



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Estudio evolutivo de los parámetros de
hipercoagulabilidad en pacientes con Policitemia
vera y su correlación con los eventos trombóticos**

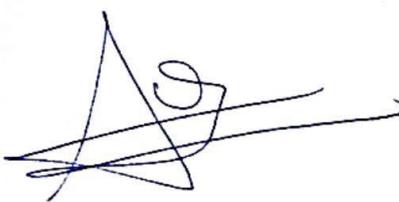
Alumno: Ana Garzó Moreno

Tutor: Pascual Marco Vera

Curso: 2020 - 2021



Fdo. P. Marco



Fdo. A. Garzó

RESUMEN

Introducción: la Policitemia Vera (PV) es una Neoplasia mieloproliferativa crónica en la que la principal causa de morbilidad y mortalidad es la trombosis. A pesar de los intentos de distintas publicaciones previas, únicamente están reconocidos como factores de riesgo para sufrir eventos trombóticos la edad avanzada y los antecedentes previos.

Hipótesis y objetivos: el estado protrombótico de la PV se puede ver reflejado en las pruebas globales de la hemostasia como el test de generación de trombina y la tromboelastometría rotacional. Este proyecto pretende analizar los resultados de estas pruebas y su relación con el riesgo trombótico durante la evolución de los pacientes, además de analizar el impacto de los factores de riesgo cardiovascular y el tratamiento sobre el sistema hemostático.

Material y métodos: estudio analítico, observacional, con una cohorte ambispectiva. Serán reclutados pacientes incluidos en el registro del Grupo Español de Neoplasias Mieloproliferativas Negativas (GEMFIN) y pacientes de nuevo diagnóstico. Se recogerán variables demográficas, clínicas y analíticas en momentos distintos de la evolución y se formarán tres periodos de seguimiento: precoz, intermedio y tardío. Se realizará un análisis univariante y multivariante tomando como variable dependiente o respuesta a los eventos trombóticos.

Justificación, aplicabilidad del estudio: las pruebas globales de la coagulación aportan una visión global del sistema hemostático que podría ampliar el conocimiento de la PV, contribuir a la toma de decisiones clínicas y servir de base para futuros proyectos en los que desarrollar modelos predictivos de trombosis y nuevas escalas pronósticas.

PALABRAS CLAVE: Policitemia vera*, Trombosis*, Ensayos coagulación*, Tromboelastografía*, Neoplasias mieloproliferativas*.

ABSTRACT

Introduction: Polycythemia Vera (PV) is a Chronic Myeloproliferative Neoplasia in which the main cause of morbidity and mortality is thrombosis. Despite the attempts of previous publications, only advanced age and previous history are recognized as risk factors for thrombotic events.

Hypothesis and objectives: the thrombotic state of PV can be seen in global coagulation assays such as thrombin generation test and rotational thromboelastometry. This project aims to analyze the results of these tests and their relationship with thrombotic risk during the evolution of patients, and to analyze the impact of cardiovascular risk factors and treatment on the hemostatic system.

Material and methods: analytical, observational study, with an ambispective cohort. Patients included in the registry of the Spanish Group of Negative Myeloproliferative Neoplasms and newly diagnosed patients will be recruited. Demographic, clinical and analytical variables will be collected at different moments of the evolution and three follow-up periods will be formed: early, intermediate and late. A univariate and multivariate analysis will be performed taking as the dependent variable the thrombotic events.

Justification, applicability of the study: global coagulation assays provide a global vision of the hemostatic system that could expand knowledge of PV, contribute to clinical decision-making and serve as a basis for future projects (for develop predictive models of thrombosis or new prognostic scales).

KEY WORDS: Polycythemia Vera*, Thrombosis*, Coagulation assays*, Thromboelastography*, Myeloproliferative Disorders*.

ÍNDICE

→ Aspectos preliminares

RESUMEN/PALABRAS CLAVE.....	1
ABSTRACT/KEY WORDS	3

→ Cuerpo del proyecto

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. HIPÓTESIS	9
3. OBJETIVOS.....	9
4. MATERIAL Y MÉTODOS	10
4.1. DISEÑO GLOBAL	10
4.2. LUGAR – CONTEXTO DEL ESTUDIO	10
4.3. TIEMPO DE EJECUCIÓN	10
4.4. SUJETOS	10
4.5. TAMAÑO MUESTRAL.....	12
4.6. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	12
4.7. METODOLOGÍA PARA LA RECOGIDA DE VARIABLES.....	15
4.8. ANÁLISIS DE DATOS	17
4.9. DIFICULTADES Y LIMITACIONES	18
5. ASPECTOS ÉTICOS	19
6. PLAN DE TRABAJO	19
6.1. DISTRIBUCIÓN DE TAREAS DEL EQUIPO INVESTIGADOR	19
6.2. CRONOGRAMA DE LAS ACTIVIDADES.....	19
7. RESULTADOS.....	20
8. JUSTIFICACIÓN, APLICABILIDAD PRÁCTICA DEL PROYECTO.....	22
9. PRESUPUESTO	23
10. CONTRIBUCIÓN DEL ALUMNO.....	23
→ Bibliografía.....	24
→ Anexos.....	26

1. INTRODUCCIÓN

1.1. POLICITEMIA VERA

La Policitemia Vera (PV) es una enfermedad hematológica que forma parte del grupo de las Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas (NMPC) Filadelfia negativas (al no presentar la alteración citogenética de la translocación entre los cromosomas 9 y 22, característica de la Leucemia Mieloide Crónica) [1]. Son desórdenes clonales de la célula madre hematopoyética caracterizados por la proliferación de células de una o más series de la línea mieloide (serie granulocítica, eritroide y megacariocítica) [1]. En la PV la característica fundamental es una hiperplasia de la serie eritroide. Su incidencia estimada en Europa es de $0.4-2.8 \times 10^5/\text{año}$ [2]. Es más frecuente en adultos, con el pico de incidencia de la quinta a la séptima década de la vida [1].

Las NMPC se asocian con anomalías clonales que involucran genes que codifican proteínas citoplasmáticas o receptoras que producirán una activación constitutiva de vías de señalización oncogénicas o genes reguladores de estas vías. Están descritas tanto alteraciones citogenéticas como mutaciones puntuales de genes [1,3].

El gen más frecuentemente afectado por una mutación somática adquirida es el gen JAK-2 (Janus kinasa 2), en el cromosoma 9. La mutación más común es la JAK-2 V617F, producida en el exón 14 y es característica de la PV, presente en un 96% de los casos, aunque también puede estar presente en otras NMPC [3]. En los casos de PV negativos para JAK-2 V617F, se pueden encontrar mutaciones en el exón 12 del mismo gen en un 3% [3].

La enfermedad se caracteriza fundamentalmente por síntomas relacionados con el aumento de la masa eritrocitaria (hipertensión arterial, anomalías vasculares) y con la hiperviscosidad sanguínea (cefalea, mareos, visión borrosa, vértigo) [4].

Una parte importante de la clínica de estos pacientes, en la que se centra este proyecto, son los eventos trombóticos. En primer lugar, existen síntomas provocados por la trombosis de la microvasculatura, fundamentalmente eritromelalgia (crisis de dolor intenso, quemazón y enrojecimiento en los pies y en las manos por oclusión de pequeñas arteriolas), cianosis o livedo reticularis. En segundo lugar, y constituyendo la principal causa de morbilidad y mortalidad, nos encontramos con los eventos trombóticos arteriales y venosos [5]. Su incidencia aproximada es del 40% [5], con un 60% de los casos en el momento del diagnóstico y en los 2 primeros años post-diagnóstico [6,7] y se relacionan

con un 35-45% de las muertes [8]. El riesgo se va reduciendo con el tiempo, de manera que la incidencia por año es aproximadamente de un 5% [5,7]. El riesgo de trombosis es mayor que en la población general [5,9]. De los pacientes incluidos en el registro español de PV desde el 2011 al 2015, el 20% tenía antecedentes de trombosis y un 9% tuvo un evento en el momento del diagnóstico [10].

