

# COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

## PARECER TÉCNICO N° 6849/20

**Processo SEI nº:** 01250.057863/2019-98

**Requerente:** Novartis Biociências S.A.

**CQB:** 479/19

**Endereço:** Av. Prof. Vicente Rao, 90. São Paulo. SP. CEP 04636-000.

**Assunto:** Solicitação de Parecer para comercialização do medicamento Luxturna (voretigene neparvovec) derivado de organismo geneticamente modificado.

**Extrato Prévio nº:** 6825/2019 publicado no DOU em 20 de novembro de 2019.

**Reunião:** 230ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 05 de março de 2020.

**Decisão:** DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do processo do pedido de Parecer Técnico referente à biossegurança do medicamento Luxturna (voretigene neparvovec) para liberação comercial, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico.

No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio informa que de acordo com o parágrafo 5º do artigo 38 do Regimento interno da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança e instruído pela **NOTA TÉCNICA N° 72/2019/SEI-CTNBio - Membros** da Secretaria Executiva da CTNBio, a Presidente da CTNBio aprovou a solicitação de sigilo para as informações contidas nos "Cópia confidencial " do referido processo.

### PARECER TÉCNICO

**EMENTA:** A presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Novartis Biociências S.A., Dra. Patricia Pigola, solicita parecer técnico da CTNBio para liberação comercial do medicamento Luxturna (voretigene neparvovec) contendo derivado de organismo geneticamente modificado. O processo será analisado de acordo com as normativas legais vigentes e um parecer deverá ser emitido.

#### **Informações Gerais:**

A representante legal da empresa NOVARTIS BIOCIÊNCIAS S.A., Sra. Aline Pereira Medici, solicitou a liberação comercial do produto de terapia gênica LUXTURNA®, nome comercial do componente ativo voretigene neparvovec, que é um vetor de terapia genética recombinante baseada no sorotipo 2 do vírus adenoassociado (AAV2) projetado para fornecer uma cópia normal do gene que codifica a proteína 65 kDa do epitélio do pigmento retiniano humano (hRPE65), às células da retina em pessoas que carecem de uma versão funcional do RPE65, está em conformidade com a Lei de Biossegurança de No 11.105, de 24 de março de 2005, e com a Resolução Normativa de N°. 21, de 15 de junho de 2018.

O voretigene neparvovec utiliza um vírus adeno-associado recombinante (AAV) como veículo de administração para o ácido desoxirribonucleico complementar normal do RPE65 humano

(cDNA). O sorotipo 2 do AAV do vírus original, usado como vetor, é um membro da família de parvovírus não patogênico, dependendo do vírus auxiliar, contendo o genoma do DNA de fita simples. O cassete de expressão contém um promotor de citomegalovírus (CMV) e um promotor de beta actina de frango que conduz a expressão do RPE65 humano normal e uma sequência poliA a jusante. O cassete de expressão é flanqueada por repetições terminais invertidas (ITRs) do AAV2.

LUXTURNA® (voretigene neparvovec) será administrado por injeção subretiniana.

Considerando a via de administração do produto e os níveis transitórios/baixos de eliminação esperados, o risco de exposição não intencional de seres humanos e outra biota a voretigene neparvovec é mínimo.

Os estudos clínicos apresentados pela requerente comprovaram que o medicamento apresenta um perfil de toxicidade aceitável e não acarreta alterações deletérias nos pacientes, não há contaminação cruzada nem em animais, ou ao meio ambiente, já que o vírus só sobrevive em humanos. A CIBio da Novartis Biociências conclui que Luxturna® (voretigene neparvovec) é seguro à saúde humana e animal, e para o meio ambiente.

