

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN 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:	B/ES/24/15
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	26-Abr-2024
d) Título del proyecto:	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).
e) Período propuesto para la liberación:	01.10. 2024- 31.12 2025

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Asklepios BioPharmaceutical, Inc. (AskBio) 20 T.W. Alexander Drive Suite 110 Research Triangle Park NC 27709, EE.UU.
-------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>

	Hongo	<input type="checkbox"/>
	Animal	<input type="checkbox"/>
	- mamíferos	<input type="checkbox"/>
	- insectos	<input type="checkbox"/>
	- peces	<input type="checkbox"/>
	- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Dependoparvovirus

Especie: Virus adenoasociado humano serotipo 2 y 8 (AAV2i8)

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

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. Estos 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 estas características del AAV natural, también se espera que AB-1002 sea muy estable genéticamente. La secuencia del genoma del vector AB-1002 se verifica mediante secuenciación directa.

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

No

En caso afirmativo, indique el código del país: AT, DE, NL

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

Sí

No

En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
----------------------------------------	-----------------------------

En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: EE.UU. - Número de la notificación: Estudio de fase I (NCT04179643)

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

<p>Este producto de terapia génica utiliza una nueva cápside de vector quimérico cardioprotector AAV2/AAV8 (AAV2i8). AB-1002 consta de las cápsides de AAV2i8 empaquetadas con el genoma del AAV autocomplementario, que incluye un promotor, el transgén que codifica I-1c y una secuencia de poliadenilación sintética.</p> <p>La expresión de I-1c reduce eficazmente la actividad de la proteína fosfatasa 1 (PP1) en la insuficiencia cardíaca y aumenta la fosforilación del fosfolambano (PLN), lo que mejora la manipulación del calcio y la función cardíaca.</p> <p>No es previsible que la liberación de AB-1002 como se describe en esta solicitud tenga como resultado un impacto ambiental adverso, por los siguientes motivos: Ausencia de patogenicidad del virus parental; OMG con incompetencia para la replicación; riesgo mínimo de transmisión por excreción vírica; riesgo mínimo de mutagénesis por inserción, riesgo mínimo de expresión del transgén específica del hígado; riesgo mínimo asociado con el transgén.</p>

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

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>

(especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Virus de ADNmc (ssDNA virus)
ii) Género: Dependoparvovirus
iii) Especie: virus adenoasociado
iv) Subespecie: No procede (NP)
v) Cepa: serotipo 2 y 8
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): NP
vii) Nombre vulgar: NP

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:

Sí No No se sabe

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

Mar Negro

Panónico

Estepario

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo: **sí**

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense): **En simbiosis con animales (huéspedes primates)**

b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No es un animal. No procede.

5. a) Técnicas de detección

El AAV se puede detectar mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), utilizando cebadores específicos para el genoma del virus.

5. b) Técnicas de identificación

El AAV se puede identificar mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), utilizando cebadores específicos para el genoma del virus.

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Información adicional: El AAV natural no es patógeno y no se ha clasificado conforme a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV no tiene efectos patógenos conocidos, aunque la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos habituales es del 90 %. En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1, según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre).		
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.
c) Modo de reproducción Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: La presencia de un virus auxiliar, como adenovirus o virus del herpes simple, favorece la expresión génica del AAV, la replicación del genoma y la producción de viriones. En ausencia de un virus auxiliar, el AAV natural carece de capacidad de replicación. Hay que señalar que el OMG final, AB-1002, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus auxiliar debido a la eliminación de los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> del virus.

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo
i) endosporas <input type="checkbox"/>
ii) quistes <input type="checkbox"/>
iii) esclerocios <input type="checkbox"/>
iv) esporas asexuales(hongos) <input type="checkbox"/>
v) esporas sexuales (hongos) <input type="checkbox"/>
vi) huevos <input type="checkbox"/>
vii) pupas <input type="checkbox"/>
viii) larvas <input type="checkbox"/>
ix) otras (especifíquense) El AAV no forma estructuras de supervivencia.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los parvovirus, entre ellos el AAV, son virus estables que pueden persistir en el ambiente durante períodos prolongados (del orden de varias semanas). Las partículas de AAV son resistentes a un intervalo amplio de pH (pH 3-9) y soportan temperaturas elevadas (55 °C durante una hora). El AAV no forma estructuras de supervivencia. Sin embargo, al igual que todos los virus, no puede replicarse fuera de una célula huésped.

