

VIII Conferencia Anual de las Plataformas Tecnológicas de Investigación Biomédica: Medicamentos Innovadores, Nanomedicina, Tecnología Sanitaria y Mercados Biotecnológicos

“La necesidad de la innovación “

Índice

1 OWL

2 Metabolómica

3 NAFLD y los modelos animales

4 **OWLiver[®] Care & OWLiver[®]**

Búsqueda de biomarcadores de Nonalcoholic fatty-liver disease

Compañía



OWL es una compañía biotecnológica creada en 2002, surgida del conocimiento y desarrollos científicos del Dr. José María Mato.

Misión

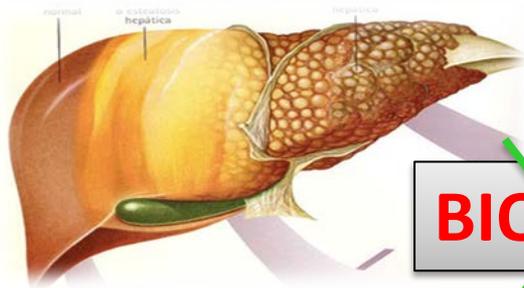
Desarrollar y comercializar productos de diagnóstico de enfermedades hepáticas y prestar servicios de metabolómica para la investigación médica, farmacéutica, alimentaria, de nutrición y cosmética.

Visión

Ser líderes en metabolómica, mediante su aplicación al desarrollo de sistemas de diagnóstico de enfermedades de alta prevalencia y la prestación de servicios para la investigación.

Líneas de Negocio

Productos de diagnóstico

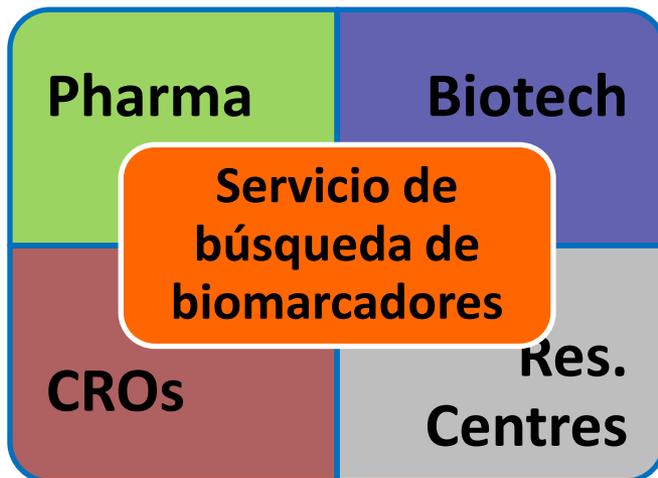


~~BIOPSIA~~

OWLiver[®] Care

OWLiver[®]

Servicios de Metabolómica



- ✓ Progresión de enfermedades
- ✓ Desarrollo de fármacos:
 - Mecanismo de acción
 - Evaluación de eficacia y toxicidad
- ✓ Medicina personalizada
- ✓ Nutrición

Índice

1

OWL

2

Metabólica

3

NAFLD y los modelos animales

4

OWLiver[®]Care & OWLiver[®]

Búsqueda de biomarcadores de Nonalcoholic fatty-liver disease

Metabolómica: un genotipo, muchos fenotipos

Esta disciplina ómica implica el análisis de moléculas de bajo peso molecular (menores de 1500 Da) que constituyen un sistema biológico (célula, tejido o fluido) en un estado fisiológico determinado

Material biológico

ADN

ARN

Proteína

Metabolito

Un único genotipo

Muchos fenotipos

Disciplina

Genómica

Transcriptómica

Proteómica

Metabolómica



Metabolómica y Medicina Personalizada

Análisis bioquímicos

Informe de Analítica

Fecha Extracción: 29/01/2010

HEMATOLOGIA

DETERMINACION	RESULTADO	UNIDADES	VAL. REF.
Hematies	4.68	X millon	[4.00 - 5.00]
Hemoglobina	13.10	g/dl	[12.00 - 16.00]
Hematocrito	39.70	%	[36.00 - 50.00]
Volumen Corpuscular Medio	84.80	fl.	[80.00 - 99.00]
Hemoglobina Corpuscular Media	28.00	pg.	[27.00 - 32.00]
Concentración Hemoglobina Corpuscular Me	33.00	g/dl	[32.00 - 36.00]
Area de distribucion eritrocitaria	12.90	%	[11.50 - 15.00]
Plaquetas	221.00	mil	[135.00 - 450.00]
Leucocitos	4.74	X mil	[4.00 - 11.00]
Neutrófilos %	60.80	%	[43.00 - 65.00]
Linfocitos %	28.50	%	[20.50 - 45.50]
Monocitos %	8.00	%	[0.00 - 15.00]
Eosinófilos %	2.50	%	[0.00 - 5.00]
Basófilos %	0.20	%	[0.00 - 1.50]
V.S.G.	4.00	mm/h	[2.00 - 35.00]

