

DATOS INVESTIGADOR PRINCIPAL					
NOMBRE	Juan José		APELLIDOS		Egea-Guerrero
DIRECCIÓN PARTICULAR:		C/Feria. 164. Primero Derecha A.			
CIUDAD:	Sevilla	CP:	móvil:	Telf.:	E-Mail:
		41002	68663864 6	697954260	juanj.egea.sspa@juntadeandalucia.es
Proyecto a realizar en:		1 año	2 años	3 años	Otros
				X	
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA (IIS) ACREDITADO:		Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)			
CENTRO DE INVESTIGACIÓN:		IBiS y Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR)			

¿ES USTED PROFESIONAL DEL CUADRO MEDICO DE ADESLAS?

SI NO

MIEMBROS DEL EQUIPO INVESTIGADOR (Se excluyen los que solicitan ayuda de Investigador Asociado):

- Juan José Egea-Guerrero. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes Sevilla-Huelva. Investigador IBiS/CSIC/Universidad Sevilla.
- Domingo Daga-Ruiz. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes de Málaga-Almería-Ceuta y Melilla.
- José Miguel Pérez-Villares. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes de Granada-Jaén.
- Ana Rodríguez Rodríguez. FEA Bioquímica Clínica. Doctora en Biología. Investigador IBiS/CSIC/Universidad Sevilla.
- Luis Martín Villén. FEA Medicina Intensiva. Coordinador Intrahospitalario de trasplantes H.U. Virgen del Rocío.
- Zaida Ruíz de Azúa-López. FEA Medicina Intensiva. Coordinador Intrahospitalario de trasplantes H.U. Virgen del Rocío.
- Antonio Carrillo Vico. Doctor en Biología. Profesor Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología. Universidad de Sevilla. Investigador IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Patricia Lardone. Doctora en Biología. Profesora Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología. Universidad de Sevilla. Investigadora IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Nuria Álvarez. Dra. Biología. Investigadora IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Ángel Vilches Arenas. FEA Medicina Preventiva. Profesor Departamento Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Sevilla. Investigador IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.

TÍTULO DEL PROYECTO:

Papel de la melatonina como estrategia terapéutica frente a la isquemia tisular en el donante cadavérico y su valoración mediante biomarcadores de estrés oxidativo y microARNs.

ANTECEDENTES (RESUMEN):*

El actual proyecto será liderado por la Coordinación Sectorial de trasplantes de Sevilla-Huelva y su grupo de investigación asociado, junto con otras grandes Coordinaciones Sectoriales de Andalucía (Granada-Jaén y Málaga-Almería). En su conjunto, este equipo tiene una importante trayectoria en el área de donación y trasplante de órganos y tejidos, enfocando su interés en aumentar la tasa de donantes para disminuir las listas de espera, así como mejorar la calidad de estos órganos a trasplantar para alcanzar una óptima supervivencia de los injertos.

El trasplante de órganos supone en muchas ocasiones la única alternativa para el tratamiento de una enfermedad. Desde hace 25 años, España es líder mundial en el proceso donación-trasplante, habiendo batido su propio récord en 2016, tras alcanzar una tasa de 43,4 donantes por millón de población (p.m.p.) y realizar un total de 4.818 trasplantes. En particular, la comunidad Andaluza ha conseguido incrementar de forma exponencial el número de donaciones y trasplantes, ya que en el período 2011-2015 la tasa fue de 36,8 donantes p.m.p. y en el 2016 ascendió hasta 47,1 donantes p.m.p., realizándose más de 800 trasplantes de órganos sólidos. En los últimos años, la Organización Nacional de Trasplantes ha puesto en marcha diferentes programas para fomentar la donación en asistolia, también conocida como a corazón parado, dada la disminución progresiva del número de donantes en muerte encefálica (ME), principal fuente de donación hasta la fecha. En este sentido, los centros implicados en este estudio, son los principales promotores en Andalucía de la modalidad de donación en asistolia. Concretamente, el H.U. Virgen del Rocío, líder del proyecto, fue el hospital de Andalucía que realizó un mayor número de donaciones de este tipo durante 2016. Muestra del éxito de este programa es el trabajo publicado por miembros de nuestro grupo de investigación en el que se analizan los resultados obtenidos en los primeros tres años de implantación del programa de donación en asistolia tipo II en el área metropolitana de Sevilla (Martin-Villén et al., 2015). Dicho trabajo constató la eficacia del programa, con una media de 1,45 órganos trasplantados por donante y una tasa de aceptación familiar a la donación del 92%.

El principal inconveniente de esta nueva modalidad de donación a corazón parado es que asocia de manera indefectible un período de isquemia caliente en los órganos que puede poner en riesgo la viabilidad del trasplante. Por ello, surge la necesidad de definir herramientas que puedan predecir de forma eficiente y precisa la validez de dichos órganos y su pronóstico en el receptor.

Una situación de isquemia conlleva un cambio en el metabolismo celular de aerobio a anaerobio, lo que a su vez provoca una acumulación de sustancias tóxicas, principalmente especies reactivas de oxígeno (ROS), en los tejidos y su liberación al torrente sanguíneo (Rodríguez-Rodríguez et al., 2014). Este estado citotóxico genera una alteración en los sistemas de oxidación e inflamación. Por ello, consideramos de extrema necesidad la identificación de biomarcadores séricos indicadores de la funcionalidad de los órganos previamente a su extracción, así como de disponer de estrategias terapéuticas capaces de modular las rutas bioquímicas desencadenadas ante la cascada isquémica.

Nuestro equipo de investigación tiene una amplia experiencia en el estudio de biomarcadores proteicos para el diagnóstico y pronóstico de pacientes con distintas patologías críticas. Así, constatamos que como consecuencia de un daño cerebral se produce un cambio en el metabolismo celular que se asocia con un estado de hipoxia e isquemia tisular. El resultado de este daño se traduce en la aparición de diversas biomoléculas en los distintos fluidos corporales (microdiálisis cerebral, sangre, orina, etc.) que pueden actuar como marcadores de valoración del daño tisular (Murillo-Cabezas et al., 2010; Revuelto-Rey et al. 2012; Egea-Guerrero et al., 2012; Macher et al, 2012; Rodríguez-Rodríguez et al., 2012; Egea-Guerrero et al., 2013a, 2013b; Ruiz de Azúa-López et al., 2015; Rodríguez-Rodríguez et al., 2016).

La identificación de biomarcadores para valorar la funcionalidad de los órganos de forma precoz y de una manera mínimamente invasiva previa al trasplante resultaría de gran utilidad para optimizar las estrategias trasplantadoras. Por otra parte, podría suponer el reconocimiento de potenciales dianas terapéuticas cuya regulación minimizaría el efecto deletéreo del periodo de isquemia.

En las últimas décadas, diversos autores han propuesto terapias con fármacos antioxidantes para reducir el efecto tóxico de la isquemia. Entre dichos fármacos se encuentra la melatonina, una molécula pleiotrópica, de fácil acceso y económica. Entre las propiedades de la melatonina destacan su capacidad antioxidante, actuando como neutralizador directo de radicales libres (Maldonado et al., 2007; Carrillo et al., 2013), así como su papel inmunomodulador, ejerciendo múltiples acciones sobre la morfología y

funcionalidad de órganos primarios y secundarios del sistema inmunitario mediante la regulación de citoquinas (Carrillo-Vico et al., 2004; Álvarez-Sánchez et al. 2015).

En base a los hechos descritos, en el presente proyecto proponemos la administración de melatonina a los donantes ya fallecidos y previo a la extracción de los órganos como terapia citoprotectora con el fin de aumentar la calidad del órgano trasplantado, y por consiguiente optimizar su viabilidad.

Bibliografía

Álvarez-Sánchez N, Cruz-Chamorro I, López-González A, Utrilla JC, Fernández-Santos JM, Martínez-López A, et al. Melatonin controls experimental autoimmune encephalomyelitis by altering the T effector/regulatory balance. *Brain Behav Immun.* 2015;50:101-14.

Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, García-Mauriño S, Reiter RJ, et al. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J.* 2004;18:537-9.

Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Alvarez-Sánchez N, Rodríguez-Rodríguez A, Guerrero JM. Melatonin: buffering the immune system. *Int J Mol Sci.* 2013;14:8638-83.

Murillo-Cabezas F, Munoz-Sanchez MA, Rincon-Ferrari MD, Martin-Rodriguez JF, Amaya-Villar R, Garcia-Gomez S, et al. The prognostic value of the temporal course of S100beta protein in post-acute severe brain injury: A prospective and observational study. *Brain Inj.* 2010;24:609-19.

Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Murillo-Cabezas F, Munoz-Sanchez MA, Vilches-Arenas A, Sanchez-Linares P, et al. Accuracy of the S100beta protein as a marker of brain damage in traumatic brain injury. *Brain Inj.* 2012;26:76-82.

Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Gordillo-Escobar E, Rodríguez-Rodríguez A, Enamorado-Enamorado J, Revuelto-Rey J, et al. S100B protein may detect brain death development after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2013a;30:1762-9.

Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Gordillo-Escobar E, Rodríguez-Rodríguez A, Enamorado-Enamorado J, Ruiz de Azúa López Z, et al. Serologic behavior of S100B protein in patients who are brain dead: preliminary results. *Transplant Proc.* 2013b;45:3569-72.

Macher H, Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Gordillo-Escobar E, Enamorado-Enamorado J, Boza A, et al. Role of early cell-free DNA levels decrease as a predictive marker of fatal outcome after severe traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2012;414:12-7.

Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Calvo JR, Lardone PJ, Tan DX, Guerrero JM, et al. Melatonin as pharmacologic support in burn patients: a proposed solution to thermal injury-related lymphocytopenia and oxidative damage. *Crit Care Med.* 2007;35:1177-85.

