

PARTE 1 (DECISIÓN DEL CONSEJO 2002/813/CE)

MODELO DE RESUMEN 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:
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:
d) Título del proyecto: Ensayo multicéntrico, aleatorizado, abierto, controlado, de fase II, para comparar la seguridad y la eficacia del CERE-120 (serotipo 2 del virus adenoasociado [AAV2]-neurturina [NTN]) administrado por vía intraputamina (IPu) bilateral combinado con tratamiento farmacológico óptimo (TFO) frente al TFO solo en sujetos con enfermedad de Parkinson idiopática
e) Periodo propuesto para la liberación: Noviembre 2008- Diciembre 2010 aproximadamente.

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: [Universidad de Navarra, Neurología-Neurociencias Clínica Universitaria, Avenida de Pío XII, 36, Facultad de Medicina \(Pamplona, España\)](#)

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:

- viroide (.)
- virus ARN (.)
- virus ADN (X)
- bacteria (.)
- hongo (.)
- animal:
 - mamíferos (.)
 - insectos (.)
 - peces (.)
 - otro animal (.)
- otro, especifíquese (reino, *phylum* y clase): ...

b) Identidad del OMG (género y especie): **CERE-120**

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

Durante el programa de desarrollo de CERE-120 (desde las fases preclínicas iniciales hasta la fabricación del lote clínico más reciente) se han llevado a cabo varios ensayos para determinar la estabilidad genética de CERE-120: 1) ensayo de identificación molecular; 2) transducción *in vitro*/ELISA de neuriturina para evaluar la expresión transgénica; 3) ensayo *in vitro* de potencia sobre células diana para evaluar la actividad biológica de la neuriturina; y 4) ensayo de detección de AAV2 capaces de replicarse con activación del virus auxiliar, para detectar la presencia de AAV2 de tipo silvestre en los lotes clínicos. Por el momento, todos los resultados de los ensayos han confirmado la estabilidad genética de CERE-120.

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 (X)

No (.)

En caso afirmativo indique los códigos de los países:

SP

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

Sí (.)

No (X)

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación:
- Número de la notificación: B/./././...

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

Sí (.)

No (X)

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: ...
- Número de la notificación: ././././...

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

CERE-120 procede de un AAV2 incapaz de replicarse en condiciones naturales. El AAV2 no es patógeno y exige la presencia de un virus auxiliar (adenovirus o herpes) para replicarse. La presencia del tipo silvestre del AAV2 en CERE-120, que podría producirse por recombinaciones no homólogas entre plásmidos durante la fabricación, se evalúa mediante un ensayo que logra detectar AAV2 capaces de replicarse tras una coinfección con adenovirus. Hasta la fecha, en los lotes clínicos de CERE-120 no se ha detectado ninguna entidad capaz de replicarse.

Dado que el AAV2 es incapaz de replicarse en condiciones naturales y precisa un virus auxiliar para hacerlo, la movilización del genoma de CERE-120 que no codifica para ninguna proteína viral requeriría la coinfección de las células transducidas con un tipo silvestre del AAV y un virus auxiliar (adenovirus o herpes). Puesto que el AAV y los adenovirus no suelen producir infecciones en el sistema nervioso central (SNC), que es donde se aplica el CERE-120, y que las

infecciones cerebrales herpéticas son raras, la probabilidad de que el vector sea movilizado tras su administración inicial es muy remota.

Se ha estudiado CERE-120 en una serie de estudio preclínicos de toxicología y biodistribución animal y en dos estudios clínicos en los cuales se administró a seres humanos. Por el momento no ha habido indicio alguno de emisión medioambiental de productos virales tras la administración de CERE-120 a pacientes.

