

# PROTOCOLO DE ESTUDIO

**Título del estudio: “DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL PARA MEDICINA PERSONALIZADA EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA”**

**Código de protocolo:** PLATAFO-LMA

**Versión y fecha:** Versión 2, 1 de Julio de 2021

**Promotor:** Fundación PETHEMA

**Coordinador del estudio:** Dr. Pau Montesinos

## Información confidencial

La información y los datos incluidos en este documento son confidenciales y propiedad del promotor del estudio. No lo revele ni use a menos que tenga la autorización por escrito del promotor. Estas restricciones también aplican a la información considerada como reservada o confidencial facilitada en el futuro en relación a este protocolo. Este material puede ser divulgado y utilizado por los investigadores y equipo colaborador según las necesidades del estudio.

## PÁGINA DE FIRMAS DEL ESTUDIO

### Código de protocolo: PLATAFO-LMA

La información que contiene este documento y toda la información que se le proporciona en relación con este estudio de observación son confidenciales y propiedad del promotor, y a excepción de que así lo requieran las leyes y la normativa local o estatal, no debe ser revelada sin consentimiento previo por escrito del promotor. El investigador principal puede, no obstante, revelar dicha información al personal a su cargo que trabaja en el estudio de observación con el alimento, siempre que dicho personal se comprometa a mantener la confidencialidad respecto a dicha información.

- He leído y comprendido el protocolo, incluyendo los anexos.

- Acepto llevar a cabo el estudio de observación de acuerdo con las obligaciones del investigador contenida en el protocolo y las recomendaciones de la *International Conference on Harmonisation Tripartite* sobre Buena Práctica Clínica (en vigor en Europa desde el 17 de enero de 1997). Todos los cambios en los procedimientos se realizarán, si es necesario, únicamente para proteger la seguridad, derechos o bienestar de los pacientes.

- Acepto respetar el compromiso de confidencialidad.

*Firmado*

*Dr. Pau Montesinos*  
(Investigador principal)

-----

Firma

-----

Fecha

*Dr. Juanjo Lahuerta*  
(Representante de la F. PETHEMA)

-----

Firma

-----

Fecha

## ÍNDICE

1.1	TÍTULO DEL ESTUDIO.....	6
1.2	CÓDIGO DEL PROTOCOLO .....	6
1.3	VERSIÓN Y FECHA DEL PROTOCOLO.....	6
1.4	DATOS RELATIVOS AL PROMOTOR .....	6
1.5	INVESTIGADORES COORDINADORES DEL ESTUDIO.....	6
1.6	CENTROS EN LOS QUE SE PREVÉ REALIZAR EL ESTUDIO .....	7
1.7	COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE REFERENCIA .....	7
1.8	OBJETIVO PRINCIPAL DEL ESTUDIO.....	7
1.9	DISEÑO DEL ESTUDIO .....	7
1.10	ENFERMEDAD O TRASTORNO EN ESTUDIO.....	7
1.11	VARIABLE PRINCIPAL DE VALORACIÓN.....	8
1.12	POBLACIÓN EN ESTUDIO Y NÚMERO TOTAL DE PACIENTES.....	8
1.13	CALENDARIO Y FECHA PREVISTA DE REALIZACIÓN .....	8
1.14	CONTACTOS DE REFERENCIA.....	8
2	INFORMACIÓN GENERAL .....	9
2.1	IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	9
2.2	TIPO DE ESTUDIO .....	9
2.3	DATOS RELATIVOS AL PROMOTOR .....	9
2.4	IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES Y CENTROS.....	9
3	INTRODUCCIÓN .....	10
3.1	LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	10
3.2	DECLARACIÓN DE QUE EL ESTUDIO SERÁ REALIZADO DE ACUERDO CON EL PROTOCOLO, LAS BUENAS PRÁCTICAS CLÍNICAS Y LOS REQUISITOS LEGALES PERTINENTES .....	12
4	OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	13
4.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	13
4.2	OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	13
5	DISEÑO DEL ESTUDIO .....	14
5.1	DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DE LAS VARIABLES PRINCIPALES Y SECUNDARIAS QUE SE EVALUARÁN EN EL ESTUDIO .....	14
5.1.1	<i>Variable principal</i> .....	14
5.1.2	<i>Variables secundarias</i> .....	14
5.2	DISEÑO GLOBAL DEL ESTUDIO.....	15
5.3	PERIODOS DEL ESTUDIO .....	17
5.4	CRITERIOS DE INTERRUPCIÓN O FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO.....	17
5.5	ASPECTOS DE BUENA PRÁCTICA CLÍNICA, PRIVACIDAD DE DATOS Y PROPIEDAD DEL MATERIAL ALMACENADO EN BIOBANCOS.....	17

6	PRIVACIDAD DE LOS DATOS.....	18
7	CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS.....	19
8	SELECCIÓN Y RETIRADA DE LOS SUJETOS.....	20
8.1	<b>CRITERIOS DE SELECCIÓN</b> .....	<b>21</b>
8.1.1	<i>Criterios de inclusión</i> .....	21
8.1.2	<i>Criterios de exclusión</i> .....	21
8.2	<b>CRITERIOS DE RETIRADA</b> .....	<b>21</b>
9	METODOLOGÍA DE LOS PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO.....	21
9.1	<b>INMUNOFENOTIPO</b> .....	<b>22</b>
9.2	<b>MORFOLOGÍA</b> .....	<b>22</b>
9.3	<b>CITOGÉNICA Y FISH</b> .....	<b>22</b>
9.4	<b>ANÁLISIS MOLECULARES</b> .....	<b>22</b>
9.4.1	<i>Detección de genes recurrentemente mutados en LMA mediante PCR</i> .....	23
9.4.2	<i>Determinaciones moleculares por NGS</i> .....	23
9.4.3	<i>Métodos empleados para el estudio de mutaciones recurrentes mediante NGS</i> .....	23
9.4.4	<i>Confirmación de los resultados obtenidos mediante NGS</i> .....	24
9.4.5	<i>Garantía de Calidad de las determinaciones</i> .....	24
9.4.6	<i>Equipamiento de Los laboratorios</i> .....	25
9.5	<b>CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS EN EL BIOBANCO</b> .....	<b>25</b>
9.6	<b>ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO CENTRAL Y RECEPCIÓN</b> .....	<b>26</b>
9.6.1	<i>Muestras a enviar al laboratorio central de referencia</i> .....	26
9.6.2	<i>Logística para el envío de muestras al laboratorio central de referencia</i> .....	27
9.7	<b>CONTACTOS DE LOS LABORATORIOS CENTRALES DE REFERENCIA</b> .....	<b>29</b>
10	VALORACIÓN DE LA SEGURIDAD.....	37
10.1	<b>ESPECIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE SEGURIDAD</b> .....	<b>37</b>
11	PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS.....	37
11.1	<b>NÚMERO PREVISTO DE SUJETOS QUE SE INCLUIRÁN</b> .....	<b>37</b>
11.2	<b>ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO</b> .....	<b>37</b>
11.3	<b>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS</b> .....	<b>38</b>
11.3.1	<i>Análisis del objetivo principal</i> .....	38
11.3.2	<i>Análisis de los objetivos secundarios</i> .....	38
11.3.3	<i>Comité estadístico y de supervisión de datos</i> .....	39
11.3.4	<i>Selección de los sujetos que se van a incluir en los análisis</i> .....	39
12	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	39
12.1	<b>LEGISLACIÓN/DECLARACIÓN DE HELSINKI/ICH/BUENAS PRÁCTICAS CLÍNICAS</b> .....	<b>39</b>

<b>12.2</b>	<b>COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA</b> .....	<b>39</b>
<b>12.3</b>	<b>INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO</b> .....	<b>40</b>
<b>12.4</b>	<b>RETIRADA DE UN PACIENTE</b> .....	<b>40</b>
<b>13</b>	<b>MONITORIZACIÓN Y REGISTRO</b> .....	<b>40</b>
<b>14</b>	<b>PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>15</b>	<b>MANEJO DE LOS DATOS Y ARCHIVO DE LOS REGISTROS</b> .....	<b>42</b>
<b>15.1</b>	<b>CONFIDENCIALIDAD</b> .....	<b>42</b>
<b>15.2</b>	<b>ARCHIVO DEL ESTUDIO</b> .....	<b>43</b>
<b>16</b>	<b>ACCESO A LOS DATOS/DOCUMENTOS FUENTE</b> .....	<b>44</b>
<b>17</b>	<b>CONSIDERACIONES PRÁCTICAS</b> .....	<b>44</b>
<b>17.1</b>	<b>ENMIENDAS AL PROTOCOLO</b> .....	<b>44</b>
<b>17.2</b>	<b>ACEPTACIÓN DEL INVESTIGADOR</b> .....	<b>44</b>
<b>17.3</b>	<b>CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS</b> .....	<b>44</b>
<b>17.4</b>	<b>RESPONSABILIDADES DEL INVESTIGADOR Y EL PROMOTOR</b> .....	<b>45</b>
<b>18</b>	<b>CONTROL Y GARANTÍA DE CALIDAD</b> .....	<b>45</b>
<b>18.1</b>	<b>MONITORIZACIÓN DEL ESTUDIO</b> .....	<b>45</b>
<b>18.2</b>	<b>AUDITORIAS E INSPECCIONES</b> .....	<b>45</b>
<b>19</b>	<b>POLÍTICA DE PUBLICACIÓN</b> .....	<b>46</b>
<b>20</b>	<b>INVESTIGADORES RESPONSABLES DE COMITÉS</b> .....	<b>47</b>
<b>20.1</b>	<b>COMITÉ DE BIOLOGÍA MOLECULAR (NGS)</b> .....	<b>47</b>
<b>20.2</b>	<b>COMITÉ DE BIOLOGIA MOLECULAR (PCR)</b> .....	<b>47</b>
<b>20.3</b>	<b>COMITÉ DE CITOMETRÍA DE FLUJO</b> .....	<b>47</b>
<b>20.4</b>	<b>COMITÉ DE BIOBANCO</b> .....	<b>48</b>
<b>20.5</b>	<b>COMITÉ ESTADÍSTICO Y DE SUPERVISIÓN DE DATOS</b> .....	<b>48</b>
<b>20.6</b>	<b>COMITÉ DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>49</b>
<b>21</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXO 1.</b>	<b>CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA LMA</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXO 2.</b>	<b>FORMULARIO DE ENVÍO DE MUESTRAS</b> .....	<b>54</b>
<b>ANEXO 3.</b>	<b>LISTADO DE CENTROS PARTICIPANTES Y LABORATORIOS CENTRALES</b> .....	<b>55</b>
<b>ANEXO 4.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>59</b>
<b>22</b>	<b>GLOSARIO</b> .....	<b>60</b>

## **1 RESUMEN**

### **1.1 TÍTULO DEL ESTUDIO**

DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL PARA MEDICINA PERSONALIZADA EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

### **1.2 CÓDIGO DEL PROTOCOLO**

PLATAFO-LMA

### **1.3 VERSIÓN Y FECHA DEL PROTOCOLO**

**Versión y fecha:** Versión 2, 1 de Julio de 2021

### **1.4 DATOS RELATIVOS AL PROMOTOR**

Fundación PETHEMA.

CIF: G-81245706

**Representante:** Dr. Alfonso Santiago

Servicio de Hematología

Hospital Clínico San Carlos

C/ Profesor Martín Lagos s/n

28040 Madrid

Telf. 91 330 3312

Fax: 91 330 3311

Correo electrónico: pethema@pethema.es

### **1.5 INVESTIGADOR COORDINADOR DEL ESTUDIO**

Dr. Pau Montesinos

Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe

Avda. Fernando Abril Martorell, 106; 46026 Valencia

Tel1: 96 124 4000 Extensión 411966

Tel2: 96 124 5876

Fax: 96 124 6201

E-mail: montesinos\_pau@gva.es

## **1.6 CENTROS EN LOS QUE SE PREVÉ REALIZAR EL ESTUDIO**

El estudio se prevé realizar en centros españoles del grupo PETHEMA, siendo en el momento actual el Hospital Universitari i Politècnic La Fe el centro coordinador.

En total, 7 centros actuarán como laboratorio de referencia con centralización de las muestras recibidas desde instituciones del grupo PETHEMA: Hospital Universitari i Politècnic La Fe (Valencia), Hospital Universitario de Salamanca, Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla), Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid), Clínica Universidad de Navarra (Pamplona), Hospital Universitario Dr. Negrín (Las Palmas de Gran Canaria) y Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba), Hospital de Coimbra (Portugal).

Este listado de centros no es fijo y puede sufrir modificaciones en el futuro (inserciones o deleciones), de común acuerdo entre los participantes.

El listado actual de los investigadores y de los centros convocados a este estudio se adjunta en un documento aparte.

## **1.7 COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE REFERENCIA**

CEIC del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia.

## **1.8 OBJETIVO PRINCIPAL DEL ESTUDIO**

Desarrollar una plataforma de diagnóstico y seguimiento centralizado a nivel nacional para realizar el diagnóstico biológico molecular y fenotípico de forma estandarizada en pacientes adultos con leucemia aguda de linaje ambiguo o leucemia mieloide aguda (LMA).

## **1.9 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio de investigación biomédica traslacional, sin intervención terapéutica alguna, para analizar los resultados diagnósticos/caracterización y seguimiento molecular y fenotípico de los pacientes adultos con LMA.

Se recogerán las características referidas al paciente, a la enfermedad (incluyendo los resultados del estudio inmunofenotípico por citometría de flujo al diagnóstico, estado mutacional mediante *next-generation sequencing* (secuenciación masiva o NGS), PCR y citogenética), la respuesta morfológica, fenotípica y molecular, así como la evolución de la enfermedad. Una vez se disponga de la información necesaria, se procederá al análisis estadístico.

## **1.10 ENFERMEDAD O TRASTORNO EN ESTUDIO**

LMA de nuevo diagnóstico o en recaída/resistencia.

### **1.11 VARIABLE PRINCIPAL DE VALORACIÓN**

La variable principal de estudio será la determinación de la frecuencia de cada una de las alteraciones genéticas/moleculares estudiadas en pacientes con LMA, tanto de nuevo diagnóstico como en resistencia o recaída.

### **1.12 POBLACIÓN EN ESTUDIO Y NÚMERO TOTAL DE PACIENTES**

- **Número total de pacientes:** se estima que en el registro se alcanzará la cifra de 1000 pacientes/año evaluables para el estudio.
- **Población en estudio:** pacientes con edad  $\geq 18$  años diagnosticados de LMA.
- Los criterios de inclusión/exclusión se describen en el apartado 8.1.

### **1.13 CALENDARIO Y FECHA PREVISTA DE REALIZACIÓN**

Se trata de un estudio traslacional, de registro epidemiológico y prospectivo, para estudiar las características de los pacientes y el perfil biológico de la enfermedad y su correlación con los resultados clínicos en la LMA. Se realizarán análisis de forma secuencial conforme se alcancen números significativos de pacientes incluidos para cada subtipo de LMA específico. Se pretende iniciar el estudio en el cuarto trimestre del año 2020, sin fecha especificada de finalización.

### **1.14 CONTACTOS DE REFERENCIA**

**Para realizar una consulta sobre la introducción de datos biológicos,** por favor contacten con:

Yolanda Mendizábal Castillo

[yolanda\\_mendizabal@iislafe.es](mailto:yolanda_mendizabal@iislafe.es)

+34 961 246726

**Para comunicar una incidencia con la web PLATAFO-LMA,** por favor contacten con:

Carlos Pastorini

[carlos.pastorini@fundacionpethema.es](mailto:carlos.pastorini@fundacionpethema.es)

+34 669 549 849

## **2 INFORMACIÓN GENERAL**

### **2.1 IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

**Título: “DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL PARA MEDICINA PERSONALIZADA EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA”**

**Código protocolo:** PLATAFO-LMA.

**Versión y fecha:** Versión 2, 1 de Julio de 2021

### **2.2 TIPO DE ESTUDIO**

Se trata de un estudio traslacional, sin intervención terapéutica alguna. Se realizará en 8 laboratorios centrales (Hospital Universitari i Politècnic la Fe, Hospital Universitario de Salamanca, Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Hospital Universitario Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria, Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, Clínica Universidad de Navarra), y el Hospital de Coimbra (Portugal).del Grupo PETHEMA, que recibirán y procesarán las muestras.