10. a) Vías de diseminación

El AAV puede transmitirse por contacto directo o indirecto. El AAV puede transmitirse por inhalación, ingestión y, posiblemente, transmisión sexual.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La replicación del virus solo es posible en células huésped que hayan sido coinfectadas por un virus auxiliar (por ejemplo, adenovirus o virus del herpes simple).

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)

El promotor no ha notificado ninguna modificación genética previa del virus parental AAV2 o AAV8 para su liberación en la UE.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base | <input type="checkbox"/> |
| iv) Fusión celular | <input type="checkbox"/> |
| v) Otro (especifíquese) | |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética consiste en generar un vector de AAV recombinante que contenga un casete de expresión de la I-1c humana para el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardíaca de clase III de la New York Heart Association. En los estudios preclínicos se ha demostrado que la administración del inhibidor 1 constitutivamente activado (I-1c) de PP1 dentro del corazón de una rata debilitada mejora no solo la contractilidad, sino que también revierte la remodelación adversa al disminuir directamente la fibrosis y la hipertrofia

cardíaca. Estos resultados avalan aún más el desarrollo de la transferencia del gen que expresa la proteína I-1c para la insuficiencia cardíaca en humanos.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

<p>a) Tipo de vector</p> <p>plásmido <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>bacteriófago <input type="checkbox"/></p> <p>virus <input type="checkbox"/></p> <p>cósmido <input type="checkbox"/></p> <p>Elemento de transposición <input type="checkbox"/></p> <p>Otros (especifíquense):</p>
<p>b) Identidad del vector: Para fabricar el OGM se utilizan plásmidos transgénicos, auxiliares y empaquetadores, como se detalla a continuación:</p> <ul style="list-style-type: none">• Plásmido #1 – Transgén: Proporciona una forma constitutivamente activa del gen humano del inhibidor 1 de la proteína fosfatasa 1.• Plásmido #2 – Rep/Cap: Contiene los genes rep del AAV2 y un gen cap del AAV2 modificado, que sirven para encapsidar el transgén.• Plásmido #3 – Auxiliar: Proporciona genes auxiliares adenovíricos esenciales necesarios para la replicación de rAAV
<p>c) Gama de organismos huéspedes del vector: Los plásmidos utilizados para fabricar el OGM final se han propagado en bacterias (<i>E. coli</i>) y no pueden replicarse en células de mamíferos. La línea celular de producción del OMG final es una línea celular de mamífero.</p>
<p>d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p>

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

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

e) Fragmentos constituyentes del vector: **AB-1002** está compuesto por un casete de expresión diseñado sintéticamente, que contiene ADNc para el gen **I-1c**, secuencias promotoras del **CMV** y la secuencia de poliadenilación para la terminación de la transcripción. Las regiones cortas que flanquean el ADN, las **RTI** del genoma de **AAV2**, se mantienen para dirigir el empaquetado del ADN en partículas víricas y la estabilidad del ADN transferido después de la transducción de las células huésped.

Los fragmentos constitutivos de los tres vectores utilizados en la fabricación del **OMG** se describen en 4 (b).

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): **AB-1002** se fabrica mediante transfección plasmídica triple en células humanas **HEK293**, sin presencia ni creación de virus naturales.

