

MEMORIA CONVOCATORIA 2025 – 2026

TÍTULO: Detección de células plasmáticas circulantes en mieloma múltiple: hacia unos nuevos criterios diagnósticos de leucemia de células plasmáticas

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Borja Puertas Martínez

RESUMEN (Objetivos y metodología del proyecto): (ajustarse al espacio disponible)

Los avances terapéuticos han mejorado significativamente el pronóstico de los pacientes con mieloma múltiple (MM), transformando esta neoplasia en una enfermedad crónica e, incluso, potencialmente curable. No obstante, la leucemia de células plasmáticas (LCP), ya sea al diagnóstico (primaria, LCPp) o en el contexto de una recaída (secundaria, LCPs), representa la forma más agresiva del MM.

Tradicionalmente, el diagnóstico de LCP se ha basado en criterios citológicos, estableciendo un umbral de $\geq 20\%$ de células plasmáticas circulantes (CPCs) o una plasmocitosis $\geq 2 \times 10^9/L$ en sangre periférica. En 2021, el International Myeloma Working Group propuso reducir este umbral al 5%, basándose en estudios retrospectivos que presentan importantes limitaciones, como la baja sensibilidad de la citología y la inclusión de pacientes tratados con esquemas terapéuticos actualmente subóptimos. Cabe destacar que los criterios para LCPs no fueron modificados.

La citometría de flujo multiparamétrica (CFM), una técnica de alta sensibilidad permite detectar CPCs en la mayoría de los pacientes con MM. Estudios recientes han demostrado que la presencia de $\geq 2\%$ de CPCs por CFM identifica un subtipo de MM de alto riesgo, con un pronóstico equiparable al de la LCPp. Sin embargo, existe escasa evidencia sobre su valor pronóstico en el contexto de la recaída.

Este proyecto tiene como objetivo comparar los puntos de corte propuestos por ambas técnicas ($\geq 5\%$ por citología y $\geq 2\%$ por CFM), evaluar su correlación y avanzar hacia la redefinición de los criterios diagnósticos de LCP. En última instancia, se pretende mejorar la estratificación pronóstica y optimizar el abordaje clínico de los pacientes con MM.



ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA (Citar las referencias incluidas en el apartado siguiente) (Máximo 3 páginas)

El MM es una neoplasia hematológica caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas, generalmente asociada a la producción y secreción de un componente monoclonal, así como al desarrollo de daño orgánico, clásicamente resumido en el acrónimo CRAB (hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas líticas)¹. Su relevancia en el ámbito de la investigación se debe a que es la segunda neoplasia hematológica más frecuente, con una incidencia de 5-6 casos/100.000 habitantes-año y representa el 10% de todas las neoplasias hematológicas².

Los avances en la investigación básica y clínica han transformado radicalmente la forma de entender esta enfermedad. Si bien históricamente se consideraba incurable, hoy se reconoce como una patología crónica y, en determinados subgrupos de pacientes, potencialmente curable³. Este cambio de paradigma ha sido posible gracias a la introducción de combinaciones terapéuticas más eficaces y mejor toleradas⁴. Por ejemplo, las combinaciones cuádruples en la primera línea, que incluyen anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-CD38, inhibidores de la proteasoma (IP), agentes inmunomoduladores (IMiDs) y corticoides han demostrado alcanzar una supervivencia libre de progresión (SLP) de hasta 17 años en pacientes candidatos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH), de hasta 10 años en no candidatos⁵⁻⁸. Asimismo, la introducción de terapias dirigidas contra el antígeno BCMA (del inglés, *B-cell maturation antigen*), ha mejorado de forma muy significativa la supervivencia de los pacientes en recaída, superando los 3 años de SLP⁹⁻¹¹.

Estas mejoras en la supervivencia podrían deberse a la capacidad de las nuevas estrategias para doblar el pronóstico adverso asociado a ciertas características clínicas y biológicas. En consecuencia, se hace necesaria una revisión y validación continua de las definiciones y de los factores pronósticos de acuerdo con los nuevos estándares terapéuticos, como se ha realizado recientemente con el alto riesgo citogenético¹².

