

DECLARACIÓN DE INTERÉS PARA RECIBIR PROFESIONALES FP-II EN CONTRATOS DE PRÁCTICAS

Grupo Acreditado Receptor: Grupo de Investigación en Hematología

Responsable: Dra. Eva Barragán González

ESPECIALIDAD/ES SOLICITADAS ACORDE CON LA NATURALEZA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL CUAL SE ADSCRIBIRÍA Y COLABORARÍA EL CONTRATADO

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Anatomía patológica-Citología | <input type="checkbox"/> Dietética |
| <input checked="" type="checkbox"/> Laboratorio de Diagnóstico Clínico | <input type="checkbox"/> Documentación Sanitaria |
| <input type="checkbox"/> Laboratorio (rama Química) | <input type="checkbox"/> Otros, especificar |

(Se podrán presentar dos declaraciones de interés, como máximo por grupo y en

Proyecto de investigación en vigor al que se adscribirá el contratado (indique referencia y resumen)

IMPACTO PRONÓSTICO DE MUTACIONES GENÉTICAS EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA INFANTIL TRATADOS SEGÚN EL PROTOCOLO SEHOP-PETHEMA 2013 proyecto colaborativo del Comité de Estudios Biológicos del Grupo de Leucemias de la Sociedad Española de Hemato-Oncología Pediátrica

La supervivencia de niños con leucemia linfoblástica aguda (LLA) ha mejorado significativamente gracias a la mejor estratificación en grupos de riesgo de recidiva y el tratamiento adaptado al riesgo, pero aún existe una proporción importante de pacientes que recaen, y muchos supervivientes presentan secuelas por el tratamiento recibido. Para refinar la estratificación terapéutica y del pronóstico se han descrito múltiples alteraciones moleculares, pero su impacto clínico es controvertido y son pocos los biomarcadores que llegan a aplicarse en la práctica asistencial.

Este proyecto pretende analizar 200 muestras de LLA infantil mediante un panel de genes empleando técnicas de secuenciación masiva. El proyecto tiene una finalidad translacional clara ya que persigue identificar nuevos biomarcadores con valor pronóstico o que puedan constituir dianas terapéuticas. Los resultados obtenidos servirán para diseñar el próximo protocolo de tratamiento de LLA infantil de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátrica, además de fomentar la colaboración y desarrollo de nuevos estudios multicéntricos sobre la leucemia infantil en España.

formularios separados)

PROGRAMA FORMATIVO A REALIZAR POR EL CONTRATADO

Describir el proyecto de investigación, haciendo especial énfasis en los aspectos formativos y las tareas a realizar por el contratado FP-II (Este apartado se publicará junto con las bases de la convocatoria con el fin de que el candidato FP-II pueda seleccionar el proyecto que más le interese)

La **leucemia linfoblástica aguda (LLA)** es un tipo de cáncer que aparece de la transformación oncogénica de los progenitores linfoides a células leucémicas de linaje B o T. El 80% de estas leucemias afecta a niños, siendo el tipo de cáncer pediátrico más común.

La LLA suele presentarse acompañada de una gran diversidad de **alteraciones genéticas**, de las cuales aproximadamente el 75% son alteraciones citogenéticas recurrentes. No obstante se sabe que los reordenamientos por sí solos no son suficientes para desencadenar el fenotipo leucémico. Más bien suele haber una constelación de alteraciones genéticas que, en conjunto, provocan la enfermedad. Estas alteraciones (citogenéticas y moleculares), además de explicar parte del proceso leucémico, son de utilidad clínica, puesto que ayudan a la clasificación de los pacientes en grupos según el riesgo de recaída. Esta información, por tanto, permite aplicar **tratamientos más dirigidos** de intensidad adaptada e indicar el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos a los casos con mayor probabilidad de recaer.

El desarrollo de técnicas de alto rendimiento o **next generation sequencing (NGS)** ha permitido aumentar el conocimiento sobre la gran variedad de alteraciones que presenta la LLA, lo que ha mejorado la estratificación en grupos de riesgo y ha identificado posibles dianas terapéuticas que permitirían tratar a los niños de forma más específica y eficaz. Además de los estudios a gran escala, la NGS está resultando muy útil en la investigación traslacional y en el diagnóstico clínico, ya que permite analizar un gran número de alteraciones moleculares de manera sensible y coste-efectiva.