Las más frecuentes son las trombosis arteriales, que representan un 60-70% de eventos cardiovasculares [5,9]. En el estudio prospectivo ECLAP, con 1638 pacientes con PV seguidos durante 3-4 años, 169 tuvieron trombosis durante el seguimiento y ordenados de mayor a menor incidencia se diagnosticaron: accidente cerebro-vascular (42%, con ictus y accidentes isquémicos transitorios a partes iguales), infarto agudo de miocardio (27%), trombosis venosa profunda (26%) y tromboembolismo pulmonar (10%) [8]. El infarto de miocardio constituye el evento fatal más frecuente [4]. Cabe destacar a su vez la presencia de eventos tromboticos en localizaciones infrecuentes como en territorio mesentérico, portal, esplénico, el síndrome de Budd-Chiari (trombosis de la vena suprahepática) y la trombosis de la vena central de la retina [4].

Debido a la importancia de las complicaciones tromboticas, éstas sirven de base para la estratificación pronóstica de la enfermedad y para decidir la estrategia terapéutica. Los factores que han demostrado estar asociados con un mayor riesgo de trombosis en la PV son la edad mayor de 60 años y la historia previa de trombosis [8] y son los que se incluyen en las escalas pronósticas de las guías internacionales para diferenciar los grupos de riesgo: bajo riesgo (edad <60 años y sin historia de trombosis) y alto riesgo (edad >60 años y/o con historia previa de trombosis) [2,3,11].

1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA TROMBOSIS

La fisiopatología de la trombosis en todas las NMPC y en concreto de la PV, es resultado de una compleja asociación entre células sanguíneas, endotelio y el sistema de la coagulación. Durante los últimos años se han realizado múltiples intentos de identificar qué factores participantes en este proceso pudieran relacionarse directamente con el riesgo trombotico, pero los resultados no son del todo concluyentes.

De esta manera, se han estudiado tanto factores de riesgo convencionales como factores de riesgo específicos de la PV. En cuanto a los factores de riesgo convencionales, los más reconocidos son, cómo se ha citado anteriormente, la historia previa de trombosis y la

edad avanzada. Como factores de riesgo cardiovascular (FRCV), la hipertensión arterial y el hábito tabáquico se relacionan de manera significativa con el riesgo de sufrir trombosis arterial, mientras que la Diabetes Mellitus aumenta el riesgo de sufrir trombosis venosas en estos pacientes [8,12]. La reducción de la masa eritrocitaria es el objetivo a alcanzar al administrar el tratamiento, pues se ha demostrado que un hematocrito por debajo del 45% se asocia con una menor probabilidad de sufrir eventos trombóticos [13]. Sin embargo, la asociación entre una elevación aislada del hematocrito y el riesgo trombótico no ha sido demostrada en estudios anteriores [14]. En cuanto a la leucocitosis, un metaanálisis del 2019 identificó un mayor riesgo de trombosis en pacientes con leucocitosis, pero no se indicaba el umbral de recuento de leucocitos a partir del cual aumentaba este riesgo [15]. En un artículo publicado en el año 2020, por Ronner et al [16], se demostró que la leucocitosis persistente en la PV se asociaba a una progresión de la enfermedad, pero no a la trombosis. Los estudios previos a este artículo, se limitaban a determinar la cifra de leucocitos al diagnóstico pero no realizaban un estudio evolutivo.

Dentro de los factores específicos de la PV, la mutación JAK-2 tiene un papel fundamental en el estado proinflamatorio y protrombótico al promover la activación de moléculas inflamatorias, aumentar la hiperviscosidad plasmática y provocar cambios en el endotelio, en factores de la coagulación y en células como plaquetas y granulocitos [17]. En este sentido, la carga alélica calculada a través de una ratio (JAK-2 mutado/JAK-2 no mutado) ha sido objeto de investigación para intentar relacionarla con el riesgo de trombosis. Así, diferentes resultados parecen indicar que una ratio entre un 50-75% podría identificar pacientes con mayor riesgo trombótico, pero dicha relación no se ha validado formalmente [18].

Como mecanismo adicional, en pacientes con PV se observa un aumento de los marcadores de activación de leucocitos, plaquetas y células endoteliales: CD11b, Fosfatasa alcalina leucocitaria, actividad de la elastasa o mieloperoxidasa en el caso de los leucocitos; factor von Willebrand y trombomodulina en el caso de células endoteliales; y la molécula de adhesión P-selectina en las plaquetas activadas [18]. Estos marcadores no han sido relacionados de manera estadísticamente significativa con el riesgo trombótico hasta el momento.

En cuanto al sistema de la coagulación, se ha demostrado que los pacientes con PV tienen un aumento significativo de marcadores como complejos trombina-antitrombina,

fragmentos de protrombina y D-dímero [18]. Sin embargo, el estudio básico de la coagulación en el que medimos los tiempos de coagulación estándar, no suele estar alterado en estos pacientes.

1.3. PRUEBAS GLOBALES DE LA HEMOSTASIA

A excepción de la edad y la historia previa de trombosis, apenas se han encontrado otros factores relacionados de forma significativa con el riesgo trombótico. Esta falta de variedad provoca que no existan escalas o herramientas óptimas para individualizar el pronóstico de los pacientes o que recojan el impacto de los nuevos tratamientos en la reducción del riesgo. La compleja fisiopatología de la enfermedad dificulta discernir qué parámetros predicen con mayor fiabilidad el riesgo de sufrir eventos trombóticos y los resultados de los análisis básicos de hematimetría y hemostasia no resultan suficientes para evaluar este riesgo. Por ello, surge la necesidad de utilizar nuevos métodos que proporcionen una visión global de los mecanismos implicados en la hemostasia y que permitan estudiar la interrelación entre los distintos componentes del sistema.

Una herramienta que podría ser útil en este contexto son las pruebas o ensayos globales de la hemostasia. Las técnicas de este tipo más desarrolladas son el test de generación de trombina (TGT) y la tromboelastometría rotacional (ROTEM).

El TGT evalúa la capacidad de formación de trombina total de una muestra tras la activación de la coagulación; la trombinografía automática calibrada (CAT, por sus siglas en inglés) es la técnica más utilizada. La muestra se puede analizar en presencia o ausencia del factor tisular y fosfolípidos, con plasma pobre en plaquetas (PPP) o plasma rico en plaquetas (PRP) [19].

Por su parte, la ROTEM es una técnica capaz de estudiar la interacción entre distintos componentes del sistema hemostático al trabajar con sangre total y analizar en tiempo real las características cinéticas y viscoelásticas del coágulo [19].

Estas pruebas han sido estudiadas en escasas ocasiones con diferentes resultados en el contexto de la PV. Tripodi et al. [20], realizaron un estudio transversal con pacientes diagnosticados de NMPC Filadelfia negativas desde febrero del 2010 hasta febrero del 2012, en el que tras analizar el TGT y la ROTEM, se obtuvieron resultados hacia un desbalance protrombótico en los pacientes con NMPC, pero no se pudo establecer una relación de causalidad debido a la naturaleza del estudio.