CERE-120 se administrará al paciente en una única administración por medio de una intervención neuroquirúrgica estereotáctica, en la cual se usará un sistema de aplicación proporcionado por el promotor que constará de un tubo guía, una cánula, una aguja trócar, una aguja de inyección y una jeringa. El sistema de aplicación se suministrará al centro de investigación en forma de sistema estéril no reutilizable. Todos los profesionales sanitarios implicados en la preparación y administración de CERE-120 a cada paciente vestirán la bata y los guantes pertinentes y se cubrirán con la mascarilla y protección ocular correspondiente cuando participen en cualquier tipo de procedimiento que implique al producto, y se les dará formación sobre la manipulación del producto. Además, si se produjera algún vertido accidental o roturas con CERE-120, los profesionales sanitarios implicados en el procedimiento de limpieza vestirán asimismo bata y guantes y llevarán la protección ocular correspondiente según las normas de la institución sobre manipulación de materiales biopeligrosos. Se entregará a todos los centros clínicos una ficha de datos de seguridad para CERE-120, en la que se describirá el producto y las precauciones e instrucciones de manipulación pertinentes. Si se siguen las instrucciones, el riesgo de que se produzcan efectos adversos es despreciable. No obstante, incluso si no se siguieran, es improbable que CERE-120 vaya a causar problema alguno, dado que el AAV2 no ha sido vinculado con patología alguna ni con enfermedades humanas. Tras la cirugía, los viales de CERE-120 y los componentes del sistema de aplicación que se hayan usado (tubo guía, cánula, aguja trócar, aguja de inyección y jeringa) se desecharán siguiendo las prácticas habituales de la institución para los objetos punzantes biopeligrosos. Todos el instrumental quirúrgico desechable u otros materiales desechables que se usen durante la intervención se desecharán también siguiendo las prácticas habituales de la institución para los objetos biopeligrosos. Todos los equipos quirúrgicos y otros materiales no desechables que se usen durante la intervención se limpiarán con un desinfectante químico con actividad virucida (p. ej., Virkon®) y a continuación se esterilizarán con autoclave siguiendo la práctica habitual de la institución.

En conjunto, a la vista de las características de este vector, su vía de administración, los resultados negativos de emisión viral y las medidas de protección medioambiental, entendemos que la exposición no deseada del medio a CERE-120 no sería nociva ni para los seres humanos ni para los animales o las plantas.

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

- Agua (.)
- Suelo, en libertad (.)
- Suelo, en simbiosis con sistemas radiculares de plantas (.)
- En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas (.)
- En simbiosis con animales (.)
- Otros especifíquense : Humano

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

5. a) Técnicas de detección:

- PCR cuantitativa para detectar genomas vectoriales de CERE-120 resistentes a la ADNasa mediante la amplificación de una región de 110 pb del genoma vectorial que abarca el extremo 3' del promotor CAG y el extremo 5' de las regiones codificadoras pre-pro del NGF.
- Técnica de ELISA para la cápsida del AAV2 con la que se cuantifican cápsidas del AAV2 intactas desde el punto de vista conformacional.

5. b) Técnicas de identificación:

- Método de PCR cuantitativa con cebadores múltiples para identificar el promotor CAG y el dominio pre-pro del NGF de CERE-120.
- electroforesis en gel de poliacrilamida con tinción de nitrato de plata para identificar proteínas de la cápsida del AAV2 (VP1, VP2 y VP3).

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 (X)

No (.)

En caso afirmativo, especifíquese: ... Los AAV2 están clasificados en el Grupo/Clase 1.

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

Sí (.)	No (X)	No se sabe (.)
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?		
<ul style="list-style-type: none"> - Humanos (.) - Animales (.) - Plantas (.) - Otros (.) 		
c) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE: No hay presente ningún rasgo patológico, ecológico ni fisiológico. En condiciones naturales y en presencia de un virus auxiliar (adenovirus), el tipo silvestre del AAV2 se transmite exclusivamente a los seres humanos, y no se tiene conocimiento de que colonice otras especies.		