BIOQUIMICA

DETERMINACION	RESULTADO	UNIDADES	VAL. REF.
Glucosa	86.00	mg/dl	[65.00 - 110.00]
Creatinina	0.76	mg/dl	[0.40 - 1.10]
Acido Urico	4.30	mg/dl	[2.00 - 6.50]
Triglicéridos	56.00	mg/dl	[30.00 - 200.00]
Colesterol total	200.00	mg/dl	[110.00 - 200.00]
HDL Colesterol	80.00	mg/dl	[35.00 - 110.00]
LDL colesterol	109.00	mg/dl	[0.00 - 130.00]
Colesterol VLDL	11.00	mg/dl	[15.00 - 35.00]
GOT	19.00	U/l	[7.00 - 47.00]

Metabolómica

110
Triglicéridos

TG(42.0)
TG(44.0)
TG(44.1)
TG(44.2)
TG(45.0)
TG(45.0)
TG(46.0)
TG(46.1)
TG(46.2)
TG(46.3)
TG(47.0)
TG(47.0)
TG(47.1)
TG(48.0)
TG(48.1)
TG(48.2)
TG(48.3)
TG(48.4)
TG(48.5)
TG(49.0)
TG(49.1)
TG(49.2)
TG(49.3)
TG(50.0)
TG(50.1)
TG(50.2)
TG(50.3)
TG(50.4)
TG(50.5)
TG(51.1)
TG(51.2)
TG(51.3)
TG(51.4)
TG(52.0)
TG(52.1)
TG(52.2)
TG(52.3)
TG(52.4)
TG(52.5)
TG(53.0)
TG(53.1)
TG(53.2)
TG(53.3)
TG(54.0)
TG(54.1)
TG(54.2)
TG(54.3)
TG(54.4)
TG(54.5)
TG(54.5)
TG(54.6)
TG(54.6)
TG(54.7)
TG(54.7)
TG(56.0)
TG(56.1)
TG(56.2)
TG(56.3)
TG(56.5)
TG(56.6)
TG(56.7)
TG(56.7)
TG(56.8)
TG(56.8)
TG(58.1)
TG(58.2)
TG(58.3)
TG(58.4)
TG(58.6)
TG(58.7)
TG(58.8)
TG(58.9)
TG(58.9)
TG(58.10)
TG(59.1)
TG(60.1)
TG(60.2)
TG(60.3)
TG(42.1)
TG(53.4)
TG(45.1)
TG(32.0)
TG(34.0)
TG(34.0)
TG(36.0)
TG(36.0)
TG(38.0)
TG(38.1)
TG(38.1)
TG(38.2)
TG(38.2)
TG(40.0)
TG(41.0)
TG(42.2)
TG(42.3)
TG(42.4)
TG(43.0)
TG(43.1)
TG(44.3)
TG(44.3)
TG(46.4)
TG(46.5)
TG(47.3)
TG(48.4)
TG(52.4)
TG(53.5)
TG(55.0)
TG(55.2)
TG(55.3)
TG(55.4)

Cómo hacemos Metabolómica

METABOLITE EXTRACTION

1. Add internal standard spiked extraction solvent
2. Collect metabolite extract
3. Dry and resuspend for UPLC-MS analysis

Lipidomics Platform 1
MeOH extract

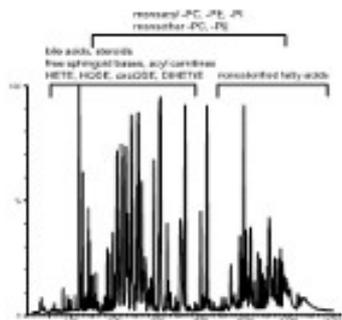
Lipidomics Platform 2
CHCl₃ / MeOH
extract

Amino acids Platform
Derivatised MeOH
extract

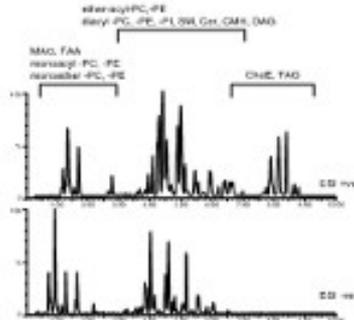
**Central Carbon
Metabolism Platform**
MeOH / H₂O extract