En el año 2018, Lim et al. [21] demostraron que sujetos con NMPC presentaban una tendencia a la hipercoagulabilidad de manera más intensa que controles sanos según los resultados de estas pruebas. Como limitación, no se realizó un análisis evolutivo de los pacientes y la mayoría ya habían comenzado un tratamiento al iniciar el estudio, por lo que los resultados podrían haber diferido en aquellos libres de terapia.

Dados estos antecedentes, se pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios prospectivos, evolutivos (con un seguimiento adecuado de los pacientes para recoger los cambios que se produzcan en el sistema hemostático), con nuevas técnicas complementarias que aporten una visión global como el TGT y la ROTEM, y con objetivos o end-points de tipo clínico para poder analizar si los resultados tienen relación con la ocurrencia de trombosis y con el impacto de las estrategias terapéuticas.

2. HIPÓTESIS

En la PV se dan cambios en el sistema de la hemostasia que favorecen un estado protrombótico que se puede ver reflejado en los resultados de los ensayos globales de la hemostasia como la generación de trombina y la tromboelastometría rotacional.

La demostración en el laboratorio de hemostasia de estas alteraciones asociada a las manifestaciones clínicas podría ser una fuente de información para el manejo adecuado de estos pacientes.

3. OBJETIVOS

1. Objetivo principal: analizar las pruebas globales de la hemostasia en pacientes con PV y su relación con el riesgo trombótico durante la evolución de la enfermedad.

2. Objetivos secundarios:

- A. Medir la tasa de incidencia de eventos trombóticos durante el tiempo de estudio.
- B. Determinar las características clínicas y otro tipo de características analíticas de interés en pacientes con PV.
- C. Analizar la asociación de los factores de riesgo cardiovascular con las alteraciones de hipercoagulabilidad y los eventos trombóticos.
- D. Analizar los cambios evolutivos de los parámetros hemostáticos inducidos por el tratamiento.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO GLOBAL

Se propone un estudio analítico, observacional, con una cohorte ambispectiva de base hospitalaria y multicéntrica. La cohorte del estudio estará formada por dos grupos que se detallarán en apartados posteriores:

- Grupo 1: pacientes incluidos previamente en el registro del grupo GEMFIN (Grupo Español de Neoplasias Mieloproliferativas Filadelfia Negativas).
- Grupo 2: cohorte prospectiva propiamente dicha, formada por pacientes con PV de nuevo diagnóstico.

4.2. LUGAR – CONTEXTO DEL ESTUDIO

El Hospital General Universitario de Alicante (HGUA) será el centro investigador principal. Los pacientes pertenecerán al área de salud de dicho hospital y al resto de hospitales de la provincia que se adhieran al proyecto. La recogida de muestras sanguíneas deberá realizarse en el HGUA, donde se realizarán las pruebas de laboratorio pertinentes, incluyendo los ensayos globales de hemostasia en el área de Hemostasia y Trombosis del servicio de Hematología y Hemoterapia.

4.3. TIEMPO DE EJECUCIÓN

Previamente a la presentación del proyecto, se ha realizado un primer análisis de los datos del registro GEMFIN, con la recogida de los mismos en una hoja tipo Excel durante los meses de marzo y abril del 2021. El estudio proseguirá desde agosto del 2021, con una duración aproximada de 3 años, incluyendo el periodo de reclutamiento de pacientes, seguimiento, análisis de los datos y redacción de los resultados y conclusiones.

4.4. SUJETOS

Población diana: pacientes con PV diagnosticados en el HGUA y en otros hospitales de la provincia de Alicante, independientemente de su estado terapéutico.

Población accesible: sujetos incluidos en el registro GEMFIN previamente al inicio del estudio y pacientes de nuevo diagnóstico de la provincia de Alicante de los que se pueda disponer de su historial clínico y sus pruebas de laboratorio previa obtención del

consentimiento informado. Los pacientes reclutados deben cumplir todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión siguientes:

Criterios de inclusión:

- Sujetos con adecuada adherencia terapéutica y disponibles para mantener un seguimiento clínico durante al menos 1 año.
- Edad > 18 años.
- Disponer del consentimiento informado por escrito para la participación en el estudio.
- Cumplimiento de los criterios diagnósticos de PV de novo según la última edición de la Clasificación de Neoplasias hematológicas y Linfomas de la Organización Mundial de la Salud [1] (Tabla 1).

El diagnóstico de PV requiere cumplir todos los criterios mayores o los 2 primeros criterios mayores y el criterio menor:

Criterios mayores:

1. Hemoglobina >16.5 g/dL en hombres, > 16 g/dL en mujeres, o Hematocrito >49% en hombres, >48% en mujeres o aumento de la masa eritrocitaria (>25% por encima del valor normal).
2. Biopsia de médula ósea que demuestre una hiper celularidad trilineal (panmielosis) para la edad del paciente, con proliferación prominente eritroide, granulocítica y megacariocítica.
3. Presencia de la mutación JAK2 V617F u otra mutación del JAK2 como las del exón 12.

Criterios menores:

1. Nivel de eritropoyetina sérica por debajo del valor de referencia normal.

El criterio mayor número 2 puede no ser necesario en caso de eritrocitosis mantenida definida como niveles de hemoglobina >18.5 g/dL o hematocrito >55.5% en hombres, hemoglobina >16.5 g/dL o hematocrito >49.5% en mujeres, en caso de estar presentes el criterio mayor 3 y el criterio menor.

Tabla 1. Criterios diagnósticos de PV. Adaptado de: *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* [1].

Criterios de exclusión:

- Sujetos que no cumplan los criterios diagnósticos de PV.
- Pacientes con diagnóstico de otras NMPC.
- Pacientes con PV que de manera adicional presenten otro tipo de trombofilias que puedan actuar como factores de confusión: mutación para el factor V Leyden en homo o heterocigosis, mutación del gen de la protrombina, pacientes con déficit de la proteína C, S o de la antitrombina III.
- Sujetos que se prevea que puedan estar no localizables (por antecedentes de mala adherencia terapéutica o ausencia a consultas previas, por mudanza)
- Pacientes de los que no se disponga su historia clínica.

4.5. TAMAÑO MUESTRAL

El muestreo se realizará de forma consecutiva, no aleatorizada. Para calcular el tamaño muestral se ha seguido la regla de “10 por evento explicativo”. De esta manera, para poder realizar un análisis multivariante y teniendo en cuenta las variables independientes, y la incidencia de la trombosis en la enfermedad, el tamaño muestral debe estar en torno a 150 pacientes.

4.6. VARIABLES DEL ESTUDIO

1. Datos sociodemográficos: edad, sexo.

2. Variables clínicas (*atendiendo a los objetivos secundarios*):

- Fecha de diagnóstico, fecha de último seguimiento.
- FRCV:
 - Hipertensión arterial: diagnosticada o en tratamiento.
 - Hábito tabáquico
 - Dislipidemia: diagnosticado previamente o en tratamiento por hipercolesterolemia.
 - Diabetes Mellitus: pacientes en tratamiento con antidiabéticos orales o insulina.
- Tratamiento recibido:
 - Flebotomías o eritroaféresis: realizadas para reducir rápidamente el riesgo trombotico asociado a la hiperviscosidad y al enlentecimiento del flujo sanguíneo como consecuencia del aumento de la masa eritrocitaria.

- Tratamiento citorreductor tanto de primera como de segunda línea (Hidroxiurea, Interferón alfa-pegilado, Ruxolitinib, Busulfán).