8. Información sobre reproducción.

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No corresponde, ya que CERE-120 carece de secuencias de codificación de proteínas virales.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: No corresponde
c) Modo de reproducción: No corresponde
d) Factores que afectan a la reproducción: No corresponde

9. Capacidad de supervivencia

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

- i) endosporas (.)
- ii) quistes (.)
- iii) esclerocios (.)
- iv) esporas asexuales (hongos) (.)
- v) esporas sexuales (hongos) (.)
- vi) huevos (.)
- vii) pupas (.)
- viii) larvas (.)
- ix) otras (especifíquense): **coinfeción de células transducidas con el tipo silvestre del AAV2 y un virus auxiliar (adenovirus o herpes)**

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

CERE-120 es sensible a soluciones de hipoclorito de sodio al 1%, fenol al 5% o virucidas corrientes, como p. ej. Virkon[®]. El CERE-120 es termosensible (>80 °C durante 60 minutos), y sensible a la radiación UV y los pH extremos (<2 y >12).

10. a) Vías de diseminación:

Una vez inyectado a los pacientes, no hay indicio alguno de que el vector génico CERE-120 se emita a su suero o la orina. Por lo tanto, es improbable que CERE-120 se disemine a ecosistema alguno.

10. b) Factores que afectan a la diseminación:

No corresponde

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 corresponde

C. Información sobre la modificación genética

1. *Tipo de modificación genética:*

- i) Inserción de material genético (X)
- ii) Eliminación de material genético (X)
- iii) Sustitución de una base (.)
- iv) Fusión celular (.)
- v) Otro (especifíquese): ...

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética:

CERE-120 es un vector viral (del virus adenoasociado, serotipo 2, AAV2) elaborado mediante ingeniería genética que carece de secuencias que codifiquen proteínas virales silvestres y, en su lugar, codifica el ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) de la neurturina humana (NTN). La delección de las secuencias codificadoras nativas del AAV2 incapacita a CERE-120 para replicarse. En el vector CERE-120, la expresión transgénica la controlan el promotor constitutivo CAG (una fusión del mínimo elemento potenciador del citomegalovirus con el promotor unido al sitio de empalme donador del gen de la β -actina de pollo y a un intrón con un sitio de empalme aceptor del gen de la β -globina del conejo) y la señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento humana. Este casete de expresión de la NTN está flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (RTI) del AAV2. Para fomentar una secreción eficiente de NTN madura por parte de las células transducidas, el dominio pre/pro natural del ADNc de la NTN humana se reemplazó con el del factor de crecimiento nervioso β humano (NGF) La proteína precursora híbrida resultante (híbrido de pre-pro-hNGFnNTN y ADNc) genera la NTN madura secretada tras pasar por el procesamiento proteolítico de la vía secretora celular.

Se ha demostrado que la NTN, un análogo funcional y estructural del factor neurotrófico derivado de una línea celular glial (GDNF), presenta propiedades neuroprotectoras y neuroregeneradoras en modelos de roedor y primates no humanos de la enfermedad de Parkinson (EP). El CERE-120 se aplicará mediante inyección intraputamina (IPu) bilateral para conseguir la administración de la NTN en las dianas deseadas, con lo que se aportará NTN en forma sostenida a las neuronas afectadas por la EP que están en proceso de degeneración, al tiempo que se minimiza la presencia de NTN en regiones ajenas al sistema nigroestriado.

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

Sí (X)	No (.)
Cere-p521 (genoma del CERE-120)	
Cere-p509 (AAV auxiliar)	
Cere-p511 (Ad auxiliar)	

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

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

Cere-p521: Sí (X)	No (.)
Cere-p509: Sí (.)	No (X)
Cere-p511: Sí (.)	No (X)

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 (X)
- Bacteriófago (.)
- Virus (.)
- Cósmido (.)
- Elemento de transposición (.)
- Otros (especifíquese): ...

b) Identidad del vector:

Cere-p521 a.k.a. pK-AAV-CAG-NGF/NTN

c) Gama de organismos huéspedes del vector:

Escherichia coli

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

Sí (X)

No (.)