5. Si las repuestas 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, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción: **El fragmento de inserción consta de un promotor del CMV, una forma constitutivamente activa del inhibidor 1 de la proteína fosfatasa 1 (I-1c) y una señal de poliadenilación, flanqueada por repeticiones terminales invertidas (RTI) del AAV.**

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

- Secuencia de I-1c humano: homo sapiens
- Señal de poliadenilación: virus SV40
- Promotor del CMV: citomegalovirus
- RTI: AAV

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG

- Promotor del CMV: incorporados con la intención de estimular la expresión de I-1c de alto nivel.
- I-1c: cabe esperar que la transferencia de I-1c mediante infusión intracoronaria y la expresión constitutiva de I-1c mejoren los signos y síntomas clínicos de la insuficiencia cardíaca congestiva y reduzcan la mortalidad por causas CV.
- Señal de poliadenilación: incorporada con la intención de que proporcione secuencias cis para una poliadenilación eficaz del ARNm de I-1c. Este elemento actúa a modo de señal para un fenómeno de escisión específico en el extremo 3' del transcrito incipiente y la adición de una cola larga de poliadenilo.
- RTI: elementos que actúan en cis, necesarios para la replicación y el empaquetamiento del genoma

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense): **genoma vírico de ADNmc (ssDNA)**

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no 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	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

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

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		

a) ¿para cuál de los organismos siguientes? <table style="margin-left: 20px;"> <tr> <td>humanos</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>animales</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>plantas</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>otros</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	humanos	<input type="checkbox"/>	animales	<input type="checkbox"/>	plantas	<input type="checkbox"/>	otros	<input type="checkbox"/>
humanos	<input type="checkbox"/>							
animales	<input type="checkbox"/>							
plantas	<input type="checkbox"/>							
otros	<input type="checkbox"/>							
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>								
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A: NP								

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	----------------------------------------	-------------------------------------

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 <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/> Especifíquese
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción? Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>

Especifíquese:

El genoma vírico AB-1002 ha sido modificado de forma importante con respecto al virus parental para que carezca de capacidad de replicación. Todas las secuencias codificantes de genes virales se han eliminado, incluidos los genes rep y cap, necesarios para la replicación. Las únicas secuencias que se han mantenido son dos repeticiones terminales invertidas (RTI), que son secuencias de ADN no codificantes que flanquean el casete de expresión de transgén. Las RTI permiten empaquetar el genoma del vector en cápsides del vector. El OMG final, AB-1002, no tiene capacidad de replicación. La replicación de AB-1002 solo podría ocurrir en el caso extremadamente improbable de que una célula huésped fuera infectada por tres virus distintos (AB-1002, AAV natural y un virus auxiliar como el adenovirus humano o el virus del herpes simple). El riesgo de que esto ocurra se considera insignificante.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

AB-1002 no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus auxiliar, debido a la eliminación de los genes víricos rep y cap. Dado que la replicación de AB-1002 solo podría ocurrir en el caso extremadamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por tres virus distintos (AB-1002, AAV natural y un virus auxiliar como el adenovirus o el virus del herpes simple).

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

No se conocen efectos patógenos del AAV natural en seres humanos. No cabe esperar que la introducción del casete de expresión de I-1c conlleve la aparición de patogenicidad. Por lo tanto, ni el AAV natural ni AB-1002 son patógenos ni se espera que lo sean.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus de ADN monocatenario que muestra un alto grado de estabilidad genética; sobre esta base, también se espera que AB-1002 sea genéticamente estable. La integridad del casete de expresión de I-1c se confirmará mediante secuenciación directa.

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo:	
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?	<input type="checkbox"/>
animales	<input type="checkbox"/>
plantas	<input type="checkbox"/>
otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A	

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: AB-1002 se puede detectar mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR).
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: AB-1002 se puede identificar mediante qPCR.

F. Información sobre la liberación

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

<p>El objetivo de la liberación del OMG es su uso en el siguiente ensayo clínico: Un ensayo de fase 2, adaptativo, doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado y multicéntrico, para evaluar la eficacia, la seguridad y la 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), (número de protocolo: ASK-CHF2-CS201).</p> <p>El objetivo primario es evaluar la eficacia y la seguridad de una infusión única intracoronaria anterógrada del medicamento en investigación que contiene OMG en comparación con placebo en sujetos con miocardiopatía no isquémica y síntomas de insuficiencia cardíaca de clase funcional III de la NYHA.</p>

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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: El OMG se libera en un entorno hospitalario.	