### **Descrição do OGM: (COPIADO DO PROCESSO)**

1. A identificação do evento de transformação genética, objetivo e utilização do MGM e seus derivados

Voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) é um vetor de terapia genética recombinante derivado do sorotipo 2 do vírus adenoassociado (AAV2) de ocorrência natural, projetado para fornecer uma cópia normal do gene que codifica a proteína 65 kDa do epitélio do pigmento retiniano humano (hRPE65) às células da retina em pessoas que carecem de uma versão funcional do RPE65.

O vírus AAV do tipo selvagem, membro da família dos parvovírus (Berns, 1990), é onipresente no meio ambiente e não está associado a doença humana. É naturalmente deficiente na replicação, exigindo a coinfeção com vírus auxiliares para se replicar (Berns, 1990). O vírus do tipo selvagem consiste em um genoma de DNA de cadeia simples encapsulado em um revestimento de proteína, consistindo em três elementos: o gene rep, o gene cap e as repetições terminais invertidas (inverted terminal repeats, ITRs) (Sonntag *et al.*, 2011). O gene rep codifica as proteínas envolvidas na replicação do DNA, e o gene cap, que, através de um mecanismo diferencial de splicing, codifica três proteínas do vírus da variante amino-terminal, VP1, VP2 e VP3, que compõem o revestimento do vírus (Berns, 1990). A estrutura cristalina de AAV2 foi determinada (Xie *et al.*, 2002), e uma representação da partícula intacta é mostrada na Figura 1 do processo (modificada a partir de Xie *et al.*, 2002).

O genoma do AAV2 tem um comprimento de aproximadamente 4,7 kb e é composto por repetições terminais invertidas (ITRs) nas duas extremidades da fita de DNA e duas fases de leitura aberta (ORFs): rep e cap (Figura 2 do processo). A primeira é composta por quatro genes sobrepostos que codificam as proteínas Rep necessárias para a replicação do DNA, enquanto a última

contém sequências de nucleotídeos sobrepostas que codificam as proteínas do capsídeo (VP1, VP2 e VP3) que interagem para formar um capsídeo com simetria icosaédrica. As sequências ITR do AAV2 de tipo selvagem contêm todas as funções de ação em cis necessárias para a replicação, empacotamento, integração do DNA ao genoma do hospedeiro e excisão e resgate subsequentes (Samulski *et al.*, 1989).

Para o vetor recombinante voretigene neparvovec, o genoma de tipo selvagem de AAV2, contendo genes rep e cap, foi substituído por um cassete de expressão transgênica terapêutica. Regiões curtas do DNA do AAV de tipo selvagem contendo as repetições terminais invertidas (ITR), necessárias para o empacotamento do genoma terapêutico em partículas de capsídeo durante a produção de vetores e para expressão do gene terapêutico *in vivo*, são retidas.

Voretigene neparvovec está indicado para o tratamento de pacientes adultos e pediátricos com perda da visão devido à distrofia hereditária da retina causada por mutações bialélicas do gene RPE65 confirmadas e que apresentam células suficientes viáveis na retina.

**A classificação taxonômica, a partir de família, até o nível mais detalhado do microrganismo a ser liberado, incluindo, quando apropriado, subespécie, biovar, forma specialis, patovar, estirpe e sorotipo**

A taxonomia apresentada abaixo pode ser acessada pelo ID na plataforma NCBI1: txid10804

**Grupo:** Grupo II (ss DNA)

**Família:** Parvoviridae

**Subfamília:** Parvovirinae

**Gênero:** Dependoparvovirus

**Espécie:** Vírus adeno-associado 2

Sinônimos heterotípicos: Vírus adeno-associado tipo 2, Vírus adeno-associado sorotipo 2. acrônimo: AAV2.

**Os genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas; fornecendo, quando aplicável, informações relacionadas ao número de cópias inseridas, localização do inserto no genoma e sequências flanqueadoras do gene**

O insumo farmacêutico ativo voretigene neparvovec é composto por VP1, VP2 e VP3 e montadas em numa estrutura icosaédrica bem definida; e uma molécula de DNA de cadeia simples contendo a cassete de expressão genética terapêutica, isto é, o genoma do vetor flanqueado por ITRs de AAV.