### **2.3 DATOS RELATIVOS AL PROMOTOR**

Fundación PETHEMA

CIF: G-81245706

**Representante:** Dr. Alfonso Santiago

Servicio de Hematología

Hospital Clínico San Carlos

C/ Profesor Martín Lagos s/n

28040 Madrid

Telf. 91 330 3312

Fax: 91 330 3311

Correo electrónico: pethema@pethema.es

### **2.4 IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES Y CENTROS**

El listado de todos los investigadores y centros convocados a la investigación para su participación en el estudio se adjuntan como documento aparte.

### 3 INTRODUCCIÓN

#### 3.1 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La LMA es una enfermedad altamente heterogénea, con diferentes subtipos biológicos y pronósticos y caracterizada por la presencia de un gran número de alteraciones genéticas.<sup>1</sup> Las alteraciones cromosómicas recurrentes actualmente constituyen una de las principales herramientas de diagnóstico y pronóstico en la LMA. En los últimos años, se ha producido un notable progreso en la elucidación de la patogénesis molecular de la LMA gracias al desarrollo de tecnologías de alto rendimiento. En el año 2008, el grupo liderado por el Dr. Timothy Ley<sup>2</sup> de la Universidad de Washington, publicó el primer caso de LMA cuyo genoma fue secuenciado mediante NGS (*Next-Generation Sequencing*), demostrando que éste era un método válido para la detección de nuevas alteraciones en esta enfermedad. Desde entonces, ha ido creciendo en la literatura el número de pacientes con LMA secuenciados mediante NGS. En el año 2013, se publicó la secuenciación masiva de 200 adultos de LMA dentro del proyecto *Cancer Genome Atlas* (TCGA) (<http://tcga-data-nci.nih.gov/tcg>).<sup>3</sup> Según este estudio, 23 genes se encuentran significativamente mutados en la LMA: FLT3, NPM1, DNMT3A, IDH2, IDH1, TET2, RUNX1, TP53, NRAS, WT1, PTPN11, KIT, U2AF1, KRAS, SMC1A, SMC3, PHF6, STAG2, RAD21, FAM5C, EZH2, HNRNP. Estos hallazgos parecen plantear un escenario en el que en cada paciente estarían presentes muchas mutaciones somáticas. De estas, unas pocas serían recurrentes y afectarían a un número reducido de genes, mientras que la gran mayoría serían casi exclusivas de cada paciente o se presentarían en muy baja frecuencia. De estas mutaciones recurrentes, unas serían el evento iniciador (*driver*) y otras cooperarían (*passenger*) para producir el fenotipo leucémico de manera que, entre ellas, se asocian o se excluyen según su papel. Además, estas mutaciones mantienen una compleja interacción con otras alteraciones transcriptómicas y epigenéticas que, finalmente, producen el fenotipo leucémico. Por todo lo expuesto, se hace necesario integrar esta compleja información molecular para establecer biomarcadores que ayuden en el diagnóstico precoz, estratificación de los pacientes según su riesgo, monitorización evolutiva, predicción de respuesta a fármacos y, por último, a la identificación de dianas terapéuticas. Aunque han sido muchos los esfuerzos por identificar los biomarcadores con relevancia diagnóstica y pronóstica en la LMA, a día de hoy muy pocos ofrecen resultados concluyentes que justifiquen ser incorporados en la práctica clínica.

Las aproximaciones terapéuticas actuales basadas en quimioterapia intensiva con citarabina y antraciclinas sólo logran una cura definitiva en el 50% de los pacientes menores de 65 años con LMA, con una toxicidad muy alta.<sup>1</sup> En pacientes ancianos, la supervivencia media se sitúa entre de 5 y 10 meses con quimioterapia, agentes hipometilantes o tratamiento de soporte.<sup>4</sup> En la última década, con el refinamiento de las técnicas de diagnóstico, se han hecho progresos relevantes en el conocimiento de los mecanismos moleculares relacionados con leucemogénesis, así como en la identificación de factores pronósticos que permiten estrategias de tratamiento adaptadas al riesgo. Aunque estos avances todavía no han conducido a la mejora de los resultados en esta enfermedad, esperamos que el desarrollo de nuevas terapias dirigidas a dianas moleculares y un enfoque de medicina

personalizada ayude a mejorar los resultados clínicos en los pacientes con LMA. Sin embargo, las pruebas diagnósticas utilizadas actualmente en la práctica clínica habitual para la caracterización molecular en la LMA, no incluyen varias mutaciones que pueden ser subsidiarias de tratamiento dirigido con nuevas drogas en el futuro. De hecho, sólo las mutaciones de NPM1, CEBPa, y FLT3-ITD son generalmente realizadas al diagnóstico en la mayoría de los laboratorios moleculares, siendo fundamentales a día de hoy para la estratificación del riesgo. Con respecto al estado molecular de los pacientes de LMA a la recaída, este se realiza con menos frecuencia porque no hay protocolos para pacientes con LMA en recaída o refractariedad basados en el estado genético de las células leucémicas. Es más, los médicos y los laboratorios suelen asumir que el estado molecular en recaída y resistencia permanece sin alterarse y lo extrapolan con los resultados que obtuvieron en el momento del diagnóstico. Sin embargo, es bien sabido que a la resistencia o recaída leucémica, puede predominar un subclón diferente del que fue mayoritario al diagnóstico, pudiéndose demostrar mutaciones no detectadas previamente. Además, la frecuencia de algunas mutaciones mediante técnicas de qRT-PCR puede ser más bajo que mediante el uso de técnicas sensibles como la NGS. En resumen, la NGS podría mejorar la capacidad de detección de mutaciones que pueden tener un papel relevante en la leucemogénesis e incluso en la terapéutica de la LMA.

Por otra parte, hemos visto cómo en los últimos años ha ganado cada vez más valor la evaluación de la respuesta al tratamiento mediante técnicas de enfermedad mínima residual (EMR)<sup>5</sup>. Sin embargo, es muy probable que, ante la disponibilidad de nuevos fármacos con distintos mecanismos de acción, el pronóstico de pacientes con LMA dependa no solo de la profundidad de la respuesta alcanzada tras el tratamiento sino también de las características biológicas de las células residuales que persistan tras el mismo (EMR). Es decir, será tan importante la detección de células leucémicas residuales tras la quimioterapia, como su caracterización fenotípica y molecular mediante técnicas de *sorting* por citometría y análisis de mutaciones *driver* por NGS. Esto permitiría la identificación de aquellas dianas moleculares que posteriormente ayuden a establecer una terapia dirigida específica en aquellos pacientes que presenten una respuesta subóptima (EMR positiva) o resistencia/recaída tras el tratamiento de primera línea. Sin duda, para lograr estos objetivos es necesario el establecimiento de una plataforma diagnóstica integral mediante la centralización de muestras en instituciones muy especializadas, así como el esfuerzo cooperativo de una red de centros sanitarios nacionales que permita el tratamiento homogéneo de los pacientes con LMA.

Este proyecto pretende poner en marcha esta nueva plataforma diagnóstica integral de la LMA mediante envío de muestras, de forma centralizada, a 7 centros nacionales de referencia, en los que se analizará las características fenotípicas y moleculares de células leucémicas mediante técnicas de citometría, qRT-PCR y técnicas de NGS con altos estándares de calidad. Esta plataforma permitirá evaluar homogéneamente las características biológicas de las diferentes entidades que componen esta enfermedad.

La red cooperativa del grupo PETHEMA incluye hospitales nacionales que desde hace décadas han estado tratando de forma homogénea a sus pacientes con LMA siguiendo diversas guías

asistenciales. Sin embargo, no existe una plataforma definida de centros nacionales de referencia para realizar los estudios diagnósticos de la enfermedad o para el correspondiente almacenamiento de muestras en biobancos, que permita la investigación básica de excelencia en esta materia. De hecho, hasta la fecha, en nuestro país el panorama es antagónico a la situación ideal, donde se constata una atomización de las técnicas diagnósticas en múltiples laboratorios, con duplicación de estudios, almacenamiento totalmente ineficiente de muestras y una gran heterogeneidad en los resultados. Todo ello ocasiona que el trabajo de los múltiples laboratorios sea subóptimo para realizar una práctica asistencial excelente o una investigación traslacional que se corresponda con las posibilidades del grupo PETHEMA. Desde hace unos meses, hemos logrado el consenso para establecer una plataforma diagnóstica centralizada, con 7 instituciones de referencia con contrastada experiencia (de hecho, en la actualidad son centros de referencia para diferentes hospitales de la red PETHEMA) y con el compromiso por parte de los centros de la red cooperativa para el envío sistemático de muestras en cuanto el proyecto se inicie. Esta nueva estrategia supondrá un incremento notable en la calidad de las pruebas diagnósticas e investigación traslacional en LMA, así como en una reducción sustancial de costes para el sistema nacional de salud eliminando la duplicación de recursos que ha proliferado en la última década.

### **3.2 DECLARACIÓN DE QUE EL ESTUDIO SERÁ REALIZADO DE ACUERDO CON EL PROTOCOLO, LAS BUENAS PRÁCTICAS CLÍNICAS Y LOS REQUISITOS LEGALES PERTINENTES**

El presente estudio se realizará de acuerdo con el protocolo, los principios establecidos en la versión revisada actual de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brasil, Octubre 2013) y de acuerdo con los requisitos reguladores aplicables, en particular las normas armonizadas tripartitas de la *International Conference on Harmonisation* (ICH) para las buenas prácticas clínicas y la Ley 14/2007 del 3 de julio, que regula la investigación biomédica en España.

El investigador es consciente, cuando firma el protocolo, en adherirse a las instrucciones y procedimientos descritos en ellos y de esta manera, seguir los principios de las buenas prácticas clínicas que ellos implican.

En cumplimiento con la Ley 14/2007 del 3 de julio de investigación biomédica, el promotor presentará la documentación pertinente al CEIC de los 7 centros donde tendrá lugar el estudio (Hospitales participantes). El estudio no empezará hasta tener la aprobación escrita de los CEIC en cada uno de los 7 centros de referencia.

Cualquier enmienda relevante deberá ser, una vez firmada por el promotor, sometida al CEIC para su aprobación. Los investigadores del estudio también serán informados y darán su aprobación escrita de la misma.

El consentimiento informado de cada sujeto será otorgado libremente para poder participar.

El personal del estudio involucrado en la realización de este estudio estará suficientemente cualificado por su educación, formación y experiencia para llevar a cabo las tareas asignadas.

Este estudio no utilizará los servicios del personal que haya sido sancionado/suspendido por fraude científico o mala práctica clínica.

## **4 OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

### **4.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

El objetivo principal de este estudio es desarrollar una plataforma de diagnóstico y seguimiento centralizado a nivel nacional para realizar una caracterización biológica molecular y fenotípica estandarizada en pacientes adultos con LMA.

### **4.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

Los objetivos secundarios del estudio se detallan a continuación:

- Registrar todos los pacientes adultos con LMA o leucemia aguda de linaje ambiguo al diagnóstico inicial o en su evolución en los centros del grupo cooperativo PETHEMA.
- Armonizar las pruebas diagnósticas complejas que requieren los pacientes con LMA, tanto al diagnóstico como durante el seguimiento.
- Evaluar las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes.
- Analizar las características de los pacientes en función de los marcadores genéticos/moleculares y fenotípicos relacionados con subgrupos específicos de LMA.
- Detección de los genes recurrentemente mutados en la LMA mediante secuenciación masiva (NGS).
- Validar un panel de genes recurrentemente mutados para conocer el espectro mutacional en la LMA.
- Analizar la frecuencia de las diferentes mutaciones y si existe concurrencia o exclusividad entre las distintas mutaciones con el fin de crear diferentes grupos en función de su espectro mutacional.
- Integrar los datos del análisis de mutaciones para crear nuevos grupos diagnóstico y/o pronóstico.
- Buscar si en los diferentes grupos existe asociación con las características clínico-biológicas al diagnóstico.
- Evaluar y comparar la supervivencia libre de evento (EFS), supervivencia libre de enfermedad (DFS), la supervivencia libre de recaída (RFS) y la incidencia acumulada de recaída (CIR) según el perfil biológico (genético/molecular), incluyendo el fenotipo por citometría de flujo y las

mutaciones detectadas por NGS en correlación con las mutaciones detectadas por métodos tradicionales (PCR y citogenética).

- Transmitir los resultados a los médicos para mejorar el conocimiento de las características biológicas de los pacientes con LMA, optimizando las herramientas diagnósticas.
- Evaluar las características biológicas (factores predictivos) relacionados con el pronóstico.
- Evaluar la utilidad y el impacto pronóstico de la EMR por citometría o PCR en distintos subgrupos genéticos de LMA.
- Almacenar muestras biológicas de todos los pacientes a lo largo de su evolución. Se incluirán diferentes categorías de muestras (médula ósea, sangre, otros tejidos).
- Evaluar la evolución clonal de la LMA.
- Establecer los momentos más apropiados y los puntos de corte para determinar el mayor valor predictivo de las técnicas de EMR optimizadas.
- Determinar los mecanismos de leucemogénesis. Es fundamental la identificación y caracterización de las diferentes subclonas leucémicas al diagnóstico y en la evolución, con un genotipo específico (en forma de mutaciones tipo II o epigenómicas mediante NGS) o fenotipo específico (en forma de cambios en antígenos de superficie mediante citometría de flujo).
- Desvelar el perfil genético de los clones tumorales residuales (EMR) para definir su impacto en el tiempo hasta la progresión de la LMA, así como identificar los genes y vías de señalización responsables.
- Establecer esta plataforma para realizar estudios biológicos futuros.
- Esta plataforma diagnóstica permitiría el cribado, prácticamente en tiempo real, para la identificación de dianas moleculares.

## **5 DISEÑO DEL ESTUDIO**

### **5.1 DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DE LAS VARIABLES PRINCIPALES Y SECUNDARIAS QUE SE EVALUARÁN EN EL ESTUDIO**

#### **5.1.1 VARIABLE PRINCIPAL**

La variable principal de estudio será la determinación de la frecuencia de cada una de las alteraciones genéticas/moleculares estudiadas, tanto en pacientes con LMA de nuevo diagnóstico como en su evolución.

#### **5.1.2 VARIABLES SECUNDARIAS**

- Tiempo desde la recepción de la muestra hasta la emisión del informe con los resultados.

- Frecuencia de las mutaciones por PCR convencional (FLT3 (ITD/TKD, ratio ITD), NPM1 y CEBPa).
- Frecuencia de las mutaciones por PCR NGS.
- Perfil fenotípico global y presencia de alteraciones displásicas subyacentes.
- Supervivencia global (OS) en todos los pacientes según su perfil genético/molecular.
- Supervivencia libre de evento según el perfil genético/molecular, definiendo “evento” como recaída o muerte.
- Supervivencia libre de enfermedad según el perfil genético/molecular de los pacientes.
- Supervivencia libre de recaída (desde la fecha de RC o RCi) según el perfil genético/molecular de los pacientes.
- Incidencia acumulada de recaída según el perfil genético/molecular de los pacientes.
- Localización geográfica.
- Además, a través del análisis de células leucémicas por medio de un gran panel de mutaciones por NGS en las muestras de una gran cohorte de pacientes, se pretende profundizar en el valor pronóstico de las lesiones genéticas que se observan en el diagnóstico.

## **5.2 DISEÑO GLOBAL DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio de investigación biomédica traslacional, sin intervención terapéutica alguna. Se realizará en 8 laboratorios centrales (Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Hospital Universitario de Salamanca, Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Hospital Universitario Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria, Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, Hospital de Coimbra (Portugal), y Clínica Universidad de Navarra) del Grupo PETHEMA que recibirán y procesarán las muestras de médula ósea y sangre periférica de pacientes con LMA al diagnóstico inicial o al de la resistencia o recaída (primera o ulteriores recaídas/resistencias). Los datos demográficos y las características clínicas de los pacientes y de la LMA, la respuesta morfológica y molecular, así como la evolución de la enfermedad serán recogidos en un cuaderno de recogida de datos (CRD). Puesto que este estudio tiene como objetivo el diagnóstico molecular de la LMA, serán incluidos todos los pacientes con LMA con independencia del tratamiento (o no tratamiento) recibido.

