

FORMULÁŘ ŽÁDOSTI O KLINICKÁ HODNOCENÍ HUMÁNNÍCH LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ OBSAHUJÍCÍCH ADENO-ASOCIOVANÉ VIROVÉ VEKTORY

Tento formulář lze použít podle odst. 1 přílohy č. 2 vyhlášky č. 209/2004 Sb., o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů, pro žádosti o klinická hodnocení humánních léčivých přípravků sestávajících z adeno-asociovaných virových vektorů (dále jen „klinické vektory“) nebo takové vektory obsahujících.

V případě, že má být prováděno klinické hodnocení již registrovaného léčivého přípravku, ale pro jinou indikaci, jinou lékovou formu nebo jinou cestu podání, než jaká je uvedena v souhrnu údajů o přípravku, lze použít zvláštní formulář pro registrované léčivé přípravky.

Pokud v rámci klinického hodnocení bude s geneticky modifikovanými organismy nakládat v České republice i další právnická osoba nebo fyzická osoba oprávněná k podnikání kromě žadatele, musí tato osoba také podat žádost o uvádění geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí, popřípadě podat oznámení o uzavřeném nakládání.

Zadavatel klinického hodnocení může případně podat všechny potřebné žádosti a oznámení na základě plné moci od všech právnických osob nebo fyzických osob oprávněných k podnikání, které se budou podílet na nakládání s geneticky modifikovanými organismy v rámci předmětného klinického hodnocení.

Datum podání: 29. července 2025

Název projektu: Randomizované, dvojitě maskované, aktivně kontrolované klinické hodnocení fáze 3 jedné intravitreální injekce přípravku 4D-150 u dospělých s makulární neovaskularizací sekundární k věkem podmíněné makulární degeneraci (4FRONT-2).

Jednoznačný identifikátor klinického hodnocení, je-li v době podání žádosti znám

EU Clinical Trial Number: 2025-521349-25-00

SEKCE 1 – ADMINISTRATIVNÍ INFORMACE

1.1. Žadatel

1.1.1. Jméno nebo název anebo obchodní firma, je-li žadatelem fyzická osoba oprávněná k podnikání, název nebo obchodní firma a právní forma, je-li žadatelem právnická osoba

Syneos Health CZ s.r.o.

1.1.2. Adresa sídla a adresa bydliště (u fyzických osob)

Lomnického 1705/9, Nusle, Praha 4, 140 00

1.1.3. IČO (pokud je přiděleno)

261 86 152

1.2. Zadavatel, pokud je odlišný od žadatele

1.2.1. Jméno nebo název anebo obchodní firma, je-li žadatelem fyzická osoba oprávněná k podnikání, název nebo obchodní firma a právní forma, je-li žadatelem právnická osoba

4D Molecular Therapeutics, Inc.

1.2.2. Adresa sídla a adresa bydliště (u fyzických osob)

**5858 Horton Street, Suite 455
Emeryville, CA 94608 USA**

1.2.3. IČO (pokud je přiděleno): NA

SEKCE 2 – INFORMACE O HODNOCENÉM LÉČIVÉM PŘÍPRAVKU

2.1. Popis produkčního systému

Měly by být uvedeny přehledné mapy vektorů použitých pro výrobu rekombinantního adeno-asociovaného viru (např. plazmidy, bakuloviry), znázorňující všechny součásti AAV klinického vektoru (tj. měl by být popsán nejenom „transgenní vektor“, ale i ostatní, např. pomocné (helper) a sbalovací (packaging) vektory a vektory pro pseudotypizaci).

Měly by být popsány charakteristiky všech použitých buněčných linií a výsledná modifikace buněčného genomu. Popište příslušný typ (typy) buněk a jejich původ (např. epitelové buňky lidské ledviny, hmyzí buňky).

Mělo by být diskutováno, zda je možné, aby genetický materiál pocházející z buněk nebo z buněčných linií určitým způsobem interagoval s klinickým vektorem, například formou komplementace nebo rekombinace. Měly by být podrobně popsány testy pro identifikaci možné kontaminace buněčné linie přirozeně se vyskytujícími adeno-asociovanými viry anebo jakýmkoliv virem identifikovaným jako pomocný (helper) virus pro adeno-asociovaný virus.

Na tomto místě žadatel uvede informace, které lze zveřejnit. Pokud některé údaje považuje za obchodní tajemství, uvede zde souhrn bez těchto údajů.

Údaje označené za obchodní tajemství budou obsaženy v příloze žádosti spolu s odůvodněním, proč jsou považovány za obchodní tajemství. V příloze bude jasně vyznačeno, ke které části žádosti se příslušné údaje vztahují.

Produkční systém slouží pro výrobu pro výrobu léčivého přípravku GMO 4D-150 (4D-R100.CAG-miR-(VEGFC)-coAFLB; adeno-asociovaný virus [AAV], kapsidové varianty [4D-R100] nesoucí kodon-optimalizovanou sekvenci kódující protein aflibercept a micro-RNA [miRNA] cílící na expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru C [VEGF-C]). Tento produkční systém se skládá ze tří plasmidů, které jsou ko-transfekovány do lidských embryonálních buněk ledvin HEK293 (Human embryonic kidney).

Pro produkci byly použity tyto plasmidy: 1) **payload plasmid** (tzv. transferový, který nese vkládané sekvence pro expresi), 2) **AAV2 plasmid** kóduje geny *rep* a *cap* AAV2 (adeno-asociovaného viru 2) a 3) adenovirový **pomocný (helper) plasmid**. Tyto prvky již obsahují genetické modifikace potřebné pro funkci transgenové kazety a pro zajištění replikační deficiencie odstraněním většího genomu AAV.

Payload plasmid

Transgenní plasmid (Obr. 1) je složen z několika transgenů, zejména 1) miRNA cílící na VEGF-C (miR-(VEGFC)) a 2) kodon-optimalizovanou sekvenci kódující protein aflibercept (AFLB, coAFLB), který váže VEGF-A, VEGF-B a PlGF. Oba tyto transgeny jsou obsaženy v jedné kazetě a jsou pod kontrolou stejného promotoru CAG. Jednotlivé složky tohoto plasmidu tedy jsou:

- Promotor CAG se skládá z: 1) C – cytomegalovirového (CMV) časného enhanceru (immediate-early enhancer element), 2) A - prvního exonu a prvního intronu kuřecího genu pro beta-aktin a 3) G – sestřihového akceptoru králíčího genu pro beta-globin.
- Transgeny: miR-(VEGFC): mikro-RNA (miRNA) cílící na expresi vaskulárního endotelového růstového faktoru C (VEGF-C), umístěného v intronu kuřecího beta-aktinu promotoru CAG a coAFLB: kódování kodon-optimalizované sekvence pro protein aflibercept, který váže a inhibuje VEGF-A, VEGF-B a PlGF.
- Polyadenylační signál: SV40 pozdní polyA
- 5' a 3' inverzní terminální repetice AAV (ITR) z genomu AAV2

DNA konstrukt payload plasmidu byl vytvořen kombinací genové syntézy a molekulární biologie. Sekvence DNA obsahující kodon-optimalizovaný aflibercept (VEGF-A/B Trap) (cDNA) byla syntetizována *de novo*. Celá cílová sekvence byla ligována do AAV vektorového plasmidu spolu s transgenem miR-E-(VEGF-C) miRNA obsahující oblast CAG beta-aktinového intronu. Vkládané sekvence byly potvrzeny pomocí NGS a Sangerova sekvenování.