Martin-Villen L, Revuelto-Rey J, Aldabo-Pallas T, Correa-Chamorro E, Gallego-Corpa A, et al. Non-Heart-Beating Donor Program: Results After 3 Years of Experience. *Transplant Proc.* 2015;47:2567-9.

Revuelto-Rey J, Egea-Guerrero JJ, Munoz-Sanchez MA, Murillo-Cabezas F. Cerebral microdialysis in the current clinical setting. *Med Intensiva.* 2012;36:213-9.

Rodríguez-Rodríguez A, Egea-Guerrero JJ, León-Justel A, Gordillo-Escobar E, Revuelto-Rey J, Vilches-Arenas A, et al. Role of S100B protein in urine and serum as an early predictor of mortality after severe traumatic brain injury in adults. *Clin Chim Acta.* 2012;414:228-33.

Rodríguez-Rodríguez A, Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Carrillo-Vico A. Oxidative stress in traumatic brain injury. *Curr Med Chem.* 2014;21:1201-11.

Rodríguez-Rodríguez A, Egea-Guerrero JJ, Gordillo-Escobar E, Enamorado-Enamorado J, Hernández-García C, Ruiz de Azúa-López Z, et al. S100B and Neuron-Specific Enolase as mortality predictors in patients with severe traumatic brain injury. *Neurol Res.* 2016;38:130-7.

Ruiz de Azúa-López Z, Egea-Guerrero JJ, Rivera-Rubiales G, Rodríguez-Rodríguez A, Vilches-Arenas Á, Murillo-Cabezas F. Serum brain injury biomarkers as predictors of mortality after severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: preliminary results. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:e179-81.

PROCEDENTES DE OTROS GRUPOS:**

Hasta hace unos años, la mayor parte de los programas de donación y trasplantes se sustentaban de los órganos provenientes de pacientes que habían evolucionado a ME (GODT, 2014). A pesar de ello, los últimos datos ofrecidos en nuestra comunidad por el Sistema de Información de la Coordinación Autonómica de Trasplantes de Andalucía y la propia Organización Nacional de Trasplantes, nos revelan un descenso en el número total de donantes en ME por año, debido a la reducción en la siniestralidad laboral y a las mejoras en la normas de conducción vial, así como un cambio en el perfil del paciente que evoluciona a ME, siendo cada vez más frecuente encontrar pacientes añosos con comorbilidades asociadas, que evolucionan a ME tras accidentes cerebrovasculares espontáneos.

Estos cambios han llevado a la Organización Nacional de Trasplantes a definir nuevas modalidades de donación de órganos y tejidos, como es la donación en asistolia. Este tipo de donantes, a fecha de hoy, llegan a alcanzar un tercio del total de donantes cadavéricos a nivel Europeo (Rojas et al., 2004; Aguilar et al., 2007; Magliocca et al., 2015). Sin embargo, a pesar de las mejoras en las técnicas y en la optimización de la selección de los donantes, los resultados de este tipo de trasplantes, especialmente en trasplantes hepáticos, no llegan a ser óptimos. Esto es debido al periodo de isquemia caliente e hipoperfusión al que se ven sometidos los órganos en los momentos previos a la parada cardíaca, hasta que se inician las maniobras apropiadas de preservación. Por estas razones, el trasplante hepático, órgano más sensible a la isquemia que el resto, proporciona resultados inferiores en la modalidad de asistolia comparándolo con los injertos hepáticos extraídos de donantes en ME, en cuanto a supervivencia postrasplante, disfunción y fallo primario del injerto, e incidencia de complicaciones biliares y colangiopatía isquémica (Rojas et al., 2004, Jay et al., 2011a, 2011b; Callaghan et al., 2013; O'Neill et al., 2014).

En los últimos años, hemos asistido a importantes avances en determinadas áreas del trasplante, la mayoría de ellas relacionadas con mejoras en las técnicas quirúrgicas o desarrollo de terapias inmunosupresoras, mejorando el resultado del paciente trasplantado a corto plazo. No obstante, estos avances de momento no se han traducido en una mejora del resultado funcional a largo plazo. En cuanto a la optimización de las medidas pre-trasplante, el principal problema parece ser la falta de una técnica *gold standard* con la suficiente robustez para monitorizar la funcionalidad del injerto (OPTN 2011; Gieser et al., 2011). Hasta la fecha, la técnica de referencia ha sido la valoración macroscópica del órgano o el análisis histológico mediante biopsia. No obstante, estas valoraciones pueden ser subjetivas y estar asociadas a errores en la toma e interpretación de las muestras. Otro problema asociado a las biopsias de órganos susceptibles de donación es la falta de *cut-offs* bien establecidos en los *scores* a evaluar (Schold et al., 2010, Naesens M, 2016).

Desde hace algunos años, diversos investigadores han destacado el papel de los microARNs (miARNs) como potenciales biomarcadores para la valoración y seguimiento del trasplante de órganos sólidos. Los miARN son pequeños fragmentos de ARN (18-25 nucleótidos) no codificante que regulan la expresión génica, generalmente silenciándola (Fabian et al., 2010). Se caracterizan por su apareamiento imperfecto con el ARNm, normalmente en la región 3'UTR. Por ello, los miARN no tienen una única diana, sino que suelen ser capaces de hibridar con varios ARNm. Tras esta unión producen la desestabilización del ARNm. Estos fragmentos pueden aparecer en los distintos fluidos corporales (plasma, orina, saliva), así como en biopsias de tejido, y se pueden cuantificar de forma rápida, sencilla y coste-efectiva mediante técnicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) de manera individual, o mediante técnicas más complejas como la secuenciación de alto rendimiento o secuenciación de nueva generación (*Next Generation Sequencing*, NGS), que realiza una secuenciación masiva paralela de todos los fragmentos de miARN presentes en la muestra, tanto miARN circulantes como embebidos en

los exosomas. Esta última técnica permite la identificación de miARN que no hayan sido descritos previamente y que puedan jugar un papel importante en la viabilidad del trasplante, bien como biomarcadores, bien como dianas terapéuticas.

En cuanto a los trabajos publicados al respecto, Shapiro et al., demostraron una alteración en la expresión renal de miRNA en un modelo animal de isquemia/reperfusión (IR), proponiendo dicho patrón de miRNA como biomarcador de daño tisular provocado por el proceso IR (Shapiro et al., 2011). Diversos autores han constatado alteraciones en la concentración de miRNA en pacientes trasplantados con rechazo del injerto con respecto a trasplantados con buena evolución (Sui et al., 2008; Anglicheau et al., 2009; Asaoka et al., 2012). También se han descrito miRNA específicos de tejidos, como el miR-122 en hígado (Laterza et al., 2009), miR-208 en corazón (Van Rooij et Olson, 2007) y miR-210 en riñón (Lorenzen et al., 2011; Liu et al., 2012). Laterza et al., no solo constataron la especificidad hepática de miR-122, sino que también observaron un incremento en su concentración tras toxicidad hepática inducida, así como una sensibilidad diagnóstica superior a la de la alanina aminotransferasa, biomarcador de toxicidad hepática por excelencia (Laterza et al., 2009). Lorenzen et al., identificaron un incremento en la concentración plasmática de miR-210 en aquellos pacientes que tras el trasplante renal sufrieron un fallo renal agudo (Lorenzen et al., 2011).

A su vez, los miARNs pueden ser regulados por otras moléculas. Así, se ha descrito que las ROS pueden modular la expresión génica de los miARNs, al mismo tiempo que dichos miARN regularían las rutas de señalización, transducción y transcripción génica de las cascadas de estrés oxidativo (Cheng et al., 2009).

El estrés oxidativo juega un papel crítico en la viabilidad de los órganos susceptibles de ser trasplantados. Como consecuencia del proceso de IR, se rompe el balance del estado redox del organismo, resultando en un aumento del estrés oxidativo por el incremento en la generación de ROS. Entre las ROS se encuentra el radical superóxido, molécula que va a iniciar el proceso de peroxidación lipídica (LPO), el cual consiste en la destrucción de ácidos grasos poliinsaturados y formación de malondialdehído (MDA). Como consecuencia de la LPO, las membranas celulares sufren alteraciones en su fluidez y permeabilidad, lo que lleva a edema celular, salida masiva de Ca^{2+} y Na^+ , y finalmente a la lisis de las células (Negre-Salvayre et al., 2010). Entre los productos de oxidación, los más comúnmente utilizados como biomarcadores de estrés oxidativo son el MDA y las proteínas carboniladas. Se ha observado un incremento de ambos biomarcadores en pacientes trasplantados con respecto a controles sanos, así como una correlación negativa entre los valores de proteínas carboniladas y la función renal en pacientes con nefropatía crónica del injerto ((Ha et al., 2004). Otros biomarcadores de estrés oxidativo, como radicales libres y óxido nítrico (NO), resultan elevados como consecuencia del proceso de IR en pacientes trasplantados (Oehlschläger et al., 2002). Por otra parte, una situación de estrés oxidativo activa la producción de moléculas antioxidantes tales como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión (GS) y glutatión peroxidasa (GPx) con el fin de contrarrestar la cascada oxidativa inducida por las ROS.

