

## PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS

### **OBJETO DEL CONTRATO:**

- 1.- Definir el patrón de cambio biológico asociado con cada una de las modalidades quirúrgicas del queratocono
- 2.- Caracterizar las diferencias en los cambios biológicos que tienen lugar también en el queratocono sin tratar
- 3.- Definir los cambios en lágrima y epitelio que permiten predecir un progreso del proceso ectásico en córneas con queratocono que reciben implante de segmentos de anillos intracorneales
- 4.- Definir los cambios en lágrima y epitelio que permiten predecir un progreso del proceso ectásico en córneas con queratocono sin tratamiento
- 5.- Establecer un modelo general, no invasivo y completo de monitorización para el queratocono con la potencialidad de poder ser aplicado en futuras investigaciones
- 6.- Definir el patrón biológico asociado a las complicaciones que pudieran surgir con las modalidades de tratamiento evaluadas

### **MOTIVOS QUE HACEN NECESARIA SU CONTRATACIÓN:**

El contrato de servicio aquí requerido tiene como objetivo el análisis biológico completo de 16 proteínas: Alpha-2 Macroglobulin, IL-6, IL-10, TNF Alpha, IL-1 Beta, sICAM-1 y sVCAM-1, MMP-1, 2, 7, 9, 10 y Collagen Type 1, 2, 4 y 6 procedentes de las muestras de lagrime y de epitelio corneal de los diferentes grupos de estudio definidos en este proyecto (Grupos A, B, C y D) a fin de poder definir un sistema de monitorización integral del efecto de diferentes técnicas quirúrgicas (anillos intracorneales y/o crosslinking) en corneas queratoconicas.

El análisis completo de las proteínas procedentes de las muestras de los diferentes grupos de estudio definidos en este proyecto es crucial para el éxito del proyecto.

Para realizar los ensayos biológicos de determinación de expresión de proteínas mediante la tecnología Luminex, y/o técnica ELISA, se requiere una empresa biotecnológica especializada en el desarrollo de sistemas de diagnóstico para el sector oftalmológico, a partir de la aplicación directa de los últimos avances en ciencias x-ómicas (genómica, proteómica y metabolómica). Esta empresa deberá tener expertise en la investigación de sistemas no invasivos para el análisis de la lágrima, así como sistemas optimizados de extracción de material genético y proteico a partir de citologías de impresión.

## DESCRIPCIÓN DE LAS CONDICIONES PARA LA PRESTACIÓN DEL SERVICIO QUE SE SOLICITA

### Tecnología y técnicas requeridas:

- **Plataforma Luminex:** Permite analizar varios marcadores proteicos en una misma muestra. Se analizarán paneles de proteínas implicadas en procesos relacionados con ectasias corneales en lágrima y en epitelio corneal. Debido a la cantidad de muestra limitante, es necesario medir la máxima cantidad de marcadores en una misma muestra de un mismo individuo. Además, al ser un estudio prospectivo requieren de técnicas analíticas cuantificables para ver a lo largo del tiempo la evolución del tratamiento o el progreso de la ectasia corneal.
- **Lector de placas ELISA:** Por ELISA se analizaran aquellas moléculas que no están disponibles en la plataforma Luminex, se contempla el análisis en muestras de lagrime.
- **RT-PCR:** Permite analizar cambios de expresión de los genes seleccionados para el estudio. Esta técnica se podrá emplear en muestras de citología de impresión corneal con el fin de validar cambios de los genes seleccionados directamente en los tejidos.
- **Bioanalyzer:** Permite cuantificar y conocer la cantidad y estabilidad (calidad) del RNA extraídos de las muestras de epitelio corneal.
- **EZQ-protein Quantitation kit.** Se emplea para cuantificar la cantidad de proteína de numerosas muestras a la vez de tal manera que las mediciones son bastante reproducibles, lo cual es importante en el estudio en referencia al tratarse de un estudio prospectivo con cuantificaciones a lo largo del seguimiento de los tratamientos. Esta técnica se asocia a la utilización del VersaDoc Imaging system para la adquisición de las mediciones.
- **Kits de recogida de muestras.** Una correcta y homogénea recolección de las muestras de estudio son claves para la viabilidad del proyecto y la obtención de resultados fiables y reproducibles. La Empresa diseñara y producirá kits de recogida de muestras específicos para el estudio, en los cuales se proporcionara el material y los buffers adecuados para la preservación de las muestras en función de los análisis requeridos (genes o proteínas).

**Perfil del personal requerido:**

Se requieren doctores especializados en el diseño experimental, manejo y procesamiento de las muestras de estudio, y las tecnologías a emplear.

Se requiere también personal cualificado y experto en proteómica, genómica y metabolómica.

- Concretamente los perfiles requeridos serían:
  - Doctor en Bioquímica, especialista en proteómica y técnicas analíticas y multiplexadas tipo Luminex.
  - Experto en bioinformática y análisis de datos estadísticos.
  - Doctor en Biología, especialista en análisis de patologías de la superficie ocular.
  - Doctora en bioquímica y biología molecular, especialista en el análisis bioquímico, molecular y proteico de genes y proteínas involucradas en diferentes patologías.

**PLAZO MÁXIMO DE EJECUCIÓN DEL CONTRATO:** 3 años

**FORMA DE PAGO:**

- 48% al final de la primera anualidad
- 26% al final de la segunda anualidad
- 26% al final de la tercera anualidad

**CESIÓN Y SUBCONTRATACIÓN DEL CONTRATO:** No permitido

**LUGAR DE PRESENTACIÓN DEL SERVICIO:**

Departamento Patología y Cirugía, División Oftalmología de la Universidad Miguel Hernández de Elche

**PROGRAMA DE TRABAJO.**

**PRIMER AÑO:**

Análisis de 480 muestras basales de epitelio y lágrima, así como provenientes de las primeras visitas de seguimiento de los pacientes de los grupos A y B

-GRUPO A (control): pacientes con queratocono grado I en los que no se indica cirugía

-GRUPO B (anillos): pacientes con queratocono grado I en los que se indica cirugía por la existencia de un deterioro visual y una intolerancia al uso de prescripción óptica en gafa o lente de contacto.

Entrega del Informe anual a la finalización de esta anualidad

SEGUNDO AÑO:

Análisis de 240 muestras de epitelio y lágrima provenientes de las diferentes visitas de seguimiento de los pacientes de los grupos A, B, C, D

-GRUPO C (crosslinking): queratoconos sin tratar con segmentos en los que existe evolución de la ectasia y se ha aplicado crosslinking

-GRUPO D (anillos crosslinking): casos implantados con anillos en los que existe evolución de la ectasia y se ha aplicado crosslinking

Entrega del Informe anual a la finalización de esta anualidad

TERCER AÑO:

Análisis de las últimas 240 muestras de epitelio y lágrima de las diferentes visitas de seguimiento de los grupos A, B, C, D

Realización del análisis estadístico de los resultados

Entrega del Informe final a la finalización de esta anualidad

Fecha: 9 de marzo de 2012

Prof. Jorge Alió y Sanz  
Catedrático de Oftalmología  
División Oftalmología  
Departamento Patología y Cirugía  
Universidad Miguel Hernández