UPLC-MS ANALYSIS

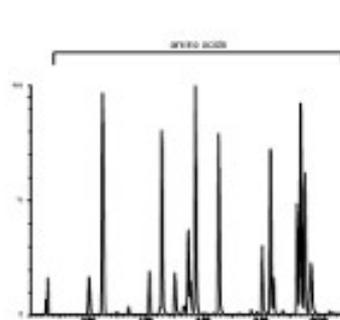
LC / (-ESI) TOF



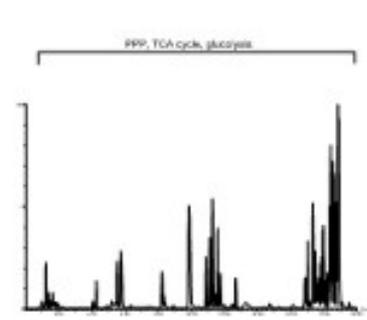
LC / (+ESI) TOF



LC / (+ESI) SQD



LC / (-ESI) TOF



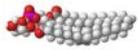
Metabolitos > 1200

Materiales biológicos

Glicerofosfolipidos

PC, LPC

PE, LPE



PI, LPI

PG, LPG

Glicerolipidos

MAG

DAG

TAG



Esfingolipidos

Cer

SM



FSB

CMH



Ácidos grasos / acilos

AC

NEFA



oxFA

FAA

NAE

Nucleótidos

Nucleósidos

Esteroles

CE

BA

ST



Glucolisis

Pentosas-P

Ciclo de Krebs

Aminoácidos, peptidos

Biofluidos

Suero / Plasma

Orina

Linfa

Lágrima

Humor acuoso

Tejidos

Hígado

Adiposo

Nervio ciático

Piel

Estrato córneo

Células

Hepatocitos

Linfocitos

Componentes celulares

Balsas lipídicas

Membranas

Índice

1

OWL

2

Metabolómica

3

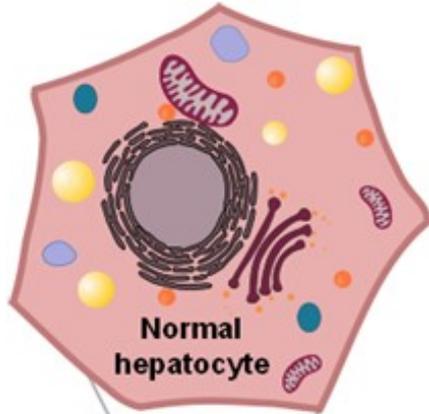
NAFLD y los modelos animales

4

OWLiver[®]Care &

Búsqueda de biomarcadores de Nonalcoholic fatty-liver
disease

NAFLD, una hepatopatía común



Fatty-liver
(esteatosis)



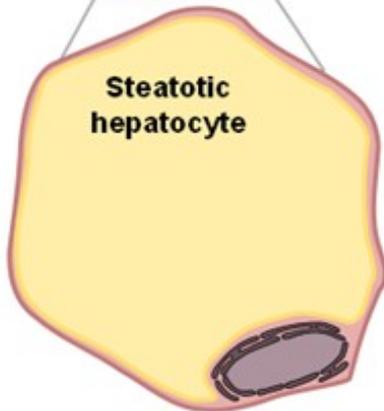
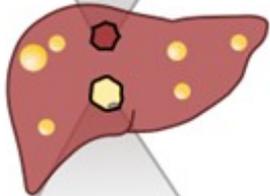
esteatohepatitis (NASH)



Cirrosis



Hepatocarcinoma celular



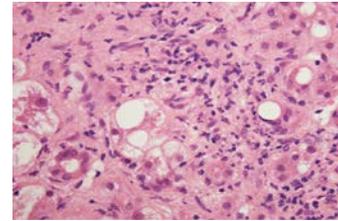
La esteatosis está asociada a **obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, ...**

Los hepatocitos esteatóticos presentan gotas lipídicas de gran tamaño, que desplazan el núcleo y otros orgánulos celulares.

NAFLD, pruebas diagnósticas

- Biopsia hepática

- Molesta
- Cara
- Sujeta a error



No invasivas

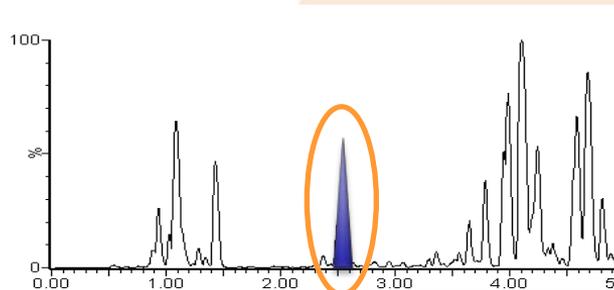
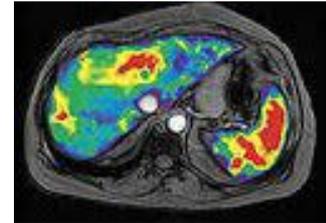
- Técnicas de imagen (Elastografía, MRI)

- Tests séricos (proteínas, enzimas)

- **Análisis metabolómico del suero**

Poco precisas:

- Estadios tempranos
- IMC elevados



Modelos animales NAFLD



Exceso o defecto en S-adenosilmetionina (SAME) originan NAFLD

Defective SAME

Methionine adenosyltransferase knockout mice (**Mat1a-KO**)

Hígado a los **3** meses (dieta deficiente en metionina)

NASH aparece espontáneamente a los **8** meses

HCC a los **11** meses

Cano A, *et al.* 2011; *Hepatology*;54(6):1975-86.