Dado que el estrés oxidativo puede condicionar la supervivencia, tanto del injerto como del paciente, en los últimos años se han diseñado diversas medidas profilácticas y terapéuticas para minimizar este daño (Nafar et al., 2011). Entre dichas estrategias terapéuticas se encuentra la melatonina. Esta molécula es conocida por sus propiedades cronobióticas, comúnmente empleada para regular el ciclo sueño vigilia, especialmente para contrarrestar los efectos del *jetlag* y el insomnio (Rajaratnam et Arendt, 2001). Pero además, la melatonina tiene un demostrado poder antioxidante, siendo capaz de minimizar el daño por IR gracias a su acción directa neutralizando radicales libres, así como mediante la estimulación de la actividad de enzimas antioxidantes, como la SOD, GPx, glutatión reductasa (GRd) y glutamil cisteína, la cual promueve la síntesis de glutatión (GSH), otra potente molécula con propiedades antioxidantes (Barlow-Walden et al., 1995; Pablos et al., 1998; Reiter et al., 2000; Harderland, 2005). Diversos investigadores han dejado constancia de la utilidad de la melatonina como estrategia antioxidante en el trasplante de órganos. Así, la inyección de melatonina en el líquido de perfusión donde se mantienen los órganos una vez explantados disminuye significativamente la concentración de MDA, lactato deshidrogenasa, moléculas oxidantes y reduce el daño histológico producido durante el proceso IR (Aslaner et al., 2013; Freitas et al., 2006). Por otra parte, la administración de melatonina a donantes de un modelo murino de trasplante renal, mejoró la supervivencia del injerto y redujo el daño histológico renal (Li et al., 2014). De un modo similar, suplementos de melatonina en individuos trasplantados mejoran la respuesta del organismo, evitando el rechazo del injerto, gracias a la acción antiinflamatoria,

antioxidante y antiapoptótica de la melatonina (Jung et al., 2004; Pandi-Perumal et al., 2006; Baykara et al., 2008;). Hasta la fecha y conforme a lo encontrado en la bibliografía, no existe ningún trabajo que pruebe la efectividad de la administración de la melatonina en el donante cadáver.

Referencias

Aguilar A, Alvarez-Vijande R, Capdevila S, Alcoberro J, Alcaraz A. Antioxidant patterns (superoxide dismutase, glutathione reductase, and glutathione peroxidase) in kidneys from nonheart beating-donors: experimental study. *Transplant Proc.* 2007; 39: 249-52.

Anglicheau D, Sharma VK, Ding R, Hummel A, Snopkowski C, Dadhania D, et al. MicroRNA expression profiles predictive of human renal allografts status. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:5330-5.

Asaoka T, Sotolongo B, Island ER, Tryphonopoulos P, Selvataggi G, Moon J, et al. MicroRNA signature of intestinal acute cellular rejection in formalin-fixed paraffin-embedded mucosal biopsies. *Am J Transplant.* 2012;12:458-468.

Aslaner A, Gunal O, Turgut HT, Celik E, Yildirim U, Demirci RK, et al. Effect of melatonin on kidney cold ischemic preservation injury. *Int J Clin Exp Med.* 2013;6:794-8.

Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos M, Menendez-Pelaez A, Chen LD, et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochemistry International.* 1995;26:497-502.

Baykara B, Tekmen I, Pekcetin C, Ulukus C, Tuncel P, Sagol O, et al. The protective effects of carnosine and melatonin in ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Acta histochem.* 2008;111:42-51.

Callaghan CJ, Charman SC, Muiesan P, Powell JJ, Gimson AE, Van der Meulen J, on behalf of the UK Liver Transplant Audit. Outcomes of transplantation of livers from donation after circulatory death donors in the UK: a cohort study. *BMJ Open* 2013; 3: e003287.

Cheng Y, Liu X, Zhang S, Lin Y, Yang J, Zhang C. MicroRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;47:5-14.

Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem.* 2010;79:351-79.

Freitas I, Bertone V, Guarnaschelli C, Ferrigno A, Boncompagni E, Rizzo V, et al. In situ demonstration of improvement of liver mitochondria function by melatonin after cold ischemia. *In Vivo.* 2006;20:229-37.

Gieser G, Harigaya H, Colangelo PM, Burckart G. Biomarkers in solid organ transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90:217-220.

Ha H, Park J, Kim YS, Endou H. Oxidative stress and chronic allograft nephropathy. *Yonsei Med J.* 2004;45:1049-52.

Harderland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine.* 2005;27:119-30.

Jay C, Ladner D, Wang E, Lyuksemburg V, Kang R, Chang Y, et al. A comprehensive risk assessment of mortality following donation after cardiac death liver transplant – An analysis of the national registry. *J Hepatol* 2011a;55:808–813.

Jay CL, Lyuksemburg V, Ladner DP, Wang E, Caicedo JC, Holl JL, et al. Ischemic cholangiopathy after controlled donation after cardiac death liver transplantation: a meta-analysis. *Ann Surg* 2011b; 253(2):259-264.

Jung FJ, Yang L, Härter L, Inci I, Schneiter D, Lardinois D, et al. Melatonin in vivo prolongs cardiac allograft survival in rats. *J Pineal Res.* 2004;37:36-41.

Laterza OF, Lim L, Garrett-Engele PW, Vlasakova K, Muniappa N, Tanaka WK, et al. Plasma microRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clin Chem.* 2009;55:1977-83.

Li Z, Nickkholgh A, Yi X, Bruns H, Gross ML, Hoffmann K, et al. Melatonin protects kidney grafts from ischemia/reperfusion injury through inhibition of NF-κB and apoptosis after experimental kidney transplantation. *Journal of pineal research.* 2006;46:365-72.

- Li Y, Yang Y, Feng Y, Yan J, Fan C, Jiang S, et al. A review of melatonin in hepatic ischemia/reperfusion injury and clinical liver disease. *Ann Med*. 2014;46:503-11
- Lorenzen JM, Volkmann I, Fiedler J, Schmidt M, Scheffner I, Haller H, et al. Urinary miR-210 as mediator of acute T-cell mediated rejection in renal allograft recipients. *Am J Transplant*. 2011;11:2221-7.
- Magliocca JF, Magee JC, Rowe SA, et al. Extracorporeal support for organ donation after cardiac death effectively expands the donor pool. *J Trauma*. 2005; 58:1095-10.
- Naesens M. Zero-Time Renal Transplant Biopsies: A Comprehensive Review. *Transplantation*. 2016;100:1425-39.
- Nafar M, Sahraei Z, Salamzadeh J, Samavat S, Vaziri ND. Oxidative stress in kidney transplantation: causes, consequences, and potential treatment. *Iran J Kidney Dis*. 2011;5:357-72.
- Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radical Research*. 2010.44:1125-71.
- O'Neill S, Roebuck A, Khoo E, Wigmore SJ, Harrison EM. A meta-analysis and meta-regression of outcomes including biliary complications in donation after cardiac death liver transplantation. *Transpl Int* 2014; 27(11):1159-1174.
- Oehlschläger S, Albrecht S, Hakenberg OW, Manseck A, Froehner M, Zimmermann T, et al. Measurement of free radicals and NO by chemiluminescence to identify the reperfusion injury in renal transplantation. *Luminiscence*. 2002;17:130-2.
- Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) and Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR). OPTN/SRTR 2010 Annual Data Report. Rockville, MD: Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, Healthcare Systems Bureau, Division of Transplantation; 2011.
- Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GC, Guerrero JM, Agapito MT, Chuang JI, et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochemistry International*. 1998;32:69-75.
- Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: nature's most versatile biological signal? *EBS J* 2006;273:2813-38.
- Rajaratnam, S.M.; Arendt, J. Health in a 24-h society. *Lancet*. 2001;358:999–1005.
- Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: a review. *Journal of Biomedical science*. 2000;7:444-58.
- Rojas A, Chen L, Bartlett RH, Arenas JD. Assessment of liver function during extracorporeal membrane oxygenation in the non-heart beating donor swine. *Transplant Proc*. 2004; 36:1268-70.
- Schold JD, Kaplan B. The elephant in the room: failings of current clinical endpoints in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2010;10:163-6.
- The global observatory on donation and transplantation, 2014. Report 2014 [Internet]. GODT. [cited 2016 Oct 1]. Available from: <http://www.transplant-observatory.org/download/report-2014-3/>
- Shapiro MD, Bagley J, Latz J, Godwin JG, Ge X, Tullius SG, et al. MicroRNA expression data reveals a signature of kidney damage following ischemia reperfusion injury. *PLoS One*. 2011;6(8):e23011. doi: 10.1371/journal.pone.0023011
- Sui W, Dai Y, Huang Y, Lan H, Yan Q, Huang H. Microarray analysis of microRNA expression in acute rejection after renal transplantation. *Transpl Immunol*. 2008;19:81-5.
- Van Rooij E, Olson EN. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest*. 2007;117:2369-76.

EXPERIENCIA PREVIA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL:***

Licenciado en Medicina por la Universidad de Granada

Facultativo Especialista de Área en Medicina Intensiva

Doctor en Medicina por la Universidad en Sevilla

Coordinador Sectorial de Trasplantes Sevilla-Huelva

Director de Proyectos de Experimentación Animal. Federation of European Laboratory Animal Science Associations.

Investigador del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)/CSIC/Universidad de Sevilla

El Dr. Egea-Guerrero es especialista en Medicina Intensiva tras finalizar en 2009 su residencia en la Unidad de Cuidados Críticos y Urgencias del H.U. Virgen del Rocío. Fellowship en la Neurocritical Care Unit del Addenbrook's Hospital en Cambridge (2008).

En el ámbito académico, ha obtenido el Premio Extraordinario de Doctorado de la Universidad de Sevilla en el curso 2012/2013, es tutor clínico de estudiantes de Medicina y MIR, ha dirigido una tesis doctoral y ocho proyectos universitarios. Ha sido miembro de dos tribunales de tesis por la Universidad de Sevilla. De igual forma, ha participado como profesor en más de una treintena de cursos, másteres y jornadas. Por otra parte, en el ámbito de los trasplantes, ha impartido cursos de formación de sanitarios a nivel nacional e internacional.