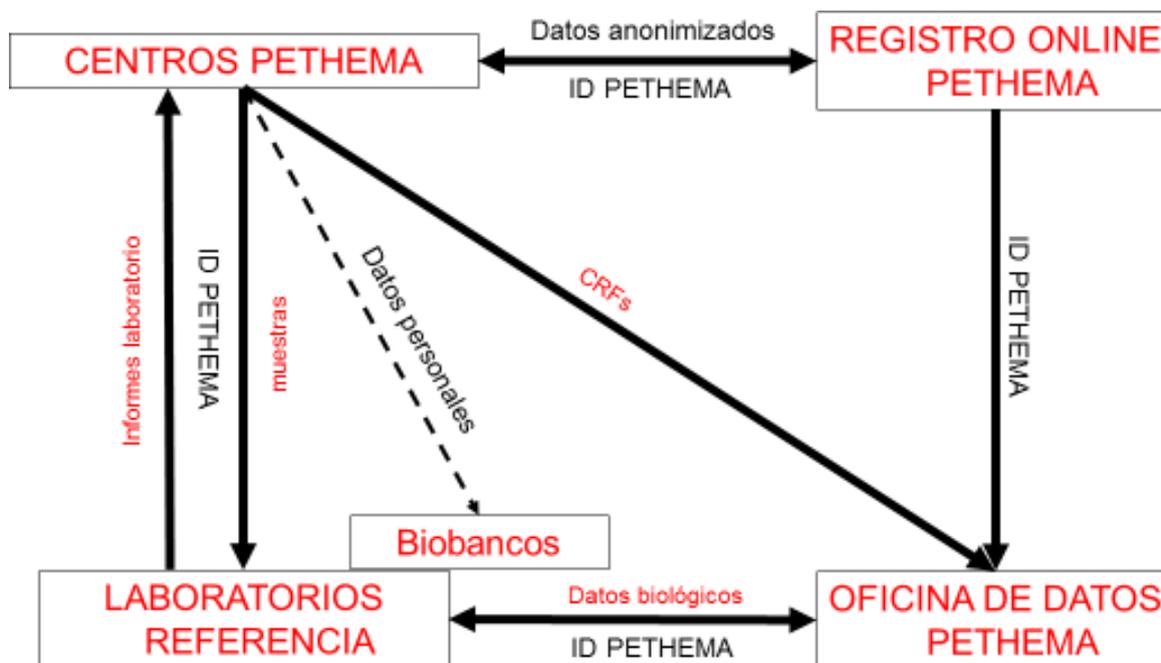
Se anonimizará a los pacientes a través de un registro electrónico de datos manejado por el grupo PETHEMA, sin inclusión de datos de carácter personal, no relacionados con la enfermedad. Desde este registro *online* se otorgará un número de identificador único para cada paciente, llamado número identificador único (UPN) del Registro PETHEMA. Todos los pacientes con LMA de nuevo diagnóstico o en recaída/resistencia deben ser incluidos en el registro.

Las muestras biológicas se enviarán al laboratorio central correspondiente. El laboratorio recibirá muestras para realizar los estudios moleculares y de inmunofenotipo, y una muestra específica para el biobanco y realización de futuros estudios. Estos biobancos se localizarán en los mismos

laboratorios de referencia y se creará una colección de muestras asociada al proyecto. Las muestras del diagnóstico (médula, sangre y suero) irán acompañadas del consentimiento informado del paciente, en el que se dará permiso explícito para su incorporación a un biobanco (incluyendo sus datos identificativos), para su participación en el registro (datos anonimizados) y para el envío de muestras y su análisis en momentos ulteriores de la enfermedad (datos anonimizados). En todos los pacientes, los análisis centralizados de muestras de sangre periférica (SP) y de médula ósea (MO) serán realizados de acuerdo a unos procedimientos estandarizados (SOPs).

La relación entre los datos personales de cada paciente y su correspondiente UPN del Registro PETHEMA solo será accesible para el centro sanitario que remita las muestras y, de acuerdo a la legislación vigente, para el biobanco de referencia donde se depositan las muestras para futuros estudios biológicos. Los biobancos, los laboratorios y los médicos que traten a cada paciente, recibirán y comunicarán la información a través del número de UPN. Del mismo modo, los datos de las características epidemiológicas y resultados clínicos de los pacientes se enviarán desde los centros sanitarios hasta la oficina de datos de forma anonimizada usando el número de Registro PETHEMA (Figura 1).

Figura 1. Esquema sobre el flujo de información y de muestras y anonimización de los datos en la plataforma PETHEMA LMA.



Se espera analizar muestras de médula y/o sangre de 1000 pacientes con LMA de nuevo diagnóstico al año y un total de 2100 muestras/año repartidas en los 8 Laboratorios centrales.

El diagnóstico molecular de FLT3 ITD/TKD, NPM1, CBF y PML/RARa se informará rápidamente al médico (< 3-7 días), con el fin de facilitar el conocimiento del estado mutacional que requiera cambios en el manejo inicial de la enfermedad.

### **5.3 PERIODOS DEL ESTUDIO**

- Se estiman necesarios aproximadamente 36 meses para analizar las muestras y recoger y revisar los primeros datos. Con el fin de asegurar una calidad excelente de los datos recogidos, se realizará una monitorización constante y en tiempo real de los datos recibidos (ver sección 18.1).
- El estudio no tiene fecha de finalización prevista.

### **5.4 CRITERIOS DE INTERRUPCIÓN O FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO**

Se tendrán en cuenta los supuestos descritos en la ley 14/2007 para la finalización o suspensión del estudio.

Debido a que el presente estudio es traslacional no se prevén circunstancias que pudieran poner en peligro la seguridad de los sujetos. No obstante, si se detectara alguna circunstancia, el promotor y el investigador adoptarán las medidas urgentes oportunas para proteger a los sujetos de cualquier riesgo inmediato.

El promotor informaría lo antes posible, tanto a la autoridad autonómica competente como a los Comités Éticos de Investigación Clínica implicados en el estudio, de dichas circunstancias y de las medidas adoptadas.

Cuando fuera necesario, ambas partes (promotor e investigador) dispondrían los procedimientos de una manera individualizada después de su revisión y consulta. Al terminar el estudio, el promotor y el investigador se asegurarán de que se adoptan las medidas adecuadas para proteger los intereses de los pacientes.

### **5.5 ASPECTOS DE BUENA PRÁCTICA CLÍNICA, PRIVACIDAD DE DATOS Y**

#### **PROPIEDAD DEL MATERIAL ALMACENADO EN BIOBANCOS**

La recogida y almacenamiento sistemática de material biológico con fines de investigación debe satisfacer las leyes y reglamentos, los derechos de propiedad, relaciones de posesión, protección de datos, así como seguridad y confidencialidad de la investigación.

De todas las muestras al diagnóstico inicial o en su evolución, se enviará al biobanco médula ósea y sangre periférica, para almacenar ADN, ARN y, si es posible, células criopreservadas. Además, se enviará muestra de suero.

En aquellos pacientes tratados con protocolo intensivo (en los que por práctica asistencial estuviera recomendado) se enviará al biobanco muestras de médula ósea y sangre periférica en varios momentos para el seguimiento de la enfermedad.

En esta plataforma, participan laboratorios de referencia reconocidos por realizar estudios biológicos complejos: genéticos y moleculares. Los derechos de propiedad estarán dirigidos por contratos específicos entre PETHEMA y las instituciones garantes de los laboratorios y biobancos de referencia. Además, el concepto genérico de protección de datos propuesto por la plataforma consiste en un sistema de anonimización, con los datos demográficos de los pacientes depositados en los biobancos, siguiendo la regulación vigente. Así, el resto de agentes implicados en el proyecto (médicos, coordinadores de investigación, responsables de laboratorio) no participarán del conocimiento de los datos identificativos del paciente y de sus muestras. A través del registro telemático se le asignará a la muestra y al paciente un UPN (arriba descrito) que se utilizará a todos los efectos. La muestra del diagnóstico llegará al biobanco con el UPN y con los datos identificativos del paciente. De esta forma, a requerimiento de cualquier agente regulador, se podrá comprobar la relación entre los datos y la muestra de un paciente concreto, garantizándose así la trazabilidad. En resumen, los datos identificativos quedan confiados en los biobancos y en los centros sanitarios a los que pertenece cada paciente, mientras que todos los procedimientos relacionados con la investigación se realizarán con datos anonimizados (UPN). La anonimización se realizará antes del envío de la muestra al laboratorio de referencia. El grupo PETHEMA proporcionará un sistema de registro telemático para asignar al sujeto el UPN con el que se producirán todas las comunicaciones. La identificación inicial de los registros en el biobanco está garantizada por el etiquetado con datos personales como apellido, nombre y fecha de nacimiento, junto al UPN en el volante de envío de muestras. Sin embargo, el etiquetado de material almacenado para propósito de la investigación será anónimo (usando el UPN), excluyendo la posibilidad de que los investigadores puedan acceder directamente a los datos personales de los pacientes. Además, la reversibilidad del proceso es una condición necesaria, especialmente con el fin de completar los datos clínicos en pacientes con cáncer.

## **6 PRIVACIDAD DE LOS DATOS**

En este proyecto se implementan procesos para la protección de datos. Según los requisitos de las regulaciones de la Unión Europea (Normas de Buena Práctica Clínica ICH E6 (R2), junio de 2017) y las leyes de los estados miembros (Directiva 95/46/CE, 24 de octubre de 1995), debe obtenerse el consentimiento informado de un paciente para el procesamiento y almacenamiento de los datos de carácter personal o material biológico en biobancos.

Este registro pretende establecer una base fiable y eficaz para proyectos de investigación biológica y epidemiológica en la LMA. Por esta razón, es necesario evitar el registro múltiple de un determinado paciente por diferentes centros clínicos (en diferentes fases de la enfermedad). Con el registro telemático se detectarán registros duplicados de un solo paciente.

La conciliación de los registros se llevará a cabo utilizando los siguientes datos

- Fecha de nacimiento
- Género

- Fecha de diagnóstico inicial

Después de la comprobación de que no existe conflicto de duplicidad, se asignará el UPN y se reflejará en el CRD electrónico, donde podrá ser visualizado por el centro PETHEMA solicitante, por el laboratorio y biobanco receptor de la muestra, así como por la oficina de datos. El identificador UPN del registro PETHEMA es un número único otorgado a un solo paciente, compuesto por una cadena de caracteres que no contienen ningún dato de carácter personal. Si hubiera algún conflicto en la asignación del UPN, al detectarse una posible duplicidad, se contactaría desde la oficina de datos al centro solicitante. El proceso de manejo de información sensible para el paciente se define en unos procedimientos operativos estándar (SOP), que se encontrarán disponibles en la Web del grupo PETHEMA. La información personal se envía una sola vez junto al consentimiento inicial del paciente para la conservación de las muestras en el biobanco. Este consentimiento informado se firmará por triplicado: una copia deberá guardarse en el biobanco, otra en el centro donde se trate el paciente y la tercera se entregará al paciente. Los centros clínicos de PETHEMA tendrán la información local sobre datos personales y los UPN de sus pacientes. Esta información local estará bajo la protección legal de la comunicación médica confidencial. Las muestras biológicas serán anónimas a la hora de realizar cualquier análisis o informe en los laboratorios de referencia. Las muestras se etiquetarán con un identificador de laboratorio interno, administrada por el propio laboratorio, y el UPN de Registro PETHEMA.

## **7 CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**

Los centros participantes deberán registrar a todos los pacientes recién diagnosticados con LMA o leucemia aguda de linaje ambiguo o en recaída/resistencia según los criterios de inclusión una vez obtenido el consentimiento informado escrito. El registro debe preceder al envío de las muestras al laboratorio de referencia, ya que la primera muestra deberá venir acompañada del consentimiento informado con etiqueta identificativa del paciente y del formulario de envío con el UPN asignado de forma telemática.

El registro de pacientes y el manejo del formulario telemático vienen definidos en un SOP sobre cumplimentación de CRDs.

Los siguientes parámetros son necesarios para incluir por primera vez al paciente en el registro en línea:

- Código de centro de PETHEMA
- Diagnóstico (sospecha de LMA o leucemia aguda de linaje ambiguo)
- Fecha de diagnóstico
- Estado de la enfermedad (diagnóstico, recaída, resistencia)
- Fecha de nacimiento
- Género

- Puntuación ECOG
- Leucocitos en sangre

El sistema de registro envía automáticamente una confirmación al centro solicitante y al laboratorio de referencia asignado indicando estos datos y el UPN.

Solamente en caso de que el servicio de registro en línea no esté disponible temporalmente, los centros pueden solicitar un identificador UPN enviando un correo electrónico o fax a la oficina de datos de PETHEMA (mediante formulario en papel similar al telemático)

Fax: + 34 96 124 6201

Teléfono: +34 96 141 2393/ +34 961 246 726

De lunes a viernes de 9:00 – 17:00 horas e-mail: [garcia\\_mdoalv@gva.es](mailto:garcia_mdoalv@gva.es)  
[yolanda\\_mendizabal@iislafe.es](mailto:yolanda_mendizabal@iislafe.es)

Además, el registro en línea contará con un apartado para imprimir los formularios de envío de muestra en los momentos evolutivos correspondientes.

Aparte del CRD sobre los datos mínimos para el registro y la asignación del UPN, se contemplan otras secciones del CRD para la información evolutiva básica de la enfermedad y para los resultados básicos de los test biológicos (ver SOP de CRDs). Estos datos quedarán registrados en el CRD electrónico y serán los necesarios para la investigación traslacional.

En el presente estudio, el CRD constará de una parte que recoja de forma anonimizada los resultados de las pruebas diagnósticas específicas (panel de NGS completo y PCR solo para algunas alteraciones específicas) y de otra parte que reflejará los datos demográficos, citogenéticos y clínicos básicos del paciente, la respuesta y la evolución de la enfermedad. El responsable de cada uno de los 7 laboratorios de referencia incluirá la información requerida en la primera parte, que deberá ser recogida de forma prospectiva. De la segunda parte, así como de la verificación de la correspondencia de las muestras con el paciente, será responsable el centro PETHEMA solicitante. Esta información podrá ser introducida de forma retrospectiva al finalizar la inclusión del último paciente. Finalmente, la oficina de datos de PETHEMA velará por la calidad de los datos, pudiendo, si fuera necesario, revisar los datos en el centro solicitante.

## **8 SELECCIÓN Y RETIRADA DE LOS SUJETOS**

Está previsto incluir en torno a 1000 pacientes/año procedentes de centros españoles y portugueses del grupo PETHEMA (Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Hospital Universitario de Salamanca, Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Hospital Universitario Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria, Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, Hospital de Coimbra (Portugal), y Clínica Universidad de Navarra).

## **8.1 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **8.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Los pacientes deben cumplir **todos** los criterios que se exponen a continuación para que su participación en el estudio pueda ser considerada:

- Haber otorgado voluntariamente el consentimiento informado para el envío y procesamiento de muestras biológicas, así como para el análisis e informe de los resultados del estado mutacional de su LMA.
- Edad mayor o igual a 18 años.
- Diagnóstico morfológico de LMA o leucemia aguda de linaje ambiguo (LA-MIX) de acuerdo a los criterios de la WHO 2008 (Anexo 1). También se incluyen las leucemias de células dendríticas (BPDCN acrónimo en inglés).
- LMA, BPDCN o leucemia aguda de linaje ambiguo al diagnóstico, en recaída o en resistencia.

### **8.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Los pacientes que cumplan **cualquiera** de los siguientes criterios serán excluidos de participar en el estudio:

- Incapacidad del paciente o su representante legal para entender y firmar voluntariamente el formulario de consentimiento informado.

## **8.2 CRITERIOS DE RETIRADA**

Debido a que el presente estudio no incluye ninguna intervención terapéutica, no se prevén circunstancias que pudieran poner en peligro la seguridad de los pacientes, por lo que no está prevista la retirada de los sujetos por parte del promotor o los investigadores. No obstante, si se detectara alguna circunstancia, el promotor y el investigador adoptarán las medidas urgentes oportunas para proteger a los pacientes de cualquier riesgo inmediato.

