



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título

Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple.

Alumno: ANTONIO JOSÉ PALMA VALLELLANO

Tutor: PASCUAL FERNÁNDEZ ABELLÁN

Curso: 2018-2019

Fdo. : Antonio J. Palma V.

Fdo: Pascual Fernández Abellán

INDICE:

| | |
|---|----|
| ✚ Aspectos preliminares: | |
| ○ RESUMEN / PALABRAS CLAVE | 3 |
| ○ ABSTRACT / KEY WORDS | 4 |
| ✚ Cuerpo del TFM: | |
| ○ INTRODUCCIÓN. ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN | 5 |
| ○ HIPÓTESIS | 8 |
| ○ OBJETIVOS | 8 |
| ○ METODOLOGÍA | 9 |
| • Diseño del estudio | 9 |
| • Lugar de realización del estudio | 9 |
| • Tiempo de ejecución | 9 |
| • Sujetos: criterios de inclusión y exclusión | 10 |
| • Tamaño de la muestra y procedimientos | 10 |
| • Consideraciones asistenciales y definición de variables | 11 |
| • Relación de variables a estudio | 13 |
| • Metodología para la recogida de variables | 14 |
| • Análisis de datos | 15 |
| • Dificultades y limitaciones | 16 |
| ○ ASPECTOS ÉTICOS | 16 |
| ○ PLAN DE TRABAJO | 18 |
| ○ PRESUPUESTO | 20 |
| ○ JUSTIFICACIÓN Y VIABILIDAD DEL PROYECTO | 21 |
| ✚ Bibliografía | 23 |
| ✚ Anexos | 26 |

RESUMEN.

El mieloma múltiple es una neoplasia caracterizada por la proliferación de células plasmáticas en la médula ósea para la que el autotrasplante de progenitores hematopoyéticos continúa siendo uno de los pilares del tratamiento. Este procedimiento está basado en el empleo de altas dosis de quimioterapia con efecto mieloablativo por lo que es imprescindible la administración de progenitores hematopoyéticos autólogos, previamente extraídos por un procedimiento de aféresis y criopreservados, con el fin de reconstituir nuevamente la función medular e inmunológica. Diversos estudios han demostrado que una reconstitución inmunológica temprana con recuperación de la cifra de linfocitos totales precoz tras el trasplante se asocia a una mejora en los datos de supervivencia, indicativo de una posible actividad antitumoral, si bien existen pocos datos en relación a los subtipos linfocitarios responsables de este efecto inmune. Con el presente estudio se pretende determinar el significado clínico de una recuperación precoz de la subpoblación de linfocitos NK en la evolución del mieloma tras un autotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Para ello se ha diseñado un estudio prospectivo con el que valoraremos la supervivencia libre de progresión de los pacientes en función de si alcanzan o no dicha recuperación precoz, definida como la cifra de linfocitos NK $\geq 80/\text{mcl}$ en el día +15 o $\geq 200/\text{mcl}$ en el día + 30 del trasplante. Adicionalmente analizaremos qué factores pueden estar asociados a esta recuperación precoz de linfocitos NK dado que podrían suponer dianas de actuación terapéutica.

Palabras clave:

Autotrasplante de progenitores hematopoyéticos; recuento absoluto de linfocitos; células Natural Killer; mieloma múltiple; supervivencia libre de progresión.

ABSTRACT

Multiple myeloma is a neoplasm characterized by the proliferation of plasma cells in the bone marrow for which autologous hematopoietic progenitor cells transplant continue to be one of the treatment mainstays. This procedure is based on the administration of high doses chemotherapy with a myeloablative effect, so it is essential the administration of the previously drawn and cryopreserved hematopoietic progenitors cells in order to reconstitute marrow and immunological functions. Several studies have shown that an early immunological postransplant reconstitution with a premature total lymphocytes number recovery is associated with an improvement in survival data, which may be synonym of an antitumor activity. Anyway there are limited data available about the lymphocyte subtypes responsible for this immune effect so the purpose of this study is to analyze the clinical significance of an early NK lymphocyte subpopulation recovery in mieloma patients after autologous hematopoietic progenitor cell transplant. To achieve this objective, we have designed a prospective study to assess the postransplant progression-free survival of patients according to the early NK recovery, defined as the NK lymphocyte cell count $\geq 80/\text{mcl}$ on day +15 or ≥ 200 on day + 30 postransplant. Additionally, we will analyze possible factors that could be associated to this early NK lymphocytes recovery in such a way that they could suppose therapeutic targets.

Key words:

Absolute lymphocyte count; autologous stem cell transplantation; Natural Killer cells; Multiple myeloma; survival.

INTRODUCCIÓN. ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN.

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia caracterizada por la proliferación de células plasmáticas en la médula ósea que conduce a la destrucción ósea y fallo de la función medular. Dichas células son productoras de una paraproteína monoclonal detectable habitualmente en un proteinograma sérico y/o urinario. De forma característica la enfermedad conducirá a fallo renal, hipercalcemia, anemia y lesiones óseas líticas y hasta la fecha continúa considerándose incurable.¹

Entre los principales factores pronósticos adversos se encuentran la edad avanzada y la comorbilidad, parámetros bioquímicos como la LDH y beta2-microglobulina elevadas, una pobre respuesta al tratamiento y la presencia de alteraciones citogenéticas calificadas como adversas: t(4;14), del(17p), t(14;16), +1q y cariotipo complejo.² Dichos factores han confluído en la elaboración de un sistema pronóstico internacional (ISS-R)³ de aplicación al diagnóstico y que permite clasificar a los pacientes en tres categorías de riesgo.

El tratamiento para el MM está en continua evolución, muestra de lo cual son las nuevas terapias de las que disponemos hoy en día, basadas en moléculas con diferentes mecanismos de acción (inhibidores de proteosoma, anticuerpos monoclonales e inmunomoduladores). Su empleo, ya sea en monoterapia, con esteroides o en diferentes combinaciones está proporcionando a los pacientes con MM medianas de supervivencia de hasta 8 – 10 años^{4,5} con previsiones a medio plazo muy optimistas en cuanto a mejorar estos resultados.

El advenimiento de dichos fármacos no ha sido óbice para que el autotrasplante de progenitores hematopoyéticos continúe considerándose un estándar de tratamiento tras la terapia inicial de inducción en pacientes elegibles por edad (< 70 años) y ausencia de comorbilidad significativa.^{6,7} Este procedimiento está basado en la administración de altas dosis de quimioterapia, habitualmente melfalán, lo cual conlleva la potencial eliminación de células mielomatosas resistentes a dosis convencionales de fármacos. Su contrapartida es un importante efecto mieloablativo, hasta el punto de requerir del rescate de la función medular con progenitores hematopoyéticos (PH) previamente extraídos de y criopreservados, los cuales serán infundidos una vez se administren las altas dosis de melfalán. Con ello se restituirá nuevamente la función medular e inmunológica.

