

UMBRELLA PROJECT: Unified platform for a Better integral Evaluation of Myelodysplastic Syndromes in Spain

➤ IP: María Díez (mdiezcampelo@usal.es) – HUSA (Salamanca)

➤ Cuantía: 225.655 €

➤ **Objetivos:**

Objetivo General: Mejorar el diagnóstico y la estratificación pronóstica de los pacientes con SMD incluidos en el GESMD, proporcionar orientación sobre posibles dianas terapéuticas en estos pacientes y construir un stock biológico de estos posibles pacientes con SMD para su investigación clínica.

Objetivos Específicos:

- 1) **Estudio de cohorte prospectiva de pacientes con SMD en el momento del diagnóstico y/o después de la evolución de la enfermedad.**
 - 1.1. Proporcionar la posibilidad de estudios de NGS en todos los pacientes con SMD de los centros del GESMD.
 - 1.2. Proporcionar a todos los miembros del GESMD un diagnóstico integrado de cada paciente con SMD, una estratificación pronóstica centralizada y una orientación terapéutica personalizada
 - 1.3. Disponer de un material genético almacenado de todos los posibles pacientes incluidos en el proyecto para desarrollar otras aproximaciones de interés, que se articulan en 4 subproyectos diferentes dentro del Proyecto Umbrella.

- 2) **Ampliar el conocimiento sobre los mecanismos moleculares implicados en la evolución de los SMD a la LMA mediante la aplicación de modelos celulares generados por la tecnología CRISPR-Cas9 en líneas celulares mieloides que reproducen mutaciones clínicamente relevantes.**
 - 2.1. Generar modelos celulares de progresión de SMD a LMA que recreen mutaciones (STAG2 y/o NRAS) detectadas en estudios previos de pacientes mediante la aplicación del sistema CRISPR/Cas9.
 - 2.2. Evaluar los efectos in vitro de las mutaciones generadas en los modelos de progresión de SMD a partir del objetivo 2.1 por ensayos de proliferación, ciclo celular, apoptosis y reparación del DNA.
 - 2.3. Analizar el perfil transcriptómico de los modelos celulares de progresión del SMD generados en el objetivo 2.1 para identificar las vías biológicas desreguladas en este proceso.
 - 2.4. Evaluar la respuesta a las nuevas estrategias terapéuticas para pacientes con SMD (HMAs, apoptóticos (venetoclax) e inhibidores de PARP) en los modelos de progresión in vitro del objetivo 2.1 para encontrar tratamientos personalizados basados en el background genético e identificar fármacos candidatos para la letalidad sintética.

2.5. Validar los resultados más alentadores del objetivo 2.4 mediante la realización de estudios de respuesta a fármacos ex vivo en células primarias de SMD de la cohorte prospectiva.

3) **Analizar el papel del estroma de los pacientes con SMD con las mutaciones descritas anteriormente: ¿causa, permisividad o consecuencia?**

3.1. Análisis del estroma (MSC) de los pacientes con SMD con presencia de mutaciones STAG2 y/o NRAS al diagnóstico del SMD.

3.1.1. Caracterización del perfil transcriptómico de las CSM de los pacientes que presentan mutaciones STAG2 y/o NRAS en sus células hematopoyéticas (HPC).