Excessive SAME

Glycine N-methyltransferase knockout mice (**Gnmt-KO**)

Desarrolla hígado graso y fibrosis a los **3** meses

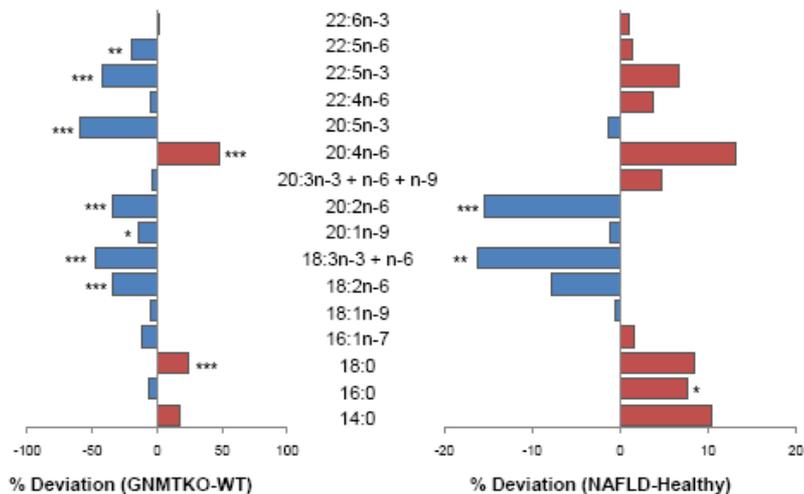
HCC a los **8** meses

Martínez-Chantar ML *et al.* *Hepatology* 2008; Apr;47(4):1191-9.

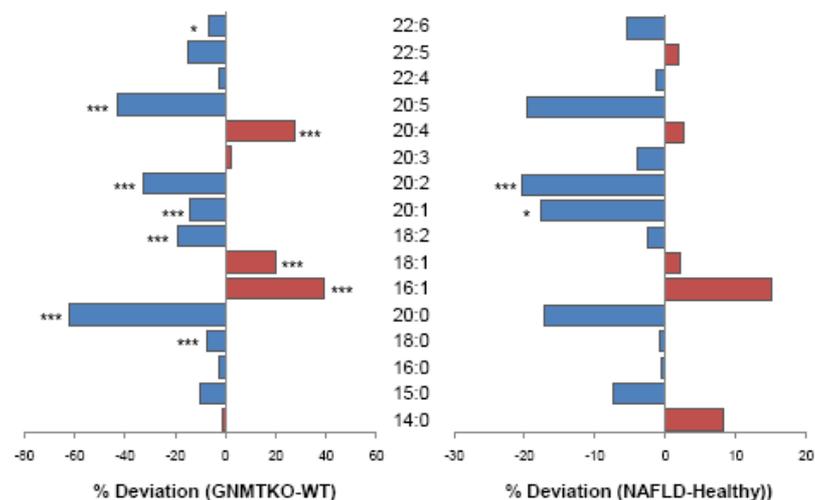
Martínez-Uña M, *et al.* *Hepatology* 2013; Oct;58(4):1296-305.

