



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN VIRUS ADENOASOCIADO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

(Notificación B/ES/24/15)

Título del ensayo

Ensayo de fase 2, adaptativo, doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado y multicéntrico, para evaluar la eficacia, la seguridad y tolerabilidad de la infusión intracoronaria de AB-1002 en sujetos adultos con insuficiencia cardíaca de clase funcional III de la NYHA (New York Heart Association) y miocardiopatía no isquémica (GenePHIT), del promotor Asklepios BioPharmaceutical, Inc.

Organismo modificado genéticamente (OMG)

El OMG, AB-1002, es un producto de terapia génica para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca (IC). Es un vector clínico, que consiste en un virus adenoasociado (AAV) modificado genéticamente que utiliza una cápside del vector quimérico cardiotrópico AAV2/AAV8 y una forma constitutivamente activa de ADNc del inhibidor 1 de la proteína fosfatasa 1 (I-1c), flanqueada por repeticiones terminales invertidas (ITR) derivadas del AAV de serotipo 2 (AAV2).

Se ha demostrado que las alteraciones en la actividad de la proteína fosfatasa 1 desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca, y esto puede atribuirse a cambios en la actividad de su inhibidor endógeno, el inhibidor-1 (I-1). Por lo tanto, la administración de un transgén que exprese una forma constitutivamente activa de I-1 (I-1c) puede contribuir a mejorar la función cardíaca, como se observa en modelos preclínicos de insuficiencia cardíaca.

La proteína I-1c se expresa sólo en células transducidas y es una forma truncada de una proteína endoplásmica intracelular que se expresa de forma natural en los cardiomiocitos.

AB-1002 puede ofrecer un nuevo beneficio terapéutico a pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (ICFER) que presentan miocardiopatía no isquémica y síntomas de insuficiencia cardíaca de clase III de la New York Heart Association (NYHA).

Para producir AB-1002 se necesitan plásmidos con el gen de interés, auxiliares y de empaquetamiento. Los plásmidos están diseñados con la intención de crear un vector de replicación defectuosa, haciendo que la diseminación, es decir, una infección productiva, sea muy poco probable, incluso en presencia de virus auxiliares (por ejemplo, adenovirus o virus del herpes):

El proceso de fabricación del vector de rAAV es un proceso sin virus auxiliar que implica la transfección de células HEK293 en suspensión.

Características del ensayo clínico

El medicamento en investigación se administrará mediante infusión intracoronaria.

Los pacientes del primer grupo de este estudio de fase II recibirán una dosis de $7,15 \times 10^{13}$ gv por sujeto. Para el segundo grupo se seleccionó una dosis de $1,43 \times 10^{14}$ gv por sujeto.



La excreción vírica se evaluará en el estudio. Se recogerán muestras de heces, semen, sangre, orina y saliva en las visitas el día 1 después de la administración de AB-1002, el día 4, luego en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12, y después en los meses 6, 9 y 12.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario de Bellvitge, la Clínica Universidad de Navarra, el Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, el Hospital Universitario La Paz, el Hospital Universitario Ramon y Cajal y el Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Evaluación del riesgo

-Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación (RCV).

La presencia de AAV competente para la replicación se evalúa mediante un ensayo *in vitro* normalizado en el que se ensaya la capacidad de replicación de diferentes concentraciones del vector en presencia de adenovirus natural. La replicación del vector se evalúa mediante la detección de *Rep2* por qPCR tras diferentes rondas de amplificación. La presencia de estas secuencias es indicativa de eventos de recombinación dentro de las células productoras que pueden haber ocurrido durante la fabricación del vector.

No se ha detectado AAV competente para la replicación en los lotes clínicos analizados.

-Estabilidad

El AAV es un virus de ADN monocatenario con una gran estabilidad genética, como pone de manifiesto la estrecha relación entre los genes *rep* y *cap* de múltiples serotipos y genovares del AAV. Los datos de homología de secuencias están respaldados por la utilización por el AAV de una ADN polimerasa del huésped para la replicación vírica que no es propensa a errores en comparación con las ARN polimerasas que emplean los virus de ARN. En apoyo de la estabilidad genética, está la observación de que los episomas de ADN provírico de AAV aislados de múltiples muestras de tejido humano tienen sistemáticamente la secuencia canónica esperada de *rep* y *cap* del AAV2. Según un análisis filogénico del virus híbrido AAV2/3, se cree que se ha producido una recombinación homóloga entre los serotipos AAV2 y AAV3, algo que no se ha observado con otros serotipos, lo que respalda que las condiciones apropiadas para que se produzca esta recombinación se darían únicamente en la circunstancia presumiblemente rara de que una célula sea infectada de manera simultánea por dos serotipos diferentes de AAV y un virus auxiliar, como el adenovirus o el virus del herpes simple (triple infección).

Los lotes analizados mediante secuenciación de Sanger presentan homología completa respecto a la secuencia de referencia.

