



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DEL VIRUS DE LA ESTOMATITIS VESICULAR MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/05)

### **Título del ensayo**

Estudio de fase 1b para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la eficacia preliminar de ATP150/ATP152, VSV-GP154 y ezablenimab (BI 754091) en pacientes con adenocarcinoma pancreático ductal (PDAC, por sus siglas en inglés) con las mutaciones KRAS G12D/G12V, del promotor AMAL Therapeutics S.A.

Esta solicitud se refiere a un medicamento en investigación, VSV-GP154, que forma parte de una combinación triple (ATP150/ATP152, VSV-GP154 y ezablenimab) en una estrategia heteróloga clínica de inducción y refuerzo (prime-boost).

ATP150 y ATP152 son proteínas quiméricas compuestas de tres elementos: un péptido de penetración celular que mejora la administración de la vacuna; un dominio antigénico múltiple (Mad), que es una proteína quimérica diseñada racionalmente con diferentes epítomos CD8 y CD4 de distintos antígenos tumorales específicos; y un péptido que confiere actividad autoadyuvante a la vacuna. El principio activo es una inmunoterapia diseñada que se utiliza en una pauta heteróloga de inducción y refuerzo con VSV-GP154.

### **Características del ensayo**

En el ensayo participarán START Madrid CIOCC – HM Sanchinaro, START Madrid – FJD-Hospital Fundación Jiménez Díaz, el Hospital General Universitario Gregorio Marañón y el Instituto de Oncología Vall d'Hebron (Hospital San Rafael).

Los pacientes recibirán una dosis intravenosa única de  $10^7$  DICT50 de VSV-GP154 mientras se encuentren en el entorno clínico.

### **Características del organismo modificado genéticamente**

El OMG, VSV-GP154, es un virus de la estomatitis vesicular (VSV; cepa Indiana, Rhabdoviridae) recombinante y con capacidad de replicarse, que porta la glicoproteína (GP) de la cepa WE-HPI no neurotrópica visceral del virus de la coriomeningitis linfocítica (VCML; Arenaviridae) en lugar de la glicoproteína VSV-G natural y, además, un gen que codifica el dominio multiantigénico (Mad), compuesto por secuencias que codifican péptidos antigénicos tumorales, integrado en su genoma de ARN monocatenario lineal de sentido negativo.

La GP del VCML anula la neurotoxicidad incluso después de la inyección directa de dosis altas de VSV-GP directamente en el cerebro.

El dominio multiantigénico de VSV-GP154 se incluye para aumentar al máximo una respuesta inmunitaria contra los antígenos tumorales incluidos.

Los vesiculovirus, como virus ARN monocatenarios de sentido negativo, utilizan su propia polimerasa para generar ARNm que codifican las proteínas virales, así como genomas genómicos y



antigenómicos para su replicación. El transgén insertado en el VSV-GP154 utiliza el mismo mecanismo viral y los mismos elementos reguladores que emplea el virus para producir las proteínas virales.

### Organismo receptor

El VSV es un virus de ARN monocatenario negativo (ARNmc(-)) que pertenece al género de los vesiculovirus de la familia Rhabdoviridae. El genoma del VSV consta de cinco proteínas principales: nucleocápside o ribonucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de la matriz (M), glicoproteína (G) y proteína grande o polimerasa (L). La proteína G forma espículas en la envoltura e interviene en el reconocimiento y la fusión celular, permitiendo la entrada del virus. La proteína M participa en el ensamblaje del virus y la gemación de partículas, así como en la evitación de la respuesta inmunitaria innata de la célula huésped. La proteína N determina el entorno nuclear resistente a la ribonucleasa al dar soporte al ensamblaje del genoma viral en el núcleo de la nucleocápside y regular el cambio de la síntesis de ARNm a la replicación del genoma. Las proteínas P y L se combinan para catalizar la reacción de la ARN polimerasa dependiente de ARN para producir la plantilla positiva de la cadena, el ARN genómico y facilitar la transcripción de los ARNm en el orden secuencial de N-P-M-G-L.

La gama de huéspedes está determinada principalmente por la glicoproteína (GP) de la envoltura. La gama de huéspedes del VSV-GP se ha demostrado experimentalmente para roedores y conejos (*in vivo*) e, *in vitro*, para perros y seres humanos.