→ Variables clínicas definidas como **eventos de interés** (*variable dependiente para el objetivo principal y objetivo 2A*):

- Trombosis arterial: en cualquier territorio, diagnosticada en las pruebas de imagen pertinentes: angiografía vascular por tomografía computarizada o por resonancia magnética, angiografía por catéter, ecografía doppler, coronariografía, angiografía cerebral.
- Trombosis venosa: en cualquier territorio, diagnosticada por ecografía doppler de la zona afectada, angiografía vascular, gammagrafía pulmonar de ventilación/perfusión, fondo de ojo.
- Clínica de microtrombosis: dada la dificultad de su diagnóstico, se recogerán los episodios de eritromelalgia.

3. Variables analíticas:

→ **Pruebas globales de la hemostasia** (*variables independientes para el objetivo principal*):

Test de generación de trombina (Figura 1): las variables más representativas son [19]:

- **Pico**: máxima concentración de trombina obtenida (en nanomoles).
- **Potencial endógeno de trombina**: capacidad total de generación de trombina (nanomoles por minutos).

Tromboelastometría rotacional (Figura 2): las variables más representativas son [19]:

- **Máxima amplitud o firmeza del coágulo (mm)**: amplitud máxima que se alcanza antes de que el coágulo se disuelva por fibrinólisis. Relacionada con los factores de la coagulación, plaquetas y el fibrinógeno.
- **Índice de lisis a los 30 minutos (%)**: representa la fibrinólisis 30 minutos después del tiempo de coagulación. Se relaciona con la intensidad de la fibrinólisis.

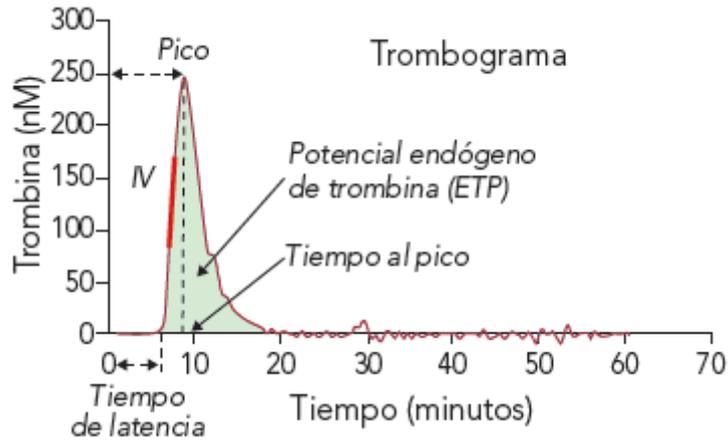


Figura 1. Trombograma del TGT. Parámetros de mayor interés: Pico y Potencial Endógeno de trombina. [19].

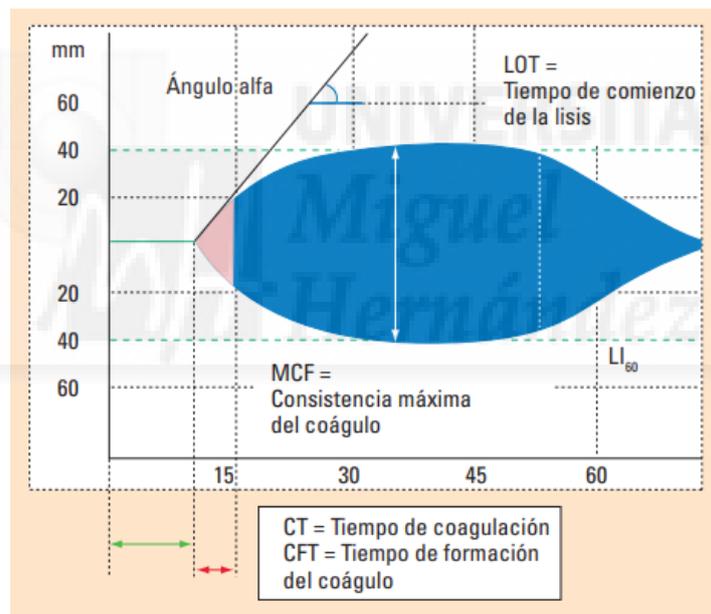


Figura 2. Perfil de formación y lisis del coágulo obtenido por ROTEM. Parámetros de mayor interés: Máxima firmeza del coágulo, Lisis 30. [22]

→ Resto de variables analíticas (atendiendo a los objetivos secundarios):

- Valores hematimétricos: concentración de hemoglobina (en g/dL), hematocrito (expresado en porcentaje), cifra de leucocitos en sangre periférica (con unidades del sistema internacional: $\times 10^9/L$), cifra de plaquetas en sangre periférica ($\times 10^9/L$).

- Valores del estudio básico de la coagulación: Tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), Tiempo de protrombina (TP), Tiempo de trombina (TT) e índice de Quick (IQ).
- Niveles de eritropoyetina sérica (EPO) (mU/mL).
- Estado mutacional del paciente: presencia de la mutación JAK-2 (V617F en el exón 14 o la mutación del exón 12).

4.7. METODOLOGÍA PARA LA RECOGIDA DE VARIABLES

Cohorte de estudio: los dos grupos de pacientes que participarán son:

- Grupo 1: pacientes incluidos en el registro GEMFIN hasta 12 meses antes del comienzo del estudio, en los que se recogerán las variables anteriormente expuestas, independientemente de su estado de enfermedad y del tratamiento recibido. Todos ellos pertenecen al HGUA.
- Grupo 2: cohorte prospectiva con pacientes de nuevo diagnóstico. El periodo de reclutamiento comprenderá desde el 1 de agosto del 2021 hasta el 1 de agosto del 2023 y se incluirán pacientes diagnosticados en toda la provincia.

Procedimiento de recogida de variables: se realizará por parte del investigador principal fundamentalmente. En la primera visita, se solicitará a los pacientes participar en el proyecto, aclarando las dudas que puedan surgir y se les entregará el Documento de consentimiento informado (Anexo 1) que deberán firmar si aceptan participar. Se rellenará la Hoja de registro de datos (Anexo 2) y tras ello una hoja de cálculo Excel para su análisis posterior, de manera anónima. El procedimiento será el siguiente:

- Grupo 1 (GEMFIN):
 - Datos sociodemográficos, clínicos y el estado mutacional del paciente: se extraerán del registro GEMFIN.
 - La determinación de las pruebas globales de la hemostasia y del resto de variables analíticas se realizará en una única visita al comienzo del estudio en el HGUA.
- Grupo 2: los momentos de la evolución y las variables que se recogerán son:
 - Al diagnóstico: sociodemográficas, clínicas y analíticas. Se realizará antes de iniciar un tratamiento para conocer el estado basal (siempre que no comprometa el pronóstico del paciente). El análisis de la mutación JAK-2 se realizará únicamente en este punto.

- A los 4 meses del diagnóstico: variables clínicas y analíticas.
- A los 12 meses del diagnóstico: variables clínicas y última determinación de las variables analíticas.

Las muestras requeridas son: 1 tubo con EDTA, para el hemograma; 1 tubo de suero, para la EPO; y 3 tubo con citrato, para el estudio de coagulación, el TGT (con plasma rico en plaquetas) y la ROTEM (con sangre total). La extracción deberá tener lugar en el HGUA para mantener la calidad de la muestra.