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

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

Hospital Universitario de Bellvitge	Calle Feixa Llarga s/n	08907 Barcelona	España
Clinica Universidad de Navarra	Avenida de Pio XII, 36	31008 Pamplona	España
Hospital Clinico Universitario de Santiago de Compostela	Rúa Choupana s/n	15706 Santiago de Compostela	España
Hospital Universitario La Paz	Paseo Castellana 261	28046 Madrid	España
Hospital Universitario Ramon y Cajal	Carretera Colmenar Viejo km 9. 100	28034 Madrid	España
Hospital Clinico Universitario de Valencia	Avenida Blasco Ibanez 17	46010 Valencia	España

b) Área del lugar (m²):

i) lugar real de la liberación (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque AB-1002 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.

ii) área de liberación más amplia (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque AB-1002 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede. AB-1002 se administrará mediante una única infusión intracoronaria en un entorno hospitalario. Por lo tanto, no se prevé que entre en contacto con biotipos reconocidos ni zonas protegidas.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: La administración de AB-1002 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

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.

b. Duración de la operación:

La base de datos se bloqueará y el estudio se desenmascarará cuando todos los sujetos hayan completado el período de observación de 52 semanas. Los pacientes continuarán en una fase posterior de seguimiento prolongado de 4 años.

c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

AB-1002 se administrará a los pacientes del ensayo clínico ASK-CHF2-CS201 mediante infusión intracoronaria. Después de la captación celular y de que la partícula vírica quede al descubierto, es previsible que el genoma del vector se mantenga en las células del receptor en forma episomal (Nakai 2001, Duan 1998, Schnepf 2003). Los vectores de AAV recombinantes no son replicativos y no se espera que conlleven un riesgo de transmisión.

No se conocen ni se esperan efectos ambientales inmediatos o diferidos como resultado de AB-1002. El producto farmacéutico se manipulará en condiciones controladas, lo que reducirá los riesgos de que AB-1002 interactúe con organismos no destinatarios.

Se proporcionarán contenedores desinfectables, apropiadamente etiquetados, a prueba de fugas e irrompibles, a los centros, antes de activarlos para la inclusión de pacientes. AB-1002 será conservado, preparado y administrado por profesionales sanitarios capacitados, en un entorno hospitalario y únicamente a pacientes que cumplan los criterios de inclusión en el estudio clínico ASK-CHF2-CS201. El personal seguirá las normas en materia de residuos y eliminación de conformidad con las disposiciones de cada centro para eliminar el material fungible utilizado en la preparación y administración del OMG. El riesgo de eliminación accidental o inadecuada del producto en el alcantarillado o en los residuos del centro se considera insignificante. En el caso improbable de que se produzca un vertido, el producto no es patógeno y carece de capacidad de replicación, lo que limita la dispersión y los riesgos para el medio ambiente o el personal.

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

No procede. La administración de AB-1002 se realizará exclusivamente en un entorno hospitalario controlado.

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

Se han realizado estudios clínicos con vectores de AAV recombinantes en todo el mundo, en más de 700 pacientes, con un excelente perfil de seguridad (Maguire

2008, Jaski 2009, Jessup 2011, Nathwani 2011, Jacobson 2012, MacLaren 2014, Mendell 2015), y no se conocen efectos inmediatos o diferidos en la salud humana debidos a interacciones directas o indirectas entre el OMG y las personas que trabajan o entran en contacto con el OMG o están en las proximidades del lugar de liberación del OMG. El producto no es patógeno y carece de capacidad de replicación, lo que limita la dispersión y los riesgos para el medio ambiente o el personal. No se conocen ni se esperan efectos ambientales inmediatos o diferidos como resultado de AB-1002.

