



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

**CONVENIO DE COLABORACIÓN ENTRE FUNDACION DE LA COMUNIDAD
VALENCIANA HOSPITAL GENERAL PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA,
DOCENCIA Y DESARROLLO DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD
Y
LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. ESTUDI GENERAL**

Valencia, 5 de octubre de 2017

COMPARECEN

De una parte la **Universitat de València, Estudi General** (en adelante UV), con CIF Q4618001D, y domicilio en Blasco Ibañez, 13, 46010 Valencia, y en su nombre y representación el Dr. Esteban Morcillo Sánchez, Rector Magnífico de la UVEG, según nombramiento por el Decreto 45/2014, de 28 de marzo de 2014 (DOGV, Núm.7245, de 1 de abril de 2014) como representante de esta institución en virtud de las competencias que prevé el Estatuto de la UVEG aprobado por el Decreto 128/2004, de 30 de julio de 2004, (DOGV, Núm. 4.811, de 3 de agosto de 2004).

De otra parte, la **Fundación de la Comunidad Valenciana Hospital General** para la Investigación Biomédica, Docencia y Desarrollo de las Ciencias de la Salud, (en lo sucesivo denominada "Fundación"), con C.I.F. G-96792221 y domicilio social en Valencia (46014) Avda. Tres Cruces s/n. y en su nombre y representación Dña. Raquel Gálvez Balaguer con N.I.F . XXXXXXXXXX en su condición de Gerente.

Ambas partes, reconociéndose mutuamente capacidad jurídica suficiente, suscriben el presente documento y, al efecto,

EXPONEN

1.- Que la Ley 14/2011 de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación que derogó a la Ley de Fomento y Coordinación General de la Investigación Científica y Técnica de 14 de Abril de 1986, establece un marco general para el fomento y la coordinación de la investigación científica y técnica con el fin de contribuir al desarrollo sostenible y al bienestar social mediante la generación y difusión del conocimiento y la innovación. Constituyendo el marco de referencia para promover la colaboración entre universidades, organismos públicos de investigación, empresas y entorno



socioeconómico en general, con el fin de dar una respuesta eficaz a las exigencias del cambio social y tecnológico.

2.- Que la UV es una Entidad de Derecho Público que desarrolla actividades de formación, investigación y desarrollo científico y tecnológico, interesada en colaborar con los sectores socioeconómicos para asegurar uno de los fines de la formación y la investigación, que es la innovación y la modernización del sistema productivo

3.- Que la Fundación es una entidad sin ánimo de lucro, inscrita en el Registro de Fundaciones de la Comunidad Valenciana, con número 336V, que persigue fines de interés general, y tiene como objetivos, entre otros, el promover la investigación y la educación sanitaria.

4.- Que para contribuir al desarrollo social es de fundamental importancia que se establezcan relaciones de colaboración en los campos de la ciencia y la cultura.

5.- Que el presente Convenio se desarrolla al amparo del Real Decreto Legislativo 3/2011, de 14 de noviembre, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Contratos del Sector Público:

"Artículo 4. Negocios y contratos excluidos

1. Están excluidos del ámbito de la presente Ley los siguientes negocios y relaciones jurídicas

c) Los convenios de colaboración que celebre la Administración General del Estado con las entidades gestoras y servicios comunes de la Seguridad Social, las Universidades Públicas, las Comunidades Autónomas, las Entidades locales, organismos autónomos y restantes entidades públicas, o los que celebren estos organismos y entidades entre sí, salvo que, por su naturaleza, tengan la consideración de contratos sujetos a esta Ley."

Y a tal efecto, deciden suscribir un Convenio de Colaboración de acuerdo a las siguientes,



ESTIPULACIONES

PRIMERA.- Objeto.

El objeto del presente Convenio es establecer las bases para la colaboración entre el la profesora Carmen Carda Batalla y la Entidad para el desarrollo del Proyecto "**Caracterización estructural y molecular de mucosa respiratoria**" descrito en la Memoria Técnica que se incorpora como Anexo I a este convenio.

SEGUNDA.- Compromisos de las partes.