Según este procedimiento, se podrán delimitar 3 periodos de estudio en base a las visitas programadas, como se observa en la Figura 3. La cohorte prospectiva formada por pacientes de nuevo diagnóstico se incluirá en todos los periodos. En cambio, los pacientes del registro GEMFIN iniciarán el seguimiento directamente desde el periodo tardío.

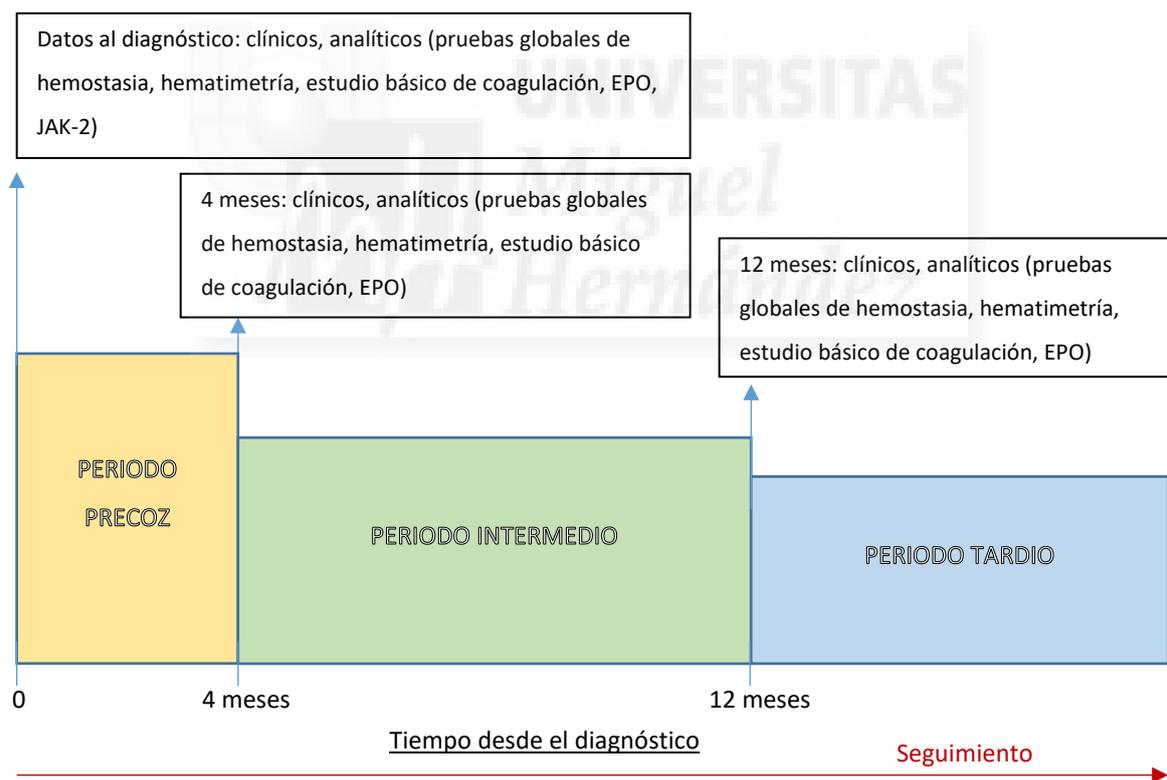


Figura 3. Periodos de estudio y seguimiento.

Seguimiento: todos los participantes tendrán un seguimiento de mínimo 12 meses desde la inclusión. El primer año se realizará una consulta cada 4 meses, que podrá coincidir con la que los pacientes realicen en sus hospitales de referencia; si no es así, el

investigador principal realizará una consulta telefónica. Posteriormente, las visitas se podrán espaciar según lo acordado en la reunión entre los distintos centros participantes. En ambos casos, el investigador principal o los médicos asociados rellenarán los apartados pertinentes de la hoja de registro de datos.

La notificación de los eventos trombóticos se realizará siempre que ocurra independientemente de si coincide o no con una visita programada.

4.8 ANÁLISIS DE DATOS

El análisis estadístico se realizará con el software IBM SPSS Statistics. Los datos serán depurados y registrados de forma anónima. La significación estadística se fijará en un valor de $P < 0.05$; todos los contrastes se realizarán de forma bilateral.

Análisis descriptivo (útil para todos los objetivos):

- Variables cualitativas: frecuencias absolutas y porcentajes.
- Variables cuantitativas: se llevará a cabo el test de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de su distribución. Tras ello, se calcularán las medidas de tendencia central y dispersión correspondientes.

Análisis para el objetivo principal, 2C y 2D:

- Análisis univariante: las variables independientes serán todas las variables clínicas (FRCV, tratamiento) y analíticas del estudio y la dependiente será el desarrollo de eventos trombóticos (categorizada como sí/no). Según el tipo de variable independiente, el test estadístico utilizado será:
 - Variable categórica: test de X^2 de Pearson o prueba exacta de Fisher.
 - Variable cuantitativa continua: T de Student o U de Mann-Whitney según sea normal o no la distribución de la variable cuantitativa, respectivamente. Si analizáramos los eventos trombóticos como variable respuesta con tres categorías (microvasculatura, arteriales, venosos): test del Análisis de la Varianza (ANOVA) o test de Kruskal-Wallis según la normalidad.
 - Medida de asociación: Riesgo Relativo, con un intervalo de confianza del 95%.
- Análisis multivariante: se realizará para controlar la confusión, con un modelo de regresión logística en el que se incluyan las variables tanto clínicas como analíticas

(sobre todo las más representativas para el proyecto: TGT, ROTEM y FRCV) que hayan resultado ser estadísticamente significativas en el análisis anterior, empleando como variable dependiente el desarrollo de evento trombótico.

- Se realizará un análisis para cada periodo de seguimiento (Figura 3) según los datos del análisis al inicio de cada periodo.
- Para la comparación de medidas repetidas o pareadas (ejemplo, un parámetro hemostático en distintos puntos de la evolución): test de Wilcoxon para variables cuantitativas continuas.

4.9. DIFICULTADES Y LIMITACIONES

- Sesgo de selección: por pérdidas durante el seguimiento al tratarse de un estudio de larga evolución. Con las consultas programadas cada 4 meses se espera minimizar dicha pérdida.

- Tamaño muestral: se ha aplicado un tiempo de reclutamiento en el que se pretende obtener el número de pacientes adecuado; si esto no ocurriera, cabría la posibilidad de ampliar el tiempo de reclutamiento del estudio.

- Datos perdidos: el registro GEMFIN puede no contener todos los datos necesarios según se haya realizado correctamente dicho registro en el pasado. Probablemente existen datos analíticos y sobre todo de tipo clínico (eventos trombóticos) que no han sido incluidos. Sería preciso realizar una actualización del registro para no cometer un sesgo de información en este grupo de pacientes.

- Error de medición por dificultades en la conservación y transporte de la muestra: las muestras en citrato deben procesarse dentro de las 3 primeras horas tras su extracción o bien, ser transportadas a una temperatura de -80°C . Por ello, se deben extraer en el HGUA como primera opción.

- Factor de confusión y modificación del efecto: dado que no existe una aleatorización, son grupos heterogéneos en los que pueden existir variables confusoras y modificadoras de efecto. Para evaluarlas, se realizará un procedimiento multivariante.

- Sobreajuste del modelo: en el análisis multivariante se tendrán en cuenta las variables clínicas y analíticas más representativas para disminuir la complejidad del modelo. De esta manera, podría ser más sencillo de reproducir en estudios posteriores.