Uno de los factores pronósticos que suscita más interés es la detección y cuantificación de CPCs. La identificación de CPCs por técnicas celulares y moleculares se lleva realizando desde finales del siglo XX^{13,14}. La citología convencional es la técnica diagnóstica fundamental que permite diferenciar entre pacientes con MM y aquellos con LCPp, la variante de MM más agresiva y con peor pronóstico. Hasta el año 2021¹⁵, el diagnóstico de LCPp requería una plasmocitosis en sangre periférica $\geq 2 \times 10^9/L$ o que representara $\geq 20\%$ de la fórmula leucocitaria. El *International Myeloma Working Group* (IMWG) propuso la rebajar este umbral de CPCs al 5% en base a los resultados de dos estudios retrospectivos en los que en aquellos pacientes con una plasmocitosis en sangre periférica del 5-19% al diagnóstico presentaban una supervivencia global (SG) comparable a los pacientes que cumplían el criterio clásico de LCPp (≈ 1 año)^{16,17}.

No obstante, es importante destacar tres limitaciones: 1) no se logró identificar CPCs en más del 80% de los pacientes; 2) todos los pacientes habían recibido esquemas de tratamiento considerados subóptimos en la actualidad; y 3) no se abordó un cambio en la definición de la LCPs, manteniéndose los mismos criterios de plasmocitosis en sangre periférica $\geq 20\%$ en la recaída.

Para superar la baja sensibilidad de la citología convencional en cuanto a la detección de CPCs, es necesario recurrir a técnicas con más sensibles y menos subjetivas como la CFM, una técnica celular ampliamente utilizada en MM para la detección de enfermedad residual medible tras los tratamientos¹⁸. En 2018, el grupo EuroFlow demostró que era posible identificar la presencia de CPCs en la práctica totalidad de los pacientes con MM en el momento del diagnóstico¹⁹. Además, se ha identificado que la presencia de $\geq 0,01\%$ ó $\geq 0,07\%$ CPCs detectadas por CFM como factor independiente para la SLP y SG en pacientes con MM de nuevo diagnóstico^{20,21}.

No obstante, pese a su valor clínico, la detección de CPCs mediante CFM no está incluida en la cartera de servicios de muchos laboratorios, y existen pocos datos robustos en el contexto de la recaída. Recientemente Jelinek y colaboradores propusieron un umbral de $\geq 2\%$ CPCs detectadas por citometría de alta sensibilidad como punto de corte para identificar pacientes de alto riesgo con MM de nuevo diagnóstico, basándose en los resultados de un estudio retrospectivo cooperativo europeo²². En este estudio se incluyeron casi 600 MM de nuevo diagnóstico, candidatos y no candidatos a trasplante, y en el 80% se detectaron CPCs por CFM. La presencia de $\geq 2\%$ CPCs (fenotipo LCP-like) se asoció con una SLP y SG infausta, similar a la reportada en la literatura para los pacientes con LCPP, tanto en pacientes elegibles como no elegibles para trasplante. No obstante, el estudio tiene limitaciones, como su naturaleza retrospectiva y que ningún paciente de los incluidos habían recibidos los esquemas terapéuticos actuales basados en AcMo anti-CD38.

Si bien existen estudios que comparan la citología con la CFM para la detección de CPCs, la mayoría son retrospectivos y se limitan al diagnóstico. Los umbrales recientemente propuestos por citología (5%) y por CFM (2%) son relativamente altos y similares, por lo que resulta de gran interés analizar su correlación y determinar si la citología puede identificar de forma fiable ambos puntos de corte. Este proyecto tiene por objetivo validar prospectivamente el umbral del 5% por citología convencional (definición IMWG) y el del 2% por CFM para la identificación de pacientes con LCPP o fenotipo LCP-like, comparando ambas técnicas según distintos niveles de sensibilidad de la CFM, con el fin de establecer el punto de corte con mayor valor clínico. A partir de estos resultados, podría proponerse una nueva definición para la entidad LCPP.



Asimismo, el proyecto busca contribuir a la redefinición de la LCPs, considerando que la carga tumoral en la recaída suele ser menor que en el diagnóstico, especialmente desde que se inicia tratamiento ante recaídas biológicas²¹. En este contexto, sería lógico plantear un umbral más bajo de plasmocitosis en sangre periférica para su diagnóstico en recaída.