- Resistencia a los antibióticos (X)
- Otras (especifíquese):

- **Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:** Kanamicina

Obsérvese que el vector CERE-120 final no contiene ningún gen de resistencia a la kanamicina.

e) Fragmentos constituyentes del vector:

- promotor CAG
- dominio pre-pro del NGF humano
- ADNc de la NTN humana madura
- señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento humana
- ITR 5' y 3' del AAV2
- Esqueleto del plásmido pUC modificado para sustituir al gen de resistencia a la ampicilina por el de resistencia a la kanamicina

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor:

- i) Transformación (.)
- ii) Electroporación (.)
- iii) Macroinyección (.)
- iv) Microinyección (.)
- v) Infección (.)
- vi) Otros

CERE-120 se fabrica con observancia de las normas de correcta fabricación vigentes (cGMP) en células HEK 293 mediante una

técnica de transfección con plásmido triple exenta de virus auxiliar. El vector se obtiene de lisados celulares clarificados que se purifican por medio de procesos cromatográficos y de filtración de etapas múltiples

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

- i) Transformación
- ii) Microinyección
- iii) Macroencapsulación
- iv) Macroinyección
- v) Otros clonación molecular

6. Información sobre el fragmento de inserción:

- a) Composición del fragmento de inserción:
El híbrido de ADNc contiene ADNc de la neurturina humana (NTN) en la que el dominio pre-pro natural ha sido sustituido por el del factor de crecimiento nervioso humano (NGF) a fin de fomentar la secreción eficiente de NTN madura por parte de las células transducidas
- b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:
La NTN humana íntegra se obtuvo mediante amplificación por PCR a partir de un repositorio universal de ADNc (Clontech 7108-1).
- c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG:
El híbrido de pre-pro-hNGFnNTN y ADNc se traducirá en un precursor proteico que genera la NTN madura secretada tras pasar por el procesamiento proteolítico de la vía secretora celular. La NTN podría impedir la degeneración y muerte de las neuronas nigroestriadas existentes, así como restablecer la función dopaminérgica en las neuronas disfuncionales existentes.
- d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:
 - En un plásmido libre
 - Integrado en el cromosoma
 - **Otros (especifíquense):** El inserto está clonado en el genoma del vector viral.
- e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o funciones 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 (.)
- virus ARN (.)
- virus ADN (.)
- bacteria (.)
- hongo (.)
- animal:
 - mamíferos (.)
 - insectos (.)
 - peces (.)
 - otro animal (.)
- otro, especifíquese (reino, *phylum* y clase): humano

2. Nombre completo:

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

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

Sí (.)	No (X)
En caso afirmativo, especifíquese:	
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	
<ul style="list-style-type: none"> - Humanos (.) - Animales (.) - Plantas (.) - Otros ... 	
b) ¿Están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?	
Sí (.)	No (X) No se sabe (.)
En caso alternativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 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 (X)

En caso afirmativo, especifíquese: ...

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

Sí (.)

No (X)

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 (X)

No se sabe (.)

Especifíquese:

b) *¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?*

Sí (X)

No (.)

No se sabe (.)

Especifíquese: **El OMG es incapaz de replicarse.**

c) *¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?*

Sí (.)

No (X)

No se sabe (.)

Especifíquese:

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

Sí (.)

No (X)

No se sabe (.)

Especifíquese:

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente:

Durante el programa de desarrollo de CERE-120 (desde las fases preclínicas iniciales hasta la fabricación del lote clínico más reciente) se han llevado a cabo varios ensayos para determinar la estabilidad genética de CERE-120: 1) ensayo de identificación molecular; 2) transducción *in vitro*/ELISA de neurturina para evaluar la expresión transgénica; 3) ensayo *in vitro* de potencia sobre células diana para evaluar la actividad biológica de la neurturina; y 4) ensayo de detección de AAV2 capaces de multiplicarse con activación del virus auxiliar, para detectar la presencia de AAV2 de tipo silvestre en los lotes clínicos. Por el momento todos los resultados de los ensayos han confirmado la estabilidad genética de CERE-120.