En concreto las partes se comprometen a:

Por parte de la Entidad:

- Pagar la cantidad de diecisiete mil euros (17.000€) IVA incluido, para el desarrollo del estudio detallado en la memoria técnica del presente convenio (anexo I).
-

Por parte de la UV:

- A aportar la metodología, los instrumentos y el personal de necesario para llevar a cabo el proyecto en las condiciones establecidas en la memoria que se presenta el anexo I.

TERCERA.-

La aportación económica prevista en la cláusula segunda la hará efectiva la Entidad, tras la emisión de las correspondientes facturas por parte de la UV, en la C/C núm. xxxxxxxxxxxx abierto en BANCAIXA a nombre de la Universitat de València (código entidad: xxxx, código oficina: xxxx, DC xx) que se habrá de ingresar en los siguiente plazos:

50% A la firma del presente convenio.

50% A la entrega del informe de resultados

CUARTA.- Propiedad de los resultados obtenidos en el desarrollo del Convenio.

La propiedad de los resultados obtenidos en el desarrollo del Convenio quedarán en propiedad de ambas instituciones. Las publicaciones que se realicen como resultado del presente convenio, incluirán los anagramas y las referencias de ambas entidades.

QUINTA.- Personal implicado.

La relación de personas que participan en las actividades que se desarrollarán en el presente convenio son las que figuran en el anexo I, siendo los responsables del



seguimiento y cumplimiento, por parte de la UV, la profesora Carmen Carda Batalla y el Dr. Miguel Armengot Carceller por parte de la Entidad.

SEXTA.- Duración.

El Convenio aquí suscrito tendrá validez mínima a partir de la fecha de su firma, de un año, después de los cuales podrá renovarse a iniciativa de cualquiera de las partes, previo acuerdo por escrito que en tal sentido ha de establecerse antes de la fecha de su terminación.

SEPTIMA.- Ampliación de la Cooperación.

Si se produjese, de común acuerdo, la realización de alguna acción concreta no prevista en este documento, dicha acción será objeto de un nuevo convenio o contrato entre ambas partes en los que figurarán el objeto de la colaboración, el plan de trabajo, los participantes y la financiación. Dichos convenios o contratos serán incorporados como adendas al presente Convenio.

OCTAVA.- Confidencialidad de la Información y Publicación de Resultados.

Cada una de las partes se compromete a no difundir, bajo ningún aspecto, las informaciones científicas o técnicas pertenecientes a la otra parte a las que hayan podido tener acceso en el desarrollo de la presente colaboración. La obligación de confidencialidad alcanza en particular a toda la información científica o técnica, así como a todo el know-how y la propiedad industrial y/o intelectual que las partes pongan a disposición del Proyecto y que sean resultado de trabajos desarrollados previamente o en paralelo a la firma del presente Convenio.

Esta obligación no será de aplicación cuando:

- a) La parte receptora pueda demostrar que conocía previamente la información recibida.
- b) La información recibida sea o pase a ser de dominio público.
- c) La parte receptora obtenga autorización previa y por escrito para su revelación.
- d) La información sea requerida judicialmente.

Ambas partes se comprometen a que todo el personal participante en el Proyecto conozca y observe el compromiso de confidencialidad regulado por esta cláusula.

En caso de publicación o difusión se hará siempre referencia especial al presente Convenio.

NOVENA.- Modificación del Convenio.

Las partes podrán modificar el presente documento por mutuo acuerdo y por escrito.

Los miembros de la comisión comunicarán por escrito a la OTRI dicha intención con objeto de proceder a su modificación.



DECIMA.- Resolución del Convenio.

El presente Convenio podrá resolverse por las siguientes causas:

1.- Por mutuo acuerdo de las partes.

Los responsables técnicos del proyecto comunicarán por escrito a la OTRI dicha intención con objeto de proceder a su resolución.

2.- Por caso fortuito o fuerza mayor

Si por este motivo alguna de las partes se viera obligada a resolver este convenio deberá comunicarlo de forma fehaciente a la otra parte.

3.- Por incumplimiento de las obligaciones

Cuando una de las partes considere que la otra parte está incumpliendo los compromisos adquiridos en el presente convenio se lo notificará mediante método de comunicación fehaciente e indicará las causas que originan dicho incumplimiento. La otra parte podrá subsanar dicha situación en un plazo de 30 días, a contar desde la fecha de envío de la notificación.