Biomarcadores comunes en ratones Gnmt-KO y pacientes con NAFLD

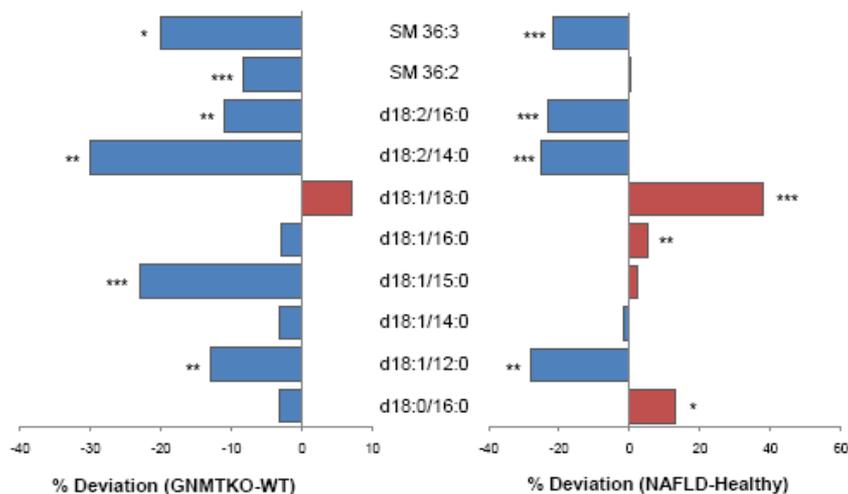
Free fatty acids



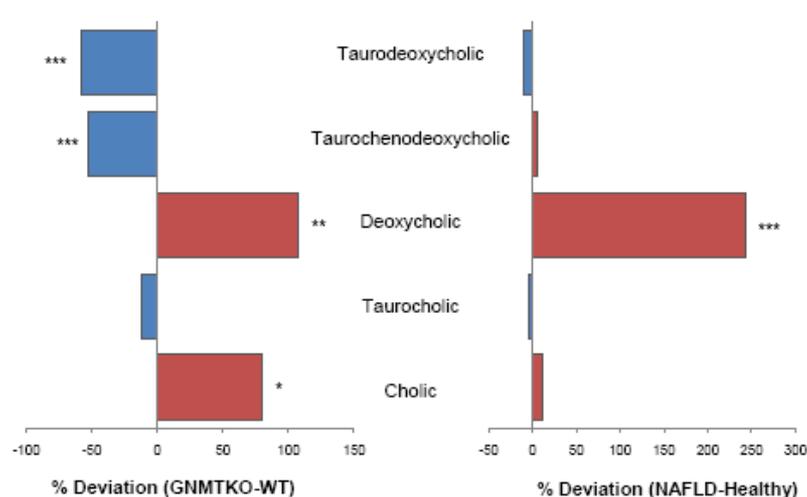
Lysophosphatidylcholines



Sphingomyelins



Bile acids



Índice

1

OWL

2

Metabólica

3

NAFLD y los modelos animales

4

OWLiver[®] Care & OWLiver[®]