Los pacientes serán informados de que pueden abandonar el estudio en el momento que ellos quieran y por cualquier razón, sin que ello conlleve ningún perjuicio para su atención médica posterior.

## **9 METODOLOGÍA DE LOS PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO**

Se recogerán de modo prospectivo muestras de MO al diagnóstico o a la recaída/resistencia de cualquier paciente que cumpla los criterios de elegibilidad a priori, con independencia de si van a recibir o no tratamiento para su leucemia. Las muestras se centralizarán en los 7 laboratorios para la realización prospectiva de los estudios abajo descritos y para el almacenamiento en Biobanco para

posteriores estudios moleculares. Las muestras se enviarán lo antes posible, durante las primeras 24h tras la extracción de la MO y/o la SP.

Existen 7 laboratorios (Hospital Universitari i Politècnic la Fe, Hospital Universitario de Salamanca, Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Hospital Universitario Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria, Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y Clínica Universidad de Navarra) que centralizarán las muestras siguiendo los mismos procedimientos estandarizados para:

- Análisis molecular mediante secuenciación de un panel de genes relevantes
- Definición fenotípica y aislamiento de diferentes clones
- Conservación de ácidos nucleicos (ADN y ARN) de células leucémicas
- Criopreservación de células viables
- Conservación de suero de pacientes con LMA

### **9.1 INMUNOFENOTIPO**

Los estudios de inmunofenotipo al diagnóstico y durante el seguimiento se realizarán a nivel local, de acuerdo a los criterios de *Euroflow* y los SOPs de cada laboratorio local. Se enviarán los informes anonimizados con los resultados de la EMR por citometría solo en aquellos pacientes que sigan protocolos asistenciales en los que la EMR centralizada por citometría sea necesaria para el seguimiento del paciente (LA-MIX o LMA-FLOW). La información de la CMF local al diagnóstico será aportada por el centro PETHEMA a través del CRD mediante un formulario específico para citometría.

### **9.2 MORFOLOGÍA**

Los análisis de morfología se realizarán a nivel local, siguiendo las recomendaciones actuales de la clasificación de la WHO 2008<sup>6</sup> y los SOPs de cada laboratorio local. Esta información será aportada por el centro PETHEMA a través del CRD.

### **9.3 CITOGENÉTICA Y FISH**

La citogenética convencional y la FISH se realizarán a nivel local, siguiendo las recomendaciones actuales y los SOPs de cada laboratorio local. Esta información será aportada por el centro PETHEMA a través del CRD.

### **9.4 ANÁLISIS MOLECULARES**

Los análisis moleculares se realizarán en todos los pacientes incluidos. El panel de análisis genéticos moleculares realizados rutinariamente y el momento de recogida de las muestras se definirá de forma oportuna en los respectivos protocolos asistenciales de PETHEMA, o si se considera necesario, se adaptarán al estado actual de la investigación. Los análisis genéticos moleculares se realizan según

procedimientos normalizados del grupo PETHEMA. Además, los análisis correlativos pueden incluir una amplia gama de estudios de investigación (por ejemplo, análisis epigenéticos o farmacogenéticos).

#### **9.4.1 Detección de genes recurrentemente mutados en LMA mediante PCR**

La detección de las mutaciones recurrentes en los genes FLT3, NPM1 y CEBPa se realizará siguiendo los métodos convencionales basados en PCR. Se determinarán las mutaciones FLT3 TKD/ITD y la ratio de ITD; los resultados deben estar disponibles en un máximo de cinco días desde la fecha del diagnóstico del paciente. Las mutaciones de FLT3 ITD/TKD se realizarán en todos los pacientes independientemente del resultado de citogenética.

#### **9.4.2 Determinaciones moleculares por NGS**

El grupo PETHEMA ha consensuado un panel mínimo que incluirá los genes: ASXL1, CALR, CBL, CEBPA, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, GATA2, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, MLL, NPM1, NRAS, PHF6, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, WT1. Este panel se hará mediante NGS en todas las muestras al diagnóstico y en recaída. De este panel de genes, solo se informará al centro PETHEMA los resultados de los genes incluidos en la práctica habitual: ASXL1, CEBPA, FLT3, IDH1, IDH2, MLL, NPM1, RUNX1, TP53 (ver criterios ELN2017 y protocolos asistenciales PETHEMA).

#### **9.4.3 Métodos empleados para el estudio de mutaciones recurrentes mediante NGS**

##### **Aislamiento y preparación del ADN**

El ADN se extraerá empleando los métodos estandarizados del laboratorio, siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. El ADN así extraído se cuantificará mediante fluorimetría *Qubit™* (*Life Technologies*) o similar. Finalmente, el ADN se diluirá convenientemente para obtener una concentración de 10 ng/μl.

##### **Panel de genes**

El grupo PETHEMA ha consensuado un panel mínimo que incluirá los genes ASXL1, CALR, CBL, CEBPA, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, GATA2, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, MLL, NPM1, NRAS, PHF6, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, WT1. Estos genes deben ser estudiados por NGS mediante la tecnología *ThermoFisher* o *Illumina* disponible en los laboratorios de referencia. Los resultados del primer control de calidad de NGS entre los laboratorios de PETHEMA indican que NO es estrictamente necesario trabajar con el mismo panel. Por consiguiente, se deja a criterio de cada uno de los laboratorios de referencia la elección final del panel comercial o *custom* a emplear (siempre que este contenga los genes consensuados).

### **Preparación de librerías**

Para preparar las librerías de cada una de las muestras, se seguirá el protocolo optimizado según el sistema de secuenciación. En todos los casos, se utilizará un “código de barras molecular” (por ejemplo, *barcode* o *MID*, según corresponda) para multiplexar las muestras y alcanzar un mayor rendimiento en la reacción de secuenciación. La secuenciación se realizará en las plataformas *Ion PGM* o *Proton System (ThermoFisher)* o *MySeq, MiniSeq, NextSeq (Illumina)*, alcanzando una cobertura media de 2.000X y cobertura mínima de 500X, lo que nos permitiría detectar mutaciones incluso si están en una baja proporción en el conjunto de la muestra analizada.

### **Procedimientos de análisis**

La búsqueda de variantes se realizará mediante el alineamiento de los datos de cada secuenciación con la secuencia de referencia *Human genome built 19 (hg19)* utilizando los programas informáticos *Variant Caller (Life Technologies)*, *Variant Studio (Illumina)* o *Sophia Genetics*. Adicionalmente las regiones específicas de genes de interés serán analizadas manualmente con el visor de secuencias *Integrative Genomic Viewer (Broad Institute)*.

### **Criterio de positividad**

Las variantes no patogénicas serán filtradas, siendo excluidas variantes sinónimas, variantes intrónicas y variantes polimórficas (MAF o frecuencia del alelo minoritario  $\geq 0,1\%$  y/o incluidas en DbSNP y ExAC). En el informe clínico, solo serán consideradas aquellas mutaciones encontradas en una frecuencia  $>3\%$  respecto del alelo normal.

El valor clínico de las variantes que cumplan estos requisitos será confirmado en las bases de datos *ClinVar and Cosmic*. Además, para aquellas variantes de carácter no sinónimo, se obtienen índices adicionales (*SIFT* y *Polyphen*) que permiten predecir el grado de daño en la proteína resultante.

#### **9.4.4 Confirmación de los resultados obtenidos mediante NGS**

En caso necesario, las muestras que resulten ser positivas para FLT3, NPM1, CEBPa e IDH1/2 mediante NGS serán confirmadas por *Sanger*. Para ello se utilizarán ADN y se amplificará las regiones *HotSpot* según la mutación encontrada con los cebadores descritos en el protocolo LMA-2010 para FLT3, NPM1 y CEBPa. Para los genes IDH1/2 que no estaban en el protocolo, emplearemos los descritos por Paschka K, *et al.*<sup>7</sup> La secuenciación convencional se realizará en cada laboratorio según los protocolos estandarizados.

En caso necesario, las nuevas variantes con una frecuencia alélica  $>15\%$  que se detecten en cualquiera de los otros genes del panel y que no estén descritas en las bases de datos habituales, serán confirmadas mediante secuenciación *Sanger*.

#### **9.4.5 Garantía de Calidad de las determinaciones**

Todos los procedimientos seguirán las recomendaciones existentes en la Unión Europea sobre las Buenas Prácticas del Laboratorio (BPL) (<http://www.agemed.es>). El personal facultativo y técnico del laboratorio que participe en la secuenciación, tendrá una amplia experiencia en los métodos

moleculares y técnicas de NGS, que los acredita como competentes para la realización del presente estudio.

Además, entre los laboratorios participantes, se efectuarán intercambios de la misma muestra para asegurar la reproducibilidad de los resultados entre los laboratorios, estableciendo un sistema de control de calidad interno.

#### **9.4.6 Equipamiento de los laboratorios**

Los estudios de secuenciación masiva se podrán realizar en los secuenciadores *Ion PGM* o *Proton System (ThermoFisher)* o *MySeq, MiniSeq, NextSeq (Illumina)*, en función de la tecnología disponible en cada centro. Aparte de los secuenciadores de nueva generación, cada laboratorio dispone de la infraestructura propia de un laboratorio de biología molecular (robot de extracción de ácidos nucleicos, centrifugas, termocicladores, y secuenciador convencional).

### **9.5 CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS EN BIOBANCO**

#### **Momentos de envío y conservación en biobanco**

**Al diagnóstico inicial, en recaída o resistencia: en todos los pacientes** se remitirá al biobanco una muestra de médula ósea, sangre periférica y suero para conservación y almacenamiento para estudios posteriores.

**Durante el seguimiento evolutivo: en aquellos pacientes tratados con protocolo intensivo** se enviará al biobanco en varios momentos una muestra de médula ósea y sangre periférica para conservación y almacenamiento para estudios posteriores.

#### **Muestras de médula ósea (MO) con anticoagulante EDTA**

Diluir la MO recibida (< 1 mL) en PBS en una relación 1:3 (1 MO:3 PBS).

Dividir el diluido en tres partes: una parte se utilizará para la extracción de ADN (1 mL), otra para ARN (2 mL) y la última para PBMCs (1 mL).

**ADN.** La extracción se realizará por el método que técnicamente se considere más apropiado. (*QIAGEN®*, *CHEMAGEN®*, *ROCHE®* u otros). Conservación a -20°C -40°C.

**ARN.** Tras obtención del pellet celular preservar en alícuotas 5-10x10<sup>6</sup> células/1 ml (buffer RLT + 40 uL DTT 1M) o 1 ml Trizol. Conservación a -80°C.

**PBMCs.** La extracción se realizará por el método FICOLL (volver a diluir hasta completar la relación 1:3). Conservación a -196°C tras conteo.

#### **Muestras de sangre periférica (SP) con anticoagulante EDTA:**

Diluir la SP restante en PBS en una relación 1:3 (1 SP:3 PBS).

Dividir el diluido en tres partes: una parte se utilizará para la extracción de ADN (1 mL), otra para ARN (2 mL) y la última para PBMCs (1 mL).

**ADN.** La extracción se realizará por el método que técnicamente se considere más apropiado. (QIAGEN®, CHEMAGEN®, ROCHE® u otros). Conservación a -20°C-40°C.

**ARN.** Tras obtención del pellet celular preservar en 1 ml (buffer RLT + 40 uL DTT 1M) o 1 ml Trizol. Conservación a -80°C.

**PBMCs.** La extracción se realizará por el método FICOLL (volver a diluir hasta completar la relación 1:3). Conservación a -196°C tras conteo.

### **Muestras de sangre periférica (SP) en tubo seco o con “serum-gel”:**

Suero. Obtenido tras doble centrifugación (1ª centrifugación: 1500 g, 15 min, Tª ambiente // 2ª centrifugación: 2000 g, 5 min, Tª ambiente). Conservación a -80°C.

## **9.6 ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO CENTRAL Y RECEPCIÓN**

Los centros sanitarios enviarán las muestras a uno de los laboratorios de referencia de PETHEMA para los análisis moleculares y biobanco. Estos laboratorios aparecerán asignados en el CRD electrónico una vez se adjudique el UPN de registro. El tiempo de emisión de un informe con los marcadores moleculares al diagnóstico esenciales será: reordenamientos CBF, FLT3 < 3-4 días y NPM1, IDH < 7-10 días (por PCR o NGS, lo que antes esté disponible). El tiempo de respuesta para determinar el estudio molecular en muestras de EMR (citometría o PCR según protocolos asistenciales) será < 3-7 días desde el momento en el que llega la muestra al laboratorio.

Después de recibir el identificador UPN, los centros prepararán el envío de las muestras etiquetadas con el UPN y con un formulario de envío, especificando los datos respecto al momento de la enfermedad y los análisis requeridos. Los centros serán los responsables de la correcta asignación del UPN a las muestras (Anexo 2).

La muestra del diagnóstico inicial irá acompañada del consentimiento informado, con los datos identificativos del paciente, siendo estos datos únicamente custodiados por el biobanco del laboratorio de referencia y el centro sanitario al que pertenece el paciente

Tras la recepción de muestras en los laboratorios de referencia PETHEMA, cada laboratorio asignará su propio número identificativo de la muestra según sus procedimientos estandarizados.

Los requerimientos de las muestras a enviar y el procedimiento de envío y recepción de muestras por los laboratorios centrales y biobancos se detallan en SOPs específicos.

### **9.6.1 Muestras a enviar al laboratorio central de referencia**

**Identificación de las muestras.** UPN del paciente y momento de la enfermedad. Se acompañarán de un formulario de envío de muestras (Anexo 2).

**Tipo de muestras para el análisis de inmunofenotipo, molecular y biobanco:**

**Al diagnóstico, en recaída o resistencia**

- 2 tubos de sangre periférica en EDTA (5-10 ml para biología molecular y 5-10 ml para

biobanco)

- 2 tubos de médula ósea en EDTA (3 ml para biología molecular y 3ml para biobanco)
- 1 tubo de suero del paciente (5-10 ml para seroteca)

Las muestras serán enviadas a temperatura ambiente y lo antes posible desde la extracción. La planificación logística debe permitir que la muestra sea recibida en el laboratorio de referencia en menos de 24-48 horas desde su extracción.

#### **En el seguimiento:**

Solo en aquellos pacientes tratados con protocolos en los que se especifique la necesidad de un seguimiento:

- 2 tubos de sangre periférica en EDTA (5-10 ml para biología molecular y 5-10 ml para biobanco)
- 2 tubos de médula ósea en EDTA (3-5 ml para biología molecular y 3-5 ml para biobanco)
- Además, se remitirá muestra para citometría de flujo o biología molecular en momentos diferentes del seguimiento, en aquellos pacientes que sigan un protocolo asistencial o ensayo del grupo PETHEMA que así lo recomiende (ver protocolos asistenciales vigentes LMA-FLOW, LA-MIX, LMA-CBF-16, LMA-NPM1-17).

#### **9.6.2 Logística para el envío de muestras al laboratorio central de referencia**

**Contenedores:** los contenedores aptos para el estudio serán los usados habitualmente en cada institución. Si se requiere, también podrán ser remitidos a los hospitales desde PETHEMA. En cualquier caso, los posibles fallos en la distribución o carencias puntuales pueden subsanarse solicitando contenedores a la secretaría de PETHEMA en Madrid, a través de Rocío Aguirre, por medio del correo electrónico [pethema@pethema.es](mailto:pethema@pethema.es).

**Horario:** Se aceptarán muestras de lunes a jueves, y los viernes antes de las 14:00 pm (no los sábados ni domingos).

En el **diagnóstico/recaída/resistencia** se aceptarán muestras con horario de llegada de lunes a viernes (**última hora de recepción los viernes: 14:00 pm**). Fuera de estos horarios, se hace imprescindible una llamada telefónica personal para acordar la entrega. En la medida de lo posible, programar los aspirados de diagnóstico, recaída y resistencia de lunes a jueves. Las muestras de diagnóstico/recaída/resistencia **extraídas el viernes** y que no puedan llegar al laboratorio central antes de las 14:00h del mismo viernes, así como aquellas extraídas un sábado o un domingo, deberán ser conservadas a 4°C hasta el momento del envío al laboratorio central el lunes siguiente a primera hora.