-Biodistribución y excreción

AB-1002 se inyecta mediante un catéter anterógrado (inyección intracoronaria única) directamente en el sistema arterial coronario del corazón del paciente. No es previsible que se distribuya por todo el cuerpo en cantidades significativas, según estudios de biodistribución sistémica que se completaron en modelos preclínicos anteriores.

Los datos preclínicos de biodistribución que respaldan la persistencia, la duración del efecto y los órganos diana, en apoyo del diseño y la duración del estudio de seguridad, se recopilaron según el borrador de la guía clínica de la EMA, EMA/CAT/852602/2018, y el borrador de la guía S12 del ICH (Consideraciones preclínicas de biodistribución para productos de terapia génica). Se recopilaron datos de biodistribución de las dosis de AB-1002 pertinentes para el uso clínico previsto.



En resumen, los resultados clave mostraron que la expresión transgénica y el número de copias del genoma se cuantificaron en lisados de tejido de corazón, músculo esquelético e hígado, 2 semanas después de la administración intravenosa del vector en ratones BALB/C.

En conclusión, el tropismo muscular selectivo y la evitación de la captación hepática en ratones confirmaron que la cápside es apropiada para la terapia génica de distrofias musculares y cardiopatías.

Debido al bajo riesgo de transmisión horizontal, hasta la fecha no se han realizado estudios de excreción vírica de AB-1002 en animales ni en seres humanos. En general, la excreción del vector depende de la dosis administrada, el tiempo transcurrido desde la administración y la vía de administración, siendo menos probable que la administración local produzca excreción en líquidos y secreciones corporales o excrementos en comparación con las vías sistémicas.

El riesgo de infección por la excreción de partículas víricas es bajo. AB-1002 no puede volverse persistente ni invasivo en ningún hábitat bajo ninguna condición, porque no contiene genes víricos y es incompetente para la replicación. AB-1002 no puede replicarse y, por lo tanto, su capacidad para dispersarse en el medio ambiente es extremadamente limitada. Si bien existen innumerables situaciones, de frecuencia extremadamente baja, de recombinación del ADN dentro de seres humanos y otros organismos, en el medio ambiente no existen ventajas selectivas conferidas por el vector AB-1002 que puedan transferirse a posibles patógenos.

En estudios de vectores AAV en pacientes con hemofilia B a los que se administraron mediante inyección intramuscular, la persistencia en saliva, orina y semen fue de 1 semana o menos. En un estudio en el que se administró un vector AAV1 por vía intramuscular con inmunodepresores concomitantes, se excretaron niveles bajos de este vector en la orina (3-4 semanas), las heces (hasta 8 semanas), la saliva y el semen (4-6 semanas). La mayoría de los sujetos también eliminaron el vector de su torrente sanguíneo en un plazo de 8 a 12 semanas.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El vector clínico AB-1002 se enviará congelado a los centros clínicos participantes. Se ubicará en una zona segura y con acceso restringido. Una vez preparado en cabina de flujo laminar, las jeringas dosificadoras se introducirán en una bolsa a prueba de fugas.

El transporte interno del medicamento en investigación hasta el lugar de administración se realizará en un contenedor refrigerado resistente sobre hielo húmedo o envases refrigerados, cerrado para evitar derrames accidentales e identificado con una etiqueta específica con el símbolo de riesgo biológico.

Se implementarán procedimientos de descontaminación adecuados por si se produjera un derrame accidental, según las instrucciones del promotor y los procedimientos de la farmacia y el hospital.

Para reducir el riesgo de exposición involuntaria durante la manipulación, el personal del centro y todos los presentes durante la preparación y administración deben usar equipo de protección personal (EPP) estándar, para la manipulación de un agente biológico del grupo de riesgo 1 (bata de laboratorio de manga larga de un solo uso; se recomienda: guantes, mascarilla y gafas protectoras).

Los materiales desechables que entren en contacto con AB-1002 se eliminarán como materiales biopeligrosos, de acuerdo con los procedimientos del centro. En general, los materiales se eliminarán en contenedores para objetos punzocortantes o bolsas para riesgos biológicos, y se descontaminarán mediante autoclave o incineración, o ambas.



Se informa a los pacientes sobre los riesgos relacionados con la excreción del virus y se les exigirá que protejan a sus parejas sexuales mediante el uso de métodos anticonceptivos de barrera durante los primeros 6 meses después de recibir AB-1002.

Tras la administración de AB-1002, se recordará al paciente que practique una buena higiene, por ejemplo, lavándose las manos, después de ir al baño y antes de comer. Los riesgos para el personal sanitario, los familiares u otras personas que entren en contacto con sujetos tratados con AB-1002 se consideran insignificantes. El AB-1002 es de replicación defectuosa, no puede propagarse en el medio ambiente y no es patógeno para el ser humano.

Se obtendrán muestras biológicas de los sujetos en forma de sangre, orina, heces, saliva o semen, en momentos definidos por el protocolo. Los centros manipularán las muestras biológicas según sus procedimientos de bioseguridad correspondiente a nivel de riesgo tipo 2.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

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 del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 3 de julio 2024