por otra parte, se confirma la ausencia de contaminantes virales en el Master Cell Bank, incluyendo el análisis de Ad5. Adicionalmente, a lo largo del proceso de producción se comprueba la identidad del OMG.

Por otra parte, la probabilidad de movilización de VCN-01 por co-infección con la cepa silvestre es baja (por la incapacidad de amplificación de VCN-01 en tejidos no tumorales). Sin embargo, en caso de producirse trans-complementación entre virus, el resultado sería una infección idéntica a la infección del virus parental Ad5, ya que VCN-01 no presenta una patogenicidad incrementada respecto al virus Ad5. Adicionalmente la mayor parte de la población es seropositiva para anticuerpos anti-adenovirus neutralizantes. La infección adenoviral es básicamente asintomática, auto-limitante y restringida a determinados tejidos permisivos.

Transferencia génica



En condiciones naturales no es posible la transferencia de material a otros organismos distintos del hombre. El adenovirus no se integra en las células que infecta y su permanencia se asocia únicamente a la eventualidad de una infección productiva, que únicamente se produce en humanos.

Hasta la fecha, no se ha observado ningún caso de transmisión germinal de material genético del adenovirus a la descendencia, incluso cuando se fuerzan las condiciones mediante la administración del virus por una ruta que permite su llegada a gónadas y donde es capaz de infectar células no germinales.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Las modificaciones genéticas incorporadas a VCN-01 no afectan su supervivencia fuera del huésped. La estabilidad ambiental de VCN-01 es igual a la del virus nativo Ad5, y se ha demostrado que es rápidamente eliminado por desinfectantes estándar como hipoclorito sódico 1% y dodecilsulfato sódico (SDS) 0,25%.

En el interior del organismo, los mecanismos de selectividad por célula tumoral incorporados en el genoma de VCN-01 provocan una disminución drástica de la posibilidad que el virus establezca una infección persistente en el organismo huésped ya que la replicación del virus se auto-limita a las células del tumor y se ha demostrado que los niveles de replicación de VCN-01 células epiteliales primarias humanas o fibroblastos humanos son prácticamente nulos. La presencia de genomas virales en aquellos tejidos donde el virus ha llegado después de una administración sistémica, disminuye hasta desaparecer con el tiempo y únicamente en tumor (tejido permisivo) se mantienen e incrementan los niveles con el tiempo como consecuencia de su mecanismo de acción.

En cuanto a capacidad de diseminación, existen datos publicados de la primera generación de vectores adenovirales deficientes en replicación que indican que la capacidad de diseminación esperable es baja o insignificante.

Dada la poca probabilidad de infectar sujetos no tratados intencionalmente, y la nula replicación de VCN-01 en células de sujetos no afectados de cáncer, se considera despreciable la posibilidad que haya diseminación de VCN-01 a partir de terceras partes.

Aunque algunas especies animales han demostrado ser semi-permisivas a la replicación de Ad (ratas aldoneras, cerdos, chimpancés y algunos tipos de hámster), se ha visto que la transmisión horizontal (infección efectiva) sólo se produce entre humanos, y no afecta a ninguna otra especie. Las modificaciones genéticas introducidas en VCN-01 no alteran especificidad del adenovirus humano. Además la estabilidad genética del virus hace que esta especificidad no varíe.

El mismo OMG (VCN-01) se está administrando actualmente en otros ensayos clínicos fase I en España (Notificaciones: B/ES/13/04, B/ES/13/05 y B/ES/15/15). De acuerdo a los datos disponibles del ensayo B/ES/13/04 (en el que se administra VCN-01 por vía endovenosa), el perfil de excreción de se encuentra concentrado sobre todo durante los primeros 8 días post-tratamiento para todos los fluidos analizados: esputo, heces y orina.

Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

Teniendo en cuenta las propiedades inherentes de VCN-01 (la selectividad intrínseca por las células tumorales humanas conferida por sus modificaciones genéticas, su estabilidad genética y el perfil de biodistribución), y las condiciones de liberación propuestas (administración



intravenosa en el marco de un ensayo clínico en el que se adoptarán una serie de medidas de prevención y contención), se puede concluir que la probabilidad de que VCN-01 establezca infecciones productivas en seres humanos sanos es despreciable. En consecuencia, no se espera ningún impacto en la salud humana, como resultado de las interacciones de VCN-01 y las personas que están involucradas en la manipulación y administración de VCN-01 ni en el trato con los pacientes a corto o largo plazo.