La extracción de PH para el trasplante se realiza habitualmente de sangre periférica por un procedimiento de aféresis tras estimulación medular con factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF), solo o en combinación con quimioterapia, en lo que viene a denominarse movilización de PH.⁸ La cantidad de PH mínima a infundir para conseguir un buen injerto se ha establecido en 2×10^6 células CD34 positivas (CD34+) por kg de peso del receptor. Se considera que existe fallo de movilización si la concentración de células CD34+ preaféresis es baja (generalmente por debajo de $10\text{-}15/\mu\text{L}$) con previsión de una recolección insuficiente, en cuyo caso puede emplearse plerixafor.⁹⁻¹¹ Este fármaco es un antagonista del receptor CXCR4 de las células progenitoras hematopoyéticas que actúa bloqueando la unión al factor de células estromales (SDF1 α) de médula ósea, facilitándose con ello la liberación de los progenitores al torrente sanguíneo. El resultado es la obtención de un producto de aféresis con mayor celularidad CD34+, además de mayor proporción de linfocitos T, linfocitos B y linfocitos NK en comparación con la ausencia de su uso.¹²

La reconstitución linfocitaria precoz tras el auto-TPH se ha relacionado con una evolución clínica favorable en pacientes con linfoma¹³⁻¹⁵ y mieloma.^{16,17} Porrata et al¹⁸ demostraron en un estudio prospectivo de pacientes trasplantados por linfoma no Hodgkin (LNH) que un recuento absoluto de linfocitos mayor de $500/\mu\text{L}$ en el día + 15 (ALC-15) tras el auto-TPH estaba asociado a supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) superiores comparado con $\text{ALC} < 500/\mu\text{L}$. Jimenez-Zepeda et al.¹⁹ por su parte determinaron de forma retrospectiva en pacientes con mieloma que un recuento linfocitario $\geq 1.400/\mu\text{L}$ en los días 0, +15 y + 90 tras el auto-TPH se correlacionaba de forma significativa con una mayor SG tras el trasplante.

Algunos estudios han evaluado además el subtipo linfocitario cuya recuperación temprana parece relacionarse de manera más consistente con una mejora en los datos de supervivencia tras el trasplante. En el estudio citado de Porrata, los pacientes con un recuento de linfocitos NK (CD3-/CD56+/CD16+) superior a $80/\mu\text{L}$ en el día + 15 post-trasplante alcanzaron una SLP y SG significativamente superiores a aquellos con cifra menor a $80/\mu\text{L}$, datos que no pudieron ser corroborados para el resto de subtipos de linfocitos, tanto T (CD3+CD8+ y CD3+/CD4+) como B (CD19+). Conclusiones similares obtuvieron Rueff et al.¹⁷ en pacientes con mieloma múltiple: una cifra de linfocitos NK menor de $100/\mu\text{L}$ el día +30 tras auto-TPH se asoció a una mediana de SLP de 2.2 meses, comparado con 11.2 meses en pacientes cuya cifra estaba entre 100 y

200/ μ L o era mayor de 200/ μ L ($p=0.001$). En este mismo estudio el recuento de linfocitos T CD3+/CD8+, linfocitos T CD3+/CD4+ y linfocitos B en el día + 30 post-trasplante tampoco demostraron influir sobre los datos de supervivencia.

Este hecho plantea la posibilidad de que el auto-TPH no sólo sea un medio para restablecer la hematopoyesis tras la administración de altas dosis de quimioterapia sino que además suponga una forma de reconstitución inmune con potencial actividad antitumoral, al igual que sucede con el efecto injerto contra tumor del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.²⁰

En cualquier caso no sólo existe escasa bibliografía al respecto sino que además el papel favorable que pueda jugar la recuperación precoz de los linfocitos NK tras el trasplante en una posible actividad antineoplásica no ha sido reproducido de forma constante en algunos de los trabajos publicados. Valtola et al.²¹ realizaron un estudio prospectivo en pacientes con mieloma sobre el papel que jugaba la ciclofosfamida como agente movilizador de células CD34+ en el producto de aféresis y en la propia evolución de la enfermedad postrasplante y una de las conclusiones fue que los pacientes del brazo en el que no se empleó ciclofosfamida obtuvieron una recuperación más temprana de linfocitos totales y linfocitos NK sin que este hecho tuviese traducción en una mejor SLP. A ello se une los aún más escasos estudios que intentan determinar los factores asociados a una óptima reconstitución inmune, sobre todo en enfermos con mieloma.

Por tanto una cuestión aún no plenamente resuelta es el papel que la reconstitución inmune post auto-trasplante pueda jugar en la evolución de pacientes hematológicos, y sobre todo el valor que pueda tener una recuperación precoz de linfocitos NK. Su evaluación se hace hoy en día mucho más compleja e interesante si tenemos en cuenta el creciente uso del fármaco plerixafor como agente movilizador y su influencia en la composición del producto de aféresis, así como el empleo de los nuevos fármacos antineoplásicos.

HIPÓTESIS

Se plantean como hipótesis de estudio que los pacientes con Mieloma Múltiple a los que se les realiza un autotrasplante de progenitores hematopoyéticos presentarán una evolución clínica más favorable si se produce una reconstitución inmune precoz postrasplante, en base fundamentalmente a la recuperación temprana de linfocitos NK, y que dicha recuperación de células NK viene determinada por las características de la enfermedad, el tratamiento recibido por el paciente y el método de movilización.

OBJETIVOS

- Valorar el efecto sobre la evolución del mieloma de una recuperación de linfocitos NK precoz tras el autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en términos de supervivencia libre de progresión. Adicionalmente y de forma secundaria, valorar el efecto de la recuperación de linfocitos totales.
- Determinar los factores asociados a una recuperación de linfocitos NK precoz tras el autotrasplante según:
 - características biológicas de la propia enfermedad;
 - el tipo de terapia pretrasplante;
 - la metodología y resultados de la movilización.

METODOLOGÍA

- **Diseño de estudio.**

Para la consecución de los objetivos se realizará un estudio observacional prospectivo diseñado para llevar a cabo un seguimiento de los pacientes diagnosticados de mieloma múltiple a los que se les realizan un autotrasplante de progenitores hematopoyéticos con el fin de determinar la supervivencia libre de progresión (SLP) en función de si existe o no una recuperación linfocitaria precoz definida por la cifra de linfocitos NK tras el trasplante.

Paralelamente se analizarán los parámetros biológicos propios de la enfermedad, el tipo de terapia pretrasplante y la metodología de movilización con el fin de identificar factores predictores de una recuperación precoz de linfocitos NK.