Búsqueda de biomarcadores de Nonalcoholic fatty-liver disease

Estudio Multicéntrico: 12 Hospitales

Keck Hospital
of USC



467 pacientes
biopsiados

Inserm

humv
HOSPITAL UNIVERSITARIO
MARQUÉS DE VALDECILLA

CIC bioGUNE
Centro de Investigación Biomédica en Recursos

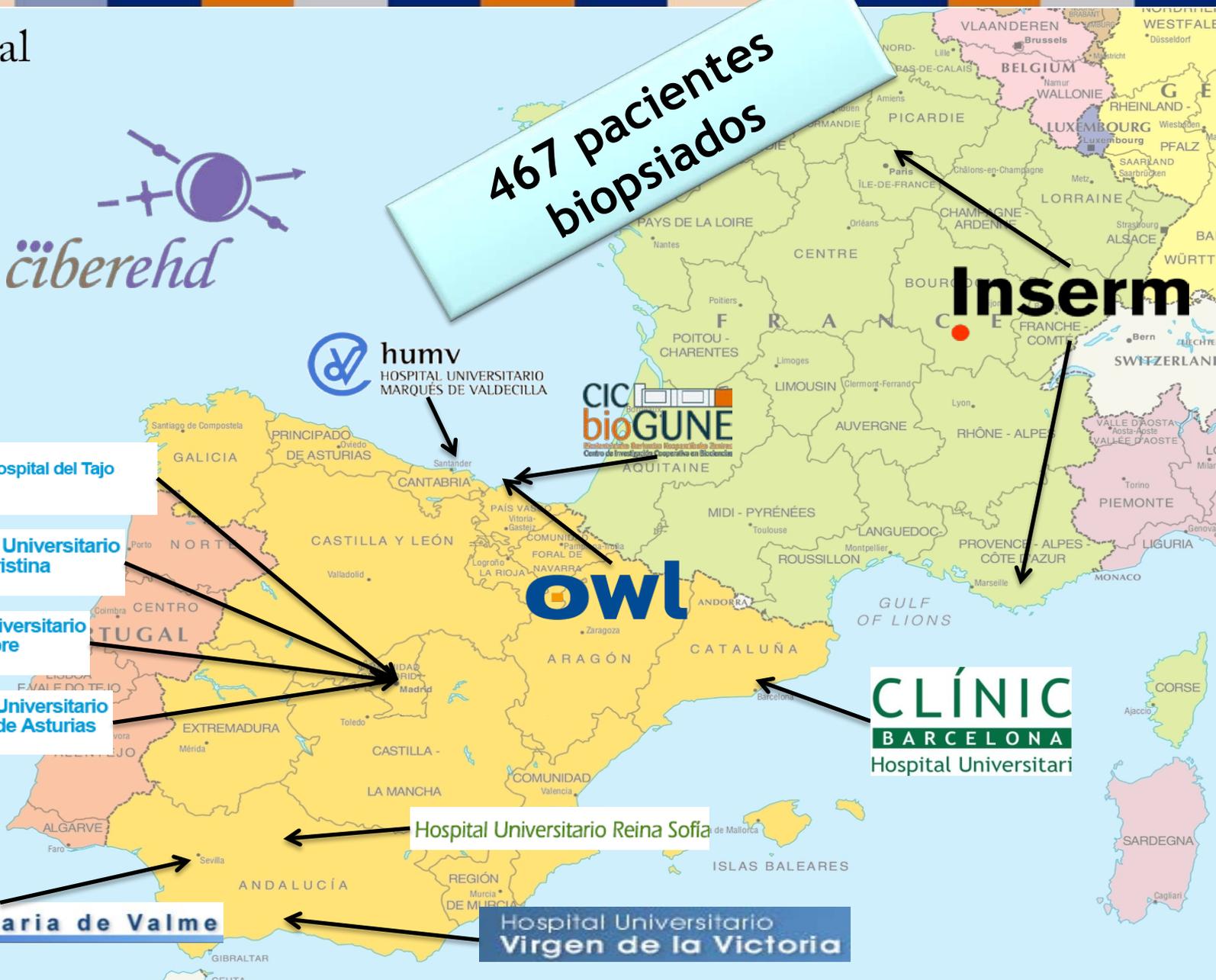
owl

CLÍNICA
BARCELONA
Hospital Universitari

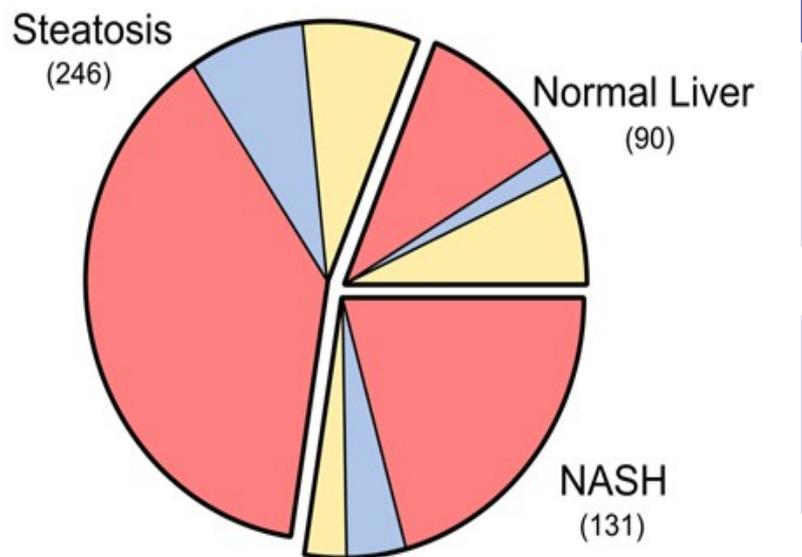
Hospital Universitario Reina Sofía

Área Hospitalaria de Valme

Hospital Universitario
Virgen de la Victoria



OWLiver[®] Care & OWLiver[®]: el origen



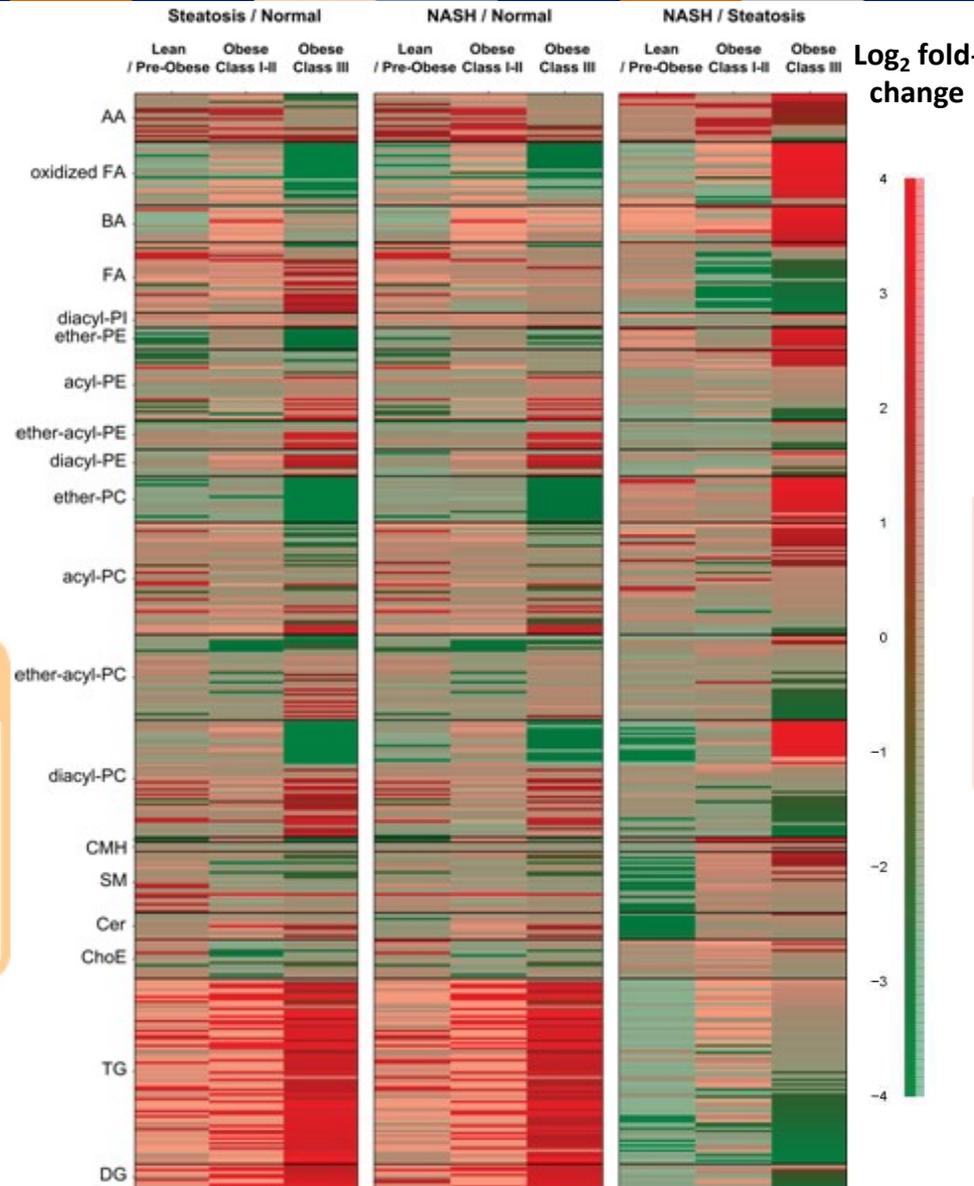