Rekombinantní AAV postrádající virovou DNA je v podstatě nanočástice na bázi proteinů vyvinutá tak, aby procházela buněčnou membránou, kde může nakonec přepravovat a zavádět náklad DNA do jádra buňky. Za nepřítomnosti proteinů Rep mohou transgeny lemované ITR kódované v rámci rAAV tvořit kruhové konkatemery, které přetrvávají jako epizomy v jádru transdukovaných buněk (Choi et al., 2006). Vzhledem k tomu, že rekombinantní epizomální DNA se neintegruje do hostitelských genomů, bude nakonec časem zředěna, protože buňka prochází opakovanými koly replikace. To nakonec povede ke ztrátě transgenů a exprese transgenů, přičemž rychlost ztráty transgenů závisí na rychlosti obratu transdukované buňky. Díky těmto charakteristikám a celkově zanedbatelné pravděpodobnosti výskytu je rAAV ideální pro určité aplikace genové terapie.

AAV2 plasmid

Design AAV2 plasmidu byl navržen na základě několika předchozích generací plasmidů. Sekvence celého plasmidu byla potvrzena pomocí Sangerova sekvenování.

Buněčné linie

Pro výrobu GMO přípravku byly použity buněčné linie HEK293, tyto linie byly podrobeny detailnímu zkoumání, včetně ověření, že buňky jsou prosté od nežádoucích organismů/virů. Ke kultivaci bylo použito sérum. Pro pasážování buněk byl použit TrypLE, avšak se nepovažuje za produkt živočišného původu, protože je plně rekombinantní. Pro výrobu GMO přípravku 4D-150 byla buněčná linie ko-transfekována výše uvedenými plasmidy pomocí polyethyleniminového činidla a produkční buněčné médium bylo ošetřeno, sesbíráno, zakonzentrováno a zamrzáno. Při produkci GMO přípravku je tento z buněčného média afinitně čištěn, purifikován a po výměně pufrů zakonzentrován a filtrován. Na konečném produktu je provedena řada testů, včetně verifikace titru viru, jeho stability a je provedena jeho další charakterizace (DLS, AUC, MS, TEM, charakterizace kapsidy), včetně stanovení jeho DNA a obsahu proteinů, expresních a funkčních esejí vkládaných transgenů.

Během výrobního procesu vektoru AAV existuje teoretické riziko genetické rekombinace mezi plasmidem, který nese geny *rep* a *cap* (AAV2), a transgenním plasmidem, který nese sekvenci kódující miR-(VEGFC) a gen kódující protein aflibercept (payload plasmid). Taková

rekombinace by mohla potenciálně generovat replikačně-kompetentní AAV (rcAAV), který by mohl mít schopnost proliferace podobnou jako divoký typ AAV.

Avšak i v případě vzniku rcAAV zůstávají ITR a gen *rep*, které jsou nezbytné pro replikaci virového genomu, a primární část kapsidy, která definuje buněčný tropismus, identické s divokým typem AAV. Proto je pravděpodobné, že schopnost rcAAV (bez ohledu na to, zda je rekombinantní či nikoli) ovlivňovat biologickou rozmanitost, jako je infekčnost pro člověka, zvířata a rostliny, způsob infekce a patogenita, bude srovnatelná s divokým typem AAV.

V průběhu výroby 4D-150 je složení přípravku validováno metodami, které slouží jako podklad pro uvolnění přípravku pro podání pacientovi. Potenciální virová kontaminace je kontrolována prostřednictvím izolace produktu, kontroly surovin, vedení dokumentace a testování surovin. Byla provedena charakterizace a testování hlavní buněčné banky a kontroly v průběhu výroby zahrnují testování nezpracované hromadné sklizně na přítomnost cizích látek, jako jsou bakterie, plísňe, mykoplasmy a viry.

U hlavní buněčné banky byly provedeny série testů vylučující přítomnost jakýchkoli virů. Jednalo se zejména o tyto analýzy:

- Real-time PCR pro detekci lidského enteroviru (Human EV) v biologických vzorcích
- Test na přítomnost neprojevujících se virů v testovaném materiálu používaném k výrobě virových vakcín
- Test na přítomnost neprojevujících se virů v testovaném materiálu používaném k výrobě virových vakcín
- Pinnacle qPCR test pro detekci více sérotypů lidského adeno-asociovaného viru
- Kvantitativní test s vylepšenou reverzní transkriptázou (Q-PERT) pro detekci retrovirů v biologických vzorcích
- *In vitro* test na přítomnost prasečích virů
- Detekce 14 virů pomocí testů polymerázové řetězové reakce v reálném čase (lidský panel I)

2.2. Prokázání skutečnosti, že nevzniká virus schopný replikace

Mělo by být minimalizováno riziko, že v důsledku rekombinace složek virového vektorového systému vznikne adeno-asociovaný virus schopný replikace. Měly by být popsány metody použité pro detekci viru schopného replikace, včetně jejich specifity a citlivosti.

Měly by být uvedeny údaje z testování na přítomnost viru schopného replikace v různých fázích výroby vektoru (např. ve virové bance, v konečném produktu). Měla by být specifikována kritéria výsledků testování na přítomnost viru schopného replikace pro propuštění produktu.

Na tomto místě žadatel uvede informace, které lze zveřejnit. Pokud některé údaje považuje za obchodní tajemství, uvede zde souhrn bez těchto údajů.

Údaje označené za obchodní tajemství budou obsaženy v příloze žádosti spolu s odůvodněním, proč jsou považovány za obchodní tajemství. V příloze bude jasné vyznačeno, ke které části žádosti se příslušné údaje vztahují.

Očekává se, že přežití 4D-R100 bude podobné jako u AAV2, protože proteinová sekvence virové částice je identická z 98,5 %. Celý virový genom AAV2 byl odstraněn, s výjimkou dvou malých oblastí ITR. Virový genom byl nahrazen nereplikující se transgenní kazetou.

Nový virový produkt, 4D-150, je replikačně deficitní a nemůže se replikovat ani v přítomnosti pomocného viru, protože většina genomu chybí.

Sekvence vkládané DNA je omezena na DNA potřebnou k provedení zamýšlené funkce. Každá šarže 4D-150 (obsahující expresní kazetu miR-(VEGFC)-coAFLB) je testována na identitu pomocí kapénkové digitální PCR (ddPCR) v kombinaci s NGS, aby se ověřilo množství, integrita a identita insertu. Celý genom miR-(VEGFC)-coAFLB byl sekvenován a je identický s očekávanou sekvencí. Pro uvolnění šarže je nutné provést úplné sekvenování každé vyrobené šarže.