- **Lugar de realización del estudio.**

El estudio se llevará a cabo en el Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva el cual es referencia de otros dos hospitales comarcales. El estudio diagnóstico y la atención inicial de los pacientes con MM se realizan en los 3 centros sanitarios citados si bien el autotrasplante de progenitores hematopoyéticos se lleva a cabo de forma centralizada en el primero de ellos y lugar de realización del estudio. El área de influencia para la realización de este tipo de terapia es por tanto toda la provincia, la cual alcanza una población aproximada de 525.000 habitantes.

- **Tiempo de ejecución.**

La estimación de autotrasplantes por MM en nuestro centro dado la casuística reciente y las indicaciones aceptadas según protocolos en cuanto a límites de edad y comorbilidad es de aproximadamente 13 a 15 procedimientos anuales. Teniendo en cuenta la necesidad de realizar un seguimiento para establecer datos de SLP se establece un tiempo de ejecución del estudio de 5 años. En este periodo se espera reclutar en los primeros 4 años entre 52 y 60 pacientes, quedando a criterio del investigador ampliar este periodo en función de los recursos disponibles y número de pacientes que se vayan incorporando al estudio.

- **Sujetos: criterios de inclusión y exclusión.**

Criterios de inclusión: pacientes mayores de 18 años diagnosticados de MM sintomático según los criterios de “International Myeloma Working Group. 2014”²² en la provincia de Huelva que reciban un autotrasplante de progenitores hematopoyéticos y admitan su inclusión en el estudio tras la firma del correspondiente Consentimiento Informado. Adicionalmente se aceptarán a aquellos pacientes que se realicen un segundo autotrasplante cuando este forme parte de una estrategia de tratamiento de autotrasplante “en tándem”.

Criterios de exclusión:

- pacientes que presenten algún diagnóstico previo de cualquier tipo de inmunodeficiencia no asociada al mieloma;
- pacientes en los que como complicación del trasplante se produzca un fallo de implante, definido como no alcanzar > 500 neutrófilos totales/ μL y > 20.000 plaquetas/ μL en el día +28 junto con hemoglobina < 8.0 gr/dl con requerimiento de soporte transfusional.

- **Tamaño de la muestra y procedimientos.**

El cálculo del tamaño de la muestra se ha realizado con el programa Epidat 4.2. Está basado en los datos de SLP ofrecidos por otros estudios en los que se ha comparado la evolución de los pacientes en función de la existencia o no de una recuperación linfocitaria precoz. Si bien existen diferencias entre dichos estudios en cuanto a la cifra de linfocitos empleadas para la comparación, el subtipo de linfocitario (linfocitos NK o linfocitos totales) y el día en que alcanzan dicha cifra, pueden asumirse los siguientes datos para el cálculo de la muestra:

- SLP para el grupo de recuperación linfocitaria precoz de un 50% *versus* 15% (razón entre muestras 3%).
- Pérdidas 5%.
- Nivel de confianza 95%.
- Potencia 80%.

Con los datos expuestos se estima que con una muestra de 58 pacientes pueden alcanzarse diferencias entre medianas de SLP significativas.

- **Consideraciones asistenciales y definición de variables.**

Estudio diagnóstico inicial: Al diagnóstico se deben seguir las recomendaciones generales de estudio de pacientes con mieloma según el protocolo del centro, lo cual permitirá recabar los datos contemplados en las variables del estudio. Ello incluye: panel bioquímico general incluido LDH y beta2-microglobulina, hemograma, mapa óseo, estudio medular con aspirado, inmunofenotipo y FISH con sondas para las alteraciones citogenéticas más habituales en pacientes con mieloma.

Tratamiento pretrasplante. El tratamiento de inducción y soporte podrá estar basado en cualquiera de las terapias recomendadas en las guías de consenso internacional. Independientemente del que se emplee no será en ningún caso motivo de exclusión de un paciente.

Aféresis de progenitores hematopoyéticos (PH) y análisis del producto de aféresis. A todos los pacientes se les realizará la movilización de progenitores hematopoyéticos según el protocolo de trabajo habitual establecido en el centro, el cual incluye la opción de emplear el fármaco Plerixafor en pacientes “malos movilizadores”. Se define como tal a aquellos con un recuento en sangre de células CD34+ preaféresis menor de $15/\mu\text{L}$ o bien con una recolección de células CD34+ esperada en una única sesión de aféresis $<$ de 2×10^6 /Kg de peso corporal. Previo a aféresis se realizará la cuantificación en sangre de linfocitos totales, linfocitos NK y de células CD34+. Los procedimientos de aféresis de PH se realizarán con un Separador AMICUS FENWALL según los protocolos del centro, basados en las instrucciones de manejo del fabricante y con los parámetros de software optimizados para la recolección de células mononucleares. La recolección mínima de células CD34+ requerido para considerar al paciente para trasplante será de 2×10^6 CD34+/Kg de peso corporal. El recuento de linfocitos y de células CD34+ preaféresis en el paciente así como como el análisis del producto de aféresis se realizarán por citometría de flujo con el pack de reactivos “Stem-Kit™ Reagents” de Beckman-Coulter siguiendo las instrucciones del fabricante y aplicando los controles de calidad recomendados por el mismo. Los parámetros a evaluar en el producto de aféresis serán las cifras absolutas de

células CD34+, así como las cifras absolutas de linfocitos totales y la de linfocitos NK (CD3-/CD56+/CD16+).

Autotrasplante de progenitores hematopoyéticos y terapia postrasplante. Se seguirán los protocolos establecidos en el Servicio de Hematología. Cualquier cambio futuro en los mismos no será motivo de exclusión de los pacientes ni de finalización del estudio. Por tanto el tratamiento de acondicionamiento para el trasplante estará basado en el agente alquilante melfalán vía intravenosa a dosis de 200 mg/m² excepto que exista una comorbilidad destacada (HCT-CI score >3, edad > 65 años o creatinina basal menor de 1.5 mg/dl, en cuyo caso la dosis de melfalán a emplear será de 140 mg/m². La celularidad CD34+ mínima a infundir como rescate tras el acondicionamiento será de al menos 2x10⁶ células CD34+/Kg de peso corporal. Se podrá emplear profilaxis antifúngica y antibiótica a criterio de clínico responsable del trasplante. Todos los pacientes podrán recibir G-CSF a partir del día +5 o +6 del trasplante.