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

Sí (.)

No (X)

No se sabe (.)

En caso afirmativo:

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

- Humanos (.)
- Animales (.)
- Plantas (.)
- Otros ...

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

No hay presente ningún rasgo patológico, ecológico ni fisiológico. En condiciones naturales y en presencia de un virus auxiliar (adenovirus), el tipo salvaje del AAV2 se transmite exclusivamente a los seres humanos, y no se tiene conocimiento de que colonice otras especies.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección:

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:

La detección y determinación de la concentración de CERE-120 se realiza mediante un método de PCR cuantitativa, así como mediante una técnica de ELISA para la cápsida del AAV2. La técnica de detección para definir la dosis de CERE-120 es el método de PCR cuantitativa. Este método detecta genomas vectoriales de CERE-120 resistentes a la ADNasa mediante la amplificación de una región de 110 pb del genoma vectorial que abarca el extremo 3' del promotor CAG y el extremo 5' de las regiones codificadoras pre-pro del NGF. La concentración de genoma vectorial de cada lote problema se determina por extrapolación del número de copias del genoma vectorial por reacción a partir de un patrón purificado y calificado del genoma vectorial; para el cálculo se usa una curva semilogarítmica [\log_{10} de las copias introducidas/reacción frente al ciclo umbral (*threshold cycle*, CT)] y la corrección pertinente según los factores de dilución de la muestra. El ELISA para la cápsida del AAV2 es un ensayo comercial que permite la cuantificación de cápsidas intactas desde el punto de vista conformacional, que son captadas por un anticuerpo específico y se detectan mediante métodos habituales de ELISA en sándwich.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Se realizan dos ensayos de identificación a CERE-120 que permiten su identificación específica. Uno de ellos es un ensayo de identificación molecular basado en un método de PCR cuantitativa con cebadores múltiples, el cual identifica dos secuencias independientes que hay en el genoma vectorial de CERE-120. Combinados, los dos grupos de cebadores/sondas confirman la presencia del promotor CAG contiguo al dominio pre-pro del NGF, el pre-pro del NGF contiguo al dominio del ADNc de la NTN madura, e identifican específicamente CERE-120. El producto en investigación cumple la especificación si se determina que se amplifica

por medio de los dos grupos de sondas cebadoras y si el resultado cuantitativo que se obtiene con ambos grupos de sondas cebadoras no difiere en más de un quíntuplo.

El otro ensayo de identificación está basado en la separación de polipéptidos mediante electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción con nitrato de plata; se usa para confirmar la identificación proteica de CERE-120. Las proteínas de la cápsida del AAV2 (VP1, VP2 y VP3) se identifican en función de su tamaño por comparación con marcadores de tamaño molecular de tamaño conocido. La muestra problema cumple las especificaciones cuando las bandas críticas (VP1, VP2 y VP3) tienen pesos moleculares semejantes a las del patrón de referencia.

F. Información sobre la liberación

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

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo de progresión lenta. Su patogenia implica la pérdida funcional progresiva de las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas y termina causando su muerte. La NTN es un factor neurotrófico que puede fomentar el crecimiento neuronal, restablecer la función e impedir la muerte neuronal. El objetivo de este estudio es comparar la seguridad y eficacia de la terapia génica con CERE-120 frente a un régimen estable y optimizado de antiparkinsonianos (el “tratamiento farmacológico óptimo”, TFO) en sujetos con EP idiopática. Los pacientes de este estudio recibirán una inyección intraputamina bilateral única de CERE-120, un vector viral (AAV2) incapaz de replicarse que expresa la NTN humana. Se supone que en el tejido cerebral diana se sintetizará y secretará NTN funcional que generará un efecto neurotrófico

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 (X)

No (.)