Su labor asistencial, como médico adjunto de la Unidad de Neurocríticos del Hospital de Rehabilitación y Traumatología del Hospital Universitario Virgen del Rocío, se encuentra certificada con el nivel excelente por la Agencia de Calidad Sanitaria de Andalucía (ACSA). Instructor en Soporte Vital Avanzado, por el Plan Nacional de Resucitación Cardiopulmonar de la SEMICYUC. Actualmente, es Coordinador sectorial de trasplantes de Sevilla-Huelva desde el 2015, habiendo adquirido la certificación de competencias avanzadas como Coordinador de Trasplantes por la ACSA. Recientemente, ha realizado también la Certificación Europea en Coordinación Médica de Trasplantes.

Su actividad asistencial ha sido completada con una importante actividad científica, docente e investigadora en el ámbito de los trasplantes y del daño cerebral adquirido. Investigador del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla). De hecho, en su curriculum científico figuran más de 75 publicaciones en revistas científicas de impacto internacional, sector en el que también participa como revisor de otros artículos y editor de contenidos (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=egea-guerrero+ij>). Además, colabora en doce proyectos de investigación y ha participado en más de una treintena de publicaciones en libros, ha presentado 40 comunicaciones orales y más de 90 pósteres en congresos regionales, nacionales e internacionales. Galardonado con el Premio de Investigación por la Sociedad Andaluza de Trasplantes Órganos y Tejidos (2012).

Su contribución a la difusión del conocimiento científico, su participación en múltiples proyectos de investigación como responsable e investigador principal, junto a su puesto actual de Coordinador Sectorial de trasplantes, avalan su capacitación y dan fe de su potencialidad para poder llevar a cabo la dirección del presente proyecto.

* Se refiere a estudios previos realizados por el grupo investigador en relación con el proyecto (aporte bibliografía si existe)

** Antecedentes en la literatura, sólo en relación al proyecto

*** Se incluye solo la experiencia personal del investigador principal. Evitar repeticiones con (*)

Expediente Nº
AP166562017

OBJETIVOS: *

- **Principales:** El principal objetivo del presente proyecto es analizar el papel de la melatonina como estrategia terapéutica para minimizar el daño isquémico tras su administración *in vivo* en donantes cadavéricos tras ME y asistolia tipo II y III según la clasificación de Maastricht.

(Nota: aunque el donante está cadáver, sus células se encuentran mantenidas y funcionales, por lo tanto *in vivo*.)

Para alcanzar tal objetivo se propone:

- Analizar el perfil de miARNs mediante técnica NGS en suero de donantes en ME y en asistolia tipo II y III, y su posible modulación tras la administración de melatonina.
- Evaluar el nivel de estrés oxidativo en donantes en ME y en asistolia tipo II y III, y su posible modulación tras la administración de melatonina.
- Evaluar el efecto de la administración de melatonina y/o placebo sobre la evolución de los órganos trasplantados.

- **Secundarios:** De forma paralela se perseguirá alcanzar los siguientes objetivos:

- Identificar miARNs alterados en los donantes estudiados y su posible papel como biomarcadores de funcionalidad de hígado, riñón y corazón.
- Estudiar posibles interacciones entre los miARNs identificados alterados en los donantes, con ARNm de la ruta de estrés oxidativo.
- Comparar el daño isquémico (cuantificado mediante marcadores de estrés oxidativo y miARNs) presente en donantes en ME respecto a donantes en asistolia.
- Analizar la correlación entre la concentración de marcadores de estrés oxidativo y miARNs en el donante previo a la extracción de órganos y la evolución del receptor tras el trasplante.
- Comparar la especificidad y la sensibilidad de los miARNs que identifiquemos alterados en los donantes como predictores de evolución del órgano trasplantado frente a la especificidad y la sensibilidad de biomarcadores serológicos de daño hepático, renal y cardíaco.

La confirmación del papel de la melatonina como modulador del daño isquémico que sufren los órganos previo a su trasplante, supondría un cambio importante en la práctica clínica diaria, condicionando la elaboración de documentos de consenso y guías de práctica clínica. La identificación de potenciales dianas y estrategias terapéuticas aún no conocidas harían a la melatonina susceptible de modelo de utilidad.

Por otra parte, la descripción y caracterización de unos biomarcadores indicadores del grado de la lesión isquémica, con valor diagnóstico y pronóstico, mejorará la práctica clínica en cuanto al manejo de pacientes donantes de órganos se refiere, pues permitirá a los médicos especialistas adelantarse a los acontecimientos y seleccionar o descartar órganos en base a su funcionalidad.

HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

En los donantes cadavéricos, tanto por ME como por asistolia, se produce un periodo de isquemia que expone a los órganos susceptibles de trasplantar a lesiones tisulares que comprometen la funcionalidad del injerto (Aguilar et al., 2007). Estos procesos de isquemia son más prolongados en los donantes en asistolia. Por tanto, esas lesiones tisulares se pueden cuantificar de forma indirecta mediante la determinación de biomarcadores de estrés oxidativo y miARNs (Oehlschläger et al., 2002; Ha et al., 2004; Shapiro et al., 2011; Sui et al., 2008; Anglicheau et al., 2009; Asaoka et al., 2012). En base a estas aseveraciones, establecemos que la cuantificación de dichos biomarcadores permitirá diagnosticar de forma precoz la viabilidad del órgano a trasplantar y adelantarse a las manifestaciones clínicas de su

implantación en el receptor. La inclusión de tales determinaciones analíticas en la práctica clínica diaria del proceso donación-trasplante supondrá una optimización del mismo.

A su vez, la melatonina puede regular la producción de moléculas de estrés oxidativo, así como de miARNs (Barlow-Walden et al., 1995; Pablos et al., 1998). Por ello sentamos la hipótesis de que la administración de melatonina en el donante cadavérico previo a la extracción de órganos aliviará el daño isquémico que sucede desde la extubación del donante hasta la preservación del injerto, y por lo tanto mejorará la funcionalidad de los órganos tras el trasplante, y en consecuencia la supervivencia del injerto en el receptor. La melatonina modulará las cascadas de estrés oxidativo, tanto a nivel de proteínas y/o enzimas (MDA, proteínas carboniladas, etc.) como a nivel de miARN.

Bibliografía

Aguilar A, Alvarez-Vijande R, Capdevila S, Alcobero J, Alcaraz A. Antioxidant patterns (superoxide dismutase, glutathione reductase, and glutathione peroxidase) in kidneys from nonheart beating-donors: experimental study. *Transplant Proc.* 2007; 39: 249-52.

Anglicheau D, Sharma VK, Ding R, Hummel A, Snopkowski C, Dadhania D, et al. MicroRNA expression profiles predictive of human renal allografts status. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:5330-5.

Asaoka T, Sotolongo B, Island ER, Tryphonopoulos P, Selvataggi G, Moon J, et al. MicroRNA signature of intestinal acute cellular rejection in formalin-fixed paraffin-embedded mucosal biopsies. *Am J Transplant.* 2012;12:458-468.

Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos M, Menendez-Pelaez A, Chen LD, et al. Melatonina stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochemistry International.* 1995;26:497-502.

Ha H, Park J, Kim YS, Endou H. Oxidative stress and chronic allograft nephropathy. *Yonsei Med J.* 2004;45:1049-52.

Oehlschläger S, Albrecht S, Hakenberg OW, Manseck A, Froehner M, Zimmermann T, et al. Measurement of free radicals and NO by chemiluminescence to identify the reperfusion injury in renal transplantation. *Luminiscence.* 2002;17:130-2.

Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GC, Guerrero JM, Agapito MT, Chuang JI, et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochemistry International.* 1998;32:69-75.

Shapiro MD, Bagley J, Latz J, Godwin JG, Ge X, Tullius SG, et al. MicroRNA expression data reveals a signature of kidney damage following ischemia reperfusion injury. *PLoS One.* 2011;6(8):e23011. doi: 10.1371/journal.pone.0023011

Sui W, Dai Y, Huang Y, Lan H, Yan Q, Huang H. Microarray analysis of microRNA expression in acute rejection after renal transplantation. *Transpl Immunol.* 2008;19:81-5.

* Enumere los objetivos del proyecto. Mencione finalmente la repercusión de su trabajo a corto y medio plazo. Refiera si espera obtener patentes o marcas.

** Exponga claramente la hipótesis de su proyecto. Incluya las bases de su hipótesis y fundaméntelo si es necesario con publicaciones previas.

Expediente Nº
AP166562017

DESARROLLO DEL PROYECTO. (MÉTODOS):

(Máximo 1 página)

Metodología: Ensayo piloto prospectivo, aleatorizado, doble ciego .

Ámbito del estudio

- *Centro de trabajo:* Hospitales de los sectores Sevilla-Huelva, Granada-Jaén y Málaga-Almería autorizados para la donación y extracción de órganos.

- *Duración:* 36 meses.

- *Población de estudio:* Se incluirán los donantes hepáticos, renales y cardíacos en ME y en asistolia tipo II y III según la escala de Maastricht. Se solicitará el consentimiento informado a los familiares de los donantes para la administración de melatonina o placebo y obtención de muestras sanguíneas, así como a los receptores de los órganos trasplantados. Se estima la inclusión de 50 donantes/año (25 ME, 25 asistolia), en base a las estadísticas de donación y trasplante de los centros implicados durante 2016.

- *Diseño y ejecución:* Dos grupos: melatonina y control-placebo. Los datos del donante serán introducidos en un cuaderno electrónico de datos (CRF, *case report form*) y un programa informático realizará la randomización de los individuos en los dos grupos. Se administrará una dosis por SNG de 30 mg de melatonina (o placebo, lactosa) en el momento del diagnóstico de ME o en cuanto comience la perfusión regional normotérmica en los donantes en asistolia. El proceso de donación se realizará según técnica habitual.