4D-150 není replikačně kompetentní a bylo testováno, že neobsahuje žádné detekovatelné replikačně kompetentní AAV. Kromě toho, pokud je transdukován do hostitele, který je současně infikován divokým typem AAV nebo pomocným virem, malé množství DNA čepičky 4D-R100 činí homologickou rekombinaci velmi nepravděpodobnou a omezená kapacita kapsidy ve srovnání s kazetou pro expresi transgenu omezuje jakékoli rekombinační události, které by mohly vést k replikačně kompetentnímu vektoru nesoucímu transgen.

Kromě toho byly do *rep/cap* a transgenních plazmidů vloženy následující prvky, aby se snížila možnost tvorby replikačně kompetentního AAV (rcAAV):

- Na obou koncích sekvence *rep/cap* nejsou žádné ITR, které by usnadňovaly balení.
- Základní oblast transgenního plazmidu, čtená z 3' do 5' ITR, byla prodloužena.
- Jakákoli rekombinace mezi sekvencemi *rep/cap* a miR-(VEGFC)-coAFLB by musela být nehomologní
- Pomocný plazmid, který obsahuje přibližně 30 % genomu adenoviru, dočasně poskytuje geny během výroby 4D-150, ale v konečném produktu již není přítomen. Tento plazmid neobsahuje ITR a je příliš velký na to, aby mohl být účinně zabalen.

Detekce replikačně kompetentního AAV2 v 4D-150

Detekce replikačně kompetentního AAV (rcAAV) byla provedena metodikou: "In Vitro Assay for the Detection of Replication Competent AAV2 in 4D-150 with a Rep2 Target. Kvalifikace zahrnovala expanzi rcAAV v buňkách s pozitivními a neinfikovanými kontrolami, přípravu vzorků PCR a QF-PCR s primery a sondami. Pro zajištění robustnosti byla kvalifikace provedena různými operátory v různých dnech. Kvalifikace metody zahrnovala mez detekce (LOD) PCR testu, linearitu, přesnost (opakovatelnost, přesnost zprostředkování), specifitu a mez detekce (LOD). Výsledek kvalifikace metody *in vitro* testu pro detekci replikačně kompetentního AAV2 v 4D-150 je vhodný pro matici vzorku 4D-150, protože provedené testy splnily všechna kritéria přijatelnosti.

Pro platný test musí být všechny adenovirové baňky pozitivní na cytopatický účinek vyvolaný virem, negativní kontrola musí být pod mezí detekce qPCR a alespoň jedna úroveň pozitivní kontroly musí být pozitivní qPCR. Výsledky se uvádějí jako limitní test s hladinami rcAAV nad nebo pod mezí detekce.

Testování rcAAV se provádí na hromadné léčivé látce, a nikoli při sklizni, a to ze dvou důvodů. Za prvé, zbytkový plazmid při sklizni může vést k významnému signálu v testu, zejména v raných pasážích, a specifita testu nebyla v této maticové vzorku ověřena. Za druhé, nižší koncentrace viru při sklizni znamená, že test by neměl dostatečnou citlivost, kterou lze dosáhnout testováním hromadné léčivé látky s vyšší koncentrací.

2.3. Schéma (mapa) klinického vektoru

Na tomto místě žadatel uvede informace, které lze zveřejnit. Pokud některé údaje považuje za obchodní tajemství, uvede zde souhrn bez těchto údajů.

Údaje označené za obchodní tajemství budou obsaženy v příloze žádosti spolu s odůvodněním, proč jsou považovány za obchodní tajemství. V příloze bude jasné vyznačeno, ke které části žádosti se příslušné údaje vztahují.

Kódující sekvence genů AAV *rep* a *cap* byly z vektoru 4D-150 odstraněny, takže se nemůže replikovat ani v přítomnosti pomocného viru, jako je adenovirus. V kapsidě 4D-R100 je zapouzdřena multimechanická transgenní nálož.

Kapsida 4D-R100 obsahuje multimechanistickou transgenní nálož: (1) miRNA zaměřenou na VEGF-C (miR-(VEGFC)) a (2) sekvenci optimalizovanou pro kodony, která kóduje protein aflibercept v plné délce (coAFLB), který se váže na VEGF-A, VEGF-B a PlGF. Oba transgeny jsou obsaženy v jedné transgenové kazetě, která je exprimována ze stejného hybridního promotoru odvozeného od sekvencí časného enhanceru cytomegaloviru a promotoru beta-aktinu kuřete a pod kontrolou stejného promotoru CAG. Následuje polyadenylační sekvence odvozená od Simian Virus 40 (SV40 polyA). Transgenová kazeta je na obou koncích 5' a 3' obklopena sekvencemi invertovaných terminálních repetitiv (ITR) odvozenými od AAV2:

- Promotor: CAG,
 - (C) cytomegalovirus (CMV) okamžitý časný enhancerový element,
 - (A) první exon a první intron kuřecího genu beta-aktinu,
 - (G) splice akceptor genu beta-globinu králíka
- Transgen:
 - miR-(VEGFC): sestává z sekvence vložené do syntetické miRNA kazety, miR-E. miRNA cílí na expresi VEGF-C a je umístěna v intronu beta-aktinu kuřete promotoru CAG
 - coAFLB: kodonově optimalizovaná sekvence, která kóduje protein identický s AFLB, který se skládá z druhé Ig domény lidského VEGFR1 a třetí Ig domény lidského VEGFR2 fúzované s konstantní oblastí (Fc) lidského IgG1, která se váže na VEGF-A, VEGF-B a PlGF
- Polyadenylační signál: SV40 pozdní polyA
- 5' a 3' AAV ITR z genomu AAV2

2.4. Molekulární charakterizace klinického vektoru

Uveďte anotovanou sekvenci genomu (tj. označte umístění sekvencí kódujících expresní kazetu transgenů, popřípadě kazety transgenů, a jejich regulační úseky).

Popište, jak se klinický vektor liší od rodičovského viru na úrovni molekulární charakterizace.

Měly by být uvedeny dostupné údaje, které dokládají genetickou stabilitu klinického vektoru. Případné odchylky by měly být diskutovány, a to zejména z hlediska jejich biologického významu.

Na tomto místě žadatel uvede informace, které lze zveřejnit. Pokud některé údaje považuje za obchodní tajemství, uvede zde souhrn bez těchto údajů.

Údaje označené za obchodní tajemství budou obsaženy v příloze žádosti spolu s odůvodněním, proč jsou považovány za obchodní tajemství. V příloze bude jasné vyznačeno, ke které části žádosti se příslušné údaje vztahují.

Rodičovský virus je adeno-asociovaný virus (AAV) z čeledi parvovirů. Existuje několik přirozeně se vyskytujících sérotypů adeno-asociovaného viru (označovaných jako AAV1 až AAV11), ale moderní techniky molekulárního klonování identifikovaly stovky jedinečných

kmenů AAV u mnoha druhů. 4D-R100 je varianta kapsidy AAV2, která byla selektivně vyvinuta tak, aby účinně cílila na buňky sítnice, včetně fotoreceptorů a buněk pigmentového epitelu sítnice. Sérový typ AAV je určen kapsidou virionu, který je nedílnou součástí druhového / tkáňového tropismu a infekční účinnosti AAV. Kapsida 4D-R100 je z 98,5 % identická s kapsidou AAV2.