Definición de recuperación linfocitaria precoz y seguimiento postrasplante. Se realizarán recuentos hematimétricos previo a la administración de melfalán (en el día -3 o día -2 del trasplante) así como en los días +15 y +30 postrasplante. Dichos recuentos incluirán la cuantificación de la cifra absoluta de linfocitos totales (Linf-tot.) (CD3+, incluyendo las subpoblaciones CD4+ y CD8+) y la subpoblación de linfocitos NK (Linf-NK) (CD3-/CD56+/CD16+). La definición de “recuperación linfocitaria NK precoz” se establece en una cifra de linfocitos NK $\geq 80/\mu\text{L}$ en el día +15/ μL o $\geq 200/\mu\text{L}$ en el día +30 en función de los valores admitidos y aconsejados en estudios previos como cifras determinantes para alcanzar el objetivo del estudio. La definición de “recuperación de linfocitos totales precoz” se establecerá según el mismo criterio en una cifra de linfocitos totales $\geq 500/\mu\text{L}$ en el día +15 o $\geq 1.000/\mu\text{L}$ en el día +30. El seguimiento clínico y terapias postrasplante se realizarán según protocolos del centro y en base al criterio del facultativo responsable del paciente en ese momento dependiendo de la respuesta al trasplante y situación de la enfermedad. Dicho tratamiento podrá incluir cualquiera de las terapias aceptadas en las guías de consenso para el mieloma, incluido mantenimiento con Lenalidomida. Los criterios de respuesta clínica y progresión del mieloma seguirán las recomendaciones del “International Myeloma Working Group. 2016”.²³

Definición de supervivencia libre de progresión. Se considera como tal al tiempo transcurrido desde el día del acondicionamiento del trasplante hasta la progresión de la

enfermedad o muerte (independientemente de la causa de la muerte), lo que ocurra primero.

- **Relación de variables a estudio.**

A) Demográficas:

- Edad.
- Sexo.

B) Relacionadas con la enfermedad y su tratamiento:

- Subtipo de mieloma: IgG/ Cadenas ligeras / otros.
- Estadio según ISS-R: I / II / III.
- Presencia de alteraciones citogenéticas de mal pronóstico. Incluye: t(4;14), del(17p), t(14;16), +1q y cariotipo complejo.
- Tipo de tratamiento de inducción:
 - Inhibidores del proteosoma + quimioterapia (esquemas tipo PAD, VCD)
 - Inhibidores del proteosoma + inmunomoduladores (esquemas tipo VTD, VRD).
 - Anticuerpos monoclonales, ya sea en monoterapia o en combinación.
 - Otros.(B=Bortezomib, T=Talidomida, R= Lenalidomida D=Dexametasona).

- Número de líneas previo a trasplante:
 - 1 línea.
 - > 1 línea.
- Grado de respuesta al trasplante:
 - Respuesta completa (RC).
 - < Respuesta completa.
- Tratamiento de mantenimiento postrasplante (con cualquier fármaco).

C) Relacionadas con la movilización, aféresis y trasplante de PH:

- Esquema de movilización:
 - G-CSF +/- quimioterapia.
 - Empleo de plerixafor.

- Células CD34+ infundidas/Kg de peso.
- Concentración de linfocitos totales en el producto de aféresis.
- Concentración de linfocitos NK en el producto de aféresis.

D) Relacionadas con la recuperación linfocitaria y evolución:

- Cifras absolutas de linfocitos:
 - o Linfocitos NK en analítica previa a la administración del acondicionamiento y postrasplante en los días +15 y +30.
 - o Linfocitos totales en analítica previa a la administración del acondicionamiento y postrasplante en los días +15 y +30.
- Tiempo de seguimiento desde el trasplante hasta progresión (SLP) o fallecimiento.

• **Metodología para la recogida de variables.**

La recogida de variables se realizará inicialmente en papel desde donde se trasladará posteriormente al programa estadístico para su análisis (ver ANEXO 1, “Hoja de recogida de datos”). Dicha recogida será completada directamente por el investigador principal del estudio salvo que delegue en otra persona que estime es su momento, en cuyo caso procederá a la revisión de los datos previo a introducirlos en el programa estadístico.

Los momentos en los que se procederá a completar la “Hoja de recogida de datos” se especifican en la siguiente tabla:

| MOMENTO DEL ESTUDIO | RECOGER datos: |
|---------------------------------------|---|
| Tras el estudio inicial y diagnóstico | Demográficos. Diagnósticos y pronósticos. |
| Previo a trasplante | Tratamientos recibidos y respuesta alcanzada. Relacionados con la movilización y aféresis de PH. |

| | |
|---------------------------------|--|
| En el día + 90 del trasplante | <p>Respuesta postrasplante.</p> <p>Tratamientos postrasplante.</p> <p>Recuperación linfocitaria postrasplante.</p> |
| Cada 3 meses tras el trasplante | <p>Evolución de la enfermedad y necesidad de nuevas líneas de tratamiento.</p> |

• **Análisis de datos.**

Cálculos descriptivos:

Se realizará una descriptiva general de las variables a estudiar. En el caso de las variables cuantitativas se presentarán las medidas de tendencia central y dispersión en función de si siguen el criterio de normalidad según el estadístico de Shapiro-Wilk: media y desviación típica en caso afirmativo y mediana y mínimo/máximo en caso contrario, incluyéndose los intervalos de confianza al 95%. Las variables cualitativas se presentarán con las correspondientes distribuciones de frecuencias absolutas y relativas.

Análisis de supervivencia:

Se analizará separadamente en función de si los pacientes consiguen o no una recuperación linfocitaria NK precoz según definición previa. El mismo análisis se llevará a cabo para la variable “recuperación de linfocitos totales”. Para ello se utilizará el método de Kaplan-Meier y se comunicará la mediana junto con el intervalo de confianza al 95%. La evaluación de la diferencia entre los dos grupos se estimará con el test de log-rank.

Análisis de los factores asociados a una recuperación de linfocitos NK precoz:

En primer lugar se realizará un análisis bivalente teniendo en cuenta que:

- la variable dependiente es la “recuperación de linfocitos NK precoz”;
- las variables independientes son todas las anteriormente expuestas en los puntos A), B) y C) del epígrafe “*Relación de variables a estudio*”. Para el análisis de las variables continuas se procederá previamente dicotomizarlas en función de la media o mediana obtenida de los pacientes del estudio.

Se expondrán en una tabla los resultados de las medidas de las variables de forma diferenciada en función de si han alcanzado o no la característica de “recuperación de linfocitos NK precoz”. Las diferencias entre ambos grupos se determinarán mediante los test chi-cuadrado (si la variable independiente a valorar es cualitativa) o t-Student (si es cuantitativa).

A continuación se realizará el análisis multivalente para el que se empleará la técnica de regresión logística dado que la variable dependiente es dicotómica. En dicho análisis se incluirán las variables que resultaron estadísticamente significativas en las comparaciones bivariantes, a las que se añadirán por su potencial de modificar o intervenir en los resultados (en caso de no haber resultado significativas), la edad, el tipo de tratamiento, el esquema de movilización y la cantidad de células CD34+ infundidas.

Todos los resultados de dichos análisis se presentarán en odds ratios (OR). Los cálculos se realizarán con el programa estadístico IBM® SPSS® Statistic, (versión 22 o superior) con el rigor de contemplar el riesgo α (error tipo I) con valor 0.05.