En caso afirmativo, especifíquese:

El OMG se administrará mediante inyección intraputamina bilateral.

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

El CERE-120 solo se cargará al sistema de aplicación en el quirófano de Neurología-Neurociencias de la Clínica Universitaria, Universidad de Navarra

b) Área del lugar (m²):

i) Lugar real de la liberación (m²): ...

ii) Área de liberación más amplia (m²): ...

Los pacientes permanecerán en el quirófano (cuarto del hospital) hasta que finalice la

operación
c) Proximidad a biotopos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No corresponde
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No corresponde

4. Método y amplitud de la liberación:

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse: La dosis total de CERE-120 que se administrará a cada paciente será de $5,4 \cdot 10^{11}$ genomas virales (GV), en forma de administración única. Se prevé que cada uno de los 11 centros reclute a 4-5 sujetos. Dos tercios de ellos (aprox. 3-4 pacientes por centro) recibirán el CERE-120 (que se comparará frente a tratamiento sintomático óptimo); por lo tanto, la liberación máxima de CERE-120 por centro sería de $2,16 \cdot 10^{12}$ gv (4 pacientes \times $5,4 \cdot 10^{11}$ gv).
b) Duración de la operación: CERE-120 se administra de forma bilateral en el putamen en el transcurso de una única intervención quirúrgica. Se prevé que la expresión de CERE-120 sea permanente
c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: Todos los profesionales sanitarios implicados en la preparación y administración de CERE-120 a cada paciente vestirán la bata y los guantes pertinentes y se cubrirán con la mascarilla y protección ocular correspondiente cuando participen en cualquier tipo de procedimiento que implique al producto, y se les dará formación sobre la manipulación del producto. Además, si se produjera algún vertido accidental o roturas con CERE-120, los profesionales sanitarios implicados en el procedimiento de limpieza vestirán asimismo bata y guantes y llevarán la protección ocular correspondiente según las normas de la institución sobre manipulación de materiales biopeligrosos. Se entregará a todos los centros clínicos una ficha de datos de seguridad para CERE-120, en la que se describirá el producto y las precauciones e instrucciones de manipulación pertinentes.

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

Quirófano del hospital

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

No corresponde

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

1. Nombre del organismo objeto de investigación (si procede):

i) Orden y taxón superior (animales): Hominidae
ii) Familia: ...
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecie: ...
vi) Cepa: ...
vii) Cultivar/línea de reproducción: ...
viii) Patovar: ...
ix) Nombre vulgar: ...

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

El objetivo del tratamiento con CERE-120 es potenciar la función de las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas para lograr una mejoría sintomática de la función motora y una reducción del tiempo *off* en los pacientes con enfermedad de Parkinson (EP). Otros objetivos importantes de CERE-120 son impedir que las neuronas nigroestriadas sigan degenerándose y, de este modo, retardar o evitar la progresión de la enfermedad. CERE-120 codifica el gen de la neurturina (un factor de crecimiento del cual se sabe que restablece y protege las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas) en un vector viral (AAV2) que transduce selectivamente las neuronas y lo hace con mínimos efectos secundarios proinflamatorios u otro tipo de efectos indeseables. Se está desarrollando CERE-120 como tratamiento médico con potencial para mejorar los síntomas de la EP y retrasar al mismo tiempo la progresión de la enfermedad.

CERE-120 es un vector viral (virus adenoasociado, serotipo 2, AAV2) elaborado mediante ingeniería genética que carece de secuencias que codifiquen proteínas virales silvestres y, en su lugar, codifica el ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) de la neurturina humana (NTN). Se ha demostrado que la NTN, un análogo funcional y estructural del factor neurotrófico derivado de una línea celular glial (GDNF), presenta propiedades neuroprotectoras y neuroregeneradoras en modelos de roedor y primates no humanos de la enfermedad de Parkinson (EP). Incorporando el gen de la NTN en un vector de AAV2 se puede administrar NTN en el sistema nigroestriado del cerebro de una forma controlada, permanente y dirigida, con lo que se aporta continuamente NTN a las neuronas en

degeneración afectadas por la EP al tiempo que se minimiza la presencia de NTN en regiones ajenas al sistema nigroestriado.