UNDÉCIMA.- Protección de datos personales

La Entidad y la UV respetaran todas las previsiones legales establecidas en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, además de las que figuran en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, que la desarrolla, y cualquier otra norma vigente o que se promulgue en adelante sobre esta materia.

DUODÉCIMA.- Discrepancias.

Las partes se comprometen a resolver de manera amistosa cualquier desacuerdo que pueda surgir en el desarrollo del presente Convenio. Todo ello sin perjuicio de poder interponer los recursos que se estimen oportunos ante la jurisdicción competente.

Y en prueba de conformidad de cuanto antecede, firman por duplicado el presente documento en el lugar y fecha arriba indicados.

POR LA ENTIDAD

POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Dña. Raquel Gálvez Balaguer
Gerente

Dr. Esteban Morcillo Sánchez
Rector

ANEXO I

MEMORIA TÉCNICA



ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La obstrucción de las vías aéreas extrapulmonares y en particular la estenosis traqueal es un fenómeno patológico de gran importancia, que ocasiona disnea pero puede llegar hasta la asfixia y poner en peligro la vida del paciente si no se realiza un tratamiento correcto y oportuno. Este tratamiento es complejo y requiere la colaboración de varios especialistas: cirujanos torácicos, otorrinolaringólogos, neumólogos, intensivistas, endoscopistas y especialistas en diagnóstico por la imagen. Los tratamientos endoscópicos pueden ser efectivos en indicaciones concretas (lesiones diafragmáticas, poco tiempo de evolución, y afectación exclusiva de la mucosa), siendo necesaria la intervención quirúrgica por vía externa en el resto de los casos. Las cirugías de resección-anastomosis para el tratamiento de estas estenosis están limitadas a una extensión máxima del 50% de la longitud traqueal y presentan, además, un alto riesgo de complicaciones postoperatorias graves, con una mortalidad del 3-5% y con un porcentaje similar de resultados poco satisfactorios. A todo ello hay que añadir un elevado consumo de recursos hospitalarios con estancias hospitalarias prolongadas de 1-3 meses, y estas cifras empeoran en los pacientes con lesiones complejas. La reconstrucción traqueal mediante prótesis y tutores presenta una serie de retos y problemas no resueltos en la actualidad.

En la línea de solucionar estos problemas, se están desarrollando prótesis traqueales generadas por técnicas de Ingeniería tisular, incluyendo diferentes estrategias como: andamiajes basados en titanio asociado a fibrina-fibroblastos; tapices de polipropileno con colágeno asociados a células mesenquimales de médula ósea o fibroblastos traqueales; y tapices de polipropileno recubiertos con gelatina y keratinocitos orales cultivados tanto en modelos animales de conejo, rata y perro como en humanos, donde destacamos los trabajos realizados con segmentos traqueales decelularizados de cadáveres como los del grupo de Macchiarini o el de Eliot y colaboradores. A pesar de los resultados obtenidos por estos equipos de investigación no existe, hasta la fecha, evidencia de un constructo circular completo implantado durante un periodo prolongado de tiempo y manteniendo su estructura y función.

Uno de los factores relacionados con el escaso éxito obtenido hasta la fecha consiste en la complejidad estructural y funcional de la tráquea, que dificulta encontrar una terapia regenerativa efectiva, debido a la estructura cilíndrica y rígida abierta al exterior, la diversidad estructural y celular en dicha zona, y a su vascularización, particularmente deficiente en el área de cartílago. Por ello, representa una meta complicada para la Ingeniería Tisular, encontrándose en desarrollo una gran variedad de materiales tanto naturales como sintéticos para generar un sustituto traqueal aplicable clínicamente.

Un sustituto traqueal ideal debe cumplir diversos requerimientos tales como exhibir una excelente biocompatibilidad y no ser inmunogénico, poseer una rigidez lateral y una flexibilidad longitudinal, y debe ser fácilmente vascularizable evitando así la erosión, infección y necrosis de la zona implantada.