- **Dificultades y limitaciones.**

Una de las principales limitaciones viene determinada por los enormes avances que se están produciendo en el campo de la terapéutica en el mieloma: existen múltiples estudios en marcha así como nuevos fármacos para esta enfermedad que están suponiendo un cambio en el paradigma del tratamiento. Ello contribuirá a aumentar la variabilidad en las terapias pretrasplante, las opciones para la movilización de progenitores hematopoyéticos e incluso se puede llegar a corto plazo a realizar un replanteamiento global de la estrategia terapéutica que afecte al autotrasplante como opción de tratamiento inicial, lo cual puede contribuir a que los resultados del presente estudio pierdan valor.

Una potencial limitación se encuentra en la dificultad que podría haber para alcanzar la muestra deseada dentro de la población de estudio (provincia de Huelva) dado lo ajustado del número de pacientes que previsiblemente van a desarrollar la enfermedad. Ello obligaría a aumentar el tiempo del estudio para alcanzar el número de pacientes necesarios (ya previsto en el diseño) ya que no se cuenta con la inclusión de pacientes de hospitales de otras provincias.

ASPECTOS ÉTICOS

Se seguirán las normas de buena práctica clínica en lo aplicable a estudios epidemiológicos asegurando que el diseño, realización y comunicación de los datos sean fiables. El protocolo del estudio y la Hojas de Consentimiento Informado (ver ANEXO 2) e Información al Paciente (ver ANEXO 3) serán sometidos a evaluación por un Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) habiéndose solicitado la aprobación a través del Portal de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía. (Ver ANEXO 4).

Evaluación beneficio/riesgo para los pacientes. La inclusión en el estudio no conlleva la realización de un diagnóstico, evaluación o terapéutica adicionales a las que de forma habitual se lleven a cabo en este tipo de enfermedad y su seguimiento.

Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado. Antes de la inclusión en el estudio, el investigador explicará y entregará a cada paciente una hoja con la información necesaria para que éste tome una decisión sobre la participación. Si fuera necesario, el investigador aclarará todas las dudas que le puedan surgir al paciente acerca de su participación en el estudio. Si está conforme en participar en el estudio firmará el correspondiente formulario de consentimiento informado. Los pacientes serán informados acerca de su derecho de poder retirarse del estudio en cualquier momento sin que esto afecte a la relación médico-paciente.

Consideraciones en relación a las muestras biológicas. Las muestras biológicas necesarias para llevar a cabo el estudio serán las mismas que se toman en el contexto asistencial habitual. La única diferencia respecto al proceder habitual de este contexto asistencial será la realización de análisis ampliados, en concreto la determinación de los estudios correspondientes a la cuantificación de linfocitos NK. En cualquier caso no se almacenará la muestra de ningún paciente por el hecho de que este forme parte del estudio ni se realizarán análisis genéticos más allá de los previstos para cualquier paciente con esta enfermedad. A fecha de presentación del presente protocolo queda pendiente cualquier notificación por parte del Comité de Ética de Investigación en relación a la necesidad de consentimiento informado para la toma o tratamiento de muestras biológicas.

Protección de datos y acceso a datos. La identidad de los pacientes así como toda la información relacionada con ellos, se considerara confidencial y no podrá ser desvelada ni divulgada. La información relacionada con los pacientes que aparece en el cuaderno de

recogida de datos será anonimizada y disociada de su información personal, quedando como única identificación un código (Nº de paciente). Si por motivos legales o auditoría fuera obligatorio conocer la identidad del paciente o si los datos del estudio fueran publicados, la confidencialidad de la información será mantenida en la medida de lo permitido por las leyes aplicables. En cualquier caso, se cumplirá la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

PLAN DE TRABAJO

Etapas del desarrollo del proyecto.

| INICIO DEL PROYECTO: Marzo/2019 | |
|--|---|
| Enero – Marzo de 2019 | Revisión de la literatura |
| Abril – Mayo de 2019 | Elaboración del protocolo de investigación |
| Junio de 2019 | Presentación del protocolo de investigación al Comité de ética de Investigación a través del portal https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/inicio/inicio.iface |
| Septiembre de 2019 | Inicio del reclutamiento de pacientes y de recogida de datos. (Ver en el apartado “Metodología” los momentos de la evolución de los pacientes en los que se procederá a la recogida de datos de las variables del estudio). |
| Marzo de 2024 | Fin de recogida de datos |
| Abril de 2024 | Revisión y limpieza base de datos + Análisis de datos |
| Mayo de 2024 | Elaboración de informe final y presentación a la Dirección del Centro de Trabajo/Fundación FABIS |
| Junio de 2024 | Elaboración del manuscrito para envío a revistas científicas vs comunicación a Congreso |
| FIN DEL PROYECTO: Junio/2024 | |

Etapas de desarrollo del proyecto expuestas de forma cronológica, con indicación de fechas y actividades.

Distribución de tareas del equipo investigador.

- Investigador principal (F.E.A responsable del estudio):
 - Responsable del estudio y coordinador del equipo de investigación así como de las actividades técnicas y de laboratorio necesarias para conseguir los objetivos.
 - Concepción y diseño del estudio.
 - Elaboración del protocolo de estudio, incluido hoja de recogida de datos.
 - Presentación del estudio al Comité de Ética de Investigación.
 - Reclutamiento de pacientes e información del estudio y recabar “Consentimiento Informado”.
 - Recolección de datos y revisión de los datos recogidos por otros investigadores. Introducción de datos en la base de datos (programa SPSS).
 - Análisis de datos e interpretación de los mismos.
 - Elaboración de informe final y presentación a la Dirección del Centro de Trabajo/Fundación FABIS de los resultados.
 - Elaboración del manuscrito para envío a revistas científicas vs comunicación a Congreso.

- Investigador responsable de citometría (F.E.A. responsable del Laboratorio de Técnicas Especiales y Citometría de flujo):
 - Interpretación de los estudios de citometría necesarios para la consecución de objetivos: cuantificación de células CD34+ y linfocitos NK.
 - Reclutamiento de pacientes e información del estudio y recabar “Consentimiento Informado” en ausencia del Investigador principal.
 - Recolección de datos clínicos y revisión de los datos recogidos por otros investigadores en ausencia del investigador principal.
 - Colaboración con el Investigador principal en el análisis de datos e interpretación de los mismos.
 - Colaboración con el Investigador principal en la elaboración de informe final y del manuscrito para publicación.

- Médicos Internos Residentes de 3º y 4º año:
 - Recolección de datos clínicos en ausencia del investigador principal.
 - Supervisión y control de las labores de los técnicos de laboratorio en la realización de las técnicas de citometría.
 - Colaboración con el Investigador principal en el análisis de datos e interpretación de los mismos.
 - Colaboración con el Investigador principal en la elaboración de informe final y del manuscrito para publicación.

PRESUPUESTO

El presente protocolo se va a llevar a cabo en un contexto asistencial por lo que la mayoría de los costes de los recursos necesarios para su desarrollo quedan cubiertos por la propia actividad diagnóstica y terapéutica necesarias para la atención a los enfermos con mieloma múltiple.