3.1.2. Perfil proteico de estas CSM.

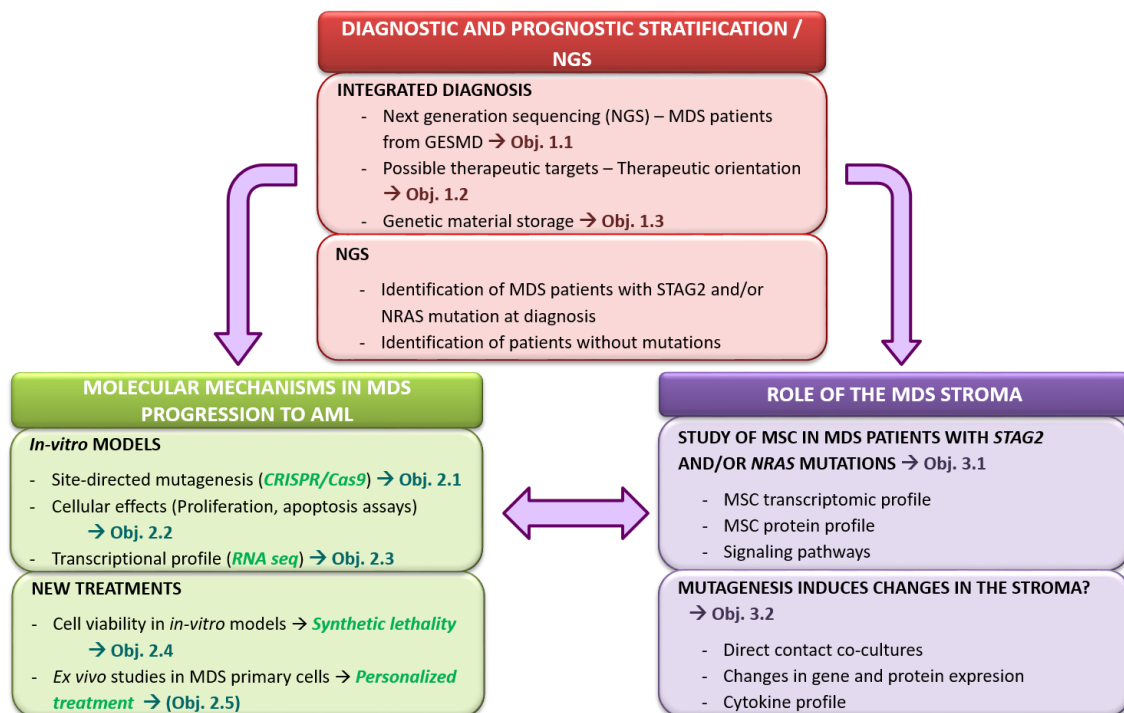
3.1.3. Relacionar el perfil genómico y proteico, así como las vías de señalización.

3.2. Papel del estroma en la transformación leucémica: cambios inducidos por las CPH clonales generadas en el objetivo 2 en un estroma sano.

3.2.1. Co-cultivos celulares por contacto directo de las nuevas líneas celulares mutadas obtenidas en el objetivo 2 con el estroma sano.

3.2.2. Cambios en la expresión de genes y proteínas inducidos en las células del estroma sano.

3.2.3. Perfil de citoquinas que ambos tipos de células secretan en co-cultivos celulares de contacto directo, recreando lo que ocurre en la médula ósea de los pacientes.



Envío de muestras:

MUESTRAS PROSPECTIVAS:

- Pacientes con **SMD con mutación NRAS y/o STAG-2**, de nuevo diagnóstico o diagnóstico reciente sin tratar.
 - Pacientes con **SMD sin mutación**, de nuevo diagnóstico o diagnóstico reciente sin tratar.
 - Pacientes con **SMD en vías de transformación/progresión** (aumento de blastos en MO, LMA secundarias a SMD).
 - ➡ Indicar TRATAMIENTO y FECHA DE INICIO-FIN al enviar la muestra.
 - **SANOS** MAYORES DE 60 AÑOS
- **MÉDULA ÓSEA: 2 x 10 cc** en Heparina SIN ADITIVOS (Heparina Sodio)
 - **SANGRE PERIFÉRICA: 2 x 10 cc** en EDTA (extraída en el mismo momento que la MO)

MUESTRAS RETROSPECTIVAS:

- Pacientes con **SMD con mutación NRAS y/o STAG-2**.
- **MNC VIABLES CRIOPRESERVADAS:** Células mononucleadas, congeladas en **90% FBS + 10% DMSO** y conservadas en **nitrógeno líquido** (*válidos también otros protocolos de congelación con MNC viables*)

ENVÍO:

- * **MO y SP** → **Temperatura ambiente**. Entrega: Antes de las 12:00 del día siguiente
- * **MNC criopreservadas** → **Hielo seco**. Entrega: En 24h.

Envío con **NACEX: Tlf: 923.171.375**. (Envío de lunes a jueves)

Solicitar recogida en el correo electrónico: 3701.operativa@nacex.es

Indicar:

- Código **CLIENTE 10417**, Referencia: **PI20/00970**
- Dimensiones y peso aproximado del bulto.
- Dirección completa de recogida, persona de contacto y nº Tlf.
- Dirección completa de entrega, persona de contacto y nº Tlf.

Dirección de envío:

Att. Mayte García / Tamara Jiménez / Sandra Muntión / María Díez Campelo
(mgarciaantunez@saludcastillayleon.es; tamara_js@usal.es; smuntion@usal.es;
mdiezcampelo@usal.es)

Laboratorio de Terapia Celular y Cultivos Celulares
Hospital Virgen de la Vega
Edificio de Consultas 1 – Planta semisótano
Paseo de San Vicente 58-182, 37007, Salamanca
923 29 11 00 – Ext. 55750 / 55265