En el **seguimiento** la última hora de recepción es **a las 11.00 am**. Esto supone que las muestras de seguimiento deben extraerse de lunes a jueves, (nunca en viernes, sábado, domingo o víspera de festivo). Se ruega acordar la hora de entrega antes de las 11 a.m. (consultar desde cada destino a la empresa de mensajería).

Código protocolo: PLATAFO-LMA

*Fundación PETHEMA*

**Transporte:** se dispone de transporte a cargo de la Fundación PETHEMA con la empresa **MRW**. Para solicitarlo, es necesario informar a la operadora del número de abonado y del código de este proyecto:

Agencia MRW 2615 (Castilla 47. 28039- Madrid)

Teléfono: (único para toda España) 91 5341924 / 636660799

Fundación PETHEMA (Nº de Abonado 77159)

Código de proyecto: PLATAFO-LMA

## 9.7 Contactos de los laboratorios centrales de referencia

- **Córdoba: Hospital Universitario Reina Sofía**

### **Apoyo Clínico**

Josefina Serrano López  
Francisco Javier Casano Sánchez  
UGC de Hematología  
Hospital Universitario Reina Sofía  
Avda. Menéndez Pidal s/n  
14004 Córdoba  
Tel: +34 957010326  
Josefina.serrano@iname.com  
frcoj.casano.sspa@juntadeandalucia.es

### **Biología Molecular**

María del Carmen Martínez-Losada  
Kamila Janusz  
Joaquin Sánchez García  
Instituto Maimónides de Investigación Biomédica  
Grupo GC-16 3ª Planta  
Avda. Menéndez Pidal s/n  
14004 Córdoba  
Tel 1: +34 957213700  
Tel 2: +34 957213830  
mamen281284@hotmail.com  
kamila.janusz@imibic.org  
joaquin.sanchez@cheerful.com

### **Citometría**

Joaquin Sánchez García  
UGC de Hematología  
Hospital Universitario Reina Sofía  
Avda. Menéndez Pidal s/n  
14004 Córdoba  
Tel: +34 957010426  
Joaquin.sanchez@cheerful.com

### **Biobanco**

Joaquin Sánchez García  
Kamila Janusz  
Instituto Maimónides de Investigación Biomédica  
Grupo GC-16 3ª Planta  
Avda. Menéndez Pidal s/n  
14004 Córdoba  
Tel 1: +34 957213700  
Tel 2: +34 957213830  
joaquin.sanchez@cheerful.com  
kamila.janusz@imibic.org

- **Las Palmas de Gran Canaria: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín**

**Apoyo Clínico**

Carlos Rodríguez Medina  
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr.  
Negrín  
Barranco de la Ballena S/N  
35019, Las Palmas de Gran Canaria  
Tel: +34 928450486  
Fax: +34 928449827  
hematocritico@yahoo.es

**Biología Molecular**

María Teresa Gómez Casares  
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr.  
Negrín  
Barranco de la Ballena S/N  
35019, Las Palmas de Gran Canaria  
Tel: +34 928450486  
Fax: +34 928449827  
mgomcasf@gobiernodecanarias.org

**Citometría**

Angelina Lemes Castellano  
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr.  
Negrín  
Barranco de la Ballena S/N  
35019, Las Palmas de Gran Canaria  
Tel: +34 928450486  
Fax: +34 928449827  
alemcas@gobiernodecanarias.org

**Biobanco**

Santiago Sánchez Sosa  
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr.  
Negrín  
Barranco de la Ballena S/N  
35019, Las Palmas de Gran Canaria  
Tel: +34 928449427  
Fax: +34 928449827  
santisanso@gmail.com

- **Madrid: Hospital Universitario 12 de Octubre**

**Apoyo Clínico**

Pilar Martínez  
Servicio Hematología Hospital Universitario  
12 de Octubre  
Avda. de Córdoba s/n.  
28041 Madrid  
Tel: +34 913908678  
mpmartinezsa@yahoo.es

**Biología Molecular**

Rosa Ayala  
Inmaculada Rapado  
Servicio de Hematología  
Laboratorio de Biología Molecular  
Edificio Centro de Actividades Ambulatorias  
Torre Laboratorios (Bloque D), planta 6ª  
Hospital Universitario 12 de Octubre  
Avda. de Córdoba s/n  
28041 Madrid  
Tel 1: +34 917792788  
Tel 2: +34 917792610  
rosam.ayala@salud.madrid.org  
rayaladiaz12@gmail.com  
inmaculada.rapado@salud.madrid.org

**Citometría**

María Teresa Cedena  
Fátima Miras  
Servicio de Hematología  
Laboratorio de Citometría  
Edificio Centro de Actividades Ambulatorias  
Torre Laboratorios (Bloque D), planta 3ª  
Hospital Universitario 12 de Octubre  
Avenida de Córdoba, s/n  
28041 Madrid  
Tel 1: +34 917792303  
Tel 2: +34 917792304  
mariateresa.cedena@salud.madrid.org

**Biobanco**

Rosa Ayala  
Servicio Hematología  
Laboratorio de Biología Molecular  
Edificio Centro de Actividades Ambulatorias  
Torre Laboratorios (Bloque D), planta 6ª  
Hospital Universitario 12 de Octubre  
Avda. de Córdoba s/n.  
28041 Madrid  
Tel 1: +34 917792788  
Tel 2: +34 917792610  
rosam.ayala@salud.madrid.org  
rayaladiaz12@gmail.com

- **Pamplona: Clínica Universidad de Navarra**

**Apoyo Clínico**

José Rifón

Ana Alfonso Piérola

Clínica Universidad de Navarra

Avda. PIO XII, 36

31008 Pamplona, España

Tel: +34 948255400 Ext. 5807

Fax: +34 948296500

jrifon@unav.es

aalfonsopierola@gmail.com

**Biología Molecular**

M<sup>a</sup> José Calasanz

M<sup>a</sup> José Larrayoz

CIMA LAB Diagnostics

Avda. PIO XII, 55

31008 Pamplona, España

Tel: +34 948194700 Ext. 1004

Fax: +34 948194714

mjcal@unav.es

mjlarra@unav.es

**Citometría**

Bruno Paiva

CIMA LAB Diagnostics

Avda. PIO XII, 55

31008 Pamplona, España

Tel: +34 948194700 Ext. 1038

Fax: +34 948194714

bpaiva@unav.es

**Biobanco**

Toña Fortuño

CIMA- Universidad de Navarra

Avda. PIO XII, 55

31008 Pamplona, España

Tel: +34 948194700 Ext. 5035

Fax: +34 948194714

fortuto@unav.es

- **Salamanca: Hospital Universitario de Salamanca**

**Apoyo Clínico**

Estefanía Pérez López  
Servicio de Hematología  
Hospital Universitario de Salamanca  
Paseo de San Vicente, 58-182  
37007 Salamanca, España  
Tel: +34 923291100 Ext. 55375  
Fax: +34 923294624  
estefipe83@hotmail.com

**Biología Molecular**

M. Carmen Chillón Santos  
Servicio de Hematología  
Hospital Universitario de Salamanca  
Paseo de San Vicente, 58-182  
37007 Salamanca, España  
Tel: +34 923291100 Ext. 55629 / 55765  
Fax: +34 923294624  
chillon@usal.es  
mcchillon@saludcastillayleon.es

**Citometría**

María Belén Vidriales Vicente  
Servicio de Hematología  
Hospital Universitario de Salamanca  
Paseo de San Vicente, 58-182  
37007 Salamanca, España  
Tel: +34 923291100 Ext. 55375  
Fax: +34 923294624  
mbvidri@usal.es

**Biobanco**

Andrés García Montero  
Banco Nacional de ADN  
Universidad de Salamanca  
Edificio Multiusos de I+D+i  
C/ Espejo, 2  
37007 Salamanca, España  
Tel: +34 923294500 Ext. 5475  
angarmon@usal.es

- **Sevilla: Hospital Universitario Virgen del Rocío**

### **Apoyo Clínico**

José Antonio Pérez-Simón  
Servicio de Hematología  
Edificio de Laboratorios, 5ª planta  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
Avenida Manuel Siurot s/n  
41013 Sevilla, España  
Tel 1: +34 955013260  
Tel 2: +34 955013261  
Fax: +34 955013265  
josea.perez.simon.sspa@juntadeandalucia.es

### **Biología Molecular**

Estrella Carrillo  
Elena Soria  
Laboratorio de inmunología  
Edificio de laboratorios, 3ª planta.  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
c/Manuel Siurot s/n  
41013, Sevilla  
Tel 1: +34 955013223  
Tel 2: +34 955013261  
Fax: +34 955013265  
estrellacarrillocruz@gmail.com  
elena.soria@juntadeandalucia.es

### **Citometría**

Teresa Caballero  
Unidad Diagnóstico Hematológico  
Laboratorio de Citometría  
Edificio de laboratorios, 5ª planta  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
Avenida Manuel Siurot s/n  
41013 Sevilla, España  
Tel 1: +34 955013259  
Tel 2: +34 95501327  
Fax: +34 955013265  
t.c.velazquez@gmail.com

### **Biobanco**

Clara García Calderón  
Unidad Diagnóstico Hematológico  
Laboratorio de Citometría  
Edificio de laboratorios, 5ª planta  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
Avenida Manuel Siurot s/n  
41013 Sevilla, España  
Tel: +34 955013259  
Fax: +34 955013265  
claragarcia@us.es

- **Valencia: Hospital Universitari i Politècnic La Fe**

**Apoyo Clínico**

Pau Montesinos  
Servicio de Hematología  
Hospital Universitari i Politècnic La Fe  
Avenida Fernando Abril Martorell, 10  
46026 Valencia, España  
Tel 1: +34 961245876  
Tel 2: +34 961244000 Ext. 411966  
Fax: +34 961246201  
montesinos\_pau@gva.es

**Biología Molecular**

Eva Barragán  
Unidad de Biología Molecular  
Torre A 4ª planta  
Hospital Universitari i Politècnic La Fe  
Avenida Fernando Abril Martorell, 10  
46026 Valencia, España  
Tel: +34 961244589  
Fax: +34 961246201  
barragan\_eva@gva.es

**Citometría**

Amparo Sempere  
Unidad Diagnóstico Hematológico  
Laboratorio de Citometría  
Torre A 2ª planta  
Hospital Universitari i Politècnic La Fe  
Avenida Fernando Abril Martorell, 10  
46026 Valencia, España  
Tel: +34 961244525  
Fax: +34 961246201  
sempere\_amp@gva.es

**Biobanco**

José Cervera  
Raquel Amigo  
Biobanco La Fe  
Torre A Sótano  
Hospital Universitari i Politècnic La Fe  
Avenida Fernando Abril Martorell, 10  
46026 Valencia, España  
Tel: +34 961246681  
cervera\_jos@gva.es  
raquel\_amigo@iislafe.es

- **Coimbra, Portugal: Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC)**

**Apoyo Clínico**

Sandra Marini  
Serviço de Hematologia Clínica  
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra  
Praceta Prof. Mota Pinto  
3004-561 Coimbra, Portugal  
Tel.: +351 239 400430  
Fax: + 351 239 837032  
scasalmarini10863@chuc.min-saude.pt  
scasalmarini@gmail.com

**Biología Molecular**

Margarida Coucelo  
Laboratório de Hematologia Molecular, Piso 1  
Hospital Pediátrico de Coimbra  
Avenida Afonso Romão  
3000-602 Coimbra, Portugal  
Tel.: +351 239 480370  
margarida.coucelo@chuc.min-saude.pt

**Citometría**

Artur Paiva  
Unidade de Gestão Operacional de Citometria  
(UGOC)  
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra  
Praceta Prof. Mota Pinto  
3004-561 Coimbra, Portugal  
Tel. 1: +351 239 400 400 Ext 13113  
artur.paiva@chuc.min-saude.pt

## **10 VALORACIÓN DE LA SEGURIDAD**

### **10.1 ESPECIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE SEGURIDAD**

Se evaluará la supervivencia de los pacientes incluidos en el estudio. Al no haber ninguna intervención terapéutica, no se contempla que el estudio pueda afectar a la seguridad de los pacientes.

No se considera necesario recoger datos adicionales de seguridad de los medicamentos debido a que la caracterización del perfil de seguridad de ningún medicamento está entre los objetivos del estudio. El objetivo principal es desarrollar una plataforma de diagnóstico molecular rápido, estandarizado y centralizado a nivel nacional mediante NGS en pacientes adultos diagnosticados de LMA. Por ello, en este estudio no se recogerán acontecimientos adversos (AA). No obstante, se recuerda a los profesionales sanitarios que deberán notificar espontáneamente las sospechas de reacciones adversas a las Autoridades Competentes por los cauces habituales según la legislación vigente. Asimismo, también puede notificarlas al titular de la autorización de comercialización correspondiente.

En el curso del estudio se recogerá la fecha de la muerte de los pacientes, la supervivencia global, la supervivencia libre de evento (EFS) definiendo “evento” como recaída o muerte, supervivencia libre de enfermedad (DFS), la supervivencia libre de recaída (RFS) y la incidencia acumulada de recaída (CIR) según las mutaciones detectadas por NGS, en correlación con las mutaciones detectadas por métodos tradicionales (PCR y citogenética).

Ninguna de estas variables se considera un AA, por lo que no precisa que se registren como tales en el CRD o se consideren a efectos de notificación expeditiva.

## **11 PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS**

### **11.1 NÚMERO PREVISTO DE SUJETOS QUE SE INCLUIRÁN**

No hay un límite para la duración ni el número de sujetos participantes.

### **11.2 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO**

El análisis de las lecturas de protocolo de secuenciación masiva consiste en una fase inicial de obtención de estructuras de las variaciones de un solo nucleótido (SNV) y pequeña inserción-delección (*indels*) para cada muestra individual y una etapa posterior de análisis, dirigido a la selección de genes diferencialmente mutados.

La fase de obtención de SNVs e *indels* comienza con un primer filtro de baja calidad y la eliminación de duplicados en posibles lecturas de PCR. Entonces, se produce una asignación de lectura de cada fragmento seleccionado contra el genoma humano de referencia. A continuación, se define al principio del tratamiento una estimación de las variaciones estructurales (SNVs e *indels*) que cumplan

con los requisitos mínimos de calidad y consistencia de haplotipo. Como paso previo al análisis, cada variante es funcionalmente anotada. Este paso permite determinar si la variante se ha divulgado previamente en otros estudios (dbSNP, 1000genomes), así como conocer el efecto que producen cambios estructurales en las proteínas afectadas. Además, para las variantes del carácter no sinónimas se obtienen índices adicionales (*SIFT* y *Polyphen*) que permiten predecir la magnitud del daño en la proteína resultante. Por último, se analizan las variantes que muestran un efecto deletéreo. Los genes obtenidos de estas variantes, se priorizan en base a sus interacciones conocidas según la información descrita sobre la función biológica (en *GO* y bases de datos *KEGG*) y otras bases de datos con información patológica (*Orphanet*, *OMIM* y ontología de la enfermedad) y fenotípicas (ontología del fenotipo humano).

### **11.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

El análisis principal de los criterios de valoración se llevará a cabo cuando se hayan revisado los datos de aquellos pacientes que sean objeto del estudio. Una vez estén resueltas todas las posibles discrepancias de los datos por parte de los investigadores, se procederá al cierre de la base de datos. Esta base de datos permanecerá a disposición del promotor y coordinadores del estudio, quienes serán los responsables del análisis estadístico y de la elaboración de las comunicaciones y publicaciones que se deriven.

#### **11.3.1 ANÁLISIS DEL OBJETIVO PRINCIPAL**

La variable principal de estudio será la determinación de la frecuencia de cada una de las mutaciones estudiadas mediante el panel de NGS, tanto en primera línea como en resistencia o recaída. Para su descripción, se utilizarán frecuencias, medias y desviaciones y medianas e intervalos. El análisis del objetivo principal se realizará en todos los sujetos incluidos.

#### **11.3.2 ANÁLISIS DE LOS OBJETIVOS SECUNDARIOS**

Para la descripción de la población de estudio, se utilizarán frecuencias, medias y desviaciones y medianas e intervalos.