Genetická stabilita

Obecně mají DNA viry větší genetickou stabilitu než RNA viry. DNA je termodynamicky stabilnější než RNA a replikace DNA je méně náchylná k chybám než replikace RNA. Genetická stabilita 4D-150 je podložena výrobou za podmínek cGMP a ověřena testováním čistoty, účinnosti a složení. Genetická stabilita byla prokázána na třech úrovních: stabilita sekvence genomu vektoru, stabilita indikovaná funkční produkcí proteinu *in vitro* a stabilita indikovaná funkční produkcí proteinu *in vivo*.

Sekvenování DNA 4D-150 prokázalo, že integrita genomu vektoru byla na konci výrobního procesu zachována. Buněčný test účinnosti ověřil, že 4D-150 vytváří funkční aflibercept a miRNA zaměřené na VEGF-C *in vitro* a vede k odpovídajícímu snížení transkriptů a proteinu VEGF-C v buněčném testu v závislosti na dávce. Funkční protein aflibercept a exprese miRNA byly prokázány *in vivo* ve vodnaté tekutině, sklivci a sítnicových a cévnatých tkáních primátů, kterým byl 4D-150 injikován.

4D-150 není replikačně kompetentní a byl testován na čistotu, aby se prokázalo, že neobsahuje žádné detekovatelné replikačně kompetentní AAV.

2.5. Popis inzertu

Měla by být popsána expresní kazeta, tj. transgen, včetně regulačních a kódujících sekvencí. Mělo by být především podrobně vysvětleno, zda je exprimovaný produkt toxický nebo jinak škodlivý pro člověka (odlišného od subjektu klinického hodnocení) nebo pro jiné hostitele. Pokud žadatel dojde k závěru, že transgen může poskytovat klinickému vektoru nějakou výhodu pro replikaci nebo přežití v porovnání s rodičovským vektorem, mělo by to být vysvětleno.

Na tomto místě žadatel uvede informace, které lze zveřejnit. Pokud některé údaje považuje za obchodní tajemství, uvede zde souhrn bez těchto údajů.

Údaje označené za obchodní tajemství budou obsaženy v příloze žádosti spolu s odůvodněním, proč jsou považovány za obchodní tajemství. V příloze bude jasné vyznačeno, ke které části žádosti se příslušné údaje vztahují.

Payload plasmid je složen z několika transgenů, zejména 1) miRNA cílící na VEGF-C (miR-(VEGFC)) a 2) kodon-optimalizovanou sekvenci kódující protein aflibercept (AFLB, coAFLB), který váže VEGF-A, VEGF-B a PIGF. Oba tyto transgeny jsou obsaženy v jedné kazetě a jsou pod kontrolou stejného promotoru CAG. Jedotlivé složky tohoto pasidu tedy jsou:

- Promotor CAG se skládá z: 1) C – cytomegalovirového (CMV) časného enhanceru (immediate-early enhancer element), 2) A - prvního exonu a prvního intronu kuřecího genu pro beta-aktin a 3) G – sestřihového akceptoru králíčího genu pro beta-globin.
- Transgeny: miR-(VEGFC): mikro-RNA (miRNA) cílící na expresi vaskulárního endotelového růstového faktoru C (VEGF-C), umístěného v intronu kuřecího beta-aktinu promotoru CAG a coAFLB: kódování kodon-optimalizované sekvence pro protein aflibercept, který váže a inhibuje VEGF-A, VEGF-B a PIGF (Holash et al., 2002).
- Polyadenylační signál: SV40 pozdní polyA

- 5' a 3' inverzní terminální repetice AAV (ITR) z genomu AAV2

DNA konstrukt payloadového plasmidu byl vytvořen kombinací genové syntézy a molekulární biologie.

Vektor má tři aspekty modifikací, které se zabývají patogenitou: odstranění téměř veškeré virové DNA (94 %), vysoká sekvenční identita 4D-R100 s AAV2 (98,5 % identická s divokým typem AAV2), u kterého bylo prokázáno, že není patogenní (Flotte & Carter, 1995), a vložení dobře snášené duální transgenní kazety. Odstranění virové DNA, včetně všech sekvencí kódujících geny rep a cap, eliminuje jakoukoli virovou virulenci. Podobnost s divokým typem kapsidy zachovává hostitelský rozsah wtAAV, tropismus a absenci nežádoucích imunitních reakcí způsobených AAV. Biologicky aktivní protein AFLB a VEGF-C miRNA exprimované z vektoru byly shledány dobře snášenými v neklinických a klinických studiích bez klinicky významných nežádoucích účinků souvisejících s vektorem.

2.6 Biologická distribuce a vylučování/uvolňování

Měly by být uvedeny podrobné údaje o vylučování/uvolňování klinického vektoru z organismu pacienta (shedding), získané v předchozích hodnoceních klinického vektoru (včetně informací o podané dávce, cestě podání a stavu imunity testovaných subjektů, pokud je tento údaj známý). Uveďte též údaje o biodistribuci, pokud jsou známy a pokud mají vztah k rizikům pro životní prostředí.

Pokud s předmětným klinickým vektorem nejsou žádné předchozí klinické zkušenosti, měla by být diskutována schopnost vylučování/uvolňování na základě neklinických údajů anebo klinických zkušeností s příbuznými klinickými vektory. Jestliže žadatel vychází z údajů pro příbuzné klinické vektory, měla by být vysvětlena relevance těchto údajů pro léčivý přípravek, který je předmětem žádosti, přičemž bude brána v úvahu zejména aplikovaná dávka a cesta podání.

Pokud dochází k vylučování/uvolňování, měla by být specifikována odhadovaná doba jeho trvání.

Měly by být uvedeny metody použité pro detekci vylučování/uvolňování viru, včetně informací o jejich specifitě a citlivosti.

Virové vektory, včetně vektorů odvozených od adenoasociovaného viru (AAV), se často používají v genové terapii. Důsledky jejich uvolnění do životního prostředí nejsou dosud zcela známy, avšak v literatuře jsou k dispozici některé údaje.

Společný workshop EMEA a ICH z roku 2007 věnovaný uvolňování virů/vektorů stanovil, že ačkoli je rAAV široce biodistribován a jeho uvolňování je známo, virus není patogenní a rizika jsou odhadována jako velmi nízká (workshop EMEA/ICH 2007). Navíc zpráva schválená řadou zemí EU, „Osvědčené postupy při posuzování aspektů souvisejících s GMO v kontextu klinických hodnocení s klinickými vektory AAV“, podporuje názor, že nejsou známy žádné patologické jevy spojené s AAV a že pokud vektory neobsahují žádné nebezpečné vložky, lze rizika spojená s dlouhodobou perzistencí vektorů v životním prostředí považovat za velmi nízká. Nizozemská komise pro genetické modifikace (COGEM), nezávislý vědecký poradní orgán, který poskytuje vládě poradenství v oblasti rizik pro lidské zdraví a životní prostředí spojených s výrobou a používáním GMO, zveřejnila zprávu „Generické posouzení environmentálních rizik klinických hodnocení s vektory AAV“. COGEM se domnívá, že environmentální rizika vyplývající z vylučování vektorů AAV jsou

zanedbatelná. Komise poznamenává, že po podání vektoru se ten rozšíří do různých tkání a orgánů v těle a postupem času se vylučuje. Vektory AAV mohou být vylučovány krví, stolicí, spermatem a močí. Množství vylučovaného vektoru závisí na dávce a postupem času se postupně snižuje, částečně proto, že pacient vyvine neutralizující protilátky proti kapsidě. V klinické studii s vektorem na bázi AAV2/5 (6×10^{13} vg/kg tělesné hmotnosti) byl vektor vylučován prostřednictvím semene, slin a výkalů až do 52. týdne. COGEM však poznamenává, že pokud je v tělních tekutinách nebo tkáních nalezena vektorová DNA, například pomocí PCR analýzy, neznamená to nutně, že vektor je infekční. Vektory AAV vylučované do životního prostředí jsou biologicky izolované a dále se nešíří. COGEM proto považuje environmentální rizika vyplývající z vylučování vektorů AAV za zanedbatelná.