Varios tejidos biológicos se han aplicado para reemplazar la tráquea con la esperanza de eludir el problema de la vascularización del injerto. Los que más éxito han obtenido han sido el trasplante de esófagos y aortas autólogas e injertos traqueales alogénicos

desvitalizados, siendo en estos últimos en los que se ha conseguido una mayor regeneración pero sin llegar a una epitelización completa.

Con referencia a los injertos traqueales (*stents*) se han estudiado diversos materiales no degradables incluyendo injertos de silicona, teflón, cloruro de polivinilo, nitinol hasta mallas de alambre con o sin un recubrimiento de polímero (malla de polipropileno,



malla de silicona cubierta, malla de poliéster, politetrafluoroetileno expandido. Recientemente, también se han probado experimentalmente *stents* degradables fabricados con materiales tales como ácido poliláctico, caprolactona, colágeno, etc. Los inconvenientes de los *stents* traqueobronquiales han sido claramente identificados, encontrándose complicaciones que incluyen el desplazamiento del *stent*, sangrado, retención de las secreciones con formación de tapones mucosos obstructivos y la desecación o infección bronquiopulmonar.

Los intentos de obtener órganos artificiales funcionales mediante el uso de nuevos polímeros biodegradables, como por ejemplo ácido polilactoglicólico (PLGA) o policaprolactona (PCL) asociados a células madre mesenquimales (MSCs) podría suponer un avance en este sentido, si bien continuamos enfrentándonos al problema de la epitelización, vascularización y a la complejidad biomecánica que exhibe la tráquea.

Destacamos por tanto dos importantes puntos a tener en cuenta en el diseño de una prótesis traqueal funcional: la vascularización, pero sobre todo la epitelización de la misma es crítica para no interrumpir el acalamiento mucociliar con la consecuente acumulación de secreciones en la profundidad de los territorios vasculares.

OBJETIVOS Y CONTEXTUALIZACIÓN

En este contexto nuestro grupo de investigación acaba de recibir una ayuda del Instituto de Salud Carlos III (expediente número PI16/01315) para cultivar epitelio respiratorio sobre prótesis traqueales desarrolladas en diferentes polímeros. Este proyecto ha sido aprobado por el CEIC del Consorcio hospital general universitario de Valencia. Un aspecto que no aborda el desarrollo de dicho proyecto de investigación es la caracterización de los epitelios cultivados sobre dichas prótesis. En este sentido el objeto del presente convenio de colaboración consiste en el análisis estructural y funcional de dichos epitelios, incluyendo los siguientes aspectos:

1. Análisis ultraestructural de los epitelios cultivados mediante microscopía electrónica de transmisión.
2. Análisis morfométrico de la longitud ciliar.
3. Análisis de la movilidad ciliar mediante técnicas de imagen.
4. Estudio de la expresión génica de marcadores epiteliales incluyendo MUC5AC, FOXJ1, DNAI2, o IFT46.

Estos estudios se realizarán en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia donde tiene sede el grupo de investigación en histopatología e ingeniería tisular dirigido por la Profesora Carmen Carda Batalla y del que el investigador solicitante es miembro numerario.

METODOLOGÍA

Sobre los cultivos de epitelio respiratorio humano que se obtengan del proyecto (PI16/01315) y antes de ser implantados sobre los biomateriales allí propuestos para generar un constructo traqueal, se requiere profundizar en el análisis de la calidad estructural y funcional, por ello destinaremos las muestras del neo-epitelio respiratorio cultivado a:

1. Análisis ultraestructural



Dicho análisis se realizará mediante microscopía electrónica de transmisión sobre cultivos de epitelios respiratorios de pacientes incluidos en el estudio P116/01315 previo consentimiento informado. Las células cultivadas se fijarán por inmersión durante dos horas en glutaraldehído diluido al 2.5% en tampón de Sorensen (0.03 molar, ph 7.4). A continuación se lavarán durante 30 minutos en el mismo tampón para luego ser refijadas en tetróxido de osmio al 1% durante una hora. Deshidratadas las piezas en concentraciones crecientes de acetona se incluirán en EPON. Cortes semifinos de todas las muestras se teñirán con azul de toluidina, eligiendo con ellos las áreas más representativas para realizar los cortes ultrafinos. Tras teñirlos en acetato de uranilo y citrato de plomo se estudiarán con un microscopio electrónico mediante análisis de al menos 100 cortes transversales por paciente. Consideraremos una alteración como significativa cuando al menos el 40% de los mismos presenten la alteración.