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

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): NP
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecies: NP
vi) Cepa: NP
vii) Cultivar/Línea de reproducción: NP
viii) Patovar: NP
ix) Nombre vulgar: Humano

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

El AAV2i8 presenta una transducción elevada en el músculo cardíaco y esquelético, y una transducción baja en el hígado. Por tanto, cabe esperar que la administración de AB-1002 dé lugar a la expresión del gen I-1c en las células del miocardio de los sujetos del estudio.

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

Ningún otro organismo que no sean los sujetos humanos que reciban el medicamento estará expuesto a niveles de AB-1002 que podrían representar un peligro potencial. Los peligros potenciales de la exposición a AB-1002 solo están basados en la administración de AB-1002. Dado que AB-1002 no tiene capacidad de replicación, cabe esperar una eliminación rápida del vector de cualquier organismo no destinatario sin causar ningún efecto perjudicial. No cabe esperar que una exposición mínima, como la exposición ambiental, a AB-1002 afecte a ningún organismo, ni directa ni indirectamente.

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 <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: Dado que AB-1002 es incapaz de replicarse, no puede producirse selección posterior a la liberación.		

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

Dado que AB-1002 es incapaz de replicarse, no cabe esperar que se disemine al medio ambiente en un grado significativo ni que se establezca en ningún ecosistema.

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. NP

i) Orden y taxón superior (animales): NP

ii) Familia (plantas): NP

iii) Género: NP

iv) Especie: NP

v) Subespecie: NP

vi) Cepa: NP

vii) Cultivar/línea de reproducción: NP

viii) Patovar: NP

ix) Nombre vulgar: NP

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

- a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

En el estudio clínico propuesto, AB-1002 se administrará mediante infusión intracoronaria anterógrada. Después de la captación celular y de que la partícula vírica quede al descubierto, es previsible que el genoma del vector AB-1002 se mantenga en las células del receptor en forma episomal (Nakai 1002, Duan 2001, Schnepf 1998). En los estudios preclínicos se observó una transducción alta dentro de los músculos cardíacos y esqueléticos, y un bajo tropismo hepático. En conjunto, los riesgos asociados con la transferencia génica por AB-1002 y la expresión del transgén en organismos distintos de los pacientes incluidos en el estudio clínico propuesto ASK-CHF2-CS201 se consideran insignificantes.

- b) De otros organismos al OMG:

La eliminación de la mayor parte del ADN vírico disminuye la probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podría dar lugar a variantes del OMG.

- c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Si bien la recombinación entre AB-1002 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga tanto el casete de expresión de I-1c como

los genes rep y cap del AAV sigue siendo una posibilidad teórica, una molécula de este tipo, aunque se generara en una célula, no podría replicarse a menos que también estuviera presente un adenovirus o virus del herpes auxiliar. Además, un genoma híbrido de este tipo sería demasiado grande para empaquetar el ADN híbrido en una partícula de AAV. Se sabe que el AAV posee un límite de empaquetamiento de aproximadamente 5 kb (Wu 2010), y sería previsible que una molécula híbrida que contuviera los genes rep-cap más el casete de expresión de I-1c superara este límite. Por tanto, los riesgos asociados a la transferencia génica del AAV natural a AB-1002 se consideran insignificantes.

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

No se han realizado estudios de este tipo con AB-1002.

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

No se conoce ni cabe prever que AB-1002 pueda influir en procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

La excreción vírica se evaluará en el estudio. Se recogerán muestras de heces, semen, sangre, orina y saliva en las visitas indicadas a continuación (véase el punto H.5)

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

La presencia de AB-1002 en líquidos y secreciones corporales tras la administración de AB-1002 se determinará mediante ddPCR.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

La transferencia del casete de expresión de I-1c a los sujetos del estudio se detectará evaluando la actividad de I-1c, para lo cual se utilizarán interpretaciones clínicas adecuadas.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede

5. Duración del seguimiento

En el estudio de fase II, se realizarán evaluaciones de excreción. Las muestras descritas anteriormente (punto 1) se obtendrán 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.