La únicas variables del estudio con un coste adicional son las relacionadas con la cuantificación de linfocitos NK postrasplante. En este sentido se realiza el presupuesto asumiendo el coste máximo que podría llegar a tener esta determinación para el Servicio de Hematología, esto es, si se solicitase a nuestro centro de referencia (Universidad de Salamanca) al que en ocasiones recurrimos en caso de dificultad para realizar estudios de citometría o ante cualquier duda en relación a los mismos. La prueba a solicitar sería un “*Screening*” de linfocitosis, que implica cuantificar las diferentes subpoblaciones linfocitarias y que tiene un precio de 150 euros:

“*NUCLEUS, Servicio de apoyo a la Investigación de la Universidad de Salamanca*
<https://nucleus.usal.es/es/citometria/tarifas>.”

No se consideran necesarios gastos adicionales en congresos ni en actividades formativas. Tampoco está contemplada una remuneración a los investigadores por el estudio ni a los pacientes por su participación en el mismo.

En la siguiente tabla se realiza la correspondiente estimación presupuestaria:

| | |
|--|--|
| Variables demográficas y relacionadas con el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad, incluido la valoración del estadiaje, estudio citogenético, movilización y aféresis de progenitores hematopoyéticos. | Costes cubiertos por la actividad asistencial: no precisa asignación presupuestaria especial. |
| Cuantificación de células CD34+ en el producto de aféresis | Costes cubiertos por la actividad asistencial |
| Cuantificación de linfocitos totales en el producto de aféresis | |
| Cuantificación de linfocitos NK en el producto de aféresis. | 150 € |
| Cifras de linfocitos NK previo al tratamiento de acondicionamiento y trasplante | 150 € |
| Cifras de linfocitos NK el día + 15 postrasplante | 150 € |
| Cifras de linfocitos NK día + 30 postrasplante | 150 € |
| Cifras de linfocitos totales previo al tratamiento de acondicionamiento y trasplante | Costes cubiertos por la actividad asistencial |
| Cifras de linfocitos totales día + 15 postrasplante | |
| Cifras de linfocitos totales día + 30 postrasplante | |

JUSTIFICACIÓN Y VIABILIDAD DEL PROYECTO

La reconstitución inmunológica juega un papel fundamental desde el punto de vista pronóstico en la evolución de los pacientes que se realizan un alotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Sin embargo son escasos los estudios en relación al rol que pueda jugar el sistema inmunológico en un posible efecto antimieloma tras un autotrasplante y, tal y como se justificó en la introducción, a veces contradictorios. El presente proyecto se justifica en un intento de aportar información sobre esta cuestión

enmarcado en un contexto clínico de nuevas opciones terapéuticas para el mieloma múltiple. Para ello determinaremos aspectos que pudieran estar relacionados con el pronóstico de la enfermedad sobre la base del análisis de parámetros de dicha recuperación inmune.

En este sentido se publican a diario estudios, en ocasiones basados en técnicas complejas de laboratorio, cuyos resultados tardan en traducirse en beneficios prácticos para nuestros pacientes. Los potenciales resultados de este trabajo pueden poner de manifiesto la aplicabilidad de sencillas técnicas de citometría en la estratificación pronóstica de los enfermos con mieloma múltiple de tal forma que los hematólogos podrían disponer de una herramienta adicional de valoración pronóstica de los enfermos en una etapa temprana de la enfermedad. De confirmarse la hipótesis del estudio habría que tenerlo en cuenta como base de ulteriores proyectos multicéntricos con mayor número de pacientes de forma que la cuantificación de subpoblaciones linfocitarias postrasplante se incorporasen en los algoritmos de seguimiento de la enfermedad, al igual que está sucediendo ya con la valoración de la enfermedad mínima residual.

Desde el punto de vista de la viabilidad el proyecto cuenta con la ventaja de que se va a llevar a cabo en un contexto asistencial en el que van a ser necesarios muy pocos elementos diagnósticos adicionales a los empleados en la práctica clínica habitual. El único contemplado es el análisis de la subpoblación linfocitaria NK, procedimiento accesible y común en el estudio y seguimiento de procesos hematológicos. En relación a las determinaciones analíticas extraordinarias a los pacientes reclutados tampoco debería suponer un esfuerzo adicional en cuanto perjuicio para los mismos y carga asistencial ya que pueden planificarse igualmente en el contexto del seguimiento habitual postrasplante.

BIBLIOGRAFÍA

1. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Harris NL, Coupland RW, Fend F. Plasma cell neoplasms. En Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. editores. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon FWHOC of T of H and LT 2017., Swerdlow SH, Campo E, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France.*; 2017. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
2. Usmani SZ, Rodriguez-Otero P, Bhutani M, Mateos M V., Miguel JS. Defining and treating high-risk multiple myeloma. *Leukemia*. 2015;29(11):2119-2125. doi:10.1038/leu.2015.209
3. Gay F, Lokhorst HM, Richardson P, et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2863-2869. doi:10.1200/jco.2015.61.2267
4. Buadi FK, Pandey S, Kapoor P. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia*. 2014;28(5):1122-1128. doi:10.1038/leu.2013.313
5. Anderson KC. Progress and Paradigms in Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res*. 2016;5419-5428. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0625
6. Harousseau J-L, Moreau P. Autologous Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2009. doi:10.1056/nejmct0805626
7. Dhakal B, Szabo A, Chhabra S, et al. Autologous Transplantation for Newly Diagnosed Multiple Myeloma in the Era of Novel Agent Induction. *JAMA Oncol*. 2018;4(3):343. doi:10.1001/jamaoncol.2017.4600
8. Bensinger W, Dipersio JF, Mccarty JM. Improving stem cell mobilization strategies : future directions. 2009:181-195. doi:10.1038/bmt.2008.410
9. Costa LJ, Alexander ET, Hogan KR, Schaub C, Fouts T V., Stuart RK. Development and validation of a decision-making algorithm to guide the use of plerixafor for autologous hematopoietic stem cell mobilization. *Bone Marrow*