2. Análisis morfométrico de la longitud ciliar

La longitud ciliar de los epitelios cultivados se valorará mediante microscopía óptica en los mismos cultivos utilizados para los análisis ultraestructurales pero sobre las secciones semifinas teñidas con azul de toluidina y seleccionando cortes longitudinales de la superficie luminal de las células del epitelio respiratorio cultivado. La valoración se realizará mediante morfometría utilizando el software Image Pro Plus.

3. Análisis de la movilidad ciliar

Para ello trabajaremos en dos etapas:

- Detección de movimiento

Tras la adquisición y registro de la secuencia de imágenes necesaria se calculará el flujo óptico de la secuencia utilizando de nuevo el algoritmo de Proesmans. A partir de los datos obtenidos, para cada fotograma, se determinan los píxeles que presentan movimiento. Se considerará que un píxel se ha movido si el valor de flujo óptico para dicho punto supera un determinado umbral.

Una vez que se ha realizado este proceso para todos los fotogramas, se determinan los píxeles que mantienen el movimiento durante toda la secuencia. Para ello se seleccionan únicamente aquellos píxeles que han presentado movimiento en una cierta cantidad de fotogramas. De esta forma, se eliminan los errores que hayan podido aparecer en el cálculo del flujo óptico en fotogramas aislados. Mediante este método, se puede obtener el porcentaje de píxeles que se mueven en una determinada secuencia, lo que nos dará información de la movilidad de las células en el cultivo analizado.

- Cálculo de la frecuencia

Utilizando la información obtenida en el proceso anterior, se seleccionará una región de interés que contendrá únicamente aquellos píxeles que presentan movimiento. Para estimar la frecuencia de batido ciliar media del cultivo, se calcula la suma de los valores de flujo óptico calculados para los píxeles que conforman dicha ROI.

De esta forma se podrá determinar la frecuencia de batido ciliar principal, así como la dispersión en los valores de CBF de las células que conforman el cultivo y otros datos de interés.



Se observará y registrará también el patrón de batida en base a los siguientes estándares:

- Patrón normal: movimiento en dos fases, coordinado y con una flexión del cilio en la fase de recuperación de 90 grados.
- Patrón anormal:
 - 1- cilios inmóviles
 - 2- movimiento discinético:
 - a) movimiento en una sola fase, vibrátil.
 - b) movimiento incordiando dentro de una misma célula y/o entre distintas células correspondientes a fragmentos de epitelio.

4. Estudio de la expresión génica de marcadores epiteliales incluyendo MUC5AC, FOXJ1, DNAI2, o IFT46

Se extraerá el RNA mensajero de los cultivos celulares mediante el uso del reactivo TriZol siguiendo las instrucciones del fabricante. La expresión de dichos genes se valorará mediante real time RT-PCR cuantitativa utilizando *assays on demand* de Applied Biosystems.

PRESUPUESTO DETALLADO

Para el desarrollo de los experimentos planteados, solicitamos el siguiente presupuesto que suma un total de 17.000 €:

1. Estudios ultraestructurales mediante microscopía electrónica: 8.000 €
2. Análisis morfométrico de la longitud ciliar: 2.000 €
3. Análisis de la movilidad ciliar: 3.000 €
4. Estudios de expresión génica: 4.000 €

ENTREGA DE RESULTADOS

La Universidad de Valencia se compromete a la entrega de un informe con los resultados obtenidos en el plazo máximo de un año desde la firma del presente convenio. Dicho informe irá acompañado de la correspondiente hoja de entrega.



EQUIPO INVESTIGADOR

APELLIDOS, NOMBRE	NIF	VINCULACION
Carda Batalla, Carmen		Catedrática
Ruiz Sauri, Amparo		Profesora titular
Sancho-Tello Valls, María		Profesora titular
Martín de Llano, José Javier		Profesor titular
Mata Roig, Manuel		Profesor ayudante doctor