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

No se conocen

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 (X)

No se sabe (.)

Especifíquese:

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

CERE-120 es incapaz de replicarse. Solo puede hacerlo si infecta una célula que esté coinfectada con un tipo silvestre de AAV2 y un virus auxiliar (adenovirus o herpesvirus). Existe el riesgo teórico de que el OMG infecte una célula humana que ya esté infectada por el tipo silvestre del AAV y virus auxiliar, lo que originaría la replicación del vector. Este riesgo es sumamente pequeño.

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:*

No corresponde

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

7. *Probabilidad de intercambio genético in vivo:*

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: No se prevé
b) De otros organismos al OMG: No se prevé
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Expresión local de la NTN humana

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

El genoma de CERE-120 está formado por los siguientes elementos genéticos flanqueados por repeticiones terminales invertidas (RTI) del AAV2:

- El promotor CAG de 1,7 kb, que consta del potenciador del CMV humano, el promotor y el sitio de empalme donador del gen de la β -actina de pollo y un sitio de empalme aceptor del gen de la β -globina del conejo
- El ADNc del dominio pre-pro del factor de crecimiento nervioso (NGF) humano, de 0,36 kb
- El ADNc de la NTN humana madura, de 0,3 kb
- La señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento humana, de 0,48 kb

Dado que el genoma de CERE-120 no codifica ninguna proteína viral, para replicarse requeriría la coinfección de las células transducidas con un tipo silvestre del AAV2 y un virus auxiliar (adenovirus o herpes). Puesto que el AAV2 y los adenovirus no suelen producir infecciones en el sistema nervioso central (SNC), que es donde se aplica CERE-120, y que las infecciones cerebrales herpéticas son raras, la probabilidad de que el vector sea movilizado tras su administración inicial es muy remota.

En los estudios farmacodinámicos preclínicos, la expresión de la NTN tras la administración de CERE-120 en el núcleo estriado es estable durante al menos un año según lo observado hasta ahora. El volumen de distribución de la NTN se puede controlar manipulando la dosis de CERE-120. Estos datos permiten la selección de dosis preclínicas y clínicas que brindan una cobertura razonable del núcleo estriado con NTN sin que se produzca una distribución significativa a estructuras que carecen de relación neuroanatómica. En experimentos adicionales se ha confirmado que la NTN que se expresa tras la administración de CERE-120 es robusta y bioactiva, capaz de proteger y restablecer la función de las neuronas de la sustancia nigra y de mejorar la función motora clínica en modelos animales de EP. En los estudios preclínicos de seguridad y toxicología y en los estudios de fase 1 y estadounidense de fase 2 realizados con CERE-120 en sujetos humanos con EP no se observaron acontecimientos adversos de importancia clínica relacionados con CERE-120.

CERE-120 y su producto (NTN) son incapaces de atravesar la barrera hematoencefálica. De los dos estudios con sujetos humanos con EP, con el análisis por PCR cuantitativa de la orina de 12 sujetos inscritos en el estudio de fase 1 en los EE. UU. no se ha detectado indicio alguno de emisión viral. Tampoco se ha detectado la presencia de CERE-120 en ninguna muestra de sangre de los sujetos participantes en los estudios de fase 1 y fase 2.

En ninguno de los estudios mencionados anteriormente se ha observado impacto ambiental alguno.