	Histología	N	IMC (kg/m ²)	Mujeres (%)
Delgados-Preobesos (IMC <30 kg/m ²)	Normal	33	25.8	88
	Esteatosis	37	26.7	54
	NASH	13	26.9	38
Obesos (IMC 30-40 kg/m ²)	Normal	8	36.4	75
	Esteatosis	37	36.5	65
	NASH	19	34.4	68
Obesos mórbidos (IMC >40 kg/m ²)	Normal	49	49.6	90
	Esteatosis	172	49.6	76
	NASH	99	51.0	82

Huella lipidómica de NAFLD en suero

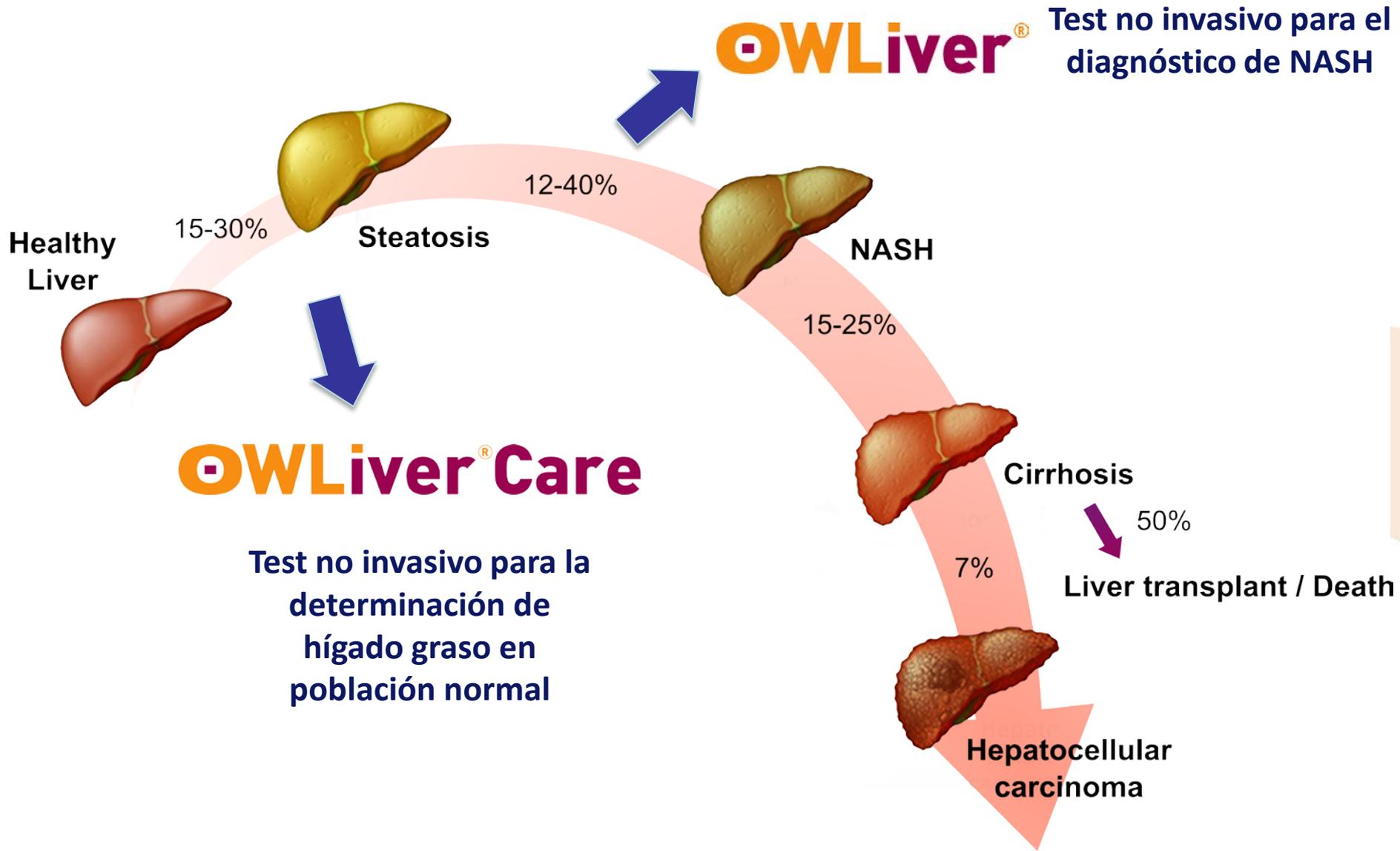
Los perfiles metabolómicos obtenidos son diferentes dependiendo del IMC de las cohortes de los pacientes, sugiriendo que los mecanismos patogénicos de NAFLD son distintos dependiendo de la obesidad