- Extracción de muestras sanguíneas: En cada extracción se tomarán un tubo BD VACUETTE® con gel separador de 8 mL para la extracción de suero, y dos tubos BD VACUETTE® K2E EDTA de 4mL para extracción de sangre total y plasma. Las extracciones se realizarán: previo a la administración de melatonina (M1), a los 60 min (M2), y a los 90 min (M3), haciendo coincidir con las extracciones rutinarias. Para el aislamiento de suero y plasma, los tubos se centrifugarán a 3.500 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente, y el resultante de la centrifugación se alicuotará en criotubos que se identificarán y guardarán en un ultracongelador (-80°C) hasta su posterior análisis.
- Evaluación del resultado vital y funcional del paciente trasplantado: recogida del tiempo de estancia en UCI y tiempo de estancia hospitalaria total. Valoración de la supervivencia del injerto y/o del paciente a los 30 días, 6, y 12 meses tras el trasplante.

Realización de determinaciones bioquímicas:

- *Análisis bioquímico* cursado en el laboratorio del propio hospital: AST, ALT, GOT, GPT, LDH, ácido láctico, bilirrubina, amilasa, creatinina, CPK, troponina.
- *Marcadores de estrés oxidativo:* Determinación plasmática.
 - Malondialdehído (MDA): Cuantificación mediante técnica de absorbancia. El MDA forma un complejo con el ácido tiobarbitúrico. Esta técnica va a cuantificar la concentración de Sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico (TBARS).
 - Proteínas carboniladas: Ensayo inmunoenzimático basado en la interacción de las proteínas carboniladas con dinitrofelihidracina.
- *Análisis genómico:* Extracción de ARN según instrucciones del fabricante.
 - Next-generation sequencing (NGS): n=32 pacientes [16 ME (8 melatonina, 8 placebo), 16 asistolia (8 melatonina, 8 placebo)], 3 muestras/paciente, total 96 muestras. Se cuantificará la concentración de ARN en espectrofotómetro UV-visible. El proceso de cuantificación y perfil de miARN se realizará en la Unidad de Genómica y Genotipado del centro Genyo. El protocolo a seguir será el *SureSelect^{XT} Target Enrichment System for SOLiD 5500 Multiplexed Sequencing* (Agilent Technologies), disponible en la web de Agilent. Esta secuenciación de alto rendimiento permitirá identificar los miARN alterados según tipo de donante o administración de melatonina.
 - Validación por RT-qPCR: los miARN que se identifiquen como alterados mediante NGS, se analizarán a continuación mediante RT-qPCR. Este análisis se aplicará a todos los donantes incluidos en el estudio.
 - Valoración de ARNm de genes implicados en la ruta de estrés oxidativo: mediante el análisis bioinformático de los resultados de NGS y búsqueda en bases de datos, podremos predecir posibles interacciones entre los miARN que hayamos obtenido alterados y ARNm de genes de la ruta de estrés oxidativo. Para confirmar o refutar dichas interacciones, realizaremos RT-qPCR de esos ARNm y analizaremos posibles correlaciones.

Análisis de datos: exploratorio, descriptivo, inferencial, regresión logística, curvas ROC. En todos los contrastes de hipótesis se considerara un nivel de significación de P<0,05.

Exponga claramente la metodología y trate de agruparla en el período que ha elegido para su investigación (1-3 años).

Expediente Nº
AP166562017

FASES DEL PROYECTO:(Máximo 1 página)

Actividades/Tareas	Persona responsable	Primer año	Segundo año	Tercer año
Coordinación del grupo	Coordinador clínico: Dr. Egea Coordinador laboratorio: Dra. Rodríguez/Dr. Carrillo	XXXX	XXXX	XXXX
Inclusión de pacientes	Dres. Egea, Pérez, Daga, Martín, Ruíz de Azúa	XXXX	XXXX	----
Extracción de muestras	Dra. Ruíz de Azúa	XXXX	XXXX	----
Recopilación datos clínicos donante	Dres. Pérez, Daga, Martín, Ruíz de Azúa	XXXX	XXXX	X----
Valoración clínica del receptor	Dres. Egea, Pérez, Daga.	XXXX	XXXX	XXXX
Generación y puesta al día de base de datos	Ruíz de Azúa / personal a contratar	XXXX	XXXX	XXXX
Procesamiento de muestras, extracción ARN	Dra. Rodríguez / personal a contratar	XXXX	XXXX	XX--
Determinaciones analíticas en laboratorio Bioquímica Clínica	Dra. Álvarez	XXXX	XXXX	XX--
Determinaciones biomarcadores estrés oxidativo	Dra. Lardone / personal a contratar	--XX	XXXX	XX--
Envío de muestras a Genyo	Persona a contratar	--XX	----	----
Determinaciones NGS	Unidad de Genómica y Genotipado del centro Genyo	--XX	X---	----
Análisis bioinformático NGS	Persona a contratar /Unidad de Informática y Biología Computacional de IBiS	--XX	XX--	----
Valoración resultados NGS	Persona a contratar	--XX	XX--	----
Realización RT-qPCR	Persona a contratar	----	_XXX	XX--
Análisis y evaluación de datos y resultados	Dres. Egea, Vilches, Carrillo, Rodríguez	--XX	XXXX	XXXX
Redacción de manuscritos	Dres. Egea, Vilches, Rodríguez, Carrillo.	----	--XX	XXXX

Exponga con la mayor claridad las fases de este proyecto. Adecue esta exposición a la Metodología que ha elegido, al tiempo del estudio y a la relación de apoyo económico que solicita.

Expediente Nº
AP166562017

MATERIAL (APORTADO POR EL PROPIO CENTRO INVESTIGADOR): *

- MATERIAL INVENTARIABLE:

El Hospital Universitario Virgen del Rocío cuenta con todo el equipamiento y los laboratorios bioquímicos necesarios para el desarrollo de este proyecto. Los hospitales colaboradores únicamente facilitarán los datos bioquímicos habituales de los potenciales donantes, así como almacenarán las muestras biológicas para su ulterior análisis en nuestro centro. Los laboratorios del servicio de Bioquímica Clínica de nuestro hospital, así como el laboratorio de Neurocríticos del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), cuentan con los siguientes sistemas:

- a. Espectrofotómetro: Lector de placas detector de absorbancia (Thermo Scientific Multiskan Go).
- b. Espectrofotómetro de espectro total: para cuantificación de concentración de ARN (NanoDrop® ND-1000)
- c. Agitador de placas: para incubación de placas de ELISA (Labnet Orbit 300).
- d. Centrífuga (Nüve NF 1200R) y microcentrífuga (Mikro 220R, Hettich zentrifugen).
- e. Equipo modular LightCycler 480 (Roche Diagnostics).
- f. Analizador Cobas 6000 (Roche Diagnostics).
- g. Pipeta multicanal.
- h. Neveras de 4°C, congeladores de -20°C, ultracongeladores de -80°C.

Además de todo el material inventariable señalado, el IBiS pone a nuestra disposición sus servicios (citometría, proteómica), así como su laboratorio de usos múltiples, que cuenta con los siguientes aparatos:

- Agitador para Tubos eppendorf Thermomixer comfort
- Capturador de Imagen Ultravioleta UVP BioDoc-It
- Centrífuga Refrigerada Thermo SCIENTIFIC SERVALL LEGEND ST 40R
- Centrífuga Thermo SCIENTIFIC SERVALL LEGEND MICRO 21 R
- Electroforesis de Proteínas BIO RAD Mini-PROTEAN Tetra System
- Equipo para PCR a Tiempo Real Applied Biosystems ViiA7
- Equipo para PCR a Tiempo Real BioTrove Open-ArrayNT
- Equipo para Transferencia de Proteínas BIO RAD Trans-Blot Turbo
- Espectrofotómetro Thermo SCIENTIFIC NanoDrop 2000c
- Espectrofotómetro UV/VIS Thermo SCIENTIFIC MULTISKAN GO
- Extractor de Ácidos Nucléicos Automatizado QIAGEN QIAcube
- Incubador con Agitación Lan Technics HWY-200B
- Incubador Thermo SCIENTIFIC Heraeus
- Medidor de pH
- Termociclador Biometra Professional TRIO

El proyecto contempla la necesidad de contratar el servicio prestado por la Unidad de Genómica y Genotipado del Centro Genyo. Tal centro dispone del siguiente material:

- a. SOLID 5500 Multiplexed Sequencing (Agilent Technologies)

- **MATERIAL BIBLIOGRÁFICO:** El Hospital como centro perteneciente al Sistema Andaluz de Salud tiene acceso a todo el material bibliográfico on-line que la propia Comunidad pone al servicio de los sistemas sanitarios. A esto hay que sumarle que el IBiS como centro de investigación asociado a la Universidad de Sevilla, que cuenta con el acceso a todo el material bibliográfico on-line de estas dos instituciones, ambos con las revistas de mayor impacto en el área.

