



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS VACCINIA MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/29)

Título del ensayo

Ensayo de fase Ib/II que evalúa la combinación de TG4001 y avelumab en pacientes con tumores malignos recurrentes o metastásicos positivos para VPH-16 y cohorte de expansión a carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC).

Características del ensayo

En el ensayo participarán el Hospital Universitario 12 de Octubre, el Hospital Universitario Virgen de la Victoria, el Institut Català d'Oncologia, el Hospital Clínico Universitario San Carlos, el Hospital Universitario Virgen de las Nieves y el Hospital General Universitari Valencia.

Los pacientes recibirán inyecciones subcutáneas semanalmente durante 6 semanas, a continuación una vez cada 2 semanas hasta el mes 6 (desde el comienzo del tratamiento del estudio), y a partir de entonces, una vez cada 3 meses. En total, los pacientes serán tratados con el OMG durante un máximo de 2 años o hasta progresión confirmada de la enfermedad o toxicidad inaceptable, o interrupción prematura por cualquier motivo, lo que ocurra primero. En cada inyección el paciente recibirá 5×10^7 UFP. Dado que se pretende incluir a 12 pacientes en esta fase del estudio, la cantidad total de OMG liberada será de un máximo de $1,44 \times 10^{10}$ UFC.

Los pacientes también recibirán cada 2 semanas avelumab, un anticuerpo que bloquea el receptor-1 de muerte programada humano (PD-1),

Organismo Modificado Genéticamente

El OMG, MVATG8042 o TG4001, es un virus vaccinia recombinante que contiene las secuencias codificantes de los antígenos E6 y E7 del virus del papiloma humano tipo 16 (VPH16) mutadas (*delE6* y *delE7*), y la interleucina 2 humana (IL2).

El MVA modificado es una subcepa del virus de vaccinia, atenuada tras 570 pases en fibroblastos primarios de embrión de pollo (CEF) originándose seis deleciones que dan como resultado la pérdida de 30 kb, alrededor del 16% de su información genética. MVA presenta una severa restricción de células huésped pudiendo crecer en células de ave y en células de riñón de hámster recién nacido (BHK) pero no puede propagarse en células humanas ni en la mayoría de células de mamíferos. El OMG, al igual que MVA, es no replicativo (la replicación se interrumpe en una fase tardía del ciclo de vida del virus, tras la replicación del ADN que incluye la secuencia codificante de los transgenes; la morfogénesis del virión se interrumpe), no propagativo (no es capaz de generar partículas infecciosas) y no integrativo (localización citoplasmática).

- El gen de *E6* de VPH16 codifica la proteína E6 que es capaz de unirse a la proteína p53, una proteína supresora de tumores. El E6 insertado se modificó eliminando la región relacionada con la unión a p53.
- El gen de *E7* de VPH16 codifica la proteína E7 de VPH16 que se une a varias proteínas celulares que están implicadas en la regulación del crecimiento celular. El *E7* insertado en MVA se modificó para eliminar esta unión.



Para llevar a cabo la modificación genética se utilizó un plásmido de transferencia que contiene las secuencias de ADN que codifican los antígenos mutados E6 y E7 de VPH16 y la secuencia que codifica la IL2 junto con los promotores que dirigen su expresión en células infectadas. Estas secuencias génicas están flanqueadas por regiones genómicas de MVA que permiten la recombinación homóloga entre el plásmido de transferencia y el genoma del virus.

La obtención del OMG se realiza mediante cotransfección de fibroblastos primarios de embrión de pollo (CEF) con el plásmido de transferencia y un subclón del virus vaccinia Ankara modificado y posterior selección de los recombinantes.

Identificación de riesgos potenciales

Estabilidad fenotípica y genotípica

Se realizaron pruebas de estabilidad genética a lo largo de los pases de amplificación, desde el inóculo primario hasta 3 pases más allá del número de pase de los lotes de sustancia activa procedentes del inóculo primario y usados para estudios clínicos. Más tarde, se añadió un inóculo de trabajo que se usa para producir los lotes. El análisis del OMG (análisis de secuencia y expresión de los transgenes) concluyó que conserva las características esperadas 3 pases más allá de los pases extendidos.