O cassete de expressão é flanqueado por ITRs derivadas de AAV2. Um diagrama fornecendo detalhes adicionais do genoma do vetor, incluindo a posição e o comprimento, conforme medidos nos nucleotídeos de cada um dos componentes, é fornecido na Figura 3 (Informação na Cópia Confidencial).

Voretigene neparvovec é projetado para alcançar uma expressão da enzima terapêutica de RPE65.

**- Estrutura e quantidade de qualquer vetor e/ou ácido nucleico doador remanescente na construção final do organismo modificado:**

O genoma de voretigene neparvovec contém os elementos descritos acima por padrão. As ITRs que ladeiam o cassete de expressão hRPE65 representam as únicas sequências remanescentes do genoma AAV2 doador. Todo o genoma do voretigene neparvovec foi sequenciado para confirmar a sequência. Para a região em que os dados de sequência foram obtidos, a amostra sequenciada foi 100% idêntica à sequência esperada. Não há sequências nocivas conhecidas no construto.

**O resumo das construções utilizadas para a obtenção do MGM e o mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando:**

**- Natureza e fonte do vetor**

Voretigene neparvovec é um vetor de AAV com defeito de replicação projetado para expressar a proteína específica do epitélio pigmentar da retina (RPE) de 65 quilodaltons (kDa) (RPE65). Ele é produzido por engenharia a partir do vírus AAV tipo 2 original, um membro da família Parvoviridae dependente de vírus auxiliar, não patogênico, que contém um genoma de DNA de fita única. Como discutido no item 1 desse Anexo, o genoma do AAV de tipo selvagem codifica dois genes, *rep* e *cap*, que são acompanhados em cada lado por repetições terminais invertidas (ITR). As ITRs são os únicos elementos de ação em cis necessários para a replicação e empacotamento do genoma. Os vetores AAV são construídos pela exclusão de dois genes (*rep* e *cap*) codificados pelo vírus e inserção do gene terapêutico de interesse, juntamente com elementos reguladores apropriados para induzir a expressão gênica, entre as duas ITRs.

O transgene que será fornecido por voretigene neparvovec é derivado do gene RPE65 humano. O cDNA que codifica a proteína RPE65 humana nativa está contido no plasmídeo.

**Classificação de risco de acordo com a Resolução Normativa No 2, de 27 de novembro de 2006:**

De acordo com as regras de Classificação de Risco para Agentes Biológicos (Brasil, 2017) e Critérios para Avaliação de Risco dos Agentes Biológicos, disponibilizado no item 2 da mesma publicação, voretigene neparvovec se enquadra na Classe de Risco 1. A classe de risco 1 é representada por agentes biológicos não incluídos nas classes de risco 2, 3 e 4 e para os quais até o momento a capacidade de causar doença no homem não foi reconhecida.

O AAV tem sido considerado um vetor seguro para a liberação de genes, não estando associado a nenhuma doença humana. Os vírus sorotipo AAV2, precursor em voretigene neparvovec, não é considerado patogênico e não se antecipa, portanto, patogenicidade do construto. Além disso, durante a construção de voretigene neparvovec todo o DNA do AAV2 do tipo selvagem foi removido e substituído pelos genes de interesse e tais modificações tornam o vetor incapaz de replicação.

Portanto, levando em consideração os critérios adotados e a engenharia genética para obtenção do construto do vetor, voretigene neparvovec se enquadra adequadamente na Classe de Risco 1.

Classificações de risco semelhantes foram designadas ao AAV de acordo com as definições da Organização Mundial de Saúde (OMS) e nos EUA, Canadá e Austrália, como resumido na Tabela 1 do processo. Deve-se observar que estas classificações são baseadas nos efeitos sobre trabalhadores saudáveis e não consideram efeitos sobre indivíduos com alteração da suscetibilidade, que pode ocorrer como resultado de doenças preexistentes, medicamentos, comprometimento da imunidade, gestação ou aleitamento.