EQUIPO INVESTIGADOR (APORTADO POR EL PROPIO CENTRO): **

- Juan José Egea-Guerrero. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes Sevilla-Huelva. Investigador IBiS/CSIC/Universidad Sevilla.
- Domingo Daga-Ruiz. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes de Málaga-Almería-Ceuta y Melilla.
- José Miguel Pérez-Villares. FEA Medicina Intensiva. Doctor en Medicina. Coordinador Sectorial de Trasplantes de Granada-Jaén.
- Ana Rodríguez Rodríguez. FEA Bioquímica Clínica. Doctora en Biología. Investigador IBiS/CSIC/Universidad Sevilla.
- Luis Martín Villén. FEA Medicina Intensiva. Coordinador Intrahospitalario de trasplantes H.U. Virgen del Rocío.
- Zaida Ruíz de Azúa-López. FEA Medicina Intensiva. Coordinador Intrahospitalario de trasplantes H.U. Virgen del Rocío.
- Antonio Carrillo Vico. Doctor en Biología. Profesor Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología. Universidad de Sevilla. Investigador IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Patricia Lardone. Doctora en Biología. Profesora Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología. Universidad de Sevilla. Investigadora IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Nuria Álvarez. Dra. Biología. Investigadora IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.
- Ángel Vilches Arenas. FEA Medicina Preventiva. Profesor Departamento Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Sevilla. Investigador IBiS/CSIC/Universidad de Sevilla.

EQUIPO INVESTIGADOR. MIEMBROS ASOCIADOS: ***

NOMBRE:

TITULACIÓN:

NOMBRE:

TITULACIÓN:

* *Es muy importante para evaluar las condiciones del Centro en el que se realizará el estudio. Se estima que debe contar con un centro suficientemente dotado para la consecución del proyecto, por lo que deberá relacionar el material que aporta el Centro para el desarrollo del proyecto.*

** *Se refiere al equipo investigador básico contratado por el Centro (Investigadores Titulados, FISS, veterinarios, biólogos, expertos en estadística, etc.)*

*** *En el caso de que solicite personal universitario graduado (becarios, asociados).*

Expediente Nº
AP166562017

MATERIAL (De nueva adquisición): *
INVENTARIABLE:

No requerimos adquisición de material inventariable.

FUNGIBLE: **

- OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) (Cell Biolabs, Inc).
- BLK PC Test (Protein Carbonyl Enzyme Immuno-assay kit) (Laboratorios Leti).
- Trizol LS –Invitrogen (Cat#10296-010).
- Yeast tRNA –Ambion (Cat#7119)
- RNeasy Mini kit –Qiagen (Cat# 74104)
- SensiFast SYBR No-ROX KIT (Bioline)
- RT2 qPCR Primer for human genes (SABIO Science)
- Placas de 96 pocillos para ELISAs (Nunc-Immuno™ MicroWell™)
- Placas de 96 pocillos para PCR (96 Well Roche Style PCR Plate) (Cat#4ti-0955, 4titude)
- Film sellador para placas de PCR (qPCR Seal, sheets) (Cat#4ti-0560, 4titude)
- Criotubos (sterile, RNase-, DNase-free) (Biologix)
- Pipetas Pasteur desechables (sterile, RNase-, DNase-free) (Biologix)
- Puntas con filtro (Filter Tip PP natural, 96 tips/rack, sterile, RNase-, DNase-free) (Nerbeplus).
- Melatonina, Circadin (Neurim Pharmaceuticals)

* Establezca la relación. Debe justificar su necesidad y referir cual será la situación o disponibilidad del material al finalizar el proyecto

** Asegúrese de que este material no puede ser aportado por su centro investigador o por otro centro de investigación que actúe conjuntamente en su proyecto.

Expediente Nº
AP166562017

UTILIDAD Y APLICABILIDAD DEL PROYECTO: *

(Máximo 1 página)

En los últimos años, las cifras de donación en asistolia se han visto incrementadas de manera progresiva. Como hemos reiterado a lo largo del proyecto, el principal inconveniente de estos donantes es el daño isquémico al que quedan expuestos sus órganos durante el tiempo de isquemia caliente funcional. Por ello, muchos órganos provenientes de asistolia se rechazan para trasplante (fundamentalmente hígados), debido a que determinados períodos de isquemia no pueden ser minimizados.

Por una parte, la identificación de biomarcadores que indiquen de forma inequívoca la validez del órgano susceptible de trasplantar, así como que predigan la supervivencia del injerto en el receptor, permitiría optimizar la selección de los órganos procedentes de donantes en asistolia, minimizando las tasas de rechazo.

Por otra parte, si demostrásemos que se cumple nuestra hipótesis acerca de la reducción del daño isquémico inducido por la melatonina, supondría una muy relevante mejora en el proceso de donación y trasplante. Permitiría minimizar el daño que sufren los órganos procedentes no sólo de donantes en asistolia, si no también de aquellos donantes en ME, mejorando en cualquier caso la funcionalidad del injerto, la supervivencia del mismo así como la supervivencia del receptor.

En definitiva, pensamos que los resultados obtenidos en el presente proyecto tendrían una aplicabilidad a corto plazo, que probablemente pasara por la inclusión de las medidas propuestas en la práctica clínica en los hospitales implicados, así como se extenderían a corto plazo a nivel nacional, y probablemente a medio plazo a nivel internacional. Previo a estos últimos alcances, sería interesante continuar esta línea de trabajo mediante estudios multicéntricos que abarcaran otros hospitales del territorio español y a nivel europeo, mediante la solicitud de proyectos tanto públicos como privados en el ámbito nacional e internacional.

POSIBILIDAD DE OBTENCIÓN DE PATENTES Y MARCAS:

La confirmación del papel de la melatonina como modulador del daño isquémico que sufren los órganos previo a su trasplante, supondría un cambio importante en la práctica clínica diaria, condicionando la elaboración de documentos de consenso y guías de práctica clínica. La identificación de potenciales dianas y estrategias terapéuticas aún no conocidas para la melatonina harían a dichas aplicaciones susceptibles de creación de un modelo de utilidad ante la Oficina Nacional de Propiedad Intelectual.

** Establezca preferencias en la utilidad social, aplicabilidad a corto y medio plazo. Refiera si cree que existe la posibilidad de continuar con una línea de investigación a largo plazo, en ese caso podría utilizarse como base para futuros proyectos financiados por la Fundación.*

Expediente Nº
AP166562017

JUSTIFICACIÓN DE LA AYUDA SOLICITADA: (Máximo 1 página):

Para la ejecución del presente proyecto resulta necesaria la solicitud de ayuda económica, pues si bien contamos con las instalaciones necesarias para su realización, el material fungible y el personal investigador a contratar son indispensables para la realización satisfactoria del proyecto.

El centro donde se va a centralizar el proyecto, no puede asumir los gastos del material fungible necesario, así como el desplazamiento de las muestras desde los otros hospitales. En cuanto al personal colaborador, todos ellos son trabajadores del HUVR, IBiS y/o Universidad de Sevilla, de modo que colaborarán para el correcto desarrollo del estudio, pero en ningún caso podrán ofrecer dedicación exclusiva. Como se puede apreciar en el desarrollo del proyecto propuesto, éste consta de una importante carga de trabajo en el laboratorio, pues se propone realizar numerosas técnicas analíticas manuales y de cierta complejidad (ELISAs, extracción de ARN, RT-qPCR), así como valoración de técnicas altamente específicas. Por ello, consideramos necesaria la solicitud de ayuda económica para la contratación de un especialista que se encargue de la ejecución de dichas técnicas.

La concesión de la ayuda económica solicitada permitirá la realización del presente proyecto, y si se cumple la hipótesis establecida, esta inversión económica creemos que ayudará, entre otras cosas, a reducir el gasto sanitario en un futuro. Si gracias a la administración de melatonina (producto barato) y la determinación (poco costosa) de una serie de biomarcadores séricos conseguimos optimizar el proceso de donación y trasplante, estaríamos por una parte aumentando el número de donaciones (gracias al aumento de potenciales injertos útiles para el trasplante al disminuir el daño por isquemia tras la administración de melatonina), minimizando el número de rechazo de potenciales órganos para trasplante (mediante biomarcadores séricos de viabilidad y funcionalidad pretrasplante), así como mejorando la supervivencia del injerto en los receptores (por disminución del daño isquémico tras administración de melatonina). Todo ello ayudaría a disminuir las listas de espera para trasplante, lo cual supone una reducción del gasto sanitario por reducción del número de pacientes que requieren diálisis (trasplante renal), mantenimiento con ECMO (trasplante cardíaco) u otros tratamientos crónicos igualmente costosos. Y lo que es más importante, mejoraría la calidad de vida de esos pacientes.

La convocatoria ofrecida por la Fundación Mutua Madrileña nos parece una oportunidad inigualable para solicitar la ayuda requerida para la ejecución del presente proyecto, el cual consideramos de verdadero interés tanto para la comunidad científica, la sanidad española y la sociedad en general, ya que ofrece una posibilidad de aplicación realmente inmediata.

Justifique la necesidad del apoyo económico de esta Fundación, en cuanto a la conveniencia de financiación, impacto del estudio proyectado. Beneficios que pueda obtener la Sociedad, relación con otras Agencias de financiación.

Expediente Nº
AP166562017

DETALLE PORMENORIZADO DE OTRAS AYUDAS ECONÓMICAS OBTENIDAS PARA FINANCIAR ESTE PROYECTO O DE AQUELLOS ESTUDIOS RELACIONADOS CON EL MISMO: (Máximo 1 página adicional a este cuadro si lo precisa) *

No se han obtenido otras ayudas económicas para financiar este proyecto o estudios relacionados con el mismo.

DOCUMENTACIÓN ADJUNTA: **

- Curriculum Vitae del INVESTIGADOR PRINCIPAL
- Curriculum Vitae del SEGUNDO INVESTIGADOR
- Curriculum Vitae del TERCER INVESTIGADOR
- Curriculum Vitae de OTROS INVESTIGADORES
- Ejemplar bases aceptadas y firmadas por el IP y el Representante del Centro (Hospital, Universidad, Centro de Investigación, etc.)***
- Informe del Comité de Ética y Ensayos Clínicos
- Fotocopia del NIF del Investigador Principal
- Fotocopia del NIF del Centro/Institución que gestionará el proyecto

SERVICIOS MÉDICOS, QUIRÚRGICOS O CENTRALES IMPLICADOS ****
(Si existe, debe añadir el acuerdo con los servicios incluidos).