- Al tratarse de un estudio multicéntrico, en la primera reunión que se realice con el resto de centros participantes, se homogeneizarán los protocolos de tratamiento y seguimiento de los pacientes, para así poder evitar diferencias de este tipo que puedan influir en el análisis estadístico.

5. ASPECTOS ÉTICOS

Se seguirán las normas de buena práctica clínica para los estudios epidemiológicos. Para la redacción de este proyecto y para el análisis preliminar del registro GEMFIN, se ha solicitado la aprobación por parte de la Oficina de Investigación Responsable de la Universidad Miguel Hernández, siendo aceptada. Para la realización completa del proyecto, se ha solicitado la aprobación por parte del Comité de Ética e Investigación Clínica de los hospitales implicados, haciendo entrega a dichos comités las hojas de consentimiento informado y el protocolo de estudio.

Se mantendrá en todo momento la confidencialidad de la información de los sujetos. Los datos que se recojan en la hoja de registro será anonimizada, utilizando únicamente un código de identificación que se aplicará a cada paciente en el momento de su inclusión.

6. PLAN DE TRABAJO

6.1. DISTRIBUCIÓN DE TAREAS DEL EQUIPO INVESTIGADOR

Investigador principal: Ana Garzó Moreno, encargada de la recogida de datos que se realice en el HGUA, del registro de los mismos en la hoja de cálculo tipo Excel, del análisis estadístico y de la redacción de los resultados y conclusiones. Velará, a su vez, para que se mantenga la confidencialidad.

Resto de investigadores: facultativos especialistas o médicos internos residentes de Hematología y Hemoterapia de hospitales de la provincia de Alicante en los que se diagnostiquen pacientes de novo; rellenarán la hoja de registro de datos en las visitas durante el seguimiento en las que el paciente no acuda al HGUA. Esta hoja de registro será posteriormente remitida al investigador principal.

6.2. CRONOGRAMA DE LAS ACTIVIDADES

En la Tabla 2 se especifica el tiempo de ejecución esperado de cada actividad y las tareas a llevar a cabo.

Marzo 2021 – Abril 2021	Primer análisis del registro GEMFIN
Junio 2021	Presentación del proyecto al Comité Ético de Investigación de los hospitales implicados.
Agosto 2021 – Septiembre 2021	Reunión con el resto de los hospitales comarcales para la presentación y explicación del proyecto.
Septiembre 2021 – Noviembre 2021	Análisis en profundidad de los datos del registro GEMFIN y recogida de variables del grupo 1.
Agosto 2021 – Agosto 2023	Periodo de reclutamiento del grupo 2 y recogida de variables para este grupo
Periodo de seguimiento: 12 meses	Visitas cada 4 meses de la inclusión de los pacientes tanto del grupo 1 como del grupo 2
Aproximadamente a partir de Agosto 2024	Análisis de los datos de manera retrospectiva, con redacción de los resultados y conclusiones
Final del proyecto: Agosto 2024	

Tabla 2. Cronograma de las actividades del proyecto.

7. RESULTADOS

Tal y como se ha explicado en anteriores apartados, se ha realizado un primer análisis de los datos del registro GEMFIN para conocer las características de la población que se pretende incluir en el estudio. En dicho archivo los pacientes están ordenados a través de un código según la fecha de registro, totalmente anonimizados, sin poder acceder a sus datos personales ni historia clínica.

Se presenta a continuación los resultados de este análisis descriptivo:

- El archivo cuenta con 50 pacientes diagnosticados de PV desde el año 1994, con un mayor número de pacientes diagnosticados en los últimos 10 años.
- 39 de los pacientes son varones y 11 son mujeres.
- Frecuencia de los FRCV: hábito tabáquico está presente en 22 pacientes (44%), la Diabetes Mellitus en 6 (12%), hipertensión arterial en 29 (58%), dislipemia en 16 (32%) y fibrilación auricular en 4 pacientes (8%).
- Parámetros analíticos:
 - Distribución normal, según la prueba de Komolgorov-Smirnov: Hemoglobina, con una media de 17.80 g/dL; el hematocrito, con una media del 55.13%; la cifra plaquetar ($428 \times 10^9/L$ de media) y el colesterol (175 mmol/L de media).
 - Distribución no normal: volumen corpuscular medio (VCM), con una mediana de 146 fl; recuento de leucocitos, con una mediana de $10 \times 10^9/L$ y ferritina, cuya mediana es de 124 ng/mL.
- Eventos trombóticos: de los 50 pacientes del registro, habían presentado trombosis previamente al diagnóstico 7 de ellos; 5 sufrieron un episodio de trombosis arterial, 1 paciente sufrió una trombosis venosa y 1 paciente presentó eventos trombóticos previos en ambas localizaciones. En el momento del diagnóstico, 2 pacientes sufrieron trombosis, ambos de tipo arterial. Ningún paciente debutó con hemorragia. En cuanto a la mutación de JAK-2, todos los pacientes presentaron la mutación V617F del exón 14, excepto 2 de ellos en los que fue negativa y 7 en los que no se disponía de este dato.
- Tratamiento recibido: 38 iniciaron Hidroxiurea al diagnóstico y las indicaciones para su uso fueron:
 - En 29 de ellos por tener > 60 años (en 4 de ellos coincidía a su vez la historia previa de trombosis),
 - 3 por historia personal de trombosis sin otro criterio
 - En 4 de ellos por presentar trombocitosis
 - 2 de ellos por la sintomatología (eritromelalgia y parestesias en un sujeto, prurito incoercible en el otro paciente).
- Evolución terapéutica: De los 38 pacientes que iniciaron tratamiento, 6 la interrumpieron por resistencia a Hidroxiurea y 7 por intolerancia a la misma. Posteriormente, 8 de ellos iniciaron citorreducción de segunda línea con

Ruxolitinib, 1 con interferón alfa y 1 con anagrelide. El resto, se mantuvo sin tratamiento con estabilidad durante el seguimiento hasta la actualidad.

Interpretación de los resultados preliminares: La incidencia de trombosis en estos pacientes no coincide con la incidencia de trombosis de la enfermedad según la revisión bibliográfica realizada. Dado que probablemente existan datos no registrados correctamente, esto podría estar en relación con que no se haya observado una asociación estadísticamente significativa entre los eventos trombóticos y los FRCV o las variables analíticas más relevantes del registro (Hb, Hto, leucocitos y plaquetas). No obstante, se ha decidido incluir este grupo de pacientes en el presente proyecto para observar las características de su estado de hipercoagulabilidad tras una evolución y tratamiento de larga evolución. En el momento del análisis, la mayoría presentaban un tiempo de evolución de más de 12 meses, por lo que podrían ser incluidos en el Grupo 1 descrito en el apartado 4.7.

8. JUSTIFICACIÓN, APLICABILIDAD PRÁCTICA DEL PROYECTO

Este proyecto de investigación pretende aportar nuevos datos en las zonas de conocimiento de la PV en las que existe una falta de evidencia reciente o en las que no hay cohesión en las distintas investigaciones, a través del estudio de las técnicas globales de la coagulación. Con esta herramienta se podría ampliar la información acerca de la fisiopatología de la PV, determinar si existen otros indicadores de riesgo de trombosis además de los clásicos y evaluar el impacto del tratamiento en la evolución de los parámetros estudiados. Con todo, podría constituir una contribución adicional a la hora de la toma de decisiones clínicas basadas en la evidencia.