Patogenicidad

Es probable que el OMG tenga el mismo rango de huéspedes y un perfil de seguridad similar a MVA. Dado que no se eliminan secuencias de MVA y no resultan destruidas funciones virales esenciales en el sitio de inserción, es probable que el fenotipo viral se conserve en el OMG.

El MVA así como otros miembros de la familia Poxviridae son únicos entre los virus de ADN en cuanto a que se replican en el citoplasma de la célula. No existen referencias bibliográficas sobre la integración del virus de vaccinia o MVA en el genoma de la célula del huésped ni sobre acontecimientos adversos asociados a la integración.

El MVA no se replica en las células humanas normales, no es virulento en animales normales ni inmunodeprimidos, y se ha usado con éxito como cepa vacunal sin efectos adversos significativos.

Toxicidad

El perfil de toxicidad (toxicidad general y tolerancia local) se investigó en ratones, ratas y conejos después de administraciones únicas y/o repetidas. Excepto los efectos irritantes de leves a moderados (eritema y/o edema) en el sitio de la inyección y el aumento del peso del bazo correlacionado con la hiperplasia linfocítica (efecto potencial de farmacología exagerada), demostró un buen perfil de seguridad hasta la dosis máxima posible, cercana a la dosis humana.

En estudios clínicos fue bien tolerado hasta la dosis única máxima de 5×10^7 UFC. Un total de 322 sujetos han recibido al menos una dosis de TG4001. Las reacciones en el sitio de la inyección, que incluyen eritema, dolor o reacción no especificada de otro modo, fueron los acontecimientos adversos relacionados notificados con mayor frecuencia.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

El MVA no es capaz de generar partículas infecciosas. Numerosos estudios han documentado que el MVA se propaga mal en líneas celulares humanas y no se propaga en fibroblastos humanos primarios o en células mononucleares primarias de sangre periférica (PBMC), células dendríticas y monocitos. También se ha demostrado en macrófagos primarios que el virus Vaccinia de tipo silvestre se bloquea



en varias fases tardías de la infección viral, incluyendo la replicación del ADN viral y la producción de viriones de progenie infecciosa.

La posible diseminación del OMG entre los trabajadores del sector sanitario y los familiares de los pacientes es un riesgo potencial para éstos. Sin embargo, no se han notificado infecciones adquiridas en el laboratorio por exposición a cepas de MVA, virus recombinantes derivados de estas cepas o durante los estudios clínicos realizados hasta ahora con TG4001 o con otros productos similares basados en MVA.

La biodistribución de TG4001 evaluada después de inyecciones intramuscular repetidas en rata no mostró diseminación significativa del vector fuera del sitio de inyección. Por lo tanto, la diseminación desde el sitio de administración a otros órganos es poco probable. En estudios en seres humanos con TG4001 y otros OMG basados en MVA, permanecieron localizados en el sitio de la inyección y no se observó diseminación a otros órganos o eliminación a través de la orina o sangre de los pacientes. La diseminación viral se evaluó en pacientes a los que se administró de 5×10^5 UFC a 5×10^7 UFC por vía intramuscular y subcutánea. Se analizó muestras de sangre y orina de 18 pacientes mediante PCR y todas fueron negativas.

Los virus encapsulados en lípidos, como TG4001, son sensibles al tratamiento físico como la esterilización con vapor (esterilización en autoclave) y al tratamiento químico con desinfectantes de uso hospitalario que contienen lejía, aldehídos, alcoholes, peróxido de hidrógeno, fenoles y compuestos de amonio cuaternario.

Riesgo de transferencia genética

El virus Vaccinia de tipo silvestre no se encuentra de forma natural en el medio ambiente y, en consecuencia, no pueden ocurrir acontecimientos de recombinación con el OMG.