Se medirá la probabilidad de supervivencia global en todos los pacientes, con independencia del tratamiento recibido, e incluso, si no lo han recibido (tratamiento de soporte o paliativo, de forma exclusiva). Para describir la duración de la supervivencia se construirán curvas actuariales según método de Kaplan-Meier. Se calcularán las medianas y su correspondiente intervalo de confianza del 95%. Se considerará el tiempo desde la fecha de diagnóstico hasta el momento en que el paciente fallece, independientemente de la causa de su fallecimiento. Los pacientes que no hayan fallecido en el momento del análisis serán censurados en la fecha en la que se tuvo conocimiento por última vez que estaban vivos. La fecha de censura será la fecha de la última evaluación del seguimiento.

Las distintas curvas actuariales (entre los diferentes estratos pronósticos) serán comparadas mediante pruebas log-rank. Se calcularán las medianas y su correspondiente intervalo de confianza del 95%. Se calculará el intervalo de confianza del 95% para valorar la proporción de pacientes que alcancen respuesta. La probabilidad de recaída será estimada por el método de incidencia acumulada desde la fecha de RC. La relación entre variables dicotómicas será analizada, dependiendo del tipo

de variable (cuantitativa continua u ordinal y cualitativa) y su distribución, mediante pruebas paramétricas (t de Student, ANOVA, chi cuadrado y prueba exacta de Fisher) y no paramétricas (U de Mann-Whitney y test de Wilcoxon).

El análisis estadístico será realizado con el paquete estadístico R (disponible on-line <http://www.r-project.org>).

### **11.3.3 COMITÉ ESTADÍSTICO Y DE SUPERVISIÓN DE DATOS**

Un comité de supervisión de datos constituido por los coordinadores del estudio revisará los datos durante el transcurso del estudio y en el momento previsto de los análisis. Con el fin de asegurar una calidad excelente de los datos recogidos, se realizará una monitorización constante y en tiempo real de los datos recibidos (ver sección 18.1).

### **11.3.4 SELECCIÓN DE LOS SUJETOS QUE SE VAN A INCLUIR EN LOS ANÁLISIS**

Todos los pacientes del estudio y elegibles serán incluidos en los análisis estadísticos.

## **12 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

### **12.1 LEGISLACIÓN/DECLARACIÓN DE HELSINKI/ICH/BUENAS PRÁCTICAS CLÍNICAS**

El presente estudio traslacional se realizará de acuerdo con el protocolo, los principios establecidos en la versión revisada actual de la Declaración de Helsinki (Brasil, octubre de 2013) y de acuerdo con los requisitos reguladores aplicables, en particular las normas armonizadas tripartitas ICH para las buenas prácticas clínicas 1996 y la Ley 14/2007, de investigación biomédica, que incluye las muestras biológicas.

El investigador consiente, cuando firma el protocolo, en adherirse a las instrucciones y procedimientos descritos en ellos y, de esta manera, seguir los principios de las buenas prácticas clínicas que ellos implican.

El consentimiento informado, de cada sujeto vivo en el momento del estudio, será otorgado libremente para poder participar.

El personal del estudio involucrado en la realización de este estudio traslacional estará suficientemente cualificado por su educación, formación y experiencia para llevar a cabo las tareas asignadas.

Este estudio no utilizará los servicios del personal que haya sido sancionado/suspendido por fraude científico o mala práctica clínica.

### **12.2 COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

En cumplimiento con la Ley 14/2007, el promotor presentará la documentación pertinente al CEIC de referencia para su evaluación y posterior informe. Antes de comenzar el estudio, se deberá obtener la aprobación del Comité y se deberá justificar con una carta/certificado en donde se especifique la

fecha en la que el comité se reunió y otorgó su aprobación. Dicha carta de aprobación del CEIC deberá mencionar los miembros del comité y su función.

El estudio no empezará hasta tener la aprobación del CEIC de cada centro participante.

Cualquier enmienda que cambie la relación beneficio-riesgo para el paciente deberá ser, una vez firmada por el promotor, sometida a la evaluación de los CEIC para su aprobación. Los investigadores del estudio también serán informados y darán su aprobación escrita de la misma.

### **12.3 INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO**

A cada uno de los sujetos a los que se les proponga participar en el estudio, se le entregará un documento escrito denominado “Hoja de información al paciente”, que contendrá la información relevante y necesaria para que el paciente pueda decidir si desea participar en el estudio.

El investigador será el responsable de obtener el consentimiento informado de cada sujeto, después de explicarle los objetivos, métodos, efectos beneficiosos, inconvenientes y riesgos potenciales del mismo según lo descrito en las normas armonizadas tripartitas ICH sobre la buena práctica clínica y todos los requisitos reglamentarios correspondientes. Deberá aclararse completa e inequívocamente a cada paciente que es libre de rechazar la participación en el estudio y que puede retirar su consentimiento en cualquier momento y por cualquier razón, sin que ello le ocasione perjuicio alguno.

No podrán participar en este estudio los pacientes sin capacidad para otorgar su consentimiento informado. El investigador obtendrá el consentimiento del sujeto (preferiblemente por escrito o de forma oral ante testigos independientes del equipo investigador) o, en su defecto, de su representante legal. Asimismo, al sujeto participante en el estudio se le deberá entregar una copia de dicho consentimiento informado, debidamente cumplimentado.

Los investigadores deberán conservar el consentimiento informado firmado en el archivo del estudio, así como deberán documentar su firma en los registros médicos de los pacientes.

En el caso de que se genere alguna nueva versión de la hoja de información al paciente y consentimiento informado durante el desarrollo del estudio, ésta deberá ser aprobada por el CEIC de referencia.

### **12.4 RETIRADA DE UN PACIENTE**

No se prevén circunstancias que pudieran poner en peligro la seguridad de los pacientes, por lo que no está prevista la retirada de los sujetos por parte del promotor o los investigadores. No obstante, si se detectara alguna circunstancia, el promotor y el investigador adoptarán las medidas urgentes oportunas para proteger a los pacientes de cualquier riesgo inmediato.

Los pacientes también pueden decidir retirarse del estudio sin tener que justificar el motivo. Esto no perjudicará al tratamiento y asistencia médica que pueda recibir el paciente.

## **13 MONITORIZACIÓN Y REGISTRO**

Para todos los pacientes incluidos en este estudio, se requiere la aportación de un conjunto mínimo de datos en el registro a través de formularios determinados. Estos formularios han sido diseñados

por la oficina de datos a partir de documentos ya existentes de otros estudios de PETHEMA. Todos los datos de los pacientes se incluirán en una base de datos SQL de Microsoft y la identificación de cada paciente particular se realizará a través del UPN del registro PETHEMA. El registro PETHEMA será más fuerte conforme menos información adicional sea necesaria. En el consentimiento informado se incluye la autorización para la extracción de los datos requeridos a partir de la historia clínica.

Los centros sanitarios enviarán a la oficina de datos un conjunto mínimo de datos de cada paciente en el momento del diagnóstico para que se le pueda asignar el UPN del registro PETHEMA. Una copia permanecerá en la oficina de datos y otra en el correspondiente centro sanitario. Cualquier otro tipo de documento podrá enviarse a la oficina de datos, a criterio de cada centro sanitario, pero el paciente deberá estar siempre identificado únicamente por el UPN, sin incluir ningún tipo de dato de carácter personal.

Se actualizarán regularmente los datos clínicos de los pacientes y cuando se precise de alguna aclaración (*query*), estas se enviarán a los centros, pudiendo ser también monitorizados "*in situ*" desde la oficina de datos de PETHEMA. Del mismo modo, el paciente deberá estar siempre identificado únicamente por el UPN, sin incluir ningún tipo de dato de carácter personal.

## **14 PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

La base de datos del registro PETHEMA tiene un propósito relacionado, exclusivamente, con la investigación científica. Su finalidad no es comercial y no se prevé la posibilidad de estudios comunes con las compañías farmacéuticas. No obstante, cualquier proyecto con fines diferentes deberá ser aprobado previamente por PETHEMA, las autoridades sanitarias pertinentes y los comités éticos correspondientes.

Las muestras almacenadas en los biobancos pertenecen a la Fundación PETHEMA. Para su uso, será necesario contactar con el coordinador del protocolo y el coordinador de Biobancos a través de un formulario de solicitud específico, proporcionado por cada biobanco y siguiendo sus procedimientos estándar. Al menos uno de los solicitantes debe ser un investigador de un centro participante. Los requisitos mínimos que debe cumplir el formulario de solicitud son los siguientes:

- Título del proyecto
- Financiación para llevar a cabo el proyecto
- Solicitante (dirección, teléfono, número de fax y correo electrónico)
- Tipo y número de muestras solicitadas
- Justificación del número de muestras solicitadas
- Duración del almacenamiento
- Garantía de devolución de las muestras sobrantes
- Fecha aproximada de publicación de los resultados del estudio

La información debe proporcionarse en la forma especificada. Si la solicitud es correcta, el coordinador del protocolo y el coordinador de biobancos la remitirán al Comité de Proyectos de Investigación para su valoración y posterior aprobación, si procede.

Tras la evaluación científica de la solicitud por parte del Comité de Proyectos de Investigación, el Coordinador de Biobancos contactará con el solicitante para transmitirle la decisión y, en el caso de haber obtenido la aprobación, organizará la selección de las muestras junto al Coordinador del Comité de Supervisión de datos y Estadística. Los biobancos, los laboratorios y los médicos que traten a cada paciente, recibirán y comunicarán la información a través del número de UPN. Antes de iniciar cualquier nuevo estudio, este deberá haber sido aprobado por PETHEMA, las autoridades sanitarias pertinentes y los comités éticos correspondientes, El solicitante será el responsable de devolver las muestras sobrantes y de comunicar la finalización del proyecto, ya sea mediante un informe escrito o la publicación del manuscrito.

## **15 MANEJO DE LOS DATOS Y ARCHIVO DE LOS REGISTROS**

### **15.1 CONFIDENCIALIDAD**

La información obtenida durante el presente estudio será considerada confidencial y deberá ser tratada en todo momento como tal. En todos los documentos enviados a la oficina de datos, los pacientes incluidos en el estudio serán identificados únicamente mediante un código numérico (UPN), de tal forma que no se recogerán datos personales identificativos del paciente en la base de datos. De esta forma, la oficina de datos de PETHEMA trabajará con datos disociados. El procedimiento de disociación será realizado por los investigadores participantes en el estudio, los cuales crearán un listado en el que se relacionen los datos personales de los pacientes con el código asignado por la oficina de datos de PETHEMA, que identificará al paciente durante el estudio. Este registro de los datos personales, será conservado en el centro en todo momento, siendo responsable la administración autonómica correspondiente en cada comunidad autónoma.

Todo material, información (oral o escrita), documentación no publicada que sea facilitada a los investigadores, incluyendo este protocolo y los CRD, deben considerarse como propiedad del promotor. Los datos y/o material del estudio no podrán ser divulgados, en parte o en su totalidad, por el investigador o sus colaboradores a ninguna persona no autorizada, sin el consentimiento formal previo y por escrito del promotor.

El contenido de los CRD, así como los documentos generados durante el estudio y la base de datos, serán protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación y, por tanto, serán considerados estrictamente confidenciales y no serán revelados a terceros excepto a los especificados en el apartado anterior.

Sólo aquellos datos de la historia clínica que estén relacionados con el estudio serán objeto de comprobación. Esta comprobación se hará en la medida de lo posible en presencia del investigador

principal/investigadores colaboradores, y se mantendrá en todo momento la confidencialidad de todos los datos personales de los sujetos participantes en el estudio, en cumplimiento de la Ley Orgánica 3/2018 de protección de datos de carácter personal.

El investigador y la institución permitirán el acceso directo a los datos y documentos fuente para la realización de la monitorización, la auditoría, la revisión por el CEIC, así como la inspección del estudio por las autoridades sanitarias. Dicho acceso estará restringido a los médicos del estudio y su equipo colaborador, AEMPS, autoridades sanitarias competentes de las comunidades autónomas, CEIC y promotor o personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

El promotor está obligado a publicar los resultados del estudio en revistas científicas, garantizando en todo momento el anonimato de los sujetos participantes.

## **15.2 ARCHIVO DEL ESTUDIO**

Se generará un archivo con toda la documentación del estudio que será custodiado por el investigador en su centro (archivo del investigador) y otro custodiado por el promotor (archivo del promotor). El contenido de dichos archivos cumplirá los requerimientos sobre la documentación del estudio conforme con los requerimientos de la ICH-Buenas Prácticas Clínicas y normativa vigente.

El investigador deberá mantener registros adecuados y precisos para permitir que la ejecución del estudio esté perfectamente documentada y que los datos del estudio se puedan verificar más adelante. Estos documentos se clasificarán en dos categorías independientes: (1) archivos del estudio del investigador y (2) documentos clínicos originales de los pacientes.

El archivo del estudio del investigador contendrá el protocolo (y sus modificaciones), aprobación y correspondencia con el CEIC y con las Autoridades Sanitarias, ejemplo del consentimiento informado, registros de medicación, *curriculum vitae* del personal y formularios de autorización y cualquier otra documentación o correspondencia apropiada.

Los documentos clínicos originales del paciente incluirán los archivos clínicos u hospitalarios del paciente, notas del médico o enfermera, libros de citas, informes originales del laboratorio, ECG, EEG, radiografías, informes de anatomía patológica y de valoraciones especiales, formularios firmados de consentimiento informado, cartas de consultores y registros de la selección e inclusión del sujeto. La documentación del estudio será conservada durante el tiempo requerido por la legislación vigente en la actualidad. Después de dicho periodo, los documentos podrán destruirse, siempre de conformidad con la legislación local.

Si el investigador cede los archivos del estudio a una tercera parte o los traslada a otro lugar, lo deberá comunicar al promotor con antelación.

Si el investigador no puede garantizar estos requisitos de archivo en el lugar de la investigación para alguno o todos los documentos, se deberán disponer medidas especiales entre el investigador y el promotor para almacenar éstos en un(os) contenedor(es) sellado(s) fuera del emplazamiento de

forma que puedan devolverse sellados al investigador en caso de una auditoría. Cuando sean necesarios los documentos originales para el cuidado continuado del paciente, se realizarán las copias oportunas para archivar fuera del emplazamiento.

## **16 ACCESO A LOS DATOS/DOCUMENTOS FUENTE**

En cumplimiento con todas las regulaciones aplicables, se exige que el investigador y su equipo, así como el centro permitan a los representantes autorizados del promotor del estudio, de las agencias reguladoras y al CEIC el acceso directo a la revisión de los datos/documentos registros médicos originales de los pacientes para la verificación de los procedimientos y datos relacionados con el estudio. Este acceso directo incluye la exploración, análisis, verificación y reproducción de cualquier registro o informe que sea importante para la evaluación del estudio. El investigador está obligado a informar y obtener el consentimiento del sujeto para permitir que los representantes designados tengan acceso a sus registros relacionados con el estudio sin quebrantar la confidencialidad del sujeto.

## **17 CONSIDERACIONES PRÁCTICAS**

### **17.1 ENMIENDAS AL PROTOCOLO**

Toda modificación al protocolo acordado deberá ser aprobada por escrito por el promotor y los investigadores implicados y sometido a la evaluación por los CEIC correspondientes y a las autoridades competentes. Se deberán cumplir estos procedimientos antes de poner en marcha cualquier modificación.

### **17.2 ACEPTACIÓN DEL INVESTIGADOR**

Tanto el protocolo inicial como todas las enmiendas que se generen deberán ser aceptados por todos los investigadores principales participantes en el estudio. Para ello, los investigadores firmarán un documento de aceptación del protocolo y las posibles enmiendas realizadas posteriores.

### **17.3 CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**

Existirá un CRD por cada paciente que participe en el estudio. El cuaderno de recogida de datos sólo podrá ser completado por el investigador o la persona en la que haya delegado esta responsabilidad. El centro del investigador confirmará la precisión de todas las secciones del CRD antes del análisis final. El investigador es responsable de garantizar la cumplimentación total y la exactitud de los datos del CRD.

Los pacientes se identificarán mediante el número del centro de estudio y el número secuencial del paciente en dicho centro (UPN). Esto permite conservar el anonimato del paciente.

## **17.4 RESPONSABILIDADES DEL INVESTIGADOR Y EL PROMOTOR**

El promotor entregará el protocolo final aprobado y el formulario final de consentimiento informado del paciente.