#### **Métodos usados para a modificação:**

Vetores de AAV recombinantes são derivados do vírus original pela remoção de todos os elementos virais, com exceção das ITRs, e inserção do gene ou genes de interesse e seus elementos reguladores associados. Para produzir vetores rAAV, os genes rep e cap de AAV necessários para replicação e empacotamento dos genomas de AAV recombinantes em vírions são fornecidos separadamente, assim como as funções dos vírus auxiliares. Para o voretigene neparvovec, os genes rap e cap, bem como os genes do vírus auxiliar, são fornecidos como duas construções plasmídicas separadas; um plasmídeo de empacotamento que codifica rep e cap e um plasmídeo auxiliar que codifica os genes virais auxiliares necessários.

Os plasmídeos usados na fabricação de voretigene neparvovec foram construídos usando técnicas padrão de biologia molecular para a excisão e ligação precisa dos elementos componentes por meio de enzimas de restrição específicas, seguidas por transdução e amplificação em células bacterianas em cada estágio.

#### **Métodos usados para construção e introdução dos inserto(s) no receptor ou para exclusão de uma sequência:**

O vetor final, voretigene neparvovec, é produzido a partir de células HEK293 expandidas a partir de um banco de célula principal (Master Cell Bank [MCB]), usando a transfecção transitória de três plasmídeos separados (plasmídeo do genoma do vetor, plasmídeo de empacotamento e plasmídeo auxiliar). Os plasmídeos são fabricados a partir de bancos de células

bacterianas.. Observar que as funções auxiliares necessárias são fornecidas como um plasmídeo, NÃO como um adenovírus viável.

### **Descrição da construção do inserto e/ou vetor:**

Informações fornecidas na Cópia Confidencial.

### **Pureza do inserto de qualquer sequência desconhecida e informações sobre o grau no qual a sequência inserida é limitada ao DNA necessário para o desempenho da função pretendida**

A sequência do inserto é limitada ao DNA necessário para realizar a função pretendida. O genoma de voretigene neparvovec foi sequenciado. Para a região em que os dados da sequência foram obtidos, a amostra sequenciada foi 100% idêntica à sequência esperada.

### **Métodos e critérios usados para a seleção**

Não são usados antibióticos no processo de fabricação empregado para fabricar voretigene neparvovec nas células utilizando transfecção de plasmídeos.

O vetor é purificado de acordo com os procedimentos descritos anteriormente (sub-item iii acima) para remover matérias-primas contaminantes relacionadas ao processo, incluindo proteínas residuais da célula hospedeira, DNA da célula hospedeira, DNA do plasmídeo.

Cada lote de voretigene neparvovec é testado quanto à identidade, pureza (incluindo DNA residual do plasmídeo e AAV competente para replicação), isenção de agentes adventícios, e deve satisfazer critérios de aceitação especificados antes do uso.

### **Sequência, identidade funcional e localização dos segmentos de ácido nucleico alterados/inseridos/deletados em questão, com referência específica a qualquer sequência nociva conhecida**

Todo o genoma de voretigene neparvovec foi sequenciado tendo sido apresentado. Para a região em que os dados de sequência foram obtidos, a amostra sequenciada foi 100% idêntica à sequência esperada, incluindo a sequência de cDNA de RPE65, o promotor de citomegalovírus (CMV), o potencializador de beta-actina de galinha (CBA) e sequência de poliadenilação (poli-A) do hormônio de crescimento bovino (BGH).

Com exceção das duas ITRs de AAV2, não há sequências derivadas do AAV remanescentes no genoma do voretigene neparvovec. Não há sequências sabidamente nocivas no construto.