Teniendo en cuenta que la transmisión de VCN-01 de los pacientes con cáncer a los animales es muy poco probable y que no hay reservorios animales naturales para VCN-01 (la especificidad de VCN-01, como de Ad5 se limita a los seres humanos), no se prevén efectos sobre otros organismos no diana.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El producto se almacena en la farmacia de la unidad de ensayos clínicos. La dilución para la reparación de la dosis se realiza en una cabina de seguridad biológica de clase II, que será descontaminada antes y después de la manipulación con una solución basada en un desinfectante convencional (lejía, jabón o similar).

Los restos de viales y material desechable en contacto directo con VCN-01 (agujas, guantes, etc.), deberán ser colocados dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III (biosanitarios incluyendo punzantes).

El traslado de la preparación se realizará en un envase hermético cerrado, siguiendo los procedimientos habituales del hospital recomendada para la manipulación de vacunas con virus vivos.

El acceso a la sala en la que se va a administrar el producto será restringido. Los restos del tratamiento (viales), así como cualquier material desechable que haya estado en contacto directo con VCN-01 (agujas, guantes, etc.), deberán ser colocados dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III (biosanitarios incluyendo punzantes).

Las ropas o sábanas utilizadas, así como material de uso clínico serán preferentemente de tipo desechable y una vez terminada la administración deben depositarse en un contenedor de bioseguridad para residuos del grupo III. Si no son desechables pero han sufrido alguna contaminación serán depositadas igualmente en un contenedor de bioseguridad para residuos del grupo III. Las ropas o sábanas no desechables sin evidencias de contaminación debe seguir el protocolo vigente de limpieza y desinfección del hospital y su tratamiento incluirá un programa de lavado a 90°C durante 30 min con productos desinfectantes incluyendo jabón.

Los contenedores de residuos serán debidamente rotulados y serán gestionados por una empresa especializada. La inactivación de VCN-01 se consigue en autoclave a 121 °C durante 15 min, con una eliminación 100% eficaz. Se permite el empleo de temperaturas más elevadas, o de una mayor duración del proceso de autoclavado.

Todo el equipo y las superficies de trabajo deberán ser limpiados y desinfectados con un desinfectante (lejía (Hipoclorito Sódico 1%), jabón (SDS 0.25%) o similar) aplicando el protocolo habitual de limpieza del hospital.

De acuerdo con el protocolo clínico, se tomarán muestras del paciente para posterior análisis. Todos los especímenes del paciente deberán ser introducidos en una bolsa sellada y transportados al laboratorio apropiado en un contenedor rígido cerrado. Los contenedores y las bolsas serán



etiquetados como productos biológicos de riesgo. Las muestras que deban ser transportadas a un laboratorio externo, también deberán ir en un contenedor rígido cerrado. Antes de su salida, el laboratorio receptor deberá ser informado de la llegada de las muestras.

Se han redactado unas instrucciones detalladas sobre cómo prevenir la diseminación y contaminación por el virus y se harán llegar a todo el personal involucrado en la manipulación del producto, a los pacientes y a sus familiares

En las instrucciones para el personal sanitario se recoge la indumentaria que debe portar el personal sanitario, como se ha de hacer la limpieza y desinfección, como se han de gestionar los residuos, como se debe transportar el producto y las muestras, etc.

En el documento de instrucciones para familiares se indica que en el domicilio se debe utilizar un baño separado, si es posible, que se debe utilizar lejía en los sanitarios después de utilizarlos durante los primeros 10 días tras la administración del producto, que se deben lavar las manos con jabón antiséptico después de ir al lavabo, se aconseja utilizar cubiertos y platos separados y asegurar su lavado con jabón y minimizar el contacto con personas inmunodeprimidas y embarazadas.

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, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 24 de septiembre de 2018