Podávání investigativního přípravku bude prováděno ve zdravotnickém zařízení. Veškerý personál klinického pracoviště bude dodržovat univerzální/standardní bezpečnostní opatření, která se běžně používají v klinických nemocničních zařízeních pro zachycení potenciálně biologicky nebezpečných materiálů. Vzhledem k povaze podávání přípravku (intravitreální) a očekávané přechodné/nízké úrovni uvolňování je riziko neúmyslné expozice 4D-150 pro člověka a ostatní biotu minimální. Téměř veškeré nízké množství genomů vektorů přítomné v tělních tekutinách se zdá být spojeno s buňkami a není přítomno jako volné částice vektoru. To ještě více snižuje pravděpodobnost horizontálního přenosu infekčních genomů na jiné osoby. V spermatu nebyl detekován žádný vektorový genom, takže neexistuje pravděpodobnost vertikálního přenosu. Na základě konstrukce vektoru se dále předpokládá, že vektorová konstrukce 4D-150 byla vhodně navržena tak, aby adeno-asociovaný virový vektor byl dostatečně atenuován, což znemožňuje vektorům infikovat, replikovat se nebo přežít mimo lidský organismus.

Ani divoký typ AAV, ani experimentální vektor 4D-150 nejsou známy jako patogenní pro člověka. Vektor 4D-150 není schopen se samostatně replikovat, a to ani v přítomnosti pomocného viru, protože postrádá geny *rep* a *cap* potřebné pro záchranu/balení.

V případě přenosu vektoru na nechtěného lidského příjemce se očekává, že rizika budou značně snížena, protože vektor není schopen replikace a „dávka“, která by mohla být přenesena (např. aerosolem, rozstřikem nebo kontaminovanými předměty), bude o řády nižší než dávka, kterou obdrželi pacienti.

Možnost neúmyslného přenosu AAV byla přímo zkoumána. V této studii byl vektor AAV podán ve formě rozprašovaného aerosolu pacientům s cystickou fibrózou a byla zkoumána expozice zdravotnických pracovníků podílejících se na podávání vektoru. Bylo detekováno malé množství částic vektoru v ovzduší. Nebyly hlášeny žádné negativní účinky na zdraví a sérologický status zdravotnických pracovníků pro AAV2 se nezměnil. Rozprašování lze považovat za potenciální scénář šíření vektoru na jiné osoby.

Nebyly provedeny žádné specifické studie týkající se přenosu 4D-150 mezi lidmi nebo zvířaty. U lidí nebyly provedeny žádné studie vylučování 4D-150, vylučování bude sledováno v rámci hodnocení klinické studie 4D-150. Před propuštěním v 1. den je třeba všechny subjekty poučit o možném riziku vylučování genomu a nařídít jim, aby nesdíleli předměty ani se neúčastnili činností, při nichž by mohli vystavit jiné osoby slzám nebo nosním sekretům subjektů a neúčastnili se činností, při nichž dochází k výměně slin. Subjekty, které jsou sexuálně aktivní, budou poučeny, aby používali při pohlavním styku adekvátní bariérovou metodu.

Studie vylučování však byly provedeny u nehumánních primátů po intravenózní injekci výzkumných produktů na bázi kapsidy 4D-R100. Na základě těchto podpůrných údajů se u 4D-150 očekává omezená a nevýznamná systémová biodistribuce.

Po jednorázové intravenózní injekci bylo vylučování genomu hodnoceno ve vzorcích celé krve, slz, slin, stolice, nosu, moči a spermatu po intravenózní injekci. Vylučování vektoru

bylo hodnoceno pomocí citlivé metody založené na qPCR, která je schopna specificky detekovat vektorovou DNA v množství 10 kopií na vzorek.

SEKCE 3 – INFORMACE KE KLINICKÉMU HODNOCENÍ

3. 1. Základní informace o klinickém hodnocení

EudraCT označení (pokud je k dispozici)	2025-521349-25-00
Číslo jednacích žádostí o uvádění do životního prostředí (pokud je k dispozici)	NA
Název klinického hodnocení	Randomizované, dvojité maskované, aktivně kontrolované klinické hodnocení fáze 3 jedné intravitreální injekce přípravku 4D-150 u dospělých s makulární neovaskularizací sekundární k věkem podmíněné makulární degeneraci (4FRONT-2)
Jméno hlavního zkoušejícího	Fakultní nemocnice Ostrava AXON Clinical, s.r.o. Fakultní nemocnice Brno Fakultní nemocnice Královské Vinohrady Všeobecná fakultní nemocnice v Praze Oftex, s.r.o.
Cíl klinického hodnocení	Cílem studie je vyhodnotit účinnost, bezpečnost a trvání účinku jedné intravitreální (IVT) injekce přípravku 4D-150 (3×10^{10} vektorových genomů) ve srovnání s afliberceptem (2 mg IVT) podávaným každých 8 týdnů (Q8W) u dospělých pacientů s makulární neovaskularizací při věkem podmíněné makulární degeneraci.
Předpokládané datum zahájení a datum ukončení klinického hodnocení	Zahájení: Q3-2025 Ukončení: Q4-2026
Plánovaný počet subjektů klinického hodnocení	54 subjektů ve všech zapojených zdravotnických zařízeních
Byla podána žádost o klinické hodnocení stejného léčivého přípravku v jiném státě Evropského hospodářského prostoru (EHP) nebo je podání takové žádosti plánováno? Pokud ano, uveďte v jakém státě.	Ano, žádost byla podána či v nejbližší době je plánována pro podání v těchto zemích: Rakousko, Bulharsko, Francie, Německo, Maďarsko, Itálie, Lotyšsko, Litva, Polsko, Portugalsko, Slovensko, Španělsko

3.2. Informace o místě, případně o místech, kde bude klinické hodnocení probíhat

Žadatel uvede údaje o pracovištích v tom státě, kde je žádost podávána. Kromě údajů o pracovišti, případně pracovištích, kde budou prováděny klinické činnosti, uvede též údaje o laboratořích, kde bude probíhat nakládání s geneticky modifikovanými organismy v rámci předmětného klinického hodnocení (např. prostory, kde budou uchovávány a testovány vzorky od subjektů klinického hodnocení, které obsahují geneticky modifikované organismy).