Este estudio también persigue un doble objetivo con importante impacto social. En primer lugar, dado que la CFM de alta sensibilidad no está disponible en la mayoría de los centros asistenciales, establecer valores equivalentes mediante citología convencional permitiría extrapolar los resultados de la CFM, facilitando la identificación de pacientes con LCP sin necesidad de recurrir a tecnologías complejas o personal altamente especializado. En segundo lugar, el estudio podría justificar la incorporación de la detección de CPCs por CFM de alta sensibilidad en la cartera de servicios del laboratorio de Citometría de Flujo, dado su demostrado valor pronóstico.

El objetivo último de este proyecto de investigación es lograr una estratificación del riesgo más precisa en pacientes con MM tanto al diagnóstico como en la recaída. Esta clasificación refinada podría ser el punto de partida para el diseño de estrategias terapéuticas y de monitorización más personalizadas y ajustadas al perfil de riesgo de cada paciente.



BIBLIOGRAFÍA MÁS RELEVANTE (Máximo 1 página)

1. Kumar SK, Rajkumar V, Kyle RA, et al. Multiple myeloma. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3(1):17046. doi:10.1038/nrdp.2017.46
2. Huang J, Chan SC, Lok V, et al. The epidemiological landscape of multiple myeloma: a global cancer registry estimate of disease burden, risk factors, and temporal trends. *The Lancet Haematology*. 2022;9(9):e670-e677. doi:10.1016/S2352-3026(22)00165-X
3. Mateos MV, Nooka AK, Larson SM. Moving Toward a Cure for Myeloma. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2022;(42):643-654. doi:10.1200/EDBK_349603
4. Puertas B, González-Calle V, Sobejano-Fuertes E, et al. Novel Agents as Main Drivers for Continued Improvement in Survival in Multiple Myeloma. *Cancers*. 2023;15(5):1558. doi:10.3390/cancers15051558
5. Sonneveld P, Dimopoulos MA, Boccadoro M, et al. Daratumumab, Bortezomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2024;390(4):301-313. doi:10.1056/NEJMoa2312054
6. Facon T, Dimopoulos MA, Leleu XP, et al. Isatuximab, Bortezomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2024;391(17):1597-1609. doi:10.1056/nejmoa2400712
7. Leleu X, Hulin C, Lambert J, et al. Isatuximab, lenalidomide, dexamethasone and bortezomib in transplant-ineligible multiple myeloma: the randomized phase 3 BENEFIT trial. *Nat Med*. 2024;30(8):2235-2241. doi:10.1038/s41591-024-03050-2
8. Usmani SZ, Facon T, Hungria V, et al. Daratumumab plus bortezomib, lenalidomide and dexamethasone for transplant-ineligible or transplant-deferred newly diagnosed multiple myeloma: the randomized phase 3 CEPHEUS trial. *Nat Med*. 2025;31(4):1195-1202. doi:10.1038/s41591-024-03485-7
9. San-Miguel J, Dhakal B, Yong K, et al. Cilta-cel or Standard Care in Lenalidomide-Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2023;389(4):335-347. doi:10.1056/NEJMoa2303379
10. Hungria V, Robak P, Hus M, et al. Belantamab Mafodotin, Bortezomib, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2024;391(5):393-407. doi:10.1056/nejmoa2405090
11. Dimopoulos MA, Beksac M, Pour L, et al. Belantamab Mafodotin, Pomalidomide, and Dexamethasone in Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2024;391(5):408-421. doi:10.1056/nejmoa2403407
12. Avet-Loiseau H, Davies FE, Samur MK, et al. International Myeloma Society/International Myeloma Working Group Consensus Recommendations on the Definition of High-Risk Multiple Myeloma. *JCO*. Published online June 9, 2025. doi:10.1200/jco-24-01893
13. Billadeau D, Van Ness B, Kimlinger T, et al. Clonal circulating cells are common in plasma cell proliferative disorders: a comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and active myeloma. *Blood*. 1996;88(1):289-296.
14. Witzig TE, Kimlinger TK, Ahmann GJ, Katzmann JA, Greipp PR. Detection of myeloma cells in the peripheral blood by flow cytometry. *Cytometry*. 1996;26(2):113-120.
15. Fernández de Larrea C, Kyle R, Rosiñol L, et al. Primary plasma cell leukemia: consensus definition by the International Myeloma Working Group according to peripheral blood plasma cell percentage. *Blood Cancer J*. 2021;11(12):192. doi:10.1038/s41408-021-00587-0
16. Granell M, Calvo X, García-Guiñón A, et al. Prognostic impact of circulating plasma cells in patients with multiple myeloma: implications for plasma cell leukemia definition. *Haematologica*. 2017;102(6):1099-1104. doi:10.3324/haematol.2016.158303
17. Ravi P, Kumar SK, Roeker L, et al. Revised diagnostic criteria for plasma cell leukemia: results of a Mayo Clinic study with comparison of outcomes to multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(12):116. doi:10.1038/s41408-018-0140-1
18. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Advances*. 2020;4(23):5988-5999. doi:10.1182/bloodadvances.2020002827
19. Sanoja-Flores L, Flores-Montero J, Garcés JJ, et al. Next generation flow for minimally-invasive blood characterization of MGUS and multiple myeloma at diagnosis based on circulating tumor plasma cells (CTPC). *Blood Cancer Journal*. 2018;8(12):117. doi:10.1038/s41408-018-0153-9
20. Garcés JJ, Cedena MT, Puig N, et al. Circulating Tumor Cells for the Staging of Patients With Newly Diagnosed Transplant-Eligible Multiple Myeloma. *JCO*. 2022;40(27):3151-3161. doi:10.1200/JCO.21.01365
21. Bertamini L, Oliva S, Rota-Scalabrini D, et al. High Levels of Circulating Tumor Plasma Cells as a Key Hallmark of Aggressive Disease in Transplant-Eligible Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *JCO*. 2022;40(27):3120-3131. doi:10.1200/JCO.21.01393
22. Jelinek T, Bezdekova R, Zihala D, et al. More Than 2% of Circulating Tumor Plasma Cells Defines Plasma Cell Leukemia-Like Multiple Myeloma. *JCO*. 2023;41(7):1383-1392. doi:10.1200/JCO.22.01226
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. *The Lancet Oncology*. 2016;17(8):e328-e346. doi:10.1016/S1470-2045(16)30206-6