6. Frecuencia del seguimiento

Las muestras descritas anteriormente (punto 1) se obtendrán 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.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todas las superficies contaminadas con AB-1002 se desinfectarán de acuerdo con las normas locales y los procedimientos del centro relacionados con el tratamiento de sustancias biológicas peligrosas y utilizando un desinfectante eficaz contra AAV según las instrucciones del fabricante.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los materiales desechables que entren en contacto con AB-1002 se eliminarán de conformidad con las prácticas y normas de cada centro en materia de eliminación y descontaminación de residuos biopeligrosos. En general, los materiales

desechables se eliminarán en contenedores para objetos punzocortantes o bolsas para materiales biológicos peligrosos, y se descontaminarán mediante autoclave, incineración, o ambas. Los materiales no desechables se descontaminarán con arreglo a las prácticas y procedimientos del centro, por ejemplo, mediante tratamiento con un desinfectante adecuado o con autoclave.

Todos los viales no utilizados deben conservarse en las condiciones de almacenamiento requeridas (≤ -60 °C). La existencia de viales no utilizados de AB-1002 se comunicará al promotor. Dichos viales se guardarán en la farmacia del centro de investigación y se devolverán al promotor o persona designada, siguiendo las instrucciones del promotor.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Se prevén los siguientes tipos de residuos:

- Viales del MI vacíos; viales de vidrio
- Jeringas de polipropileno y agujas
- Filtros, llave de paso de 3 vías, colector de 4 vías
- Vía de infusión y catéter
- Gasas, guante

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los materiales desechables que entren en contacto con AB-1002 se eliminarán de conformidad con los procedimientos hospitalarios para la eliminación de residuos biopeligrosos.

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

En caso de que se libere accidentalmente el contenido de un vial de AB-1002 o del producto diluido para infusión y entre en contacto con materiales de transporte o superficies de la farmacia u hospital, el vertido deberá descontaminarse y eliminarse de acuerdo con las prácticas del centro u hospital.

AB-1002 se almacena en contenedores a -60 °C o menos. El día de la intervención quirúrgica, los viales de AB-1002 congelados se descongelarán y diluirán antes de preparar las jeringas dosificadoras (jeringas Luer-Lok, etiquetadas, colocadas en una bolsa a prueba de fugas, en un recipiente aislado con acumuladores de frío refrigerados). Se advertirá al personal de que tenga precaución al manipular los viales y de que reduzca al mínimo el uso de agujas. En caso de lesión, el personal seguirá los procedimientos de cada centro.

En caso de contacto accidental de AB-1002 con la piel, los ojos o la ropa, la zona afectada se lavará con abundante agua y el personal seguirá los procedimientos del centro en cuanto al tratamiento de materiales biopeligrosos.

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

Toda superficie expuesta al OMG se desinfectará con un desinfectante adecuado de conformidad con las leyes locales y las políticas y procedimientos del centro.

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

La administración de AB-1002 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo. Además, AB-1002 no es capaz de infectar a plantas ni microbios.

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

El personal respetará la legislación local y los procedimientos del centro en materia de manipulación y eliminación de organismos modificados genéticamente. Además, se facilitan recomendaciones de seguridad y orientación sobre el tratamiento de los incidentes relacionados con AB-1002 en las instrucciones adjuntas de seguridad para los investigadores y el personal. Se vigilará estrechamente a todos los pacientes para detectar las reacciones adversas que puedan producirse durante este estudio. Se nombrará un comité de vigilancia de datos y seguridad (CVDS) independiente para revisar los datos de seguridad acumulados, al menos trimestralmente, o con mayor frecuencia según sea necesario. Se notificarán al CVDS los acontecimientos adversos graves (AAG) o la activación de las reglas de suspensión en los 5 días hábiles posteriores a la notificación inicial al promotor. El CVDS podrá recomendar, en cualquier momento, que se modifique o interrumpa el estudio prematuramente (moratoria o cancelación) por problemas de seguridad basándose en los análisis de los datos.