Transplant. 2011;46(1):64-69. doi:10.1038/bmt.2010.78

10. Howell C, Douglas K, Cho G, et al. Guideline on the clinical use of apheresis procedures for the treatment of patients and collection of cellular therapy products. *Transfus Med.* 2015;25(2):57-78. doi:10.1111/tme.12205
11. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood.* 2009. doi:10.1182/blood-2008-08-174946
12. Valtola J, Silvennoinen R, Ropponen A, et al. Blood graft composition and post-transplant recovery in myeloma patients mobilized with plerixafor: a prospective multicenter study. *Leuk Lymphoma.* 2018;0(0):1-9. doi:10.1080/10428194.2018.1485911
13. Joao C, Porrata LF, Inwards DJ, et al. Early lymphocyte recovery after autologous stem cell transplantation predicts superior survival in mantle-cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2006. doi:10.1038/sj.bmt.1705342
14. Kim H, Sohn HJ, Kim SE, et al. Lymphocyte recovery as a positive predictor of prolonged survival after autologous peripheral blood stem cell transplantation in T-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(1):43-49. doi:10.1038/sj.bmt.1704530
15. Valtola J, Varmavuo V, Ropponen A, et al. Early immune recovery after autologous transplantation in non-Hodgkin lymphoma patients: predictive factors and clinical significance. *Leuk Lymphoma.* 2016;57(9):2025-2032. doi:10.3109/10428194.2015.1129537
16. Kim H, Sohn H-J, Kim S, Lee J-S, Kim W-K, Suh C. Early lymphocyte recovery predicts longer survival after autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37(11):1037-1042. doi:10.1038/sj.bmt.1705373
17. Rueff J, Medinger M, Heim D, Passweg J, Stern M. Lymphocyte subset recovery

- and outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation for plasma cell myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(6):896-899. doi:10.1016/j.bbmt.2014.03.007
18. Porrata LF, Inwards DJ, Ansell SM, et al. Early lymphocyte recovery predicts superior survival after autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin lymphoma: a prospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(7):807-816. doi:10.1016/j.bbmt.2008.04.013
 19. Jimenez-Zepeda VH, Reece DE, Trudel S, et al. Absolute lymphocyte count as predictor of overall survival for patients with multiple myeloma treated with single autologous stem cell transplant. *Leuk Lymphoma*. 2015. doi:10.3109/10428194.2014.1003057
 20. Katarina Le Blanc^{1, 2}, A. John Barrett³, Marie Schaffer, PhD.¹, Hans Hägglund^{2, 4}, Per Ljungman^{2, 4}, Olle Ringdén^{1, 5} and MR. Lymphocyte Recovery Is a Major Determinant of Outcome after Matched Unrelated Myeloablative Transplantation for Myelogenous Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009 Sept ; 15(9) 1108–1115 doi:10.1016/j.bbmt.2009.05.015 *Lymph*. 2009;15(9):1108-1115. doi:10.1016/j.bbmt.2009.05.015.Lymphocyte
 21. Valtola J, Silvennoinen R, Ropponen A, et al. Blood graft cellular composition and posttransplant outcomes in myeloma patients mobilized with or without low-dose cyclophosphamide: A randomized comparison. *Transfusion*. 2016;56(6):1394-1401. doi:10.1111/trf.13574
 22. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014. doi:10.1016/S1470-2045(14)70442-5
 23. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2016. doi:10.1016/S1470-2045(16)30206-6

ANEXO 1

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

SEXO: Hombre Mujer

EDAD: _____

TIPO DE MIELOMA: IgG Cadenas Ligeras Otros

ESTADÍO (ISS-R):

- I (ISS I + citogenética de riesgo estándar por FISH + LDH normal)
- II (no estadios I ni III).
- III (ISS estadio III + citogenética de alto riesgo por FISH ó LDH elevada)

CITOGENÉTICA:

- mal pronóstico [incluye t(4;14), del(17P), t(14;16), +1q y cariotipo complejo]
- otros (Especificar: _____)

TIPO DE TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN:

- Inhibidores del proteosoma + quimioterapia (esquemas tipo PAD, VCD)
- Inhibidores del proteosoma + inmunomoduladores (esquemas tipo VTD, VRD)
- Anticuerpos monoclonales (en monoterapia o en combinación)
- Otros. Especificar: _____
(B=Bortezomib, T=Talidomida, R= Lenalidomida D=Dexametasona)

TIPO DE TRATAMIENTO DE SEGUNDA LINEA PREVIO A TRASPLANTE:

- Inhibidores del proteosoma + quimioterapia (esquemas tipo PAD, VCD)
- Inhibidores del proteosoma + inmunomoduladores (esquemas tipo VTD, VRD)
- Anticuerpos monoclonales.
- Otros. Especificar: _____

ANEXO 1

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

TIPO DE TRATAMIENTO DE TERCERA LINEA PREVIO A TRASPLANTE:

Especificar: _____

NÚMERO DE LÍNEAS PREVIO A TRASPLANTE: 1 línea > 1 línea

GRADO DE RESPUESTA AL TRASPLANTE: Respuesta completa

< Respuesta completa

MANTENIMIENTO POSTRASPLANTE: Si No

ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN DE P. HEMATOPOYÉTICOS:

G-CSF +/- quimioterapia.

Empleo de plerixafor.

TIPO DE ACONDICIONAMIENTO:

Melfalán

Otros. Especificar: _____

CÉLULAS CD34+ INFUNDIDAS/KG DE PESO: _____ x 10⁶/Kg de peso

CONCENTRACIÓN DE LINFOCITOS TOTALES EN EL PRODUCTO DE AFÉRESIS: _____ / μ L

CONCENTRACIÓN DE LINFOCITOS NK EN EL PRODUCTO DE AFÉRESIS: _____ / μ L

ANEXO 1

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

CIFRAS ABSOLUTAS DE LINFOCITOS:

- Linfocitos NK previo al acondicionamiento: _____/μL
- Linfocitos NK día + 15 postrasplante: _____/μL
- Linfocitos NK día + 30 postrasplante: _____/μL
- Linfocitos totales previo al acondicionamiento: _____/μL
- Linfocitos totales día + 15 postrasplante: _____/μL
- Linfocitos totales día + 30 postrasplante: _____/μL

TIEMPO DE SEGUIMIENTO DESDE EL TRASPLANTE:

- Fecha de trasplante: ____ / ____ / ____
- Fecha de progresión: ____ / ____ / ____
- Fecha de fallecimiento: ____ / ____ / ____
- Fecha de fin / último seguimiento: ____ / ____ / ____

ANEXO 2

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio: “**Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple**”.

Yo (nombre y apellidos) _____

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

ANTONIO JOSÉ PALMA VALLELLANO, investigador principal y:

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

- Accedo a que las muestras de sangre o tejidos obtenidas para el estudio puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad o fármacos del estudio no previstos en el protocolo actual (quedando excluidos los análisis genéticos, siempre y cuando no formen parte de los objetivos del estudio):

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre: Antonio J. Palma Vallellano

DNI:

DNI: 29800013v

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

ANEXO 2

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio: “**Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple**”.

Yo (nombre y apellidos)en calidad de.....(relación con el participante) de.....(nombre y apellidos del participante)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

ANTONIO JOSÉ PALMA VALLELLANO, investigador principal y:

Comprendo que la participación del paciente es voluntaria.