HIPÓTESIS (Ajustarse al espacio disponible)

La citología convencional, a pesar de su limitada sensibilidad, podría correlacionarse de manera fiable con la CFM en la identificación de pacientes con fenotipo LCP-like, siempre que se adopten puntos de corte equivalentes ($\geq 5\%$ por citología vs. $\geq 2\%$ por CFM). La validación prospectiva de esta concordancia permitiría reabrir el debate sobre la definición de la LCP primaria.

Asimismo, en la era de los nuevos fármacos, la definición de LCP secundaria podría estar obsoleta, dado que en la recaída los pacientes suelen ser tratados en fases de recaída biológica, con menor carga tumoral y, en consecuencia, porcentajes de CPCs periféricas comparables o incluso inferiores a los de la LCP primaria. En este escenario, técnicas de mayor sensibilidad como la CFM podrían ser imprescindibles para una detección precisa, una reclasificación más ajustada y una estratificación pronóstica refinada que guíe decisiones terapéuticas personalizadas.

OBJETIVOS (ajustarse al espacio disponible)

Objetivos principales.

1. Comparar la detección y cuantificación de las CPCs en los pacientes con MM de nuevo diagnóstico y en recaída identificadas por citología convencional y CFM.
2. Determinar un punto de corte de CPCs detectadas por ambas técnicas que identifique un subgrupo de pacientes que presenten un comportamiento clínico comparable a la LCP en la era de los nuevos estándares de tratamiento, tanto al nuevo diagnóstico como en la recaída.
3. Determinar si el punto de corte de CPCs seleccionado puede establecerse en base a la citología convencional o requiere mayor sensibilidad, y en tal caso, que nivel de sensibilidad mínimo es necesario para investigarlo con fiabilidad.

Objetivos secundarios

1. Analizar prospectivamente el valor de los puntos de corte del $\geq 5\%$ y del $\geq 2\%$ de CPCs detectadas por citología y por citometría de flujo respectivamente en pacientes con MM de nuevo diagnóstico.
2. Evaluar las características clínico-biológicas de los pacientes con MM de nuevo diagnóstico y en recaída en función del punto de corte de CPCs elegido.
3. Elaborar un índice pronóstico robusto y aplicable en la práctica clínica habitual que incorpore las CPCs a los biomarcadores clásicos del MM y permita adaptar el manejo de los pacientes al comportamiento de la enfermedad.