PARAMETER	Steatosis / NASH
AUC ± se	0.872 ± 0.022
Sensitivity	0.713
Specificity	0.921
Positive Predictive Value	0.838
Negative Predictive Value	0.816

AUC = Area under the curve se = standard error



OWLiver[®] Care & OWLiver[®]



Patentes

- ✓ “Method for the in vitro diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis” **Granted**
- ✓ “SP1 as a marker in diagnosis and prognosis of NASH and target in drug screening of NASH” **Granted**
- ✓ “Proteomic fingerprint for the diagnosis of Non Alcoholic Steatohepatitis (NASH) and/or steatosis” **Granted**
- ✓ “Method for the diagnosis of NASH using metabolic profiles” **US Granted**
- ✓ “Method for the Diagnosis of Non-Alcoholic Steatohepatitis based on a Metabolomic Profile” **US Granted**

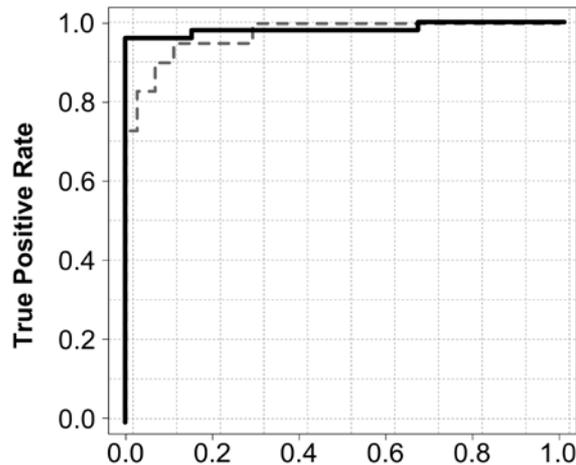
OWLiver[®] Care

Este test no invasivo para la determinación de hígado graso en población normal está indicado para adultos con IMCs entre 25 y 40

Delgados / pre-obesos

Obesos

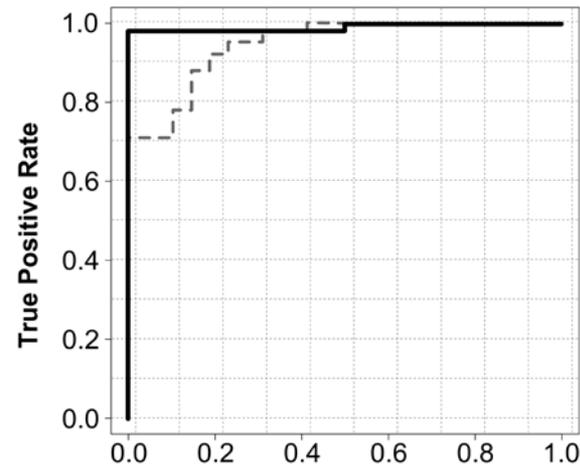
AUC: 0.98 (se: 0.0157)



Sensibilidad: 1.000

Especificidad: 0.909

AUC: 0.99 (se: 0.0237)