Žadatel vyplní tolik tabulek, kolik je potřeba.

Pracoviště 1:

Název organizace	Fakultní nemocnice Ostrava ➤ Lékárna FNO ➤ Oční klinika FNO a LF OU
Adresa pracoviště	17. listopadu 1790/5, Ostrava-Poruba, 708 52
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

Pracoviště 2:

Název organizace	AXON Clinical, s.r.o.
Adresa pracoviště	Ševce Matouše 26, 140 00 Praha 4
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

Pracoviště 3:

Název organizace	Fakultní nemocnice Brno ➤ Nemocniční Lékárna ➤ Oční klinika
Adresa pracoviště	Jihlavská 20, 625 00 Brno
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

Pracoviště 4:

Název organizace	Fakultní nemocnice Královské Vinohrady ➤ Ústavní lékárna ➤ Oftalmologická klinika
Adresa pracoviště	Šrobárova 1150/50, Praha 10, 100 34
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

Pracoviště 5:

Název organizace	Všeobecná fakultní nemocnice v Praze ➤ Oční klinika 1. LF UK a VFN
Adresa pracoviště	U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

Pracoviště 6:

Název organizace	Oftex, s.r.o.
Adresa pracoviště	Rokycanova 2798, 530 02 Pardubice
Plánované činnosti	Příjem, uchování a aplikace léčivého GMO přípravku 4D-150 pacientovi, odběr vzorků po aplikaci, inaktivace GMO a odstranění odpadů (jednorázových materiálů), které s přípravkem mohly přijít do kontaktu.
Kategorie rizika uzavřeného nakládání	První kategorie rizika

3. 3. Uchovávání klinického vektoru na klinickém pracovišti

Žadatel uvede údaje o místě, kde bude klinický vektor uchováván, podmínkách uchovávání (včetně opatření k omezení přístupu nepovolaných osob) a maximální době uchovávání. Žadatel též uvede, zda bude aplikační dávka připravována v lékárně příslušného klinického pracoviště.

GMO přípravek 4D-150 bude uchováván na pracovišti klinického hodnocení v souladu s podmínkami skladování uvedenými na štítku s přístupem omezeným na oprávněné osoby. Po přijetí na zkušební místo bude zásilka neprodleně zkontrolována a okamžitě zpracována. Pokud je některá z lahvíček přípravku 4D-150 poškozena nebo považována za

nepoužitelnou, bude přípravek zlikvidován jeho inaktivací, vložením do kontejneru na infekční odpad a odstraněn podle příslušných směrnic pracoviště o nakládání s odpady. Po obdržení jsou kartony s přípravkem 4D-150 skladovány v chladničkové teplotě mezi +2 až +8°C po dobu maximálně 60-ti dní. Chladničky jsou označeny jako místo uschování GMO (štítek „GMO“ a „Biohazard“), jsou uzamykatelné a přístup do nich mají pouze pracovníci, kteří jsou proškolení pro práci s GMO na daném pracovišti. Nespotřebovaný přípravek (např. po uplynutí doby použitelnosti) bude inaktivován a odstraněn jako infekční odpad dle platných směrnic daného pracoviště, nebo bude navrácen sponzorovi.

Místo skladování GMO:

Pracoviště 1 – FNO: Lékárna FNO
 Pracoviště 2 – AXON Clinical, s.r.o.: AXON Clinical, s.r.o.
 Pracoviště 3 – FN Brno: Nemocniční lékárna
 Pracoviště 4 – FN Královské Vinohrady: Ústavní lékárna
 Pracoviště 5 – Všeobecná fakultní nemocnice: Oční klinika
 Pracoviště 6 – Oftex, s.r.o.: Oftex, s.r.o.

Místo natažení aplikační dávky:

Pracoviště 1 – FNO: Lékárna FNO
 Pracoviště 2 – AXON Clinical, s.r.o.: AXON Clinical, s.r.o.
 Pracoviště 3 – FN Brno: Nemocniční lékárna
 Pracoviště 4 – FN Královské Vinohrady: Ústavní lékárna
 Pracoviště 5 – Všeobecná fakultní nemocnice: Oční klinika
 Pracoviště 6 – Oftex, s.r.o.: Oftex, s.r.o.

3.4. Přeprava klinického vektoru v areálu, kde probíhá klinické hodnocení

Žadatel uvede informace o přepravě v rámci areálu, kde bude probíhat klinické hodnocení (jedná se o přepravu klinického vektoru z místa, kde je uchováván, na pracoviště, kde je aplikován, případně na pracoviště, kde je připravována aplikační dávka). Žadatel popíše používané přepravní kontejnery nebo nádoby, včetně jejich označování a používaných desinfekčních postupů.

Přepravu klinického vektoru, pokud bude tato potřeba, bude zajišťovat vnitřní transportní služba nemocnice za patřičných bezpečnostních pravidel (pracoviště 1, 3 a 4). Připravená aplikační dávka bude zabalena do sekundárního obalu (nepropustný plastový sáček) a umístěna do transportní nádoby (uzavřený nerozbitný obal). Transportní nádoba bude označena „Obsahuje GMO“ a „Biohazard“ a zajištěna proti převržení. Potřebné desinfekční prostředky pro nouzové čištění jsou k dispozici jak v místě skladování, tak v aplikačním místě.

Transport u pracovišť, kde skladování je v místě aplikace GMO přípravku, nebude prováděn. Na pracoviště, kde hodnocení přípravku bude probíhat, bude GMO přípravek dovezen transportní společností mající oprávnění pro přepravu geneticky modifikovaných organismů I. kategorie vydané MŽP (RGW Express, č.j. MŽP/2025/750/280).

3.5. Informace o rekonstituci, výsledném léčivém přípravku a podání pacientovi

Označení hodnoceného léčivého přípravku	4D-150
---	--------

Rekonstituce (kde je to vhodné, popište stručně jednotlivé kroky)	NA, rekonstituce GMO přípravku není potřeba, léčivý přípravek se aplikuje tak, jak je dodán výrobcem.
Léková forma a síla	Suspenze obsahuje nereplikativní adeno-asociovaný virový vektor v objemu 300 mikrolitrů ve 2-mL zkumavce. Virová koncentrace je 6.0×10^{11} virových genomů (vg)/mL
Cesta podání	Intravitreální podání
Informace o dávkování a dávkovacím schématu (v případě opakovaného dávkování)	Pacientovi bude aplikovaná dávka 50 μL jednorázově. Toto množství obsahuje 3×10^{10} vektorových genomů.
Informace o jiné současně probíhající léčbě, která by mohla ovlivnit vylučování klinického vektoru nebo rizika pro životní prostředí (např. podávání laxativ, podání léčivého přípravku, který by mohl zvýšit replikační aktivitu klinického vektoru, podání léčivého přípravku na bázi plazmidu)	Současně s léčbou GMO přípravkem jsou podávány pacientovi kortikosteroidy, které ovšem dle dostupných informací neovlivňují vylučování klinického vektoru do životního prostředí ani nezvyšují replikační aktivitu klinického vektoru.