El investigador firmará el protocolo para confirmar que comprende y acepta la realización del estudio de la forma descrita en el protocolo.

El promotor garantizará el envío de la documentación correcta, incluido el protocolo del estudio y el formulario de consentimiento informado de los pacientes, a las autoridades competentes. El promotor garantiza la notificación de todas las enmiendas al protocolo y de las actividades del estudio completadas o en curso de forma oportuna y de acuerdo con la legislación local.

El promotor podrá disponer de todos los datos (CRD en copia u original) si lo considera necesario, así como de la base de datos para su análisis.

## **18 CONTROL Y GARANTÍA DE CALIDAD**

### **18.1 MONITORIZACIÓN DEL ESTUDIO**

La garantía de la veracidad de los datos recogidos se comprobará a través de la verificación de los datos registrados. Con el fin de asegurar una calidad excelente de los datos recogidos, se realizará una monitorización constante y en tiempo real de los datos recibidos. Esta monitorización se realizará en 2 fases:

1. Monitorización "*in situ*" en el centro coordinador: una vez recibida la información, antes de introducirla en la base de datos, se procederá a revisar cada CRD para despistaje de incongruencias y emisión de cuestiones sin resolver (*queries*) al centro remitente de datos. Una vez introducida la información en la base de datos, se procederá a realizar y resolver aquellas *queries* que hubieran surgido tras realizar consultas de las tablas de datos con el fin de localizar incongruencias o campos no disponibles.
2. Monitorización telefónica: se procederá a verificar datos mediante consultas telefónicas en todos los centros para verificar y realizar una actualización de reclutamiento y seguimiento de pacientes.

### **18.2 AUDITORIAS E INSPECCIONES**

Este estudio podrá ser auditado por el promotor (o su representante) y/o inspeccionado por la(s) agencia(s) reguladora(s) o las autoridades sanitarias competentes de las comunidades autónomas. Si la(s) agencia(s) reguladora(s) o las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas se pusieran en contacto con un centro en el que se lleve a cabo el estudio para informar acerca de una inspección, deberá informarse inmediatamente al promotor.

El investigador y el centro, deberán garantizar el acceso a todos los datos/documentos del estudio a los auditores/inspectores. En cumplimiento con todas las regulaciones aplicables, se exige que el

investigador y el centro permitan a los representantes autorizados del promotor del estudio, de la(s) agencia(s) reguladora(s) y al CEIC el acceso directo a la revisión de los registros médicos originales de los pacientes para la verificación de los procedimientos y datos relacionados con el estudio. Este acceso directo incluye la exploración, análisis, verificación y reproducción de cualquier registro o informe que sea importante para la evaluación del estudio.

Se atenderá en tales procedimientos a la debida protección de los datos privados de identificación personal de acuerdo a la ley de protección de datos.

## **19 POLÍTICA DE PUBLICACIÓN**

El investigador principal tiene la responsabilidad de publicar los resultados del estudio clínico, tanto positivos como negativos, en revistas científicas y con mención al CEIC que aprobó el estudio, así como a la fuente de financiación. Toda información relacionada con el estudio es considerada confidencial y propiedad del investigador principal hasta su publicación. Se debe garantizar que los datos de un centro no sean publicados antes del estudio completo. Además, en todo momento se garantizará el anonimato de los pacientes participantes en el estudio.

### Condiciones de publicación del grupo PETHEMA

En los trabajos de los estudios de PETHEMA se deberán observar las siguientes indicaciones:

- a) En todos los trabajos se hará constar el nombre de los centros participantes y figurarán como autores los participantes en el diseño, seguimiento, análisis de los resultados y redacción del trabajo.
- b) Los responsables del protocolo serán también los encargados de comunicar los resultados a las reuniones y congresos científicos, así como proceder a la redacción de los trabajos derivados del estudio. En dicho cometido los responsables del protocolo contarán, si lo estiman necesario, con la ayuda en la redacción de los trabajos.
- c) La redacción definitiva del texto del artículo podrá ser sometida a juicio y visto bueno de algún otro miembro de PETHEMA con reconocida experiencia, para que con sus sugerencias y modificaciones mejore la calidad del trabajo. Esta persona podrá figurar como coautor a criterio de los responsables del protocolo. En caso de que no figurara como coautor se deberá mencionar en el apartado de agradecimientos.
- d) La inclusión del *Data Manager* como coautor queda a criterio de los responsables del protocolo.
- e) Tanto el estadístico como el *Data Manager* no se computarán para la determinación de número máximo de autores según la cifra de casos incluidos por centro.

Antes de remitir el trabajo para publicación se enviará una copia a cada uno de los autores para que efectúen las modificaciones que consideren oportunas. En caso de que no exista respuesta, en el plazo máximo que fije el responsable del protocolo, se considerará que se está de acuerdo con el contenido del trabajo. Dado que puede existir un número considerado de autores y que, en algunas ocasiones, las sugerencias pueden ser redundantes, contradictorias o no sustanciales, la versión definitiva del trabajo queda bajo la responsabilidad de las personas que hayan efectuado la redacción del mismo.

## **20 INVESTIGADORES RESPONSABLES DE COMITÉS**

Los comités serán los encargados de editar y actualizar los SOPs, junto al resto de laboratorios centrales, así como de coordinar los estudios traslacionales.

Los comités de NGS, PCR, Citometría y Biobanco estarán compuestos por los respectivos responsables para cada centro arriba descritos (sección 9.7).

### **20.1 COMITÉ DE BIOLOGÍA MOLECULAR (NGS)**

Coordinador: Dr. Joaquín Martínez-López  
Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre  
I+12; CNIO; Univ. Complutense  
Avd de Córdoba s/n. 28041 Madrid  
Centro de Actividades Ambulatorias. Planta Tercera Bloque D  
Tel: +34 917792877  
E-mail: [jmarti01@med.ucm.es](mailto:jmarti01@med.ucm.es)

### **20.2 COMITÉ DE BIOLOGÍA MOLECULAR (PCR)**

Coordinadora: Dra. Eva Barragán  
Unidad de Biología Molecular, Hospital Universitari i Politècnic La Fe  
Avenida Fernando Abril Martorell, 106  
46026 Valencia, España  
Tel: +34 961244589  
Fax: +34 961246201  
E-mail: [barragan\\_eva@gva.es](mailto:barragan_eva@gva.es)

### **20.3 COMITÉ DE CITOMETRÍA DE FLUJO**

Coordinador muestras centralizadas: Dr. Bruno Paiva  
CIMA LAB Diagnostics  
Avda. PIO XII, 55  
31008 Pamplona, España  
Tel: +34 948194700 Ext. 1038  
Fax: +34 948194714  
E-mail: [bpaiva@unav.es](mailto:bpaiva@unav.es)

Coordinadora protocolos estandarización: Dra. María Belén Vidriales  
Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca  
Paseo de San Vicente, 58-182

Código protocolo: PLATAFO-LMA

Fundación PETHEMA

37007 Salamanca, España

Tel: +34 923291100 Ext. 55375

Fax: +34 923294624

E-mail: mbvidri@usal.es

## **20.4 COMITÉ DE BIOBANCO**

Coordinador: Dr. José Cervera

Biobanco La Fe. Torre A Sótano

Hospital Universitari i Politècnic La Fe

Avenida Fernando Abril Martorell, 106; 46026 Valencia

Tel: +34 961246681

Fax: +34 961246201

E-mail: cervera\_jos@gva.es

## **20.5 COMITÉ ESTADÍSTICO Y DE SUPERVISIÓN DE DATOS**

Coordinador: Dr. David Martínez Cuadrón

Servicio de Hematología, Hospital Universitari i Politècnic La Fe

Avda. Fernando Abril Martorell, 106; 46026 Valencia

Tel: +34 961244587 Ext. 411966

Fax: +34 961246201

E-mail: martinez\_davcua@gva.es

Dr. Juan Bergua Burgues

Servicio de Hematología, Hospital San Pedro de Alcántara

Avda. Millán Astray s/n; 10003 Cáceres

Tel: +34 675699735

Fax: +34 927266202

E-mail: jmbergua@icloud.com

Dr. Jose Antonio Pérez-Simón

Servicio de Hematología, Hospital Virgen del Rocío

Edificio de Laboratorios, 5ª planta

Avenida Manuel Siurot s/n

41013 Sevilla, España

Tel: +34 95013260 / +34 955013261

Fax: +34 955013265

E-mail: josea.perez.simon.ssipa@juntadeandalucia.es

Dra. María Pilar Martínez

Código protocolo: PLATAFO-LMA

Fundación PETHEMA

Servicio de Hematología, Hospital 12 de Octubre

Avd de Córdoba s/n.

28041 Madrid

Tel: +34 913908678

E-mail: mpmartinezsa@yahoo.es

Dra. Josefina Serrano López.

UGC de Hematología, Hospital Universitario Reina Sofía

Avda Menéndez Pidal s/n

14004 Córdoba

Tel 1: +34 957010309

Tel 2: +34 957010429

Fax: +34 957010209

E-mail: josefina.serrano@iname.com

Dr. Carlos Rodríguez Medina

Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

Barranco de la Ballena S/N

35019, Las Palmas de Gran Canaria, España

Tel 1: +34 928450486

Fax: +34 928449827

E-mail: hematocritico@yahoo.es

## **20.6 COMITÉ DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Formado por los Investigadores Coordinadores (sección 1.5), los Coordinadores de cada Comité (ver arriba) y, además:**

Dr. Bruno Paiva

CIMA LAB Diagnostics

Avda. PIO XII, 55

31008 Pamplona, España

Tel: +34 948194700 Ext. 1038

Fax: +34 948194714

E-mail: bpaiva@unav.es

Dra. Pilar Herrera Puente

Servicio de Hematología Hospital Ramón y Cajal

Ctra. Colmenar Viejo Km. 9100, Madrid, España

Tel1: +34 913 36 86 86

Fax: +34 923294624

Código protocolo: PLATAFO-LMA

Fundación PETHEMA

E-mail: pherrera.hrc@gmail.com

Dr. Joaquín Sánchez García

Servicio de Hematología Hospital Reina Sofía

Avda Menéndez Pidal s/n

14004 Córdoba

Tel 1: +34 957010387

Tel 2: +34 957010429

Fax: +34 95010209

E-mail: joaquin.sanchez@cheerful.com

Dr. Jorge Labrador Gómez

Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Burgos

Avda. Islas Baleares, 3

09006 Burgos, España

Tel 1: +34 947281964

Tel 2: +34 6472816

Fax: +34 947281612

E-mail: jlabradorg@saludcastillayleon.es

Dra. Maite Gómez Casares

Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

Barranco de la Ballena S/N

35019, Las Palmas de Gran Canaria, España

Tel 1: +34 928450486

Fax: +34 928449827

E-mail: mgomcasf@gobiernodecanarias.org

Dra. Cristina Gil Cortés

Servicio de Hematología, Hospital de Alicante

Maestro Alonso, 109

2202 Alicante, España

Tel: +34 965938348 Ext. 913456

Fax: +34 965908355

E-mail: gil\_cricor@gva.es

Dra. Teresa Bernal del Castillo

Servicio de Hematología, Hospital Central de Asturias

Celestino Villamil, s/n

33006 Oviedo, España

Código protocolo: PLATAFO-LMA

*Fundación PETHEMA*

Tel: +34 985108000

Fax: +34 985108015

E-mail: [teresa.bernal@sespa.es](mailto:teresa.bernal@sespa.es), [bernalcastillo@gmail.com](mailto:bernalcastillo@gmail.com)

## 21 ANEXOS

### ANEXO 1. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA LMA

#### Criterios de diagnóstico de la LMA del grupo Franco-Americano-Británico (FAB)

FAB	Denominación	Características morfológicas
M0	Indiferenciada	<3% blastos mpo+; mieloides por inmunofenotipo o citoquímica (mpo)
M1	Sin maduración	>=3% blastos mpo+, en general sin maduración (blastos tipo I)
M2	Con maduración	Blastos 30 – 89%; >3% blastos mpo+; >10% con granulación. Bastones Auer frecuentes
M3	Promielocítica	>30% promielocitos atípicos. Fuerte positividad a mpo. Múltiples bastones (astillas). Variedad hipogranular o micro-granular (M3v)
M4	Mielomonocítica	>30% de blastos mieloides; >20% de monoblastos y células monocitoides atípicas (esterasas inespecíficas +). Variedad con eosinofilia en MO (M4Eo)
M5	Monoblástica	>80% de infiltración monocitaria: monoblastos (M5a) o pro-monocitos (M5b). Esterasas + (inhibición con fluoruro só-dico). Mieloblastos <20%
M6	Eritroleucemia	Eritroblastos MO >50% celularidad. >=30% de la celularidad no eritroide son blastos 2
M7	Megacariocítica	>30% de blastos. Megacarioblastos por inmunofenotipo (CD41+, CD61+) o por citoquímica (peroxidasa plaquetar). Mielofibrosis asociada

#### Criterios de la LMA según la World Health Organization (WHO 2008)<sup>6</sup>

WHO classification of acute myeloid leukaemias
<b>Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities</b>
Acute myeloid leukaemia with t(8;21)(q22;q22); (RUNX1-RUNX1T1)
Acute myeloid leukaemia with inv(16)(p13;q22) or t(16;16)(p13;q22); (CBFb)/MYH11)
Acute promyelocytic leukaemia (AML with t(15;7)(q22;q12) (PML/RARa)
Acute myeloid leukaemia with t(9;11)(p22;q23); (MLLT3-MLL)
Acute myeloid leukaemia with t(6;9)(p23;q34); (DEK-NUP214)
Acute myeloid leukaemia with inv(3)(q21;q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); (RPN1-EV11)
Acute myeloid leukaemia (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13); (RBM15-MKL1)
AML with gene mutations: FLT3, NPM1, CEPA, KIT, MLL, WT1, NRAS, KRAS
<b>Acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes</b>
Following MDS or MDS/MPN or MDS related cytogenetic abnormalities and absence of AML with recurrent genetic abnormalities
AML with multilineage dysplasia without antecedent
<b>Therapy-related myeloid neoplasms</b>

Alkylating agent-related
Ionizing radiation therapy
Topoisomerase II inhibitors
Other: Antimetabolites. Anitubulin agents
Acute myeloid leukaemia not otherwise categorised
Acute myeloid leukaemia with minimal differentiation (M0)
Acute myeloid leukaemia without maturation (M1)
Acute myeloid leukaemia with maturation (M2)
Acute myelomonocytic leukaemia (M4)
Acute monoblastic and monocytic leukaemia (M5)
Acute erithroid leukaemia: Erythroleukaemia (erithroid/myeloid). Pure erithroid leukaemia (M6)
Acute megakaryoblastic leukaemia (M7)
Acute basophilic leukaemia
Acute panmyelosis with myelofibrosis
Myeloid sarcoma
Myeloid proliferations related to Down syndrome: Transient abnormal myelopoiesis. Myeloid leukaemia associated with Down syndrome
Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
Acute leukaemia of ambiguous lineage
Acute undifferentiated leukaemia
Myxed phenotype acute leukaemia with t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1
Myxed phenotype acute leukaemia with t(v;11q23); MLL rearranged
Myxed phenotype acute leukaemia, B/myeloid, NOS
Myxed phenotype acute leukaemia, T/myeloid, NOS
Myxed phenotype acute leukaemia, NOS – rare types
Other ambiguous lineage leukaemias
Natural killer cell lymphoblastic leukaemia/ lymphoma