Una posible mejora asociada a este proyecto sería la realización de un estudio basado en las recomendaciones del estatuto TRIPOD [23], por el que se especifican los ítems que deberían cumplir los estudios que pretenden desarrollar o validar un modelo predictivo o un modelo diagnóstico (Anexo 3). Este tipo de estudios requieren dos fases: en primer lugar, desarrollar el modelo en una cohorte de derivación o entrenamiento y, en segundo lugar, validar el modelo en una cohorte de validación.

Si el presente proyecto consigue sus objetivos, podría servir como base de un proyecto de mayor envergadura para desarrollar un modelo predictivo y para la creación, a su vez, de una escala de puntuación pronóstica.

9. PRESUPUESTO

Gastos de personal: las tareas realizadas por parte del investigador principal y el resto de investigadores no supondrán ningún gasto adicional.

Gastos de ejecución aproximados:

- Pruebas globales de la hemostasia:
 - Test de generación de trombina: 8000 €
 - Tromboelastometría: 8000 €
- Resto de variables analíticas (parámetros hematimétricos, estudio básico de hemostasia, determinación de eritropoyetina sérica, mutación JAK-2): no precisa de presupuesto adicional, pues se realizan de manera rutinaria.

Gastos de viaje aproximados:

- Transporte de muestras: a tener en cuenta en los casos que no se pueda desplazar el paciente al HGUA y hubiese que transportar las muestras con citrato a una temperatura óptima de conservación: 1000 €

TOTAL: se asigna al proyecto un total aproximado de 20.000 € de presupuesto.

10. CONTRIBUCIÓN DEL ALUMNO

La elaboración de este proyecto en su totalidad ha sido efectuada por parte del alumno que lo presenta, con la colaboración del tutor. Se incluyen en las actividades realizadas la búsqueda bibliográfica, con una lectura crítica de la literatura, la elaboración del diseño y las relacionadas con el primer análisis del registro GEMFIN.

BIBLIOGRAFÍA

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017.
2. Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjan JJ, Kröger N, et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26:v85-99.
3. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020;95(12):1599-613.
4. Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood.* 2013;122(13):2176-84.
5. Griesshammer M, Kiladjan JJ, Besses C. Thromboembolic events in polycythemia vera. *Ann Hematol.* 2019; 98:1071-82.
6. Italiano G, Policitemia S. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Ann Intern Med.* 1995;123(9):656-64.
7. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Patrono C, et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol.* 2005;23(10):2224-32.
8. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood.* 2007;109(6):2446-52.
9. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: Prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost.* 2007;33(4):313-20.
10. Alvarez-larr A, Hern JC, Cuevas B, Mata MI, Montesdeoca S, Burgaleta C, et al. Frequency and prognostic value of resistance / intolerance to hydroxycarbamide in 890 patients with polycythaemia vera. 2016;172(5):786-93.

11. Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, Passamonti F, Silver RT, Hoffman R, et al. Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: Revised management recommendations from European LeukemiaNet. *Leukemia*. 2018;32(5):1057-69.
12. Gangat N, Strand J, Li CY, Wu W, Pardanani A, Tefferi A. Leucocytosis in polycythaemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol*. 2007;138(3):354-8.
13. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Masciulli A, Mennitto MR, Barbui T. The CYTO-PV: A Large-Scale Trial Testing the Intensity of CYTOreductive Therapy to Prevent Cardiovascular Events in Patients with Polycythemia Vera. *Thrombosis*. 2011;2011:1-9.
14. Gordeuk VR, Key NS, Prchal JT. Re-evaluation of hematocrit as a determinant of thrombotic risk in erythrocytosis. *Haematologica*. 2019;104(4):653-8.
15. Carobbio A, Ferrari A, Masciulli A, Ghirardi A, Barosi G, Barbui T. Leukocytosis and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: A systematic review and meta-analysis. *Blood Adv*. 2019;3(11):1729-37.
16. Ronner L, Podoltsev N, Gotlib J, Heaney ML, Kuykendall AT, O'Connell C, et al. Persistent leukocytosis in polycythemia vera is associated with disease evolution but not thrombosis. *Blood*. 2020;135(19):1696-703.
17. Perner F, Perner C, Ernst T, Heidel FH. Roles of JAK2 in Aging, Inflammation, Hematopoiesis and Malignant Transformation. *Cells*. 2019;8(854):1-19.
18. Kroll MH, Michaelis LC, Verstovsek S. Mechanisms of thrombogenesis in polycythemia vera. *Blood Rev*. 2015;29(4):215-21.
19. Fernández Bello I. Laboratorio de hemostasia. Pruebas globales de la coagulación. En: Soto Ortega I, Álvarez Román MT, editores. *Hemostasia y Trombosis en la práctica clínica*. Madrid: Ergón; 2018. p. 59-80.
20. Tripodi A, Chantarangkul V, Gianniello F, Clerici M, Lemma L, Padovan L, et al. Global coagulation in myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol*. 2013;92(12):1633-9.
21. Lim HY, Ng C, Rigano J, Tacey M, Donnan G, Nandurkar H, et al. An evaluation of global coagulation assays in myeloproliferative neoplasm. *Blood Coagul*

- Fibrinolysis. 2018;29(3):300-6.
22. Páramo Fernández JA. Sistema hemostático: Fisiopatología y aproximación clínica y diagnóstica. *Med.* 2012;11(22):1327-36.
 23. Collins GS, Reitsma JB, Altman DG. Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD): the TRIPOD statement. 2015;350(7594):1-9.



ANEXO 1. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS PARTICIPANTES DEL PROYECTO “ESTUDIO EVOLUTIVO DE LOS PARÁMETROS DE HIPERCOAGULABILIDAD EN PACIENTES CON POLICITEMIA VERA Y SU CORRELACIÓN CON LOS EVENTOS TROMBÓTICOS”

Investigador principal: Ana Garzó Moreno. Médico Interno Residente (M.I.R.) de Hematología y Hemoterapia en el Hospital General Universitario de Alicante.

Contacto con el investigador principal: 965933000, garzo_ana@gva.es.

El Hospital General Universitario de Alicante y el investigador principal le invitan a participar en el proyecto al que hace referencia este consentimiento informado, debido a su reciente o antiguo diagnóstico de Policitemia Vera.

En esta enfermedad existe un mayor riesgo de complicaciones tromboembólicas (por ejemplo, infartos de corazón o ictus cerebrales), que se han visto relacionadas con algunos factores como la edad avanzada o el haber sufrido previamente alguna de ellas. Existen otros factores clínicos o alteraciones analíticas (como por ejemplo ser hipertenso, fumador, tener los glóbulos blancos en sangre aumentados) que parece que también aumentan el riesgo de tener complicaciones trombóticas, pero actualmente aún faltan muchos factores por estudiar. Entre ellos, en este estudio nos centramos en las células o proteínas que actúan en la coagulación de la sangre (proceso que ocurre cuando nuestro organismo quiere frenar alguna hemorragia o sangrado).

El objetivo de este estudio es analizar la coagulación de la sangre mediante algunas pruebas analíticas diferentes a las utilizadas en las visitas rutinarias, para comprobar si su alteración nos puede indicar qué pacientes tendrán más riesgo de tener alguna complicación trombótica. Para ello se realizarán 3 analíticas de sangre: cuando le diagnostiquen la enfermedad, a los 4 y a los 12 meses. Posteriormente, se hará un seguimiento personal cada 4 meses (puede coincidir con las consultas que tenga en su hospital de referencia o se realizará por teléfono con el investigador principal).