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

No corresponde

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG:

- Determinación de las concentraciones de CERE-120 en suero, orina, heces e hisopo yugal mediante análisis cuantitativo por reacción en cadena por la polimerasa (QPCR)
- Cambios en los anticuerpos séricos anti-NTN y anti-AAV2 con respecto a la visita basal

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema:

No corresponde

3. Métodos para la detección la transferencia de material genético donado desde el paciente a otros organismos.

No corresponde, ya que no hay riesgo de transferencia del material genético donado desde el paciente a otros organismos. El lote que se va a usar en el ensayo se analiza para descartar la presencia de virus capaces de replicarse.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²):

Supervisión de los pacientes tratados

5. Duración del seguimiento:

Según el protocolo, es decir 12 meses tras la cirugía

6. Frecuencia de seguimiento:

En la visita basal, el día después de la cirugía, el mes 1 y el mes 12 se analizará el vector de CERE-120 (QPCR) en suero, heces, orina e hisopo yugal. Además, si en el mes 1 se detectan títulos, en la visita del mes 3 se repetirá el análisis. En la visita basal y los meses 1, 3 y 12 se analizarán los anticuerpos séricos anti-AAV2 (ELISA). En la visita basal y los meses 3 y 12 se analizarán los anticuerpos séricos anti-NTN (ELISA).

I. Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación:

Para desinfectar el área de trabajo se usará un virucida, como por ejemplo Virkon[®].

2. Tratamiento del OMG tras la liberación:

Todo el equipo que se use durante el procedimiento se desechará según los procedimientos vigentes para materiales biopeligrosos o se descontaminará con virucidas según lo dispuesto por el plan de gestión de residuos biopeligrosos de la institución. Esto evitará cualquier posible diseminación a otros pacientes que sean operados posteriormente en el quirófano.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

- Viales usados de CERE-120 con menos de 0,05 mL de producto, y componentes usados del sistema de aplicación (tubo guía, cánula, aguja trócar, aguja de inyección y jeringa).

- Todo el equipo quirúrgico no desechable y otros materiales que se usen durante la intervención.

Los volúmenes de los desechos citados serán muy pequeños.

3. b) Tratamiento de los residuos

Tras la cirugía, los viales usados de CERE-120 y los componentes usados del sistema de aplicación (tubo guía, cánula, aguja trócar, aguja de inyección y jeringa) se desecharán siguiendo las prácticas habituales de la institución para los objetos punzantes biopeligrosos. Todos los instrumentos quirúrgicos desechables u otros materiales desechables que se usen durante la intervención se desecharán también siguiendo las prácticas habituales de la institución para los objetos biopeligrosos

Todos los equipos quirúrgicos no desechables y otros materiales no desechables que se usen durante la intervención se limpiarán con un desinfectante químico con actividad virucida (p. ej., Virkon®) y a continuación se esterilizarán con autoclave siguiendo la práctica habitual de la institución.

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:

CERE-120 se administrará en quirófano por medio de inyecciones neuroquirúrgicas estereotácticas aplicadas directamente en el cerebro de pacientes con enfermedad de Parkinson. Una vez inyectado a los pacientes, no hay indicio alguno de que el vector génico CERE-120 se emita al suero o la orina de estas personas. Por lo tanto, la diseminación fuera de la zona (aparte del lugar de inyección en el cerebro del paciente) será despreciable.

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

Dejar que se asienten los aerosoles. Usar ropa protectora y cubrir cuidadosamente los vertidos con toallas de papel. Aplicar un desinfectante químico con actividad virucida, como por ejemplo Virkon®. Comenzar por la parte externa del vertido e ir avanzando hacia el centro. Dejar que el desinfectante actúe durante al menos 30 minutos antes de limpiarlo.

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

No corresponde

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

Si se produjera un efecto indeseable se suspendería el uso de CERE-120 hasta realizar una evaluación integral de tal efecto y poner en práctica medidas para mitigar riesgos posteriores. Todas las áreas e instalaciones que se hubiera usado para administrar el producto serían limpiadas y descontaminadas con virucidas.