El rescate del defecto del rango de huéspedes en el MVA podría generar un virus que comenzase a propagarse en las células humanas primarias y se diseminase desde el sitio de inyección. Sin embargo, esto parece poco probable por varias razones. En primer lugar, actualmente no existen virus de viruela de tipo silvestre endémicos en la población humana que pudiesen participar en un acontecimiento de rescate, no se conoce ningún poxvirus humano capaz de complementar la capacidad de propagación. En segundo lugar, se ha demostrado que el fenotipo de rango de huéspedes de MVA es el resultado de mutaciones genéticas múltiples, lo cual hace poco probable la reversión espontánea ya que requeriría múltiples acontecimientos de recombinación para el rescate del fenotipo. Además, se espera que la reversión de MVA a un fenotipo competente en replicación sea muy poco probable debido a que la restricción y atenuación de la replicación del MVA se basa en la falta o funcionalidad parcial de múltiples productos génicos.

El ciclo de vida del MVA tiene lugar exclusivamente en el citoplasma, por lo que la probabilidad de transmisión vertical es extraordinariamente baja. Se investigaron los posibles efectos sobre la gestación, el parto y la lactancia temprana en ratones gestantes (C57BL/6) y los efectos sobre la supervivencia de las crías no observándose toxicidad materna o efectos adversos sobre el desarrollo embriofetal y pre y postnatal de las crías. También se realizaron estudios de biodistribución con TG4001 que demostraron la ausencia de ADN de MVA en las gónadas.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Los centros clínicos donde se realizará el estudio se evaluarán exhaustivamente, antes del inicio del estudio, para garantizar que las instalaciones sean suficientes para almacenar y administrar el OMG en investigación, así como contar con las instalaciones adecuadas para la recogida y el almacenamiento



de muestras humanas. Adicionalmente, todo el personal del centro clínico implicado en la manipulación o la administración del OMG en investigación será entrenado de acuerdo con el protocolo del estudio, y toda la documentación de apoyo, incluidos los manuales específicos de laboratorio y del material del ensayo clínico del estudio.

El producto en investigación debe prepararse en condiciones que cumplan las normas para las preparaciones inyectables, en cabinas de bioseguridad de clase II. Se proporcionará al personal implicado en la manipulación del producto información técnica relacionada con las medidas de precaución a tener en cuenta, el uso de protección individual (batas, guantes, mascarilla), las medidas a adoptar en caso de derrame o de contacto con la piel, ojos, en caso de ingestión o inhalación, la gestión de los residuos, los métodos de limpieza y desinfección de las superficies con desinfectantes eficaces. Además se proporciona al personal un documento para la preparación del producto en investigación y su administración.

El transporte tanto de los viales como del producto en jeringas con la dosis a inyectar se realizará en una bolsa de transporte de plástico sellada u otros recipientes a prueba de fugas sellados e identificados con un símbolo de peligro biológico.

En cuanto al tratamiento de residuos que se recoge en la ficha técnica, el material desechable como viales, material de preparación y administración, como jeringas y otro material usado (batas de laboratorio, guantes, máscaras, compresas, apósitos, etc.), deben eliminarse de acuerdo con los requisitos específicos para los residuos infecciosos (por ejemplo, esterilización en autoclave o tratamiento con solución de hipoclorito de sodio antes de la incineración). En cada centro, los residuos del medicamento en investigación se recogerán en contenedores especiales para residuos infecciosos (Grupo o categoría III) marcados con una etiqueta que indica “Contenedor para residuos biológicos infecciosos, Contiene OMG” y serán destruidos por entidades acreditadas para este fin. El material reutilizable contaminado, como batas de laboratorio, gafas de protección, mascarillas, camisas de hospital, ropa de cama, sábanas, toallas, etc. deberá lavarse y tratarse de conformidad con el procedimiento hospitalario vigente relativo al tratamiento de materiales infecciosos (p. ej.: lavado con agua caliente a 71 °C y detergente, y secado con aire caliente).

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 15 de marzo de 2019