### **O produto da expressão do gene inserido no organismo receptor**

O produto de expressão é a proteína hRPE65 humana, associada à membrana

predominantemente expressa em células do epitélio do pigmento retiniano (retinal pigment epithelial, RPE) (Hamel, CP *et al* 1993; Båvik, 1992). Esta proteína é uma hidrolase isomérica que converte éster all-trans retinílico em 11-cis retinol, o qual é subsequentemente oxidado para o cromóforo, 11-cis-retinal (Redmond, *et al.*, 1998; Redmond, *et al.*, 2005).

A atividade enzimática *in vitro* de RPE65 para o medicamento é avaliada em cada lote. Estudos de farmacologia *in vivo* foram conduzidos em dois modelos diferentes em camundongos e em um modelo de deficiência de RPE65 em cães.

A atividade do produto em humanos é inferida pelos resultados clínicos positivos obtidos até o momento.

### **As técnicas de detecção gerais e específicas do MGM, apresentando metodologia pertinente**

A presença do AAV pode ser detectada em amostras clínicas de três modos:

- Reação em cadeia da polimerase (PCR): PCR pode ser usada para detectar sequências de genoma do vetor associadas a AAV de modo qualitativo ou quantitativo.
- Cultura viral
- Ensaio imunoabsorvente enzimático (ELISA)

A sensibilidade/especificidade dos três métodos para detecção de AAV de tipo selvagem não são aparentes na literatura científica, mais provavelmente devido à ausência de utilidade clínica dos métodos diagnósticos, considerando a aparente ausência de patogenicidade do vírus. Métodos de detecção baseados em PCR e ELISA podem ser projetados para exibir alta especificidade para um sorotipo de AAV específico, por meio da seleção de primers primários/sondas ou anticorpos. Inversamente, os métodos podem ser projetados para se dirigir a regiões conservadas com o objetivo de detectar uma grande variedade de sorotipos.

É possível estimar a sensibilidade da detecção de AAV de tipo selvagem por PCR quantitativa (qPCR) em amostras humanas com base nos estudos de eliminação com vetores recombinantes. No estudo clínico de Fase 3 de voretigene neparvovec, a eliminação das sequências de DNA foi avaliada em lágrimas dos dois olhos, soro e sangue total.

### **Biossegurança do Produto:**

**A avaliação de efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos através de pelo menos um caractere fenotípico e um bioquímico, justificando a escolha dos caracteres selecionados**

A empresa informa que uma vez que a atividade terapêutica de voretigene

neparvovec em longo prazo não é dependente da replicação do vetor rAAV, e considerando a estabilidade genética conhecida do AAV de tipo selvagem original, não são esperados efeitos pleiotrópicos e epistáticos.

**A possibilidade de haver interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo MGM por técnicas de ADN recombinante, considerando a função dos genes e o potencial de interação entre os respectivos produtos de expressão**

O transgene codificado por voretigene neparvovec é uma proteína idêntica à RPE65 humana normal. Portanto, espera-se que o produto gênico seja metabolizado de modo natural e do mesmo modo que a RPE65 humana normal.

Os vetores AAV recombinantes foram fornecidos a várias centenas de participantes humanos até o momento, em estudos de fibrose cística, artrite reumatoide, amaurose congênita de Leber (LCA), deficiência de  $\alpha$ 1-antitripsina, insuficiência cardíaca congestiva, deficiência de lipoproteína lipase, assim como hemofilia, e foram notavelmente isentos de eventos adversos relacionados ao vetor (Mingozzi & High, 2011).

- **A doença a ser controlada com o emprego da vacina e a espécie hospedeira, indicando os órgãos colonizados pela vacina, se viva, e as espécies hospedeiras do organismo parental, a partir do qual a vacina foi construída**

Luxturna® (voretigene neparvovec) não é uma vacina. Voretigene neparvovec é um vetor de terapia genética recombinante baseada no sorotipo 2 do vírus adenoassociado (AAV2) inativado projetado para fornecer uma cópia normal do gene que codifica a proteína 65 kDa do epitélio do pigmento retiniano humano (hRPE65) às células da retina em pessoas que carecem de uma versão funcional do RPE65.