- Posibles riesgos del estudio: ninguno, únicamente se requiere de analíticas de sangre. El estudio no tendrá ninguna influencia en el tratamiento que reciba para su enfermedad, que seguirá las mismas indicaciones que otros pacientes fuera del estudio.
- Posibles beneficios del estudio: contribuirá al mejor conocimiento de su enfermedad y a nivel individual, se realizará un seguimiento estrecho con un control adecuado de las complicaciones que puedan surgir.
- Publicación científica y confidencialidad: al participar en el estudio, usted autoriza a que los resultados del mismo puedan ser utilizados para publicaciones de revistas médicas,

trabajos de congresos o presentaciones, pero su identidad y sus datos clínicos se mantendrán en el anonimato, manteniendo la confidencialidad.

- Revocación del consentimiento: podrá retirarse el estudio siempre que lo desee y esto no perjudicará su calidad de paciente.

OTORGACIÓN del consentimiento: al firmar el presente documento, declaro que:

- Se me ha explicado lo señalado precedentemente, incluyendo el derecho a revocar este consentimiento para participar en el estudio, sin que ello suponga ningún perjuicio para mi persona.
- El consentimiento está dado voluntariamente, sin haberse producido ningún tipo de coacción.

Nombres y apellidos del paciente: D./Dña/

Nombre y apellidos del representante legal/familiar: D./Dña/

D.N.I. del paciente/representante: _____

Firma del paciente/representante: _____

En: _____, a _____ de _____ del 20 ____.

Nombre del profesional sanitario que informa:

D./Dña.: _____

Nº de colegiado: _____

Firma del profesional: _____

DENEGACIÓN O REVOCACIÓN del consentimiento: tras ser informado de la naturaleza de este estudio, manifiesto de forma libre y consciente mi Denegación/Revocación de consentimiento para mi participación, haciéndome responsable de las consecuencias que pueden derivarse de esta decisión:

Firma del paciente: _____

Firma del tutor o representante legal: _____

Firma del profesional: _____

En _____, a _____ de _____ del 20 ____.

ANEXO 2. HOJA DE REGISTRO DE DATOS

PROYECTO “ESTUDIO EVOLUTIVO DE LOS PARÁMETROS DE HIPERCOAGULABILIDAD EN PACIENTES CON POLICITEMIA VERA Y SU CORRELACIÓN CON LOS EVENTOS TROMBÓTICOS”

<u>PACIENTE</u>	
- Código en el estudio:	- Fecha de nacimiento:
- Hospital de procedencia:	- Sexo:
- Iniciales:	- FRCV (marcar con una x)
- Fecha de diagnóstico:	○ HTA <input type="checkbox"/>
- Fecha de último seguimiento:	○ Tabaco <input type="checkbox"/>
- Fecha de inclusión en el estudio:	○ DLP <input type="checkbox"/>

DATOS ANALÍTICOS

	AL DIAGNÓSTICO	4 MESES	12 MESES
TGT	- Pico: - Potencial endógeno de trombina:	- Pico: - Potencial endógeno de trombina:	- Pico: - Potencial endógeno de trombina:
ROTEM	- Máxima amplitud o firmeza: - Lisis 30min:	- Máxima amplitud o firmeza: - Lisis 30min:	- Máxima amplitud o firmeza: - Lisis 30min:
Hematimetría	- Hemoglobina: - Hematocrito: - Leucocitos: - Plaquetas:	- Hemoglobina: - Hematocrito: - Leucocitos: - Plaquetas:	- Hemoglobina: - Hematocrito: - Leucocitos: - Plaquetas:
Estudio básico de coagulación	- APTT: - TP: - IQ: - TT:	- APTT: - TP: - IQ: - TT:	- APTT: - TP: - IQ: - TT:
Eritropoyetina sérica			

ANEXO 3. DECLARACIÓN TRIPOD: Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis [23].

Section/Topic Item Checklist Item Page			
Title and abstract			
Title	1	D;V	Identify the study as developing and/or validating a multivariable prediction model, <u>the target population, and the outcome to be predicted.</u>
Abstract	2	D;V	Provide a summary of objectives, study design, setting, participants, sample size, predictors, outcome, statistical analysis, results, and conclusions.
Introduction			
Background and objectives	3a	D;V	Explain the medical context (including whether diagnostic or prognostic) and rationale for developing or validating the multivariable prediction model, including <u>references to existing models.</u>
	3b	D;V	Specify the objectives, including whether the study describes the development or validation of the model or both.
Methods			
Source of data	4a	D;V	Describe the study design or source of data (e.g., randomized trial, cohort, or registry data), <u>separately for the development and validation data sets, if</u>
	4b	D;V	Specify the key study dates, including start of accrual; end of accrual; and, if applicable, end of follow-up.
Participants	5a	D;V	Specify key elements of the study setting (e.g., primary care, secondary care, general population) including number and location of centres.
	5b	D;V	Describe eligibility criteria for participants.
	5c	D;V	Give details of treatments received, if relevant.
Outcome	6a	D;V	Clearly define the outcome that is predicted by the prediction model, including how and when assessed.
	6b	D;V	Report any actions to blind assessment of the outcome to be predicted.
Predictors	7a	D;V	Clearly define all predictors used in developing or validating the multivariable prediction model, including how and when they were measured.
	7b	D;V	Report any actions to blind assessment of predictors for the outcome and other predictors.
Sample size	8	D;V	Explain how the study size was arrived at.
Missing data	9	D;V	Describe how missing data were handled (e.g., complete-case analysis, single imputation, multiple imputation) with details of any imputation method.
Statistical analysis methods	10a	D	Describe how predictors were handled in the analyses.
	10b	D	Specify type of model, all model-building procedures (including any predictor selection), and method for internal validation.
	10c	V	For validation, describe how the predictions were calculated.
	10d	D;V	Specify all measures used to assess model performance and, if relevant, to compare multiple models.
	10e	V	Describe any model updating (e.g., recalibration) arising from the validation, if done.
Risk groups	11	D;V	Provide details on how risk groups were created, if done.
Development vs. validation	12	V	For validation, identify any differences from the development data in setting, eligibility criteria, outcome, and predictors.
Results			
Participants	13a	D;V	Describe the flow of participants through the study, including the number of participants with and without the outcome and, if applicable, a summary of the follow-up time. <u>A diagram may be helpful.</u>
	13b	D;V	Describe the characteristics of the participants (basic demographics, clinical features, available predictors), including the number of participants with missing data for predictors and outcome.
	13c	V	For validation, show a comparison with the development data of the distribution of important variables (demographics, predictors and outcome).
Model development	14a	D	Specify the number of participants and outcome events in each analysis.
	14b	D	If done, report the unadjusted association between each candidate predictor and outcome.
Model specification	15a	D	Present the full prediction model to allow predictions for individuals (i.e., all regression coefficients, and model intercept or baseline survival at a given time
	15b	D	Explain how to use the prediction model.
Model performance	16	D;V	Report performance measures (with CIs) for the prediction model.
Model-updating	17	V	If done, report the results from any model updating (i.e., model specification, model performance).
Discussion			
Limitations	18	D;V	Discuss any limitations of the study (such as nonrepresentative sample, few events per predictor, missing data).
Interpretation	19a	V	For validation, discuss the results with reference to performance in the development data, and any other validation data.
	19b	D;V	Give an overall interpretation of the results, considering objectives, limitations, results from similar studies, and other relevant evidence.
Implications	20	D;V	Discuss the potential clinical use of the model and implications for future research.
Other information			
Supplementary information	21	D;V	Provide information about the availability of supplementary resources, such as study protocol, Web calculator, and data sets.
Funding	22	D;V	Give the source of funding and the role of the funders for the present study.