### Modificación genética

Se utilizó un plásmido que contenía la secuencia de los antígenos Mad como plantilla en una reacción de PCR con cebadores específicos para la parte respectiva del dominio Mad, así como proyecciones correspondientes al VSV-GP en los extremos 5' y 3' del lugar de inserción, respectivamente. A continuación, se insertó el producto de PCR en el plásmido de rescate VSV-GP linealizado. El plásmido resultante se amplificó, secuenció y utilizó para el proceso de rescate.

El VSV-GP154 se rescató mediante genética inversa de un plásmido que codificaba el genoma de longitud completa del VSV-GP y la secuencia de codificación de los antígenos Mad, utilizándose plásmidos auxiliares adicionales que codifican la proteína N, P, M, L y la RNA polimerasa T7. Se transfectaron células HEK293-F adaptadas-adherentes. El virus recuperado del rescate se sometió a pases en células HEK293-F y se secuenció. El clon seleccionado se expandió, caracterizó (secuenciación de Sanger, cinética de crecimiento viral, ensayos de esterilidad, negatividad para micoplasmas e identidad).

## **Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales**

### **-Patogenicidad**

VSV y VSV-GP no se consideran patógenos humanos. Respecto al VSV se ha comunicado que los seres humanos que viven en regiones enzoóticas tienen una elevada tasa de seroprevalencia y que el contacto íntimo con animales infectados puede provocar la infección de seres humanos, con síntomas seudogripales. Se cree que la transmisión a los seres humanos tiene lugar por contacto directo con lesiones activas o saliva que contiene VSV infeccioso. No hay casos de seres humanos que hayan transmitido la infección a otros seres humanos o animales, aunque es probable que se produzca transmisión a través de equipos, manos, guantes y ropa contaminados. Los veterinarios, técnicos de salud animal, manipuladores de ganado, personal de laboratorio y otras personas que trabajan



estrechamente con animales infectados o virus vivos corren un mayor riesgo. No obstante, la mayoría de las personas seropositivas no han tenido enfermedad clínica o han manifestado síntomas leves (habitualmente, un síndromeseudogripal leve).

Cabe esperar que el VSV-GP presente las mismas características, salvo que no es patógeno para el ganado. Se eligió la glicoproteína WE-HPI del VCML para sustituir a la proteína G del VSV porque se había descrito que no permitía la entrada en las neuronas. Posteriormente se demostró de forma experimental que dicho intercambio anula la neurotoxicidad.

El perfil de seguridad neurotoxicológica del VSV-GP deriva de estudios *in vivo* en ratones e *in vitro* en células humanas.

Se ha demostrado experimentalmente que el intercambio de GP conduce a la anulación de la neurotoxicidad. Se inyectaron dosis crecientes de VSV-GP o de VSV directamente en el cerebro de ratones modelos de neurotoxicidad altamente sensibles.

Además, se realizaron análisis histopatológicos de los cerebros de los ratones inyectados intracranealmente con una variante de VSV o VSV-GP que expresaba proteína verde fluorescente (GFP). Como era de esperar, los ratones tratados con VSV-GFP mostraron focos de infección en el cerebro con un número significativo de células apoptóticas y células inflamatorias infiltradas. Por el contrario, los cerebros tratados con VSV-GP-GFP no mostraron células positivas para GFP en ninguna de las dosis probadas.

Se considera que VSV-GP conserva otras propiedades virales, como la sensibilidad al interferón mediada por el VSV. La transmisión accidental, aunque improbable, podría causar una infección asintomática o sintomática (síntomas “seudogripales”) en sujetos con un sistema inmunitario funcional y una infección sintomática en sujetos inmunodeprimidos (inmunodeficiencias innatas o adaptativas).

Cabe esperar que el pantropismo del VSV-GP se mantenga en el VSV-GP154.

El esqueleto del VSV es el que confiere, en su mayor parte, las propiedades patógenas del VSV-GP154, a excepción del neurotropismo, que se asocia a la proteína G.

El VSV-GP154 es un virus ARN que se replica en el citoplasma, por lo que no cabe esperar integración en el genoma de las células expuestas ni oncogenicidad. En la infección viral no se producen otros componentes distintos del propio virus y del transgén. No cabe esperar viremia, ya que se prevé que la replicación del VSV-GP154 se vea suprimida en los tejidos normales por una respuesta de IFN antiviral, lo que da lugar a una infección abortiva.

