



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN VIRUS ADENOASOCIADO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/16/08)

Título del ensayo

Estudio de fase I/II, abierto, de seguridad y determinación de dosis de la transferencia del gen de la ornitina transcarbamilasa (OTC) humana mediada por el virus adenoasociado (AAV) de serotipo 8 (AAV8), en adultos con deficiencia de OTC de comienzo tardío.

Características del ensayo

Dimension Therapeutics, Inc, representado por la CRO PPD Global Limited (Pharmaceutical Product Development Spain SL), presenta una solicitud para realizar un ensayo clínico en fase I/II de seguridad y búsqueda de dosis para determinar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de DTX301 en adultos con deficiencia en OTC de comienzo tardío.

El estudio clínico es internacional y multicéntrico. En España será llevado a cabo en el Hospital Clínico Universitario de Santiago y en el Hospital Universitario Cruces de Vizcaya. Está previsto reclutar entre 6 y 12 sujetos.

Administración

Los sujetos recibirán una infusión única por vía intravenosa (IV) de DTX301 ($1,5 \times 10^{12}$ CG/kg, $3,0 \times 10^{12}$ CG/kg ó $31,0 \times 10^{13}$ CG/kg). Suponiendo el reclutamiento de 1-2 pacientes en España, se calcula que podrá administrarse una cantidad total aproximada de 10^{14} – 10^{15} CG de DTX301

Seguimiento

Después de la administración, los pacientes tendrán que permanecer 24 horas en el hospital. Los sujetos serán objeto de seguimiento durante 52 semanas después de la administración.

Características del OMG

DTX301 es un vector de virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8) recombinante, autocomplementario y sin capacidad de replicación que codifica la ornitina transcarbamilasa (OTC) humana para el tratamiento de los pacientes con deficiencia de OTC. En DTX301 solo está presente el casete de expresión de OTC y las secuencias ITR de AAV 2 necesarias para el acondicionamiento del genoma.

La eliminación de los genes *rep* y *cap* hace que DTX301 carezca de capacidad de replicación incluso en presencia de un virus colaborador, como adenovirus.

Identificación de riesgos potenciales

1) Estabilidad genética

El AAV es un virus ADN monocatenario con un elevado grado de estabilidad genética, según pone de manifiesto la estrecha relación existente entre los genes *rep* y *cap* de distintos serotipos y genomas del AAV. Se cree que se ha producido recombinación homóloga entre los serotipos AAV2 y AAV3 a tenor de un análisis filogénico del virus híbrido AAV2/3, algo que no se ha observado con otros serotipos, lo que respalda que únicamente en la circunstancia presumiblemente rara de que una célula sea infectada de manera simultánea por dos serotipos diferentes de AAV y un



virus colaborador (infección triple) se darían las condiciones adecuadas para que se produjera tal recombinación.

2) Patogenicidad

A pesar de una seroprevalencia estimada de hasta el 90% de algunos serotipos humanos frecuentes, no se han identificado efectos patógenos del AAV. La seroprevalencia de AAV8 es significativamente menor que la de los serotipos 1 y 2.

En DTX301 se ha eliminado casi todo el ADN vírico (94%), el serotipo empleado para la encapsidación, AAV8, muestra tropismo por los hepatocitos y el transgén OTC está bajo el control de un elemento potenciador y un elemento promotor específicos del hígado, lo que limita su expresión en células no diana.

El gen OTC no es una toxina, no se ha identificado como oncogén y no cabe esperar que confiere una ventaja de crecimiento a las células transducidas con DTX301

3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Las partículas de AAV son resistentes a una amplia variedad de pH (pH 3-9) y soportan temperaturas elevadas (55° C durante 1 hora).

En base a los resultados obtenidos con OMG similares, vectores de AAV recombinantes autocomplementarios utilizando los genes *rep* de AAV2 y *cap* de AAV8, aunque con transgenes distintos, cabe esperar una diseminación de ADN del vector durante un tiempo en la orina, saliva, heces y, potencialmente, semen después de la administración del vector.

A fin de evitar una posible exposición de las parejas sexuales, los pacientes que participen en el estudio clínico tendrán que utilizar métodos anticonceptivos de barrera durante un período de 52 semanas después de la administración de DTX301.

La diseminación del virus se vigilará estrechamente. Se obtendrán muestras de saliva, orina y heces en las semanas 2, 4, 6, 8, 10 y 12 y los días 9, 18, 36, 46, 64 y 74 hasta que sean negativas en al menos tres ocasiones consecutivas para cada matriz con el fin de vigilar la presencia de virus diseminado. La presencia de DTX301 se determinará mediante PCR cuantitativa (PCRc). Se entregará a los sujetos un recipiente adecuado para recoger una muestra de heces en el domicilio. Se recogerán muestras de saliva y orina en el centro, en recipiente apropiado y etiquetado de acuerdo a las buenas prácticas clínicas, para el análisis de diseminación hasta el día 42 y se analizarán posteriormente con el objetivo de obtener al menos tres muestras negativas para cada matriz problema. En caso de que el análisis sea positivo, los sujetos tendrán que seguir proporcionando muestras en cada visita al centro hasta que los resultados sean negativos en al menos tres ocasiones separadas para cada matriz muestra.