Las Coordinaciones Sectoriales de Andalucía colaborarán de forma activa para el correcto desarrollo del presente proyecto. Los Dres. Domingo Daga-Ruiz, Coordinador Sectorial de Trasplantes de Málaga-Almería-Ceuta y Melilla, Dr. José Miguel Pérez-Villares, Coordinador Sectorial de Trasplantes de Granada-Jaén, se comprometen a gestionar el desarrollo del proyecto en sus Coordinaciones: inclusión de pacientes, administración del fármaco (melatonina/placebo), obtención de muestras y correcto procesamiento y almacenamiento de las mismas para posterior envío. Todas las muestras se enviarán de forma centralizada al H.U. Virgen del Rocío para su posterior análisis (y/o envío al centro Genyo).

* Es imprescindible mencione cualquier ayuda recibida en fases anteriores o que disfrute aún en la actualidad.

** Enumere la ordenación y páginas de estos documentos.

*** Se refiere al Director de Investigación de su Institución o responsable del centro, en su defecto.

**** Requiere una atención especial al incluir a otros grupos.

Expediente Nº AP166562017

ANEXOS

**SOLICITUD DE BECARIO POSTDOCTORAL
AL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ***

SOLICITANTE:

APELLIDOS Y NOMBRE: Boyero Corral, Laura

DIRECCIÓN: C/Genaro Parladé, nº13, Bloque 1, 4ºB

LOCALIDAD: Sevilla

CP: 41013

NIF: 75154778R

TELÉFONO: 669988244

FAX: -

E-MAIL: lboyero@hotmail.com

TITULACIÓN: Dra. Biología LUGAR DE TRABAJO: H. U. Virgen del Rocío. Laboratorio de Neurocríticos

PUESTO QUE DESEMPEÑA: Investigadora asociada

RESUMEN CURRICULUM VITAE:

-Licenciada en Biología por la Universidad de Granada (2003-2008).

-Máster en Investigación y Avances en Microbiología de la Universidad de Granada (2009).

-Becaria predoctoral del Dpto. Bioquímica, Biología Molecular III e Inmunología de la Universidad de Granada/Fundación Benéfica Anticáncer San Francisco Javier y Santa Cándida (2010-2014).

-Estancia breve de 3 meses en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO, Madrid, España) (2011).

-Contrato de Investigador con cargo al proyecto [SAF2012-37252] "SWI/SNF, microRNAs and cancer" y adscripción al Dpto. Bioquímica, Biología Molecular I de la Universidad de Granada (2014-2015).

-Doctora en Biología. Programa de Bioquímica y Biología Molecular por la Universidad en Granada (Cum laude). Título de tesis "Análisis de los perfiles de expresión génica en cáncer de pulmón. Valor pronóstico en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico sometidos a toracotomía" dirigida por el Dr. Pedro Medina y la Dra. Esther Fárez. (Fecha de lectura: 19 de Diciembre de 2016).

-Investigadora del laboratorio de Neurocríticos del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS) (2017).

La Dra. Boyero acaba de defender su tesis doctoral del programa oficial de Bioquímica y Biología molecular de la Universidad de Granada, la cual versa sobre el análisis de los perfiles de expresión génica en cáncer de pulmón y la búsqueda de posibles biomarcadores, así como su validación mediante ensayos funcionales. Durante el doctorado disfrutó de una beca oficial del Plan Propio de la Universidad de Granada, otra para la realización de una estancia corta de investigación en el CNIO y contratos de investigación con cargo a proyectos de I+D financiados en convocatorias públicas. También ha disfrutado de una beca para la implantación de las experiencias piloto de aplicación de ECTS durante su licenciatura.

Desde su licenciatura, ha trabajado 6 años en laboratorios de investigación, primero en el Dpto. de Bioquímica, Biología Molecular e Inmunología de la Universidad de Granada y luego en el grupo de investigación Gene Expression Regulation & Cancer del Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENyO) de Granada (<http://www.genyo.es/content/grupo>), por lo que posee amplios conocimientos en genética, biología molecular, miRNAs, qPCR, cultivo celular, citometría de flujo, microscopía, WB, inmunoprecipitación, transfección de siRNAs, transducción lentiviral, etc. Además, durante ese periodo ha ejercido de Lab Manager, encargándose de la gestión de los laboratorios, tutorización de alumnos de grado, máster y predoctorales, así como de actividades docentes en el grado de Medicina de la Universidad de Granada durante los años 2012-2014. Su inquietud por la ciencia la ha llevado también a formar parte de la organización de diversas actividades de I+D como cursos universitarios y workshops.

En cuanto a su actividad científica e investigadora, ha participado en diversos proyectos de I+D financiados en convocatorias públicas competitivas (enumerados a continuación), gracias a los cuales ha adquirido conocimientos y experiencia valiosos para el desarrollo de este proyecto, tales como

miARNs, biomarcadores, estudios de supervivencia, manejo de muestras humanas y bases de datos, y las técnicas anteriormente mencionadas entre otras. Toda esta experiencia está avalada por más de 20 comunicaciones a congresos internacionales y las diversas publicaciones científicas internacionales (enumeradas en el apartado siguiente), entre ellas la galardonada con el premio al mejor trabajo científico 2014-2015 por la Real Academia de Medicina de Salamanca y destacado o comentado por diversos artículos de revistas del sector.

Además, ha seguido una formación complementaria mediante la realización de diversos cursos que la acreditan, entre otras cosas para la experimentación animal de Categoría B, realización de citogenética y citometría de flujo, microscopia confocal, adquiriendo además nociones básicas de los procesos de donación y trasplante en España.

La contratación de la Dra. Boyero permitirá que ésta desarrolle con dedicación exclusiva el trabajo de laboratorio basado en técnicas moleculares de miARNs procedentes de muestras humanas, en lo cual tiene sobrada experiencia como se refleja en las publicaciones, capítulos de libro y proyectos del sector (enumerados a continuación). Por otra parte, su labor predoctoral en el centro GENyO la convierte en un nexo cercano a la Unidad de Genómica del mismo, la cual es uno de los pocos servicios de NGS adaptados a librerías small para el estudio de miARNs. Asimismo, posee la capacidad de interpretar resultados, relacionarlos con datos de supervivencia, validarlos funcionalmente si fuera necesario y redactar manuscritos.

PUBLICACIONES EN REVISTAS INCLUIDAS EN INDEX MEDICUS (Añada todas las hojas adicionales necesarias. Formato: Times New Roman, 10 Pto. Enumeración: 12ª y siguientes):

1- Boyero L*, Martín-Padrón J*, Rodríguez MI, Andrade A, Fárez-Vidal ME, Medina-Vico P. Oncogenic role of Plakophilin-1. A Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) biomarker. 2017. En proceso de redacción. (*) Primer autor compartido.

2- Cuadros M, Sánchez-Martín V, Herrera A, Schiaffino S, Baliñas C, Boyero L, Peinado P, Medina-Vico P. microRNA-155 targets Brg1 in human leukemia cell lines. Clin Transl Oncol. 2016 Dic. Accepted.

3- Peinado P, Herrera A, Baliñas C, Martín-Padrón J, Boyero L, Cuadros M, Coira IF, Rodríguez MI, Reyes-Zurita FJ, Rufino-Palomares EE, Lupiáñez JA, Medina PP. Long non-coding RNAs as cancer biomarkers. (Book Chapter). Book title: Cancer and Non-coding RNAs. Ed: Elsevier. 2016. In press.

4- Coira IF, Rufino-Palomares EE, Romero OA, Peinado P, Methetrairut C, Boyero-Corral L, Carretero J, Fárez-Vidal E, Cuadros M, Reyes-Zurita FJ, Lupiáñez JA, Sánchez-Céspedes M, et al. Expression inactivation of SMARCA4 by microRNAs in lung tumors. Hum Mol Genet 2015;24:1400-9. (*) Primer autor compartido.

Galardonado con el premio al mejor trabajo científico 2014-2015 por la Real Academia de Medicina de Salamanca.

Los resultados de este trabajo han sido destacados o comentados por diversos artículos de revistas del sector:
Genética Médica News | Vol. 2 | Núm. 21 | 2015, pág 18-19.

5- Boyero L, Sánchez-Palencia A, Miranda-León MT, Hernández-Escobar F, Gómez-Capilla JA, Fárez-Vidal ME. Survival, Classifications, And Desmosomal Plaque Genes In Non-Small Cell Lung Cancer. Int. J. Med. Sci. 2013;10:1166-73.

6- Gómez-Morales M, Cámara-Pulido M, Miranda-León MT, Sánchez-Palencia A, Boyero L, Gómez-Capilla JA, Fárez-Vidal ME. Differential immunohistochemical localization of desmosomal plaque-related proteins in non-small cell lung cancer. Histopathology. 2013; 63:103-13.

7- Sanchez-Palencia A, Gomez-Morales M, Gomez-Capilla JA, Pedraza V, Boyero L, Rosell R, Fárez-Vidal ME.. Gene expression profiling reveals novel biomarkers in nonsmall cell lung cancer. Int J Cancer. 2011;129:355-64.