3.6. Preventivní opatření proti šíření klinického vektoru do životního prostředí

a) Opatření aplikovaná při rekonstituci (pokud se provádí), při dalším zacházení s léčivým přípravkem a při jeho podání

Rekonstituce léčivého přípravku není potřeba, suspenze se používá tak, jak je dodána výrobcem. Příslušná aplikační dávka se připravuje natažením virové do 1-mL injekční stříkačky, kterou je následně provedena aplikace GMO pacientovi. Při tomto kroku je použito jehly k natažení GMO přípravku do stříkačky a k aplikaci GMO přípravku do oka pacienta. Příprava probíhá za aseptických podmínek proškoleným personálem vybaveným patřičnými ochrannými pomůckami a dezinfekcí na pracovišti příslušné lékárny (pracoviště 1, 3 a 4) anebo v přípravných prostorech kliniky/oddělení, kde bude KH probíhat (pracoviště 2, 5 a 6). V případě nutnosti transportu (pracoviště 1, 3 a 4) jsou předplněné injekční stříkačky umístěny do biohazard sáčku (sekundární obal) a přepravovány na klinické pracoviště v patřičně označené transportní nádobě za dodržení bezpečnostní opatření.

Při podání přípravku GMO pacientovi bude na stříkačku se závitěm obsahující GMO nasazena aplikační jehla a GMO přípravek bude podán pacientovi.

Při nakládání s GMO přípravkem budou dodržována všechna nezbytná bezpečnostní opatření k zamezení vzniku aerosolu, riziku expozice zdravotnického personálu a dalších osob a šíření GMO do životního prostředí. Nakládání s GMO budou provádět pouze osoby, které v posledním roce absolvovaly GMO školení a jsou povinny dodržovat standardní operační postupy (zejména Protokol klinického hodnocení a Farmaceutický manuál). Všechny personál, který se bude účastnit nakládání s GMO přípravkem, musí před aplikací prvnímu pacientovi projít tzv. „dry run“, tedy nácvikem jednotlivých nezbytných procesů při nakládání, který je odsouhlasený sponzorem.

b) Osobní ochranné prostředky

Při jakékoli manipulaci s GMO (přesun, natažení do stříkačky, podání či inaktivace klinického přípravku) budou použity jednorázové ochranné pomůcky – plášť, respirátory, rukavice a ochranné brýle.

V případě havárie (rozlití přípravku, rozbití vialky) bude postupováno s největší opatrností pro zamezení vzniku dalšího aerosolu (omezení pohybu lidí), expozice osob či šíření do životního prostředí.

Všechny jednorázové ochranné pomůcky jsou po dokončení práce umístěny do plastových pytlů a odstraňovány jako odpady, na jejichž sběr a odstraňování jsou kladeny zvláštní požadavky s ohledem na prevenci infekce (katalog odpadů 180103) podle zákona o odpadech 541/2020 Sb., prováděcích vyhlášek 273/2021 Sb. a 8/2021 Sb.

c) Opatření k dekontaminaci a čištění po podání léčivého přípravku nebo v případě náhodného rozlití nebo úniku virového vektoru (tj. postupy dekontaminace a čištění materiálů, povrchů a prostor, které mohly být kontaminovány). U desinfekčních postupů, které budou použity, by též mělo být doloženo, že dostatečně účinně působí na předmětný klinický vektor.

Pracovní prostory musí být udržovány v čistotě a hygienickém stavu. Po kontaktu s GMO přípravkem 4D-150 musí být veškeré vybavení a okolní a pracovní povrchy vyčištěny a dekontaminovány schváleným desinfekčním prostředkem. Desinfekční prostředek musí splňovat požadavky na účinnost vůči krví přenosným patogenům a adeno-asociovaným virům a je schválen v rámci Desinfekčního programu daného zařízení (viz Desinfekční plány jako přílohy Provozních řádů jednotlivých pracovišť). Desinfekční prostředky musí být používány v souladu s doporučeními výrobce, zejména co se týče použité koncentrace a doby expozice. U GMO přípravku 4D-150 se jedná především o desinfekční prostředky, které jsou plně virucidní, zejména vůči neobaleným virům (označení spektra účinnosti: B). Lze tedy použít přípravky na bázi chlóru (např. 0,5% chlornan sodný po dobu 10 minut) či peroctové kyseliny (Persteril 0,5 % roztok po dobu 5 min).

Při náhodné rozlití či úniku přípravku bude tento únik překryt buničinou napuštěnou desinfekčním prostředkem v odpovídající koncentraci a po doporučenou expoziční dobu. Buničina bude následně odstraněna do pytle na nebezpečný odpad.

Pokud je některá z vialek GMO přípravku 4D-150 poškozena nebo považována za nepoužitelnou, měl by být GMO přípravek inaktivován a odstraněn jako odpad, na jehož sběr a odstraňování jsou kladeny zvláštní požadavky s ohledem na prevenci infekce (katalog odpadů 180103) podle zákona o odpadech 541/2020 Sb., prováděcích vyhlášek 273/2021 Sb. a 8/2021 Sb.

d) Odstranění nebo inaktivace zbytků léčivého přípravku po skončení klinického hodnocení

Adeno-asociované viry lze inaktivovat chlorem či peroctovou kyselinou, ale jsou odolné desinfekčním prostředkům bázi alkoholu. Adeno-asociované viry lze tudíž inaktivovat kontaktem s chlornanem sodným (SAVO) v poměru 1:10 po dobu 10 minut či peroctovou kyselinou (Persteril 0,5 % roztok po dobu 5 min). Adeno-asociované viry lze inaktivovat teplem: Inaktivace GMO přípravku (rezervní objem při podání GMO

přípravku pacientovi) bude provedena chemicky (např. SAVO, ředění 1:4 s vodou, doba expozice 30 minut) a následně bude odpad odstraněn jako odpad, na jehož sběr a odstraňování jsou kladeny zvláštní požadavky s ohledem na prevenci infekce (katalog odpadů 180103) podle zákona o odpadech 541/2020 Sb., prováděcích vyhlášek 273/2021 Sb. a 8/2021 Sb. Nespotřebovaný GMO přípravek je možné vrátit sponzorovi (přeprava z místa klinického hodnocení bude provedena přepravní společností mající oprávnění pro přepravu geneticky modifikovaných organismů I. kategorie rizika (RGW Express, č.j. MZP/2025/750/280) vydané Ministerstvem životního prostředí).

e) Nakládání s odpady (včetně dekontaminace a odstranění potenciálně kontaminovaného odpadu, který vzniká mimo pracoviště klinického hodnocení, pokud ke vzniku takového odpadu dochází). Uveďte též subjekt zodpovědný za odstranění odpadu.

Materiály kontaminované GMO přípravkem 4D-150 jsou nebezpečným odpadem. Jednorázové předměty budou umístěny do pytlů na nebezpečný odpad (nebo jiných vhodných určených nádob) a spáleny (AAV jsou citlivé na teplo; k inaktivaci viru dochází při 60°C po dobu 20 minut nebo autoklávování při 121°C po dobu minimálně 15 minut). Předměty, které nejsou určeny k jednorázovému použití, budou dekontaminovány buď autoklávováním, nebo vhodným virucidním prostředkem (např. roztokem přípravku SAVO ředění 1:10 po dobu nejméně 10 minut).