METODOLOGÍA (Diseño, sujetos de estudio, variables, recogida y análisis de datos y limitaciones del estudio) (Máximo 4 páginas)

Diseño y sujetos de estudio

Este estudio observacional y prospectivo incluirá a pacientes con MM de nuevo diagnóstico y en recaída de Castilla y León. Los pacientes procederán de los diferentes centros hospitalarios que conforman el grupo de Gammapatías Monoclonales de Castilla y León: Ávila, Burgos, León, Palencia, Plasencia, Ponferrada, Salamanca, Segovia, Soria, Valladolid (Hospital Clínico de Valladolid y Río Hortega) y Zamora. Los pacientes incluidos deben cumplir los criterios diagnósticos de MM establecidos según el documento de consenso del IMWG de 2016. Se estima que se podrían incluir alrededor de 150-200 pacientes de nuevo diagnóstico de acuerdo con los datos del registro de gammapatías monoclonales de Castilla y León. Asimismo, se incluirán pacientes en recaída precoz (1-3 líneas previas) antes de iniciar una 2º-4º línea de tratamiento, independientemente de si el criterio de progresión es clínico o biológico, o de la presencia o no de enfermedad medible en suero u orina. El número de pacientes en recaída que se podrían incluir es difícil de estimar porque las nuevas terapias están incrementando de una manera muy notable la SLP de los pacientes con MM. Tanto los pacientes de nuevo diagnóstico como en recaída incluidos deberán ser tratados con los estándares de tratamiento actuales según las guías EHA-ESMO de 2025 (recomendación I-A).

Evaluación por citología y por citometría de flujo

Se deberá realizar un frotis de sangre periférica y un análisis de CFM en todos los pacientes de nuevo diagnóstico o en recaída incluidos en el presente proyecto, idealmente antes de recibir cualquier tratamiento anti-mieloma.

Para la evaluación morfológica se utilizará un frotis de sangre periférica teñido con la tinción Wright-Giemsa o la que se emplee habitualmente los centros de Castilla y León participantes. Los frotis de sangre periférica serán analizados de forma centralizada por hematólogos del Hospital Universitario de Salamanca con experiencia en el campo de la citología. Para la cuantificación de CPCs por morfología será necesario contar al menos 200 células nucleadas. Los resultados se darán en porcentaje y en número absoluto teniendo en cuenta la cifra total de leucocitos.

La evaluación por CFM será centralizada en el Hospital Universitario de Salamanca siguiendo las recomendaciones del grupo Euroflow y del IMWG para el análisis de la enfermedad residual medible en médula ósea. Así, se tratará de alcanzar una sensibilidad mínima por análisis de 10^{-5} . Los centros implicados deberán enviar una muestra de sangre periférica de 10 ml en tubo de EDTA en las primeras 24 horas tras su colecta. Para teñir estas muestras



se empleará la combinación de anticuerpos monoclonales de EuroFlow (CD38-FITC, CD56- PE, CD45-PerCP-Cy5.5, CD19-PE-Cy7, CD117-APC, CD81-APC-C750, CD138-BV421, CD27-BV510). Las muestras serán adquiridas en un citómetro de 8 colores (FACSCanto o FACSLyrics) y serán analizadas con el programa Infinicyt de la empresa Cytognos (BD). El análisis será realizado por dos citometristas experimentados y con amplia experiencia en discrasias de células plasmáticas del servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca. El número de CPCs será expresado en porcentaje y en número absoluto respecto al total de leucocitos.

Ambas evaluaciones serán ciegas y ninguno de los especialistas designados para la evaluación morfológica o de citometría conocerán los resultados de los otros laboratorios para evitar sesgos.

Variables, recogida y análisis de datos

Los pacientes que decidan participar en el estudio se anonimizarán con un código. Se recogerá el sexo, fecha de nacimiento, fecha del diagnóstico, tipo de componente monoclonal (cadena pesada y ligera), eventos definitorios de mieloma, albúmina, $\beta 2$ microglobulina, LDH, alteraciones citogenéticas, porcentaje de infiltración de células plasmáticas en médula ósea, porcentaje de CPCs por citología y por citometría de flujo, tratamientos utilizados, fecha de último seguimiento, fecha de progresión, fecha de fallecimiento y causa de muerte. El registro y gestión de datos se realizará utilizando la plataforma REDCap (Research Electronic Data Capture) del grupo de Gammopatías Monoclonales de Castilla y León.