No cabe prever que los niveles bajos de diseminación del vector durante un breve período supongan un problema de seguridad para la salud humana o el medio ambiente. En caso de que alguno de los vectores detectados en los análisis de diseminación represente un virus infeccioso, seguirá careciendo de capacidad de replicación. Aun cuando el vector fuera infeccioso, el vector contendría una versión con optimización de codones de una proteína humana normal, lo que previsiblemente no tendría consecuencias adversas para los seres humanos.

Cabe esperar que el genoma vírico DTX301 se transfiera a los hepatocitos presentes en el hígado de los pacientes incluidos en el estudio. Cabe prever que la inmensa mayoría de los genomas de vector DTX301 presentes en el interior de las células de los sujetos sean episómicos, en lugar de quedar integrados en el ADN de las células huésped. Dado que DTX301 carece de capacidad de replicación,



y únicamente cabe prever que se disemine a los líquidos corporales de los sujetos del estudio en un grado limitado, se considera improbable la transmisión y transferencia génica a organismos distintos de los sujetos del estudio.

La eliminación del 94% del ADN vírico disminuye la probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podría dar lugar a variantes del OMG. Aunque la recombinación entre DTX301 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga el casete de expresión de OTC y los genes *rep* y *cap* de AAV sigue siendo una posibilidad teórica, una molécula de este tipo, aunque se generara en una célula, no podría replicarse a menos que también hubiera presencia de un adenovirus o virus herpes colaborador. Por otro lado, este genoma híbrido sería demasiado grande para acondicionar el ADN híbrido en una partícula de AAV. Se sabe que el AAV posee un límite de acondicionamiento de unas 5 kb (Wu 2010) y sería previsible que una molécula híbrida que contuviera los genes *rep-cap* más el casete de expresión de OTC superara este límite. Por tal motivo, los riesgos asociados a la transferencia génica de AAV natural a DTX301 se consideran insignificantes.

La transferencia involuntaria de otra información genética solo podría tener lugar en caso de una recombinación entre los plásmidos *cis* y *trans* que diera lugar a la formación de AAV con capacidad de replicación (rcAAV). A fin de detectar esta circunstancia, se analizará una muestra de principio activo a granel DTX301 para detectar la presencia de AAV8 con capacidad de replicación que pueda surgir potencialmente durante el proceso de producción.

Gestión de residuos

El personal recibirá formación sobre la manipulación de DTX301, la gestión de los vertidos y la eliminación de los residuos. Recibirá también formación sobre el Manual de Farmacia del estudio y el documento de Instrucciones para el personal. Únicamente el personal autorizado de los centros donde se realiza el estudio tendrá acceso a DTX301. El personal del estudio tendrá que seguir las normas y procedimientos del centro en materia de contención de vertidos y descontaminación y también se les facilitará información sobre los métodos adecuados para inactivar el DTX301.

DTX301 se conservará en el Servicio de Farmacia, en un congelador seguro destinado específicamente a medicamentos experimentales y con acceso restringido al personal autorizado.

El OMG estará etiquetado con una etiqueta para el envase primario y otra para el secundario que contendrá la indicación "producto OMG". Los viales de DTX301 se añadirán a la bolsa de solución salina siguiendo el procedimiento definido en el Manual de Farmacia, en una cabina de seguridad biológica (CSB), campana de flujo horizontal o aislador para formulación para prevenir la diseminación del OMG al medio ambiente. Los procedimientos de limpieza y desinfección del lugar de preparación se definen como los procedimientos habituales del centro para la unidad de farmacia y en ellos se tendrá en cuenta la manipulación de este producto a un nivel de seguridad biológica-1 (NSB-1).

Para su infusión al sujeto del estudio, DTX301 se transferirá a planta en un sistema cerrado con arreglo a los procedimientos habituales del centro para el transporte de productos para infusión IV. No se requieren otros procedimientos específicos adicionales para DTX301.

DTX301 se administrará a los sujetos del estudio en forma de una infusión IV periférica única usando equipos de transferencia convencionales de sistema cerrado, con arreglo al protocolo del estudio clínico y siguiendo los procedimientos habituales del centro para la administración de productos IV.



Todos los materiales desechables que entren en contacto con el producto en investigación deberán desecharse de acuerdo con las prácticas y normas de cada centro en materia de eliminación y descontaminación de residuos biológicos peligrosos. En general, los materiales desechables se desecharán en recipientes para objetos punzantes o bolsas para materiales biológicos peligrosos y se descontaminarán mediante autoclave, incineración o ambos. El material no desechable se descontaminará de acuerdo con las prácticas y procedimientos del centro, por ejemplo, mediante tratamiento con un desinfectante adecuado o con autoclave.

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

No se han identificado efectos patógenos del AAV

DTX301 es un vector de AAV recombinante no infeccioso que carece de todos los genes víricos del AAV y no puede replicarse sin funciones auxiliares específicas del AAV y sin la actividad de un virus colaborador.

En consecuencia, la probabilidad de efecto sobre la salud humana, como resultado de las interacciones de DTX301 y las personas que están involucradas en la manipulación y administración y de efectos sobre otros organismos no diana es insignificante.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Autoridad Competente y 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 6 de octubre de 2016