Odstranění odpadu bude provedeno na jednotlivých pracovištích v souladu s aktuální dokumentací, především s pravidly o nakládání s odpady. Odpady budou odstraněny:

Pracoviště 1 – FNO: OZO Ostrava s.r.o., Frýdecká 680/444, 719 00 Ostrava
Pracoviště 2 – AXON Clinical, s.r.o.: EKOM CZ a.s., Průmyslová 1472/11, 102 00 Praha 10
Pracoviště 3 – FN Brno: Recovera Využití zdrojů a.s., Španělská 1073/10, 120 00 Praha
Pracoviště 4 – FN Královské Vinohrady: Wastech, a.s., Dubenec 116, 261 01 Dubenec
Pracoviště 5 – Všeobecná fakultní nemocnice: ve spalovně FN Motol.
Pracoviště 6 – Oftex, s.r.o.: Oftex, s.r.o.: v součinnosti s Medila, s.r.o. odvezen do spalovny Nemocnice Pardubice

f) Doporučení daná subjektům klinického hodnocení, aby předešli šíření klinického vektoru do životního prostředí

Subjekty budou poučeny o možných rizicích vylučování genomu. Subjekty budou požádány prostřednictvím informovaného souhlasu, aby nesdílely předměty ani se neúčastnily činností, při nichž by mohly vystavit jiné osoby slzám nebo nosním sekretům subjektů a neúčastnily se činností, při nichž dochází k výměně slin. Všichni sexuálně aktivní účastníci musí souhlasit s používáním bariérové metody (např. kondomu) při pohlavním styku po podání přípravku 4D-150, aby se minimalizovalo riziko v případě vylučování vektoru a vzniku jakýchkoli nežádoucích účinků, které nejsou v současné době známy.

g) Doporučení, která se týkají případného darování krve, buněk, tkání nebo orgánů subjektem klinického hodnocení

Sexuálně aktivní muži by neměli v určité doby počít dítě ani darovat sperma od 1. dne ve studii.

h) Další opatření (pokud mají být přijata)

NA

3. 7. Odběry a následná analýza vzorků odebraných subjektům klinického hodnocení

Tato část se vyplňuje tehdy, když budou v souvislosti s klinickým hodnocením odebírány vzorky, které mohou obsahovat geneticky modifikovaný organismus

a) Popište zacházení s odebranými vzorky, jejich uchovávání a přepravu.

Pokud budou pro zacházení s odebranými vzorky, pro jejich uchovávání a přepravu použity stejné postupy jako u klinického vektoru, je možné se odkázat na příslušné výše uvedené části žádosti.

Pro testování anti-R100 nebo anti-afliberceptu budou vzorky odebrány podle schválených postupů do předem dodaných zkumavek, zmraženy a odeslány v suchém ledu. Pro chemické a hematologické testy budou vzorky odebrány podle schválených postupů do dodaných zkumavek a odeslány při pokojové teplotě v předem dodaných krabicích.

Odebrané vzorky budou v den odběru transportovány do laboratoří sponzora či nasmlouvané laboratoře (PPD Laboratories EU, Clusterpark, Kleine Kloosterstraat 19, 1932 Zaventem, Belgie) a přeprava z místa klinického hodnocení bude provedena přepravní společností mající oprávnění pro přepravu geneticky modifikovaných organismů I. kategorie rizika (RGW Express, č.j. MZP/2025/750/280) vydané Ministerstvem životního prostředí.

Vzorky budou odebrány v různých časových bodech podle harmonogramu hodnocení uvedeného v protokolu klinického hodnocení 4D-150-C004. Biologické vzorky, jako je krev, mohou v časných časových bodech obsahovat podaný klinický vektor, přičemž se očekává, že po několika měsících budou jeho hladiny nízké až zanedbatelné.

b) Uveďte, zda budou subjektům klinického hodnocení odebírány vzorky, které mohou obsahovat podaný klinický vektor, a pokud ano, tak ve kterých časových bodech.

Biologické vzorky, jako je krev, mohou v časných časových bodech obsahovat podaný klinický vektor, přičemž se očekává, že po několika měsících budou jeho hladiny nízké až zanedbatelné.

Všechny laboratorní vzorky budou odebrány ve schváleném klinickém zařízení nebo nemocnici. Za odběr a manipulaci s biologickými vzorky bude odpovědný pouze kvalifikovaný personál, který je seznámen s postupy minimalizujícími zbytečné vystavení sebe sama a životního prostředí. Personál provádějící postupy a manipulaci bude nosit ochranné pomůcky, jako jsou jednorázové zástěry, rukavice, ochrana očí a chirurgické roušky. Laboratoře zpracovávající klinické vzorky budou dodržovat standardní opatření pro zacházení s tělními tekutinami.

c) Jestliže budou vzorky uchovávány na pracovišti, kde probíhá klinické hodnocení, popište místo a podmínky uchovávání vzorků.

Vzorky odebrané pacientům po podání GMO přípravku 4D-150 budou v ten samý den transportovány do centrálních laboratoří sponzora, žádné vzorky nebudou uchovávány v místě klinického hodnocení.
Na pracovištích nebudou uchovávány žádné vzorky.

d) Pokud budou prováděny jiné než rutinní analýzy vzorků (tj. jiné než standardní klinické testy a testy potřebné k dlouhodobému sledování subjektů po ukončení klinického hodnocení), popište je a uveďte, zda v průběhu tohoto testování bude klinický vektor vytvářen *de novo*.

NA

SEKCE 4 – DALŠÍ POŽADOVANÉ ÚDAJE

4.1. Plán pracoviště, kde bude probíhat klinické hodnocení

(+) Plán pracoviště, včetně plánu umístění pracoviště v rámci celého areálu. Na plánu pracoviště vyznačte umístění autoklávu.

4.2. Provozní řád pracoviště, kde bude probíhat klinické hodnocení

(+) Provozní řád pracoviště podle přílohy č. 4 k zákonu č. 78/2004 Sb.

Provozní řády všech pracovišť jsou přílohami této žádosti.

4.3. Havarijní plán pro případ nežádoucího úniku AAV klinického vektoru do životního prostředí - podle části B přílohy č. 5 k vyhlášce č. 209/2004 Sb.

Havarijní plány všech pracovišť jsou přílohami této žádosti.

4.4. SNIF

(+) Souhrn informací obsažených v žádosti (podle rozhodnutí Rady 2002/813/ES) v angličtině (SNIF)

SEKCE 5 - HODNOCENÍ RIZIKA PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

Specifické hodnocení rizik pro životní prostředí

Na základě posouzení specifických vlastností hodnoceného léčivého přípravku (jak jsou popsány v Sekci 2), má žadatel za to, že lze použít specifického hodnocení rizika pro životní prostředí podle dokumentu „Správná praxe pro posouzení GMO aspektů klinických hodnocení léčivých přípravků, ve kterých jsou klinickými vektory adeno-asociované viry (AAV)“:

Ano ☒X

Ne ☐

Pokud je odpověď „ne“, je nutné přiložit písemné hodnocení rizika pro životní prostředí podle § 5 vyhlášky č. 209/2004 Sb.