**Distrofia retiniana associada à mutação RPE65**

As mutações bialélicas no gene RPE65 levam à doença degenerativa hereditária na retina. O espectro da doença devido a essas mutações autossômicas recessivas em RPE65 apresenta inúmeros achados clínicos comuns; no entanto, dependendo do tempo de início, severidade, taxa de progressão da doença e fenótipo de apresentação, os indivíduos podem ser categorizados em diagnósticos clínicos diferentes resultantes de um nível reduzido ou ausente do gene RPE65 isomero-hidrolase. Este nível reduzido ou ausente da atividade da isomero-hidrolase retinoide, codificada por RPE65, leva, em última análise, ao acúmulo de precursores tóxicos, viabilidade reduzida das células RPE e, finalmente, à perda dos fotorreceptores.

Os indivíduos com mutações bialélicas no gene RPE65 têm sido comumente diagnosticados com amaurose congênita de Leber (LCA) e também têm sido caracterizados, do ponto de vista clínico, com distrofia retiniana de início precoce (EORD), distrofia retiniana severa de início precoce (EOSRD), retinite pigmentosa de início na primeira infância (ECRP), retinite pigmentosa severa de início na primeira infância (SECORD), retinite pigmentosa de início precoce, retinite pigmentosa (RP) e outros diagnósticos clínicos semelhantes (Redmond, 1998; Lorenz, *et al.*, 2004; Walia, *et al.*, 2010; Weleber *et al.*, 2011). Formas variadas de EORD são condições com um início ligeiramente mais tardio do que a LCA. Alguns indivíduos com mutações bialélicas no gene RPE65 apresentam um fenótipo que é mais leve do que a LCA clássica, embora a cegueira noturna esteja presente desde uma idade muito precoce, se não congênita.

Alguns pacientes com mutações autossômicas recessivas no gene RPE65 podem ter recebido o diagnóstico de retinite pigmentosa, uma classificação clínica mais ampla para a doença hereditária da retina (Morimura *et al.*, 1998). A RP é uma forma heterogênea da doença hereditária da retina que apresenta características clínicas semelhantes à LCA, mas com um início mais tardio dos sintomas. A RP é geralmente caracterizada por uma degeneração progressiva dos fotorreceptores bastonetes e cone, porém a idade de início e a extensão da perda da visão é mais variável do que a LCA. No entanto, déficits na adaptação no escuro e a perda da visão periférica na RP são semelhantes à LCA e são características da maioria das formas de RP, independentemente do padrão hereditário e da causa genética.

A LCA e RP podem ser diagnosticadas em pacientes com degeneração no fotorreceptor que podem manter boa visão central na primeira década de vida, porém com progressão subsequente da doença resultando em perda profunda da visão (Thompson, *et al.*, 2000). Associado aos dois diagnósticos clínicos, existe um eletrorretinograma reduzido ou não detectável, especialmente as respostas escotópicas, mesmo com pouca idade, bem como vasos sanguíneos atenuados na retina e quantidades variáveis de depósitos pigmentares na retina em estágios avançados do processo da doença (Morimura *et al.*, 1998).

O RPE65 é uma proteína 61-kDA evolutivamente conservada encontrada no retículo endoplasmático liso das células do RPE (analisado em Cai, 2009). A expressão do RPE65 é regulada no desenvolvimento e, na detecção da proteína RPE65 no rato, coincide com o aparecimento mais precoce das membranas do segmento externo dos fotorreceptores e é continuamente detectável ao longo da vida.

O componente ativo voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) é uma solução límpida e incolor, a uma concentração de  $5 \times 10^{12}$  de partículas do vetor contendo genoma do vetor por mililitro em diluente específico.

Embora as mutações que levam à ausência de expressão de RPE65 estejam associadas ao comprometimento da visão, não há relatos de doenças associadas à expressão da proteína RPE65.

