

Población del estudio

Se incluirán en el estudio participantes con hemofilia B grave y moderadamente grave con una actividad funcional del FIX $\leq 2\%$. No existen diferencias importantes en la prevalencia o afectación de la enfermedad según raza o etnia; por lo tanto, se reclutarán participantes de todos los orígenes raciales y étnicos. Dado que la hemofilia B es una enfermedad ligada al cromosoma X, las formas graves y moderadamente graves predominan en los hombres; por lo tanto, se inscribirá a participantes de **sexo masculino asignado al nacer**.

Criterios de inclusión

Un participante debe cumplir los siguientes criterios para ser elegible para inclusión en el estudio:

1. **Sexo masculino asignado al nacer**
 - **Parte 1:** mayor de 18 años de edad, independientemente del peso, al momento de firmar el consentimiento informado.
 - **Parte 2A:** mayor de 18 años de edad, independientemente del peso, al momento de firmar el consentimiento informado.
2. **Diagnóstico confirmado** de hemofilia B grave o moderadamente grave, con antecedentes médicos que indiquen una actividad funcional de FIX ($\leq 2\%$ o < 0.02 UI/mL) o un **genotipo documentado** que se sepa produce hemofilia B grave.
3. **Actualmente en profilaxis con FIX** y con experiencia previa en terapia con FIX: ≥ 150 días de exposición documentados a un producto proteico de FIX (como FIX recombinante, derivado de plasma o de vida media extendida).
4. **Disposición y capacidad** para cumplir con las visitas a la clínica y los procedimientos relacionados con el estudio.
5. **Consentimiento informado firmado** por el participante del estudio.
6. **Capacidad para comprender y completar** los cuestionarios relacionados con el estudio.
7. **Participación en el periodo de inicio ("lead-in")** de este estudio intervencional o en un estudio de inicio separado (R0000-HEMB-2187) durante al menos 6 meses, para la recopilación de datos de ABR mientras recibe profilaxis con FIX.

NOTA: Los primeros tres participantes tratados en la Parte 1 del estudio **no están obligados** a participar en el período de inicio.

Criterios de exclusión

Un participante que cumpla **cualquiera** de los siguientes criterios durante el período de selección será **excluido** del estudio:

1. **Antecedentes de inhibidor del FIX** (evaluado clínicamente o en laboratorio) en dos o más ocasiones:
 - **Clínicamente:** signos o síntomas de respuesta disminuida a la administración de FIX, o
 - **Laboratorio:** un título de FIX ≥ 0.6 BU/mL, sin importar el rango normal del laboratorio, o cualquier título del inhibidor medido mediante Bethesda superior al límite normal (ULN) del laboratorio que realiza el ensayo.
2. **Título del inhibidor Bethesda mayor al ULN** durante el cribado.
NOTA: En la visita L-Final, esta prueba debe realizarse, y un título Bethesda superior al ULN es criterio de exclusión para avanzar a la Visita 1.
3. **Anticuerpos preexistentes detectables contra la cápside de AAV8**, medidos por ELISA durante el precibado (o visita L-Final, si aplica).
NOTA: En la visita L-Final, esta prueba debe realizarse, y la detección de anticuerpos preexistentes contra la cápside de AAV8 es criterio de exclusión para avanzar a la Visita 1.
4. **Antecedentes de hipersensibilidad o anafilaxia** a la terapia con FIX o a los componentes de la formulación REGV131 o LNP1265.
5. **Antecedentes de hipersensibilidad a corticosteroides.**
6. **Condición médica conocida** que requiera administración crónica de corticosteroides.
7. **Incapacidad o falta de disposición** para recibir el régimen de pretratamiento requerido o el tratamiento necesario ante una posible elevación de transaminasas mediada por el sistema inmunitario.
8. **Falta de adherencia** en la documentación de hemorragias y/o administración de terapia de reemplazo profiláctica, según el criterio del investigador y los antecedentes médicos.
9. **Ser positivo para el antígeno de superficie de hepatitis B (HbsAg)** o el anticuerpo del núcleo de hepatitis B (anti-HBc) en la visita de cribado. La evidencia de vacunación previa contra la hepatitis B **no es criterio de exclusión.**
NOTA: En la visita L-Final, esta prueba debe realizarse; si es positiva para HbsAg o anti-HBc, el participante no podrá avanzar a la Visita 1.
10. **Ser positivo para el virus de la hepatitis C (HCV)** en la prueba cualitativa de ARN del HCV durante la visita de cribado.
NOTA: En la visita L-Final, esta prueba debe realizarse; si es positiva, es criterio de exclusión para avanzar a la Visita 1.
11. **Terapia antiviral activa** para hepatitis B o C.
NOTA: Los participantes que hayan recibido terapia antiviral para hepatitis C crónica pueden ser considerados si completaron el tratamiento al menos 6

meses antes del cribado y presentan un ARN de HCV negativo dentro de los 6 meses previos al cribado.