El método Bland-Altman se usará para determinar el grado de correlación entre la citología convencional y la citometría de flujo en la detección de CPCs. El punto de corte de CPCs se establecerá mediante una curva ROC. Para la identificación de características clínico-biológicas relacionadas con el punto de corte de CPCs elegido se utilizarán el test Chi cuadrado para las variables cualitativas y el test T de Student para las variables cuantitativas. Para determinar el grado de asociación (*odds ratio*) y su intervalo de confianza en las variables cualitativas se utilizará la regresión logística. El análisis de supervivencia, SLP y SG, se realizará mediante el test Kaplan-Meier, y su *hazard ratio* y correspondiente intervalo de confianza se calcularán con el test long-rank. Para la identificación de factores predictores independientes para la supervivencia se realizará un análisis multivariante mediante una regresión de Cox.

Los análisis estadísticos serán realizados con el software informático SPSS versión 26. Se considerarán estadísticamente significativos los valores de $P \leq 0,05$.



Limitaciones del estudio

Una de las posibles limitaciones de este estudio es la variabilidad interindividual en la detección y cuantificación de CPCs mediante ambas técnicas. Para minimizar esta fuente de variabilidad, se ha previsto la centralización del análisis de todas las muestras en un único centro de referencia, garantizando una mayor homogeneidad en la interpretación de los resultados. Otra limitación potencial es la necesidad de un seguimiento prolongado para alcanzar diferencias estadísticamente significativas, especialmente considerando que los nuevos tratamientos han incrementado notablemente la SLP de estos enfermos, tanto en primera línea como en recaída. No obstante, basándonos en los datos disponibles de estudios retrospectivos, se estima que con una mediana de seguimiento de 12 meses podría ser posible detectar diferencias significativas en la identificación de pacientes con MM fenotipo *LCP-like*, LCpP o LCpS.

Consideraciones éticas

El presente proyecto ha sido evaluable favorablemente por el Comité de Ética de Investigación con Medicamentos del Área de Salud de Salamanca (referencia: PI 2025 07 1971). Todos los participantes deberán firmar un consentimiento informado, elaborado conforme a los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki y la normativa vigente en materia de investigación biomédica.

A cada paciente se le informará de manera clara y comprensible sobre los objetivos del estudio, así como de los posibles riesgos y beneficios derivados de las exploraciones incluidas. Cabe destacar que ninguna de las pruebas contempladas en el protocolo conlleva riesgos vitales para los participantes que cumplan con los criterios de inclusión. La participación será completamente voluntaria, y se garantizará en todo momento la confidencialidad de los datos y el respeto a los derechos fundamentales de los pacientes involucrados.



PLAN DE TRABAJO (Etapas de desarrollo y distribución de tareas de todo el equipo investigador, incluyendo los proyectos en los que participe cada uno de sus integrantes Indicar también el lugar de realización del proyecto) (Máximo 2 página)

El estudio se desarrollará a lo largo del año 2026. Sin embargo, dadas las altas tasas de respuesta y la mejoría significativa de la supervivencia de los pacientes con MM gracias a las terapias actuales, es previsible que sea necesario un periodo adicional de seguimiento para poder obtener resultados estadísticamente significativos. El equipo investigador será **multidisciplinar y multicéntrico**, integrando a todos los actores clave en el diagnóstico y tratamiento del MM. Estará compuesto por biólogos, técnicos de laboratorio, y hematólogos. Los integrantes del equipo investigador serán:

- Borja Puertas Martínez (BPM): Hematólogo del Hospital Universitario de Salamanca.
- José Juan Pérez Moran (JJPM): Biólogo del Grupo Español de Mieloma
- Beatriz Rey Búa (BRB): Hematóloga del Hospital Universitario de Salamanca
- Elena Alejo Alonso (EAA): Hematóloga del Hospital Universitario de Salamanca
- Cristina Casquero Hernández (CCH): Técnico de laboratorio
- Irene Aires Mejía (IAM): técnico de laboratorio.
- Aránzazu García Mateo (AGM): Hematóloga del Hospital General de Segovia.
- Verónica González de la Calle (VGC): Hematóloga del Hospital Universitario de Salamanca

Etapas de desarrollo, tareas a desarrollar y personas encargadas

El proyecto tendrá tres fases bien diferenciadas:

1. Evaluación de los estudios citológicos y citometría de flujo al diagnóstico y en la recaída de los pacientes con MM.

Extracción de muestras: 1 tubo de 5 ml de EDTA para la realización del hemograma y el frotis de sangre periférica, y 1 tubo de 10 ml de EDTA para realización de CFM. Lo realizará el equipo de enfermería de los diferentes centros participantes (ver anteriormente en diseño del estudio). Se encargarán de remitir ambas muestras al Hospital Universitario de Salamanca los hematólogos que forman parte del Grupo de Gammopatías de Castilla y León

Visualización, análisis y cuantificación de CPCs en el frotis de sangre periférica (BRB).

Procesamiento, análisis, detección y cuantificación de CPCs por citometría de flujo (CCH, IAM, EAA y JJPM).

2. Seguimiento de los pacientes con MM incluidos en el proyecto

Obtención de consentimientos informados, datos clínicos y biológicos al diagnóstico y recaída (AGM, VGC, BRB, EAA, BPM)

Seguimiento de los pacientes de forma telemática (EAA, BPM)

Elaboración y análisis de la base de datos (AGM, VGC, BRB, EAA, BPM)



4. Publicación y difusión de los resultados obtenidos en el proyecto

Realización de comunicaciones orales y pósters así como elaboración de un manuscrito para la publicación en revista de alto impacto (BPM, BRB, JJPM, EAA, CCH, IAM, AGM, VGC)



EXPERIENCIA DEL EQUIPO INVESTIGADOR (Máximo 1 página)

El presente proyecto se llevará a cabo en el contexto de la “Unidad de nuevos fármacos en Hemopatías malignas” ubicada en el Centro de Investigación del Cáncer e integrada en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca/IBSAL. Una importante virtud de nuestro equipo de investigación se basa en su vocación traslacional, ya que está integrado tanto por investigadores básicos como clínicos cuyos conocimientos se complementan mutuamente y que permite trasladar a la clínica de forma rápida los conocimientos generados en el laboratorio.

El investigador principal del proyecto, Borja Puertas Martínez, MD, PhD, es Médico Adjunto en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca, y es Coordinador de trasplante autólogo e integrante de la Unidad de Mieloma y Ensayos Clínicos del Servicio de Hematología. Desarrolla su actividad investigadora en el campo de las gammapatías monoclonales.

El resto del equipo investigador está formado por un equipo multidisciplinar y integrado por técnicos, biólogos y hematólogos que están subespecializados en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes con MM. El estudio de citología convencional será realizado por Beatriz Rey Búa, MD, hematóloga que desempeña su actividad asistencial en el laboratorio de morfología del Hospital Universitario de Salamanca, y forma parte de la Unidad de Mieloma y la Unidad de Ensayos Clínicos.

Los técnicos de laboratorio involucradas son Cristina Casquero Hernández e Irene Aires Mejías, que son las responsables del procesamiento de las muestras centralizadas de la enfermedad residual medible de las muestras del Grupo Español de Mieloma. Asimismo, los responsables del análisis de la CFM serán: José Juan Pérez Moran es biólogo y citometrista experto que evalúa la enfermedad mínima residual del Grupo Español de Mieloma; y Elena Alejo Alonso, MD, PhD, hematóloga del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca, que desempeña su actividad asistencial en el Laboratorio de Citometría de Flujo. Los últimos integrantes son hematólogos clínicos: Aránzazu García Mateo, MD, PhD, responsable de gammapatías monoclonales en el Hospital General de Segovia; y Verónica González de la Calle, MD, PhD, Hematóloga del Servicio de Hematología involucrada en la Unidad de Mieloma y Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de Salamanca, e investigadora principal de numerosos ensayos clínicos.