### **Plano de Monitoramento Pós-Liberação Comercial:**

As atividades de monitoramento de uso do produto são descritas no Plano de Farmacovigilância. Neste plano, as atividades rotineiras de farmacovigilância incluirão relato de reações adversas, detecção de sinais, revisão cumulativa e produção de PSUR (Relatório Periódico de Farmacovigilância). Os pacientes tratados serão incluídos em um estudo de registro pós-autorização de comercialização destinado a caracterizar com mais detalhes o perfil de segurança em longo prazo do tratamento com voretigene neparvovec em indivíduos com doença retiniana hereditária mediada por RPE65 usando um desenho de observação, longitudinal e multinacional. Este registro não interventivo acompanhará os indivíduos por cinco anos após a administração subretiniana de voretigene neparvovec. O objetivo primário do registro é coletar dados adicionais sobre:

- Desenvolvimento ou exacerbação de doenças oncológicas, hematológicas, neurológicas ou autoimunes.
- Eventos adversos que sejam avaliados como possivelmente, provavelmente ou definitivamente relacionados a
  - voretigene neparvovec ou
  - procedimento de administração, incluindo inflamação e infecção ocular, aumento da pressão intraocular, laceração retiniana, distúrbio retiniano, orifício macular, maculopatia e progressão ou formação de catarata.

### **Parecer Final:**

Luxturna ou voretigene neparvovec é destinado à terapia gênica de pacientes com perda de visão decorrentes de distrofias retinianas hereditárias causadas por mutações bialélicas no gene RPE65 que impossibilitam a síntese da enzima pigmento retinal epitélico específica 65KDa, também conhecida como isomerohidrolase retinóide. Essa enzima impede que o ciclo retinoide se complete, devido à incapacidade do retinil ester ser convertido a 11-cis-rol. Com isso ocorre acúmulo de precursores tóxicos, a viabilidade das células do pigmento do epitélio retinal é reduzida e, por fim, ocorre a perda dos fotorreceptores.

O produto consiste em uma molécula de DNA encapsidada por proteínas do sorotipo 2 vírus adeno associados (AAV2), não associado a doença humana, sendo naturalmente deficiente na replicação, exigindo a coinfeção com vírus auxiliares para se replicar.

Ele será administrado aos pacientes por meio de injeção intraretiniana apenas em centros especializados e, espera-se, que o DNA vetor persista por anos como um episomo dentro do núcleo das células da retina. Segundo a proponente, há possibilidade teórica de que haja integração do DNA em níveis muito baixos no genoma das células hospedeiras. Considerando a via de administração e os níveis baixos e transitórios de eliminação esperados, o risco de exposição não intencional de seres humanos e de outra biota é mínimo. Como o cassete não possui os genes rep e cap, o produto não é capaz de se replicar de modo independente, mesmo na presença de vírus auxiliar. Pode se recombinar com AVV selvagem desde que haja um vírus auxiliar. Porém, o empacotamento de eventual DNA recombinante contendo o cassete de expressão e os genes rep e cap não seria realizado devido ao tamanho excessivo do DNA.

A empresa detalhou o processo de produção do medicamento, o controle de qualidade realizado para cada lote produzido e apresentou dados disponíveis na literatura e resultados de estudos pré-clínicos realizados. O conjunto das informações disponibilizados permite inferir que o medicamento é seguro, não oferecendo riscos significativos ao meio ambiente e à saúde humana e animal.

Com base nas informações fornecidas pela requerente e nos dados da literatura, a CTNBio concluiu pela aprovação do protudo Luxturna, com o componente ativo voretigene neparvovec para o uso proposto e não oferece risco ao meio ambiente.

### **Bibliografia:**

Acland GM, Aguirre GD, Bennett J, Aleman TS, Cideciyan AV, Bennicelli J, Dejneka NS, Pearce-Kelling SE, Maguire AM, Palczewski K, Hauswirth WW, Jacobson SG. Long-term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness. *Mol Ther*. 2005 Dec;12(6):1072-82. Epub 2005 Oct 14.