12. Diagnóstico preexistente indicativo de enfermedad hepática significativa, incluyendo:

- Enfermedad hepática colestásica
- Cirrosis hepática
- Hipertensión portal
- Esplenomegalia
- Encefalopatía hepática

13. Valores de laboratorio fuera de los siguientes rangos en el cribado:

- AST, ALT o fosfatasa alcalina $>1.5 \times \text{ULN}$
- Tasa de filtración glomerular (GFR) $<60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ (calculada mediante la ecuación CKD-EPI para participantes mayores de 18 años)
- Bilirrubina $>1.5 \times \text{ULN}$ (se permiten elevaciones entre $1.5\times$ y $2.5\times$ si se deben al síndrome de Gilbert; se excluye si $>2.5\times \text{ULN}$)
- INR ≥ 1.4
- Plaquetas $<100,000 \text{ células}/\mu\text{L}$
- Albúmina sérica $<3.7 \text{ g/dL}$

NOTAS:

- Se permite **una repetición** de las pruebas durante el cribado; la elegibilidad debe ser confirmada por el Director Médico.
- Los participantes con valores fuera de estos rangos en la visita L-Final o el día -1 **no deben avanzar a la Visita 1.**

14. Evidencia de fibrosis hepática avanzada, equivalente o superior a la etapa 3 de METAVIR, en la elastografía transitoria (FibroScan $\geq 9 \text{ kPa}$) realizada durante el cribado o dentro de los 6 meses previos.

15. Evidencia de cirrosis y/o hipertensión portal en la ecografía hepática del cribado o dentro de los 6 meses previos.

NOTA: Los participantes con evidencia de estas condiciones en la visita L-Final (o 6 meses antes) no deben avanzar a la Visita 1.

16. Infección por VIH:

- **Parte 1:** la infección por VIH es criterio de exclusión.
- **Parte 2A:** se permite si el participante VIH positivo está **estable**, con un recuento de CD4 $>200/\text{mm}^3$ y carga viral indetectable ($<50 \text{ gc/mL}$), documentado una vez dentro de los 12 meses previos al cribado y confirmado durante el cribado y la visita L-Final, y recibe un régimen antirretroviral estable.

NOTA: Efavirenz no debe incluirse en el régimen antirretroviral debido a su riesgo de hepatotoxicidad reportado en estudios con AAV.

17. Evidencia de infección activa o de un trastorno inmunosupresor (excepto VIH controlado).

NOTA: Puede reevaluarse la elegibilidad tras la resolución de los síntomas.

18. Antecedentes de eventos tromboembólicos arteriales o venosos, como accidente cerebrovascular no hemorrágico, infarto de miocardio, émbolo

- arterial, trombosis venosa profunda o embolia pulmonar (excepto trombosis asociada a catéter sin tratamiento antitrombótico activo).
19. **Antecedentes de enfermedad clínicamente significativa** cardiovascular, respiratoria, hepática, renal (incluyendo síndrome nefrótico), gastrointestinal (incluyendo enteropatía perdedora de proteínas), endocrina, hematológica (incluyendo trombofilia), psiquiátrica o neurológica que, a juicio del investigador, pueda confundir los resultados o aumentar el riesgo para el participante.
 20. **Antecedentes de trastorno de la coagulación distinto de la hemofilia B.**
 21. **Condición médica significativa conocida** que pueda interferir con la transducción del vector o la expresión/actividad del FIX, incluyendo, entre otras:
 1. Coagulación intravascular diseminada (CID)
 2. Fibrinólisis acelerada
 22. **Antecedentes de abuso de alcohol o drogas** dentro del año previo al cribado.
 23. **Cualquier malignidad**, excepto cáncer de piel no melanoma o carcinoma in situ de cuello uterino/ano resecado sin evidencia de metástasis en los 3 años previos.
 24. **Cirugía mayor o traumatismo grave** en los 6 meses previos al cribado, si puede confundir los resultados o representar un riesgo adicional.
 25. **Cirugía planificada** durante los primeros 6 meses tras la administración de REGV131-LNP1265.
 26. **Antecedentes de alergias múltiples o graves** o reacciones anafilácticas a medicamentos o alimentos.
 27. **Participación en un estudio clínico con otro fármaco en investigación** (incluidos biológicos) dentro de los 90 días previos, o al menos 60 días para otros fármacos en investigación.
 28. **Participación actual o planificada** en otro ensayo clínico intervencional con medicamentos o dispositivos dentro del año posterior a la administración de REGV131-LNP1265.
 29. **Recepción previa de terapia génica basada en AAV**, ya sea comercial o en estudio, o intención de recibir otra terapia génica AAV durante el período del estudio.
 30. **Uso de medicamentos hepatotóxicos**, a juicio del investigador, según el etiquetado aprobado o la base de datos *LiverTox* (NIDDK, 2021).
 31. **Necesidad de terapia anticoagulante.**
 32. **Vacunación con virus vivos** en los 3 meses previos a la administración del fármaco del estudio.
 33. **Hombres sexualmente activos** que no estén dispuestos a usar anticoncepción de barrera (por ejemplo, preservativo) durante los 12 meses posteriores a la administración del fármaco.
 34. **Donación de esperma** prohibida durante los 12 meses posteriores a la administración del fármaco.
 35. **Donación de sangre, órganos, tejidos o células** prohibida durante los 12 meses posteriores a la administración del fármaco.

- 36. **Ser miembro o familiar directo del equipo del sitio clínico**, salvo aprobación previa del patrocinador.
- 37. **Cualquier preocupación del investigador** que pueda confundir los resultados o representar un riesgo adicional para el participante.
- 38. **Participante internado por orden judicial o administrativa.**

NOTA: Los participantes que no cumplan los criterios de inclusión o fallen los de exclusión por una causa transitoria (según el investigador) podrán ser reevaluados una vez, previa consulta con el monitor médico. Los participantes reevaluados recibirán un nuevo ID distinto al del cribado inicial. No se requiere un período de espera entre el fallo de cribado y la nueva evaluación.