Comprendo que puede retirarse del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

- En mi presencia se ha dado a.....(nombre del participante) toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar. Presto mi conformidad para que(nombre del participante) participe en este estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de los datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

- Accedo a que las muestras de sangre o tejidos obtenidas para el estudio puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad o fármacos del estudio no previstos en el protocolo actual (quedando excluidos los análisis genéticos, siempre y cuando no formen parte de los objetivos del estudio):

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre: Antonio José Palma Vallellano

DNI:

DNI: 29800013v

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

ANEXO 2

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio: “**Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple**”.

Yo..... (nombre y apellidos del testigo) declaro bajo mi responsabilidad que (nombre y apellidos del participante).

Ha leído (ó se le ha leído, en el caso en que el paciente no pueda leer), la hoja de información que se le ha entregado.

Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.

Ha recibido suficiente información sobre el estudio.

Ha hablado con:

ANTONIO JOSÉ PALMA VALLELLANO, investigador principal y:

Comprende que su participación es voluntaria.

Comprende que puede retirarse del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

- Ha expresado libremente su conformidad para participar en el estudio en este estudio y da para el acceso y utilización de los datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

- Accede a que las muestras de sangre o tejidos obtenidas para el estudio puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad o fármacos del estudio no previstos en el protocolo actual (quedando excluidos los análisis genéticos, siempre y cuando no formen parte de los objetivos del estudio):

SI

NO

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre: Antonio José Palma Vallellano

DNI:

DNI: 29800013v

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

ANEXO 4

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO:

“Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple”.

CÓDIGO DEL ESTUDIO: No procede.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: *ANTONIO JOSÉ PALMA VALLELLANO. Servicio de Hematología. Tfno. 606285179.*

CENTRO: Hospital Juan Ramón Jiménez (Huelva)

INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por un Comité de Ética de Investigación clínica de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico. Si usted decide revocar su consentimiento, no se recogerán nuevos datos, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.

El mieloma múltiple es una neoplasia caracterizada por la proliferación de células plasmáticas en la médula ósea para la que el autotrasplante de progenitores hematopoyéticos continúa siendo uno de los pilares del tratamiento. Este procedimiento está basado en la administración de altas dosis de quimioterapia y se lleva a cabo con el fin de mantener controlado el mieloma tanto tiempo como sea posible. Cuando se realiza el autotrasplante la médula ósea detiene su función por lo que bajarán los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas de la sangre hasta que injertan los progenitores que se trasplantan. A partir de ahí se recupera la función medular. Se ha comprobado que cuando se elevan rápidamente los valores de un subtipo de leucocitos tras el trasplante, en concreto los linfocitos, la evolución clínica es más favorable, hasta el punto que parece

ANEXO 4

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

que la enfermedad tarda más tiempo en reaparecer. Con el presente estudio queremos confirmar este hallazgo, pero sobre todo pretendemos comprobar si la recuperación precoz de un tipo de linfocito concreto denominado NK podría ser el responsable de esta mejor evolución de la enfermedad. A la vez queremos analizar cuáles son los factores que pueden influir en que estos linfocitos NK se recuperen a mayor velocidad hasta alcanzar su valor normal de tal forma que podamos influir sobre ellos para que la enfermedad tenga un mejor pronóstico. Para los pacientes que participen en el estudio no supone ningún inconveniente ya que los datos a recoger de la evolución de su enfermedad se realizarán en el contexto del tratamiento y seguimiento habitual de la misma. La única diferencia respecto a pacientes que no participen en el estudio es que se analizarán marcadores concretos de los linfocitos cuando se le realicen determinadas analíticas. El seguimiento se realizará desde el momento del trasplante hasta que progrese la enfermedad. Muy probablemente no se precisará ni tan siquiera de visitas adicionales al hematólogo tras el trasplante. Pretendemos incluir unos 60 pacientes a lo largo de los próximos 4-5 años en los que se desarrollará el estudio.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

La participación en el estudio no reportará ningún beneficio directo para la salud ni cabe esperar una mejor evolución de la enfermedad de los pacientes participantes ya que los tratamientos a administrar y el seguimiento a realizar serán los propios que corresponden a la actividad clínica habitual. Sin embargo vamos a analizar parámetros analíticos adicionales a los habituales que nos permitirán ampliar los conocimientos en relación a su enfermedad y a la recuperación de los leucocitos tras el trasplante y de lo que podrán beneficiarse en un futuro otros pacientes. Diversos autores ya han realizado estudios similares pero es conveniente llevarlo nuevamente a cabo dado que hoy en día se emplean nuevos tratamientos y conviene valorar los resultados del estudio en el contexto actual de cómo se trata la enfermedad. Usted no correrá riesgos adicionales a los previstos en cualquier persona con su enfermedad independientemente de que participe o no en el estudio.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustarán a lo dispuesto en la Ley de protección de datos de carácter personal actualmente en vigor y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

ANEXO 4

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

Sus datos serán tratados informáticamente y se incorporarán a un fichero automatizado de datos de carácter personal cuyo responsable es Antonio J. Palma Vallengano, responsable del estudio.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países, previa notificación a la Agencia Española de Protección de Datos, los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité de Ética de la Investigación y personal autorizado, 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.

COMPENSACIÓN ECONÓMICA

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto. Su médico tampoco recibirá una compensación económica por su participación en este estudio y ha declarado si existe o no conflicto de intereses.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Cualquier nueva información que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos, si bien los responsables del estudio podrán seguir utilizando la información recogida sobre usted hasta ese momento, a no ser que usted se oponga expresamente.

ANEXO 4

SOLICITUD CEIC

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

DOCUMENTO ESTADO DE PROYECTO

Título completo: Valor pronóstico y factores predictivos asociados a una recuperación precoz de linfocitos NK tras autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con mieloma múltiple.

Código del estudio: Sin código 2

Promotor: (No hay promotor/a asociado/a)

Comité: CEI de Huelva

Protocolo: 1 Protocolo Palma Vallellano.docx

Versión Protocolo: 1

Fecha Protocolo: 31/05/2019

HIP: 3 Hoja de Información paciente.docx

Versión HIP: 1

Fecha HIP: 31/05/2019

Solicitante: ANTONIO JOSE PALMA VALLELLANO

NIF solicitante: 29800013V

Fecha actual: 02/06/2019

Estado: ENVIADO

Centros del proyecto

| Investigador/a principal | Centros participantes | Servicio |
|-------------------------------|-----------------------------|----------|
| ANTONIO JOSE PALMA VALLELLANO | Hospital Juan Ramón Jiménez | |

Documentos del proyecto

| Nombre | Versión | Fecha |
|-------------------------------------|---------|-------|
| 1 Protocolo Palma Vallellano.docx | 1 | |
| 3 Hoja de Información paciente.docx | 1 | |
| 2 Consentimiento informado.doc | 1 | |

Estados del proyecto

| Estado final | Fecha |
|--------------------|------------|
| PENDIENTE DE ENVÍO | 01/05/2019 |
| ENVIADO | 02/05/2019 |