**ANEXO 2. FORMULARIO DE ENVÍO DE MUESTRAS**

	<b>ENVÍO Y RECEPCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b>	
	Código del estudio: <b>PLATAFO-LMA/RAPID-LAM</b>	
Título: <b>DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL Y RÁPIDO PARA MEDICINA PERSONALIZADA EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA</b>		
Promotor: <b>FUNDACIÓN PETHEMA</b>		
<b>DATOS DEL SOLICITANTE</b>		
Dr:		Hospital de procedencia:
Correo electrónico:		Teléfono:
<b>IDENTIFICACION PACIENTE</b>		
UPN:	999990035	SEXO: Varon
Fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa):	08/03/1979	Fecha de diagnóstico inicial (1er aspirado MO) (dd/mm/aaaa): 03/03/2021
<b>DATOS RELATIVOS A LA MUESTRA</b>		
Fecha y hora de extracción (dd/mm/aaaa):	14/04/2021	
Momento del estudio actual:	Diagnóstico inicial	
Médula Ósea	1 tubo 3 mL para biología molecular 1 tubo 3 mL para biobanco	
Sangre Periférica	1 tubo 5-10 mL para biología molecular 1 tubo 5-10 mL para biobanco	
Suero	1 tubo 5-10 mL para biobanco	
Comentarios:	teste 3434	
<b>INSTRUCCIONES DE ENVIO</b>		
Envíos de lunes a jueves excepto festivos y vísperas de festivo		
Mensajería MRW llamar al teléfono 915341924-636660799 ()		
Fundación PETHEMA nº abonado: 77159 Código de proyecto: PLATAFO-LMA		
Dirección del laboratorio de referencia:		
<b>Confirmo que el paciente ha firmado el consentimiento informado y esto ha quedado documentado en la historia clínica del paciente:</b>		
Firma	Fecha (dd/mm/aaaa):	
<b>A LA RECEPCIÓN DE LA MUESTRA</b>		
Firma	Fecha y hora de recepción (dd/mm/aaaa):	

**ANEXO 3. LISTADO DE CENTROS PARTICIPANTES Y LABORATORIOS CENTRALES**

UPN PLATAFO-LMA	Hospital	Laboratorio central
34001	Hospital Virgen de los Lirios Alcoy	Hospital U. La Fe
34007	Hospital Virgen de la Luz (Cuenca)	Hospital U. La Fe
34008	Hospital Manises	Hospital U. La Fe
34009	Hospital Universitario de La Ribera	Hospital U. La Fe
34010	Hospital La Fe	Hospital U. La Fe
34015	Hospital Clínico Universitario (Valencia)	Hospital U. La Fe
34016	Hospital General de Alicante	Hospital U. La Fe
34017	Hospital Universitario Cruces	Hospital U. La Fe
34020	Hospital U. Germans Trias i Pujol - ICO Badalona	Hospital U. La Fe
34024	Complejo Hospitalario Torrecárdenas	Hospital U. La Fe
34025	Hospital Universitario Basurto	Hospital U. La Fe
34031	Hospital U. Vall D'Hebron	Hospital U. La Fe
34032	Hospital Dr. Peset	Hospital U. La Fe
34034	Hospital General Universitario Morales Meseguer	Hospital U. La Fe
34038	Hospital Central de Asturias	Hospital U. La Fe
34039	Hospital General de Albacete	Hospital U. La Fe
34040	Hospital Clínic	Hospital U. La Fe
34041	Hospital Son Espases	Hospital U. La Fe
34047	Hospital Sant Pau	Hospital U. La Fe
34050	Hospital de Tarragona "Joan XXIII"	Hospital U. La Fe
34053	Hospital General de Castellón	Hospital U. La Fe
34054	Hospital San Pedro de Alcántara	Hospital U. La Fe
34057	Hospital del Mar	Hospital U. La Fe
34059	ICO Girona (Hospital Universitario Dr. Josep Trueta)	Hospital U. La Fe
34060	Hospital U. Virgen de la Arrixaca	Hospital U. La Fe
34070	Hospital Mutua de Terrassa	Hospital U. La Fe
34075	Hospital General de Valencia	Hospital U. La Fe
34078	Hospital Santa María del Rossell	Hospital U. La Fe
34081	Hospital de Tortosa	Hospital U. La Fe
34085	Hospital Son Llàtzer	Hospital U. La Fe
34089	ICO Hospitalet	Hospital U. La Fe
34099	Hospital Arnau de Vilanova	Hospital U. La Fe
34100	Hospital Francesc de Borja (Gandía)	Hospital U. La Fe
34101	Hospital Casa de Salud	Hospital U. La Fe
34102	Hospital General Universitario Los Arcos del Mar Menor	Hospital U. La Fe
34109	Hospital de Sagunto	Hospital U. La Fe
34110	IVO (Instituto Valenciano de Oncología)	Hospital U. La Fe
34112	Hospital de Cruces (Pediatria)	Hospital U. La Fe
34118	Hospital General U. Santa Lucía de Cartagena	Hospital U. La Fe
34123	Hospital General Universitario de Elche	Hospital U. La Fe
34126	Hospital Torrevieja Salud	Hospital U. La Fe
34127	Hospital Universitario del Vinalopó	Hospital U. La Fe

34129	Hospital Universitario Donostia	Hospital U. La Fe
34132	Hospital Marina Baixa Villajoyosa	Hospital U. La Fe
34133	Hospital General de Elda	Hospital U. La Fe
34136	Hospital de Denia-Marina Salud	Hospital U. La Fe
34137	Hospital Don Benito-Villanueva	Hospital U. La Fe
34138	Hospital de la Vega Baja de Orihuela	Hospital U. La Fe
34139	Consortio Hospitalario Provincial de Castellón	Hospital U. La Fe
34140	Hospital Comarcal de Vinaròs	Hospital U. La Fe
34141	Hospital General de Requena	Hospital U. La Fe
34142	Hospital Público Lluís Alcanyís De Xàtiva	Hospital U. La Fe
34144	Hospital Gutiérrez Ortega de Valdepeñas	Hospital U. La Fe
34145	Hospital General La Mancha Centro	Hospital U. La Fe
34152	Hospital Obispo Polanco	Hospital U. La Fe
34153	Hospital Quirónsalud Málaga	Hospital U. La Fe
34159	Hospital Quirón Salud Zaragoza	Hospital U. La Fe
34161	Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida	Hospital U. La Fe
34162	Hospital Universitari de La Plana	Hospital U. La Fe
34164	Hospital San Juan De Alicante	Hospital U. La Fe
34164	Hospital San Juan de Alicante	Hospital U. La Fe
34171	Hospital Virgen del Castillo	Hospital U. La Fe
34172	Hospital Sant Joan de Déu	Hospital U. La Fe
34171	Hospital Virgen del Castillo (Murcia)	Hospital U. La Fe
34003	Hospital Universitario Miguel Servet	Hospital U. de Salamanca
34013	Hospital Lucus Augusti (Lugo)	Hospital U. de Salamanca
34014	Hospital U. de Salamanca (Grupo Clínico)	Hospital U. de Salamanca
34027	Hospital Clínico de Valladolid	Hospital U. de Salamanca
34028	Hospital Juan Canalejo	Hospital U. de Salamanca
34030	Hospital Universitario Río Hortega	Hospital U. de Salamanca
34037	Hospital Universitario de León	Hospital U. de Salamanca
34044	Hospital Álvaro Cunqueiro	Hospital U. de Salamanca
34051	Complejo Asistencial Universitario de Palencia (Hospital Río Carrión)	Hospital U. de Salamanca
34061	Complejo Hospitalario Pontevedra	Hospital U. de Salamanca
34067	Hospital General de Segovia	Hospital U. de Salamanca
34073	Hospital Ntra. Sra. de Sonsoles de Ávila	Hospital U. de Salamanca
34088	Hospital POVISA	Hospital U. de Salamanca
34095	Hospital Virgen de la Concha	Hospital U. de Salamanca
34104	Hospital Universitario de Burgos	Hospital U. de Salamanca
34111	Hospital Comarcal de Valdeorras	Hospital U. de Salamanca
34114	Hospital Comarcal de Bierzo	Hospital U. de Salamanca
34115	Hospital Virgen del Mirón de Soria	Hospital U. de Salamanca
34116	Hospital Santos Reyes	Hospital U. de Salamanca
34135	Complejo Hospitalario de Ourense (CHOU)	Hospital U. de Salamanca
34023	Santiago de Compostela	Hospital U. de Salamanca
34035	Hospital Clínico U. Lozano Blesa	Clínica U. Navarra
34043	Hospital U. Virgen de la Victoria	Clínica U. Navarra
34045	Hospital Universitario Araba	Clínica U. Navarra
34055	Hospital San Jorge	Clínica U. Navarra

34093	Hospital Galdakao-Usansolo	Clínica U. Navarra
34108	Clínica Universitaria de Navarra	Clínica U. Navarra
34130	Hospital San Pedro de Logroño	Clínica U. Navarra
34147	Hospital de Alcañiz	Clínica U. Navarra
34148	Hospital de Barbastro	Clínica U. Navarra
34149	Hospital Royo Villanova Zaragoza	Clínica U. Navarra
34154	Hospital Ernest Lluch Martin	Clínica U. Navarra
34155	Hospital Santiago Apóstol (Miranda del Ebro, Burgos)	Clínica U. Navarra
34026	Hospital Reina Sofía	Hospital Reina Sofía
34042	Hospital General Ciudad de Jaén	Hospital Reina Sofía
34068	Hospital Regional de Málaga (Carlos Haya)	Hospital Reina Sofía
34124	Complejo Hospitalario Universitario Granada	Hospital Reina Sofía
34134	Hospital Vithas Xanit Internacional	Hospital Reina Sofía
34156	Hospitales HUVN-HC San Cecilio de Granada	Hospital Reina Sofía
34000	Hospital Sanitas La Zarzuela	Hospital 12 de Octubre
34002	Hospital Virgen de la Salud de Toledo	Hospital 12 de Octubre
34004	Hospital Universitario Quirón Pozuelo	Hospital 12 de Octubre
34005	Hospital Infanta Leonor	Hospital 12 de Octubre
34006	Hospital Nuestra Señora del Prado	Hospital 12 de Octubre
34012	Hospital Clínico San Carlos	Hospital 12 de Octubre
34019	Hospital Ramón y Cajal	Hospital 12 de Octubre
34023	Hospital Santiago de Compostela	Hospital 12 de Octubre
34029	Hospital Universitario Severo Ochoa	Hospital 12 de Octubre
34033	Hospital 12 de Octubre (Clínica)	Hospital 12 de Octubre
34049	Complejo Hospitalario de Navarra	Hospital 12 de Octubre
34052	Hospital Universitario Marqués de Valdecilla	Hospital 12 de Octubre
34062	Fundación Jiménez Díaz	Hospital 12 de Octubre
34064	Hospital U. Príncipe de Asturias	Hospital 12 de Octubre
34065	Hospital U. La Paz	Hospital 12 de Octubre
34066	Hospital General Universitario Gregorio Marañón	Hospital 12 de Octubre
34071	Hospital Puerta de Hierro	Hospital 12 de Octubre
34072	Hospital Universitario de La Princesa	Hospital 12 de Octubre
34074	Hospital Madrid Norte Sanchinarro	Hospital 12 de Octubre
34076	Clínica San Miguel	Hospital 12 de Octubre
34079	Hospital Universitario HM Montepríncipe	Hospital 12 de Octubre
34082	Hospital Universitario de Fuenlabrada	Hospital 12 de Octubre
34083	Hospital Universitario de Guadalajara	Hospital 12 de Octubre
34084	Hospital Infanta Sofía de San Sebastián de los Reyes	Hospital 12 de Octubre
34103	Hospital HLA Universitario Moncloa	Hospital 12 de Octubre
34120	Hospital Sanitas Torrejón	Hospital 12 de Octubre
34122	Hospital Santa Bárbara (Puertollano)	Hospital 12 de Octubre
34128	MD Anderson Cancer Center Madrid	Hospital 12 de Octubre
34131	Hospital Universitario de Getafe	Hospital 12 de Octubre
34143	Hospital General de Ciudad Real	Hospital 12 de Octubre
34150	Hospital Universitario de Móstoles	Hospital 12 de Octubre
34151	Hospital Universitario Fundación Alcorcón	Hospital 12 de Octubre
34160	Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla	Hospital 12 de Octubre

34170	Hospital Rey Juan Carlos de Móstoles	Hospital 12 de Octubre
34145	Hospital General La Mancha Centro	Hospital 12 de Octubre
34157	Hospital Universitario Moncloa	Hospital 12 de Octubre
34158	Hospital Ruber Internacional	Hospital 12 de Octubre
34056	Hospital U. del Aire (Madrid)	Hospital 12 de Octubre
34069	Hospital Niño Jesús (Madrid)	Hospital 12 de Octubre
34146	Hospital Virgen de Altagracia (Ciudad Real)	Hospital 12 de Octubre
34036	Hospital General Jerez de la Frontera	Hospital U. Virgen del Rocío
34046	Hospital U. Puerta del Mar	Hospital U. Virgen del Rocío
34080	Hospital U. Virgen del Rocío (Clínica)	Hospital U. Virgen del Rocío
34087	Hospital Juan Ramón Jiménez Huelva	Hospital U. Virgen del Rocío
34098	Hospital U. Virgen Macarena	Hospital U. Virgen del Rocío
34107	Hospital Virgen de Valme	Hospital U. Virgen del Rocío
34113	Hospital Campo Arañuelo	Hospital U. Virgen del Rocío
34117	Hospital Virgen Del Puerto Plasencia	Hospital U. Virgen del Rocío
34125	Hospital Universitario de Badajoz	Hospital U. Virgen del Rocío
34137	Hospital Don Benito-Villanueva	Hospital U. Virgen del Rocío
34163	Hospital San Agustín (Sevilla)	Hospital U. Virgen del Rocío
34018	Hospital Insular de las Palmas	Hospital U. Dr. Negrín
34021	Hospital Universitario Dr. Negrín	Hospital U. Dr. Negrín
34090	Hospital Universitario de Canarias	Hospital U. Dr. Negrín
34092	Hospital Doctor José Molina Orosa (Lanzarote)	Hospital U. Dr. Negrín
34096	Hospital General de La Palma	Hospital U. Dr. Negrín
34121	Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria	Hospital U. Dr. Negrín
35010	Centro Hospitalar São João	Hospital Coimbra
35011	Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE	Hospital Coimbra
35012	Instituto Português Oncologia do Porto Francisco Gentil, EPE	Hospital Coimbra
35013	IPOFG Lisboa (Portugal)	Hospital Coimbra
35014	Hospital de Santa Maria-Lisboa	Hospital Coimbra

#### **ANEXO 4. BIBLIOGRAFÍA**

- 1- Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010 Jan 21;115(3):453-74.
- 2- Ley TJ, Mardis ER, Ding L, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature*. 2008 Nov 6;456(7218):66-72.
- 3- Miller CA, Wilson RK, Ley TJ. Genomic landscapes and clonality of de novo AML. *N Engl J Med*. 2013 Oct 10;369(15):1473.
- 4- Juliusson G, Antunovic P, Derolf Å, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009;113(18):4179-4187.
- 5- Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017 Jan 26;129(4):424-447
- 6- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 Revision of the World Health Organization (WHO) Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: Rationale and Important Changes. *Blood* 2009;114(5):937-951.
- 7- Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. *J Clin Oncol*. 2010 Aug 1;28(22):3636-43.

**22 GLOSARIO**

<b>Abreviatura</b>	<b>Definición</b>
AA	Acontecimiento Adverso
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
CEBPa	"CCAAT/enhancer-binding protein alpha"
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
CIR	Incidencia Acumulada de Recaída
CRD	Cuaderno de Recogida de Datos
DFS	Supervivencia Libre de Enfermedad
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
EFS	Supervivencia Libre de Evento
EMR	Enfermedad Mínima Residual
FAB	French-American-British
FLT3	"FMS-like tyrosine kinasa 3"
ICH	"International Conference on Harmonisation"
LMA	Leucemia Mieloblástica Aguda
min	minuto
ml	mililitro
MO	Médula Ósea
NGS	"Next Generation Sequencing"
NPM1	Nucleofosmina
qRT-PCR	Quantitative RT-PCR
OS	Supervivencia Global
PBMCS	Células Mononucleares de Sangre Periférica
PBS	"Phosphate Buffered Saline"
RC	Remisión Completa
RCi	Remisión Completa con recuperación incompleta
RFS	Supervivencia Libre de Recaída
RP	Remisión Parcial
SOPs	Procedimientos Operativos Estándar

<b>Abreviatura</b>	<b>Definición</b>
AA	Acontecimiento Adverso
SP	Sangre Periférica
SVN	Variaciones de un solo nucleótido
T <sup>a</sup>	Temperatura
TGCA	"Cancer Genome Atlas"
UPN	Número de Identificador Único
WHO	World Health Organization