References

Asokan A, Conway JC, Phillips JL, Li C, Hegge J, Sinnott R, Yadav S, DiPrimio N, Nam HJ, Agbandje-McKenna M, McPhee S, Wolff J, Samulski RJ. Reengineering a receptor footprint of adeno-associated virus enables selective and systemic gene transfer to muscle. *Nat Biotechnol.* 2010; 28:79–82. doi: 10.1038/nbt.1599

Berns KI & Parrish CR (2013). Parvoviridae. In: *Fields virology*, volume 2, 6th edition. Edited by Knipe DM en Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia

Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms.

Council Directive 90/679/EEC of 26 November 1990 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

Duan D, Sharma P, Yang J, et al. Circular intermediates of recombinant adeno-associated virus have defined structural characteristics responsible for long-term episomal persistence in muscle tissue. *J Virol.* 1998;72:8568-77.

Favaro P, Downey HD, Zhou JS, Wright JF, Hauck B, Mingozzi F, et al. Host and vector-dependent effects on the risk of germline transmission of AAV vectors. *Mol Ther.* 2009;17(6):1022-30. Epub 2009 Mar 17.

Jacobson SG, et al. Gene therapy for leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. *Arch Ophthalmol.* 2012; 130:9–24.

Jaski B, Jessup ML, Mancini DM, et al. Calcium upregulation by percutaneous administration of gene therapy in cardiac disease (CUPID Trial), a first-in-human phase 1/2 clinical trial. *J Card Fail.* 2009;15(3):171-81.

Jessup M, Greenberg B, Mancini D, et al. Calcium Upregulation by Percutaneous Administration of Gene Therapy in Cardiac Disease (CUPID): A Phase 2 Trial of Intracoronary Gene Therapy of Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase in Patients With Advanced Heart Failure. *Circulation.* 2011;124(3):304-313.

MacLaren RE, et al. Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial. *Lancet.* 2014; 6736:2117–2120.

Maguire A, Simonelli F. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2008; 358:2240–2248.

Mendell JR, Sahenk Z, Malik V, et al. A phase 1/2a follistatin gene therapy trial for becker muscular dystrophy. *Mol Ther.* 2015;23(1):192-201.

Nakai H, Yant SR, Storm TA, et al. Extrachromosomal recombinant adeno-associated virus vector genomes are primarily responsible for stable liver transduction in vivo. *J Virol.* 2001;75(15):6969-76. Nathwani AC, Rosales C, McIntosh J, et al. Long-term safety and efficacy following systemic administration of a self-complementary AAV

vector encoding human FIX pseudotyped with serotype 5 and 8 capsid proteins. Mol Ther. 2011;19(5):876-85.

Nathwani ACV, Reiss UM, Tuddenham EG, et al. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. N Engl J Med. 2014;371(21):1994-2004.

Reuter JD, Fang X, Ly CS, Suter KK, Gibbs D. Assessment of hazard risk associated with the intravenous use of viral vectors in rodents. *Comp Med.* 2012 Oct;62(5):361-70.

Schnepf BC, Clark KR, Klemanski DL, Pacak CA, Johnson, PR. Genetic fate of recombinant adeno-associated virus vector genomes in muscle. *J Virol.* 2003(77):3495-3504.

Tenenbaum L, Lehtonen E, Monahan PE. Evaluation of risks related to the use of adeno-associated virus-based vectors. *Curr Gene Ther.* 2003;3(6):545-65.

Tijssen, P., Agbandje-McKenna, M., Almendral, J.M., Bergoin, M., Flegel, T.W., Hedman, K., Kleinschmidt, J., Li, Y., Pintel, D.J. and Tattersall, P. Family *Parvoviridae*. In: *Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam. 2012.

Wang G, Young SP, Bali D, Hutt J, Li S, Benson J, et al. Assessment of toxicity and biodistribution of recombinant AAV8 vector-mediated immunomodulatory gene therapy in mice with Pompe disease. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2014;1:14018.