FACTOR IMPACTO TOTAL: 15.038

ENUMERACIÓN DE PROYECTOS FINANCIADOS EN QUE HA COLABORADO (Utilice las hojas adicionales que precise. Formato: Times New Roman, 10 Pto. Enumeración 12A y siguientes):

1. Participación en el proyecto de Investigación en Salud 2016 de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía: “PI-0099-2016: La melatonina como nueva estrategia inmunomoduladora y antioxidante en el tratamiento del traumatismo craneoencefálico grave”. Responsable: Dra. Ana Rodríguez Rodríguez.
2. Participación en el Proyecto de Investigación Ministerio de Economía y Competitividad (MICINN) [SAF2012-37252] “SWI/SNF, MICRORNAS AND CANCER”. Duración: 01-01-2013/31-12-2015. Investigador Responsable: Pedro Medina Vico.
3. Participación en el Proyecto de Investigación Fondo De Investigación Sanitaria (FIS), Ministerio de Ciencia e Innovación [PI10/00198] “Biomarcadores y dianas moleculares: Estudio de la función de determinados genes con niveles de expresión alterada en tumores primitivos broncopulmonares pertenecientes al estadio I”. Duración: 01-01-2011/31-12-2014. Investigador Responsable: Esther Farez Vidal.
4. Participación en el Proyecto de Investigación CEI-Biotic 2011 [20F12/6] “Inactivación de SMARCA4 en el desarrollo tumoral”. Duración: 14-04-2012/13-12-2012. Investigador Responsable: Pedro Medina Vico.
5. Participación en el Proyecto de Investigación “Estudio De La Función De Determinados Genes Con Niveles De Expresión Alterada En Tumores Primitivos Broncopulmonares: Tumores Epidermoides Y Adenocarcinomas”. Financiado por GREIB.PT.2011.06. Duración: 22-07-2011/30-12-2013. Investigador Responsable: M^a Esther Fárez Vidal.

** Se trata de un doctor con dedicación especial al proyecto de investigación. Debe justificarse la necesidad de este tipo de investigador. La cantidad a percibir puede llegar a 2.700€ mensuales. En este caso aunque puede recibir otras remuneraciones, tendrá una dedicación a tiempo completo. Se dará especial consideración a los investigadores acreditados y con preferente dedicación al tema propuesto.*

TRATAMIENTO DATOS PERSONALES

1.- El solicitante se compromete, en relación con los tratamientos de datos que realice en la ejecución de la Ayuda, al cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (en adelante, LOPD) y a la normativa que desarrolla a la citada Ley Orgánica.

Deberá implantar y mantener en los ficheros que contengan datos de carácter personal las medidas de índole técnica y organizativa oportunas para alcanzar el nivel de seguridad exigible conforme a lo establecido en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, y en cualquier otra norma que lo complementa, modifique o derogue en el futuro. Todo ello es con la finalidad de garantizar la seguridad e integridad de los datos de carácter personal y evitar su alteración, pérdida, tratamiento o acceso no autorizado, habida cuenta del estado de la tecnología, la naturaleza de los datos almacenados y los riesgos a que estén expuestos, ya provengan de la acción humana o del medio físico o natural, dando así cumplimiento a lo exigido por la normativa vigente. . Como mínimo el nivel de seguridad aplicable será el básico, tanto para tratamientos automatizados como no automatizados, si bien éste nivel deberá adecuarlo en función de los datos tratados. En caso de que sus ficheros contuvieran datos de salud el nivel de seguridad deberá ser el nivel de seguridad alto.

2.- Los datos de carácter personal que voluntariamente facilite así como los que pudiera ser facilitados durante el proceso de solicitud de Ayudas serán recogidos en un fichero titularidad de la Fundación Mutua Madrileña (domicilio en el Paseo de la Castellana número 36-38, 28046 Madrid). Todos los datos solicitados son imprescindibles para atender su solicitud y serán destinatarios de los mismos las entidades indicadas en la presente estipulación. La finalidad principal del tratamiento de datos será la de atender su solicitud y en su caso la ayuda que resultare concedida.

Todos los datos recabados, así como los anteriores tratamientos y cesiones, son imprescindibles para la gestión de la solicitud y/o ayuda.

El solicitante, en caso de facilitar datos de carácter personal de terceros (curriculum vitae, datos del equipo de investigación etc.), después de haber informado a dichas personas del contenido íntegro de la presente cláusula, en los mismos términos en que ha sido informado el solicitante, se compromete a obtener el consentimiento expreso de dichas personas cuyos datos vaya a facilitar, con el fin de su uso por parte de la Fundación para la realización de los tratamientos de datos previstos en la presente cláusula.

El solicitante, en el caso de que se produzca alguna variación en los datos facilitados a la Fundación Mutua Madrileña para su tratamiento de conformidad con lo previsto en la presente cláusula, lo notificará a ésta para que por parte de Fundación Mutua Madrileña se proceda a dicha modificación.

3.- El solicitante de cualquier Ayuda autoriza a la Fundación Mutua Madrileña el tratamiento de los datos facilitados con las siguientes finalidades publicitarias y comerciales accesorias:

- (1) Realizar segmentaciones, estudios de mercado y estadísticos, para adecuar a su perfil, acciones publicitarias y de comunicación relativas a la ayuda, y a los productos y servicios indicados en el punto siguiente.
- (2) Enviarle información, incluso por medios electrónicos (SMS, teléfono, email, así como cualquier otro medio equivalente) sobre el programa de ayudas de la Fundación Mutua Madrileña, así como respecto de productos y servicios relacionados con las siguientes categorías (tanto de la Fundación Mutua Madrileña, Mutua Madrileña, como de las sociedades de su Grupo o de terceras empresas con las que se alcancen acuerdos de colaboración): Becas y programas de ayuda de la Fundación Mutua Madrileña, automóvil, financieros y seguros, ocio y culturales, telecomunicaciones, sanitarios, asistenciales e inmobiliarios.
- (3) Comunicar transcurridos 30 días desde la solicitud de la ayuda los siguientes datos personales: Identificación personal, datos y canales de contacto facilitados, solicitud de ayudas y datos generales de su solicitud a las siguientes entidades del grupo Mutua Madrileña:

Mutua Madrileña Automovilista, Sociedad de Seguros a Prima Fija (entidad aseguradora)
Autoclub Mutua Madrileña, S.L.U. (Servicios de asistencia),
Mutuactivos Pensiones, S.A.U. (Sociedad Gestora de Fondos de Pensiones)
Mutuactivos, S.G.I.I.C, S.A.U. (Sociedad Gestora de Instituciones de Inversión Colectiva)
Inmomutua Madrileña, S.A.U. (Servicios inmobiliarios)
MM Globalis (entidad aseguradora)
Mutuactivos Inversiones S.A.U, Agencia de Valores (Agencia de valores y agencia de seguros exclusiva de Mutua Madrileña)
MM Hogar, S.A.U. de Seguros y Reaseguros (entidad aseguradora).

A las que se refieren o se refieran en el futuro en www.mutua.es (apartado legal).

A aquéllas que sean incorporadas en el informe anual de Mutua Madrileña y figuren en el mismo como empresas del grupo y/o empresas con las que se consoliden cuentas (memoria disponible en www.mutua.es).

La finalidad de la indicada comunicación de datos será la de realizar los tratamientos de datos indicados en los puntos 3.1 y 3.2 del presente apartado.

Las entidades que reciban los datos objeto de comunicación los incorporarán en un fichero de su responsabilidad, serán tratados para las finalidades informadas en el párrafo anterior, siendo dichas entidades las únicas destinatarias de los datos.

Una vez finalizada la relación entre la Fundación Mutua Madrileña y el solicitante, la Fundación podrá seguir haciendo uso de sus datos para fines comerciales y publicitarios, en los términos indicados en la presente cláusula, hasta que Usted no revoque el consentimiento dado.

4.- Los solicitantes de las Ayudas, otorgan su consentimiento expreso y autorizan al amparo de la Ley Orgánica 1/82 de 5 de Mayo de Protección Civil del Derecho al Honor, a la Intimidación Personal y Familiar y a la Propia Imagen, a Fundación Mutua Madrileña a recabar fotografías de dichos solicitantes y la utilización de dichas fotografías en cualquier actividad publicitaria y/o promocional relacionada con las propias ayudas y que lleve a cabo la Fundación Mutua Madrileña.

La Fundación Mutua Madrileña se reserva el derecho a utilizar las fotografías, sin que quede obligada a ello, y siempre con las finalidades indicadas en el presente documento, pudiendo utilizar las fotografías de forma total o parcial, e incluso proceder a la modificación o adaptación de la misma. Los derechos transferidos por tanto a la Fundación Mutua madrileña sobre las fotografías serán todos los derechos de explotación imprescindibles para la realización y comunicación en cualquier actividad publicitaria y/o promocional de las ayudas.

Esta autorización se realiza de forma totalmente gratuita, sin que ningún solicitante de las ayudas tenga nada que reclamar a Fundación Mutua Madrileña como consecuencia de la presente autorización, y renuncia de forma expresa a través de la aceptación de las presentes bases, a cualquier reclamación posterior, judicial o extrajudicial, frente a Fundación Mutua Madrileña, por el uso de dichas imágenes de conformidad, y con las finalidades recogidas en el presente documento.

Los datos que se recaben de dichas imágenes, serán incorporados en un fichero, responsabilidad Fundación Mutua Madrileña con domicilio en Madrid, en Paseo de la Castellana 36-38 (28046, Madrid), con la exclusiva finalidad de la utilización del contenido de las fotografías para las finalidades anteriormente descritas.

Por último los solicitantes de las ayudas, se comprometen a cooperar en la promoción de las ayudas a través de su colaboración con las distintas acciones de comunicación que la Fundación Mutua Madrileña quiera llevar a cabo con tal fin (entrevistas en medios de comunicación, presencia en redes sociales, etc.)

5.- El titular de los datos podrá ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición al tratamiento de los mismos, dirigiéndose a la Unidad de Cumplimiento Normativo, calle Fortuny, 18 (28010, Madrid) o bien llamando al siguiente número de teléfono gratuito 900 102 711.