Bainbridge, J. W. et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med*. 372, 1887–1897 (2015).

Båvik CO, Busch C, Eriksson U. Characterization of a plasma retinol-binding protein membrane receptor expressed in the retinal pigment epithelium. *J Biol Chem*.; 267(32):23035-42. 1992.

Berns K. Parvovirus replication. *Microbiol Rev* 54:316-329. (1990).

Hamel CP, Tsilou E, Pfeffer BA, Hooks JJ, Detrick B, Redmond TM. Molecular cloning and expression of RPE65, a novel retinal pigment

epithelium-specific microsomal protein that is post-transcriptionally regulated in vitro. *Biol Chem.*;268(21):15751-7. 1993

Li, C., Samulski, R.J. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* (2020).

Lorenz B, Wabbers B, Wegscheider E, Hamel CP, Drexler W, Preising MN. Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology*. 111(8):1585-94. 2004.

Mingozzi F, High KA. Therapeutic in vivo gene transfer for genetic disease using AAV: progress and challenges. *Nat Rev Genet.*; 12(5):341-55. 2011.

Morimura H., Fishman GA, Grover SA, Fulton AB, Berson EL, Dryja TP. Mutations in the RPE65 gene in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa or leber congenital amaurosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;95(6):3088-93. 1998.

Redmond TM, Poliakov E, Yu S, Tsai JY, Lu Z, Gentleman S. Mutation of key residues of RPE65 abolishes its enzymatic role as isomerohydrolase in the visual cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 102(38):13658-63. 2005.

Redmond TM, Yu S, Lee E, Bok D, Hamasaki D, Chen N, Goletz P, Ma JX, Crouch RK, Pfeifer K. Rpe65 is necessary for production of 11-cis-vitamin A in the retinal visual cycle. *Nat Genet.*; 20(4):344-51. 1998.

Russell S, Bennett J, Wellman JA et al (2017) Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 390:849–860.

Samulski RJ, Chang LS, Shenk T. Helper-free stocks of recombinant adeno-associated viruses: normal integration does not require viral gene expression. *J Virol.*; 63(9):3822-8. 1989.

Sonntag F, Köther K, Schmidt K, Weghofer M, Raupp C, Nieto K, Kuck A, Gerlach B, Böttcher B, Müller OJ, Lux K, Hörer M, Kleinschmidt JA. The assembly-activating protein promotes capsid assembly of different adeno-associated virus serotypes. *J Virol*. Dec;85(23):12686-97. 2011.

Thompson DA, Gyürüs P, Fleischer LL, Bingham EL, McHenry CL, Apfelstedt-Sylla E, Zrenner E, Lorenz B, Richards JE, Jacobson SG, Sieving PA, Gal A. Genetics and phenotypes of RPE65 mutations in inherited retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 41(13):4293-9. 2000.

Walia S, Fishman GA, Jacobson SG, Aleman TS, Koenekoop RK, Traboulsi EI, Weleber RG, Pennesi ME, Heon E, Drack A, Lam BL, Allikmets R, Stone EM. Visual acuity in patients with Leber's congenital amaurosis and early childhood-onset retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*;117(6):1190-8. 2010.

Weleber RG, Michaelides M, Trzupsek KM, Stover NB, Stone EM. The phenotype of Severe Early Childhood Onset Retinal Dystrophy (SECORD) from mutation of RPE65 and differentiation from Leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*; 52(1):292-302. 2011.

Xie Q, Bu W, Bhatia S, Hare J, Somasundaram T, Azzi A, Chapman MS. The atomic structure of adeno-associated virus (AAV-2), a vector for human gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 99(16):10405-10. 2002.

**Dra. Maria Sueli Soares Felipe**  
**Presidente da CTNBio**