Con estos antecedentes, se ha planteado el proyecto que lleva por título “Impacto pronóstico de mutaciones genéticas en pacientes con Leucemia Aguda Linfoblástica infantil tratados según el protocolo SEHOP-PETHEMA 2013: proyecto colaborativo del Comité de Estudios Biológicos del Grupo de Leucemias de la Sociedad Española de Hemato-Oncología Pediátrica”. Este proyecto, financiado por la fundación “Uno entre Cien mil” tiene como objetivo principal **analizar mediante NGS la presencia de mutaciones en una serie de genes seleccionados en pacientes con LLA infantil**. Se trata de un proyecto multicéntrico cooperativo en el que participa el grupo de Investigación en Hematología del IIS la Fe.

Este grupo, al que se adscribiría el/la candidato/a, tiene un gran bagaje en investigación clínica y traslacional centrado en las enfermedades onco-hematológica. En relación directa con el proyecto que aquí se plantea, cuenta con la **experiencia previa** de diversas ayudas de investigación nacionales e internacionales en las que se ha aplicado las la NGS para el diagnóstico molecular de la leucemia aguda: “Nueva estratificación pronóstica mediante secuenciación masiva de paneles de genes y análisis del transcriptoma en la leucemia mieloide aguda (PI13/01640)”, “Comprehensive, Integrative and Genomic Approach to the Understanding and Treatment of Cancer and Leukemia (PIE13/00046)” o “Defeating Recurrence and resistance in AML: Multigenomic Approaches to analyse heterogeneity (AC15/00068)”.

El/la candidato/a que participe en este proyecto tendrá una exhaustiva **formación** en la tecnología de NGS, ya que se implicará en todos los pasos del flujo de trabajo. Además, se involucrará en la validación de resultados mediante técnicas de Biología Molecular complementarias.

De esta forma, después del año de contrato, se espera que el/la candidato/a que participe en el proyecto se forme en las siguientes **técnicas**:

1. **Obtención de muestras**: El técnico se encargará del registro, separación leucocitaria de sangre periférica y médula ósea, obtención manual y automática de ácidos nucleicos (DNA y RNA), cuantificación y valoración de la calidad de la muestra (Nanodrop, Qubit).

2. Preparación de librerías y secuenciación masiva. Participará en la puesta a punto del panel de genes propuesto en el proyecto, por lo que se involucrará en la preparación de las PCR multiplex, ligación de adaptadores/*barcodes*, control de calidad y purificación de las librerías. PCR en emulsión, enriquecimiento y secuenciación. El candidato aprenderá el protocolo de ejecución así como el manejo de los equipos de secuenciación masiva (inicialización, mantenimiento, etc.).

3. Validación de las alteraciones encontradas. El candidato participará en la validación de las nuevas alteraciones encontradas mediante técnicas de Biología Molecular complementarias. Estas técnicas incluyen:

- Secuenciación directa por Sanger mediante diferentes protocolos de PCR convencional y electroforesis capilar. Lectura del electroferograma e interpretación de las variantes consultando las principales bases de datos.
- Genotipado mediante PCR a tiempo real (sondas de hibridación).
- Estudio de la expresión génica. Retrotranscripción de la muestra (RNA) y análisis de la expresión de los genes de interés mediante qRT-PCR a tiempo real utilizando sondas TaqMan o agentes intercalantes.
- Estudio de la variación en el número de copias mediante MLPA.

4. Estudios funcionales

Las alteraciones que se validen a nivel genético se testarán a nivel funcional, para ello el/la candidata/a colaborará en la transfección de líneas celulares mieloides con modificadores de la secuencia génica con un AMAXA nucleofector y con los buffers de transfección recomendados para cada línea celular. Este apartado incluye el análisis comparativo de:

- Proliferación celular mediante recuento celular y ensayo colorimétrico con MTS
- Ciclo celular por citometría de flujo y marcaje con 7-AAD
- Apoptosis mediante marcaje con Anexina V y análisis por citometría de flujo o colorimetría
- Senescencia a través del estudio de la actividad beta-galactosidasa y microscopía óptica