Por último, dentro de la producción científica de este grupo de trabajo, se han realizado numerosas publicaciones en líneas de investigación similares a las del presente proyecto, con el objetivo de desvelar la heterogeneidad fenotípica y funcional de la célula tumoral del MM, de cara al diseño de estrategias terapéuticas adaptadas al riesgo (PMID: 35983648, 35935610, 35383901, 35332278; 23902483). Asimismo, José Juan Pérez Morán, Verónica González de la Calle y Aránzazu García Mateo, han sido autores de manuscritos que analizan la importancia de la detección e identificación de CPCs en los pacientes con MM (PMID: 36315921, 35666958, 31697808, 32521788, 34857730), lo que avala los resultados del presente proyecto que serán publicados en revistas de alto impacto y puedan tener una influencia futura en la implementación de este factor pronóstico en la práctica clínica diaria



UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN RELACIÓN CON LA SALUD (ajustarse al espacio disponible)

La realización de un frotis de sangre periférica es esencial en todos los pacientes con MM de nuevo diagnóstico para confirmar/descartar la presencia de $\geq 5\%$ de CPCs, y por tanto de una LCPp. No obstante, como se ha mencionado anteriormente, se ha demostrado que aquellos pacientes con un $\geq 2\%$ de CPCs por CFM presentaban el mismo pronóstico que los pacientes con $\geq 5\%$ de CPCs por citología. Como ambos datos son relativamente elevados y similares, nuestro proyecto, que pretende correlacionar los resultados de citología y citometría de forma prospectiva y doble ciega, nos permitiría conocer si el análisis de un frotis de sangre periférica es suficiente para identificar los pacientes con MM con fenotipo LCP-like o con LCPp. Este hallazgo tendría un impacto costo-económico muy significativo, ya que el frotis de sangre periférica está disponible en todos los laboratorios de hematología, es más barato y no requiere de un personal tan especializado como la citometría. Además, este estudio podría reabrir el debate sobre la redefinición de la LCP, posicionando a la CFM como la técnica como la técnica *gold standard* para su diagnóstico. Asimismo, con esta técnica, también pretendemos evaluar a los pacientes con mieloma en recaída, y explorar una nueva definición de la LPCs.

Por último, la detección de CPCs por CFM, y su impacto en la supervivencia de los enfermos con MM. No obstante, este análisis aún no está disponible en la cartera en los laboratorios de CFM de los servicios de Hematología. Con este proyecto, los hematólogos de Castilla y León podrán disponer de esta herramienta pronóstica.

MEDIOS DISPONIBLES PARA LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO (ajustarse al espacio disponible)

La actividad se llevará a cabo en los laboratorios del Servicio de Hematología del Complejo Asistencial de Salamanca. Se dispone de un laboratorio de 60 m² (sección de Citometría de flujo) y de un laboratorio de Morfología y Hematimetría (40 m²).

La sección de Morfología y Hematimetría dispone de 2 microscopios para el análisis de frotis de sangre periférica (Nikon model Eclipse NI-U y Nikon Y-THM). La Unidad de Citometría dispone de la infraestructura necesaria para llevar a cabo este proyecto y con el personal e infraestructura necesarios para la realización de las técnicas de inmunofenotipaje propuestas: dos citómetros de flujo FACS Canto II y FACS Aria III, así como el resto de aparataje (microscopios ópticos, centrifugas, agitadores, citocentrífuga) necesarios para los estudios inmunofenotípicos. Además, el este laboratorio cuenta con licencias de Infinicyt, uno de los softwares necesarios para el análisis de citometría de flujo.



JUSTIFICACIÓN DETALLADA DE LA AYUDA SOLICITADA (Máximo 2 páginas)

El presupuesto solicitado se destinará íntegramente en los anticuerpos necesarios para la identificación de CPCs por citometría de flujo (panel EuroFlow). El precio estimado de la combinación de reactivos por paciente es de aproximadamente 150 euros, por lo que con los 6.000 euros del presupuesto se podrían analizar hasta 40 pacientes. Además, se dispone de financiación extra y ya se han analizado más de 80 pacientes, por lo que se podría obtener una población considerable de pacientes para poder obtener resultados robustos.

La realización del frotis de sangre periférica forma parte de la práctica clínica habitual, y no genera un sobrecoste. El traslado de las muestras se realizará dentro del circuito logístico establecido para la práctica clínica habitual, ya que la Sección de Inmunofenotipo del Hospital Universitario de Salamanca, recibe muestras del resto de centros de Castilla y León prácticamente a diario, por lo que tampoco generaría un sobrecoste. Se aprovechará el mismo transporte para enviar el frotis de sangre periférica al laboratorio de Morfología. La gestión de los datos clínicos de los pacientes se realizaría a través de la plataforma a plataforma REDCap del grupo de Gammopatías Monoclonales de Castilla y León, ya disponible en la actualidad, y costeada por dicho grupo, por lo que tampoco supondría un coste adicional.