#### **-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).**

El dominio Mad de VSV-GP-154 está constituido por genes que codifican los antígenos tumorales. No se espera que estos antígenos seleccionados a tenor de su asociación con tumores e inmunogenicidad alteren o determinen la posible distribución tisular del vector viral. Se dispone de datos de biodistribución del virus parental VSV-GP en ratones, de datos de excreción del VSV-GP en ratones portadores de tumores, conejos y perros sanos, ausencia de transmisión en ratones y datos de excreción del VSV-GP128 (se diferencia de VSV-GP154 en su carga antigénica, Mad) en macacos de Java.

El VSV-GP154 no se ha estudiado específicamente en entornos preclínicos para evaluar su excreción, transmisión y patogenicidad. A tenor de la naturaleza de la carga de VSV-GP154 (que no interviene en la estructura viral), la infectividad y el tropismo del VSV-GP154 no son diferentes de los del VSV-



GP o VSV-GP128. Dado que la carga no afecta a la estructura del virus y que la cinética de replicación *in vitro* ha demostrado ser comparable, los datos obtenidos con VSV-GP y VSV-GP128 se pueden aplicar a VSV-GP154.

En conjunto, los datos preclínicos indicarían que VSV-GP154 se controla y elimina rápidamente y que no cabe esperar diseminación de virus infeccioso. Además, incluso en caso de diseminación accidental al medio ambiente, cabe prever que el VSV-GP y sus variantes, como VSV-GP154, sean seguros para el ganado en comparación con el VSV de tipo natural.

Respecto a los datos clínicos, el vector VSV-GP128 se está investigando actualmente en un estudio clínico. Hasta el momento en las muestras analizadas de orina, frotis nasales y de mucosa yugal no se ha detectado excreción de virus infeccioso a los 7 días de la administración.

### **Manipulación, control y tratamiento de residuos**

El VSV-GP154 se conservará en el embalaje original en una zona de acceso limitado a la temperatura especificada en la etiqueta del fármaco.

Las jeringas preparadas deberán cerrarse con un tapón y transportarse en un doble acondicionamiento; el acondicionamiento exterior debe ser un recipiente hermético y resistente a los golpes o equivalente, diseñado y construido de forma que sea fácilmente descontaminable y manejable, y de modo que la carga, la adhesión y la descarga puedan llevarse a cabo sin dañar el acondicionamiento primario.

Además, el signo de riesgo biológico debe ser visible en el exterior y debe haber una cantidad suficiente de material absorbente en el interior durante el transporte para poder absorber la cantidad de material biológico (líquido) que podría liberarse en caso de producirse un incidente (caída).

El personal de farmacia debe utilizar equipo y materiales de protección, como mínimo, guantes de un solo uso, bata y una cabina de bioseguridad de clase II, con uso de una técnica estéril.

Tras el alta del paciente, las superficies potencialmente contaminadas (p. ej., equipamiento del baño [grifo, inodoro, lavabo, etc.], muebles de la habitación [mesilla, mesa, silla], suelo, barandillas, etc.) deben desinfectarse siguiendo los procedimientos de los centros hospitalarios aplicables de limpieza.

Si el medicamento en investigación sobrante no se devuelve al promotor, se gestionará en todos los centros participantes en el ensayo como residuo biológico peligroso o del grupo III.

Todos los materiales de los pacientes deberán manipularse como artículos infectados. Para su eliminación deberán descontaminarse mediante esterilización con vapor de agua, desinfección química o incineración.

Todos los materiales que entren en contacto con el OMG deben eliminarse como residuos biológicos peligrosos o del grupo III, de acuerdo con la legislación.

Para el manejo de las muestras de pacientes a los que se ha administrado el OMG se aplicarán medidas de bioseguridad para riesgo biológico de tipo 2 (BSL-2).

El transporte de las muestras deberá realizarse siempre en contenedores herméticos, resistente y de fácil limpieza y desinfección.

Se tomarán las siguientes muestras no rutinarias en los momentos descritos, frotis de mucosa yugal y nasales, muestras de sangre completa. Todos los análisis se realizarán en laboratorio externo, fuera de España.



Se darán instrucciones a los pacientes para evitar la diseminación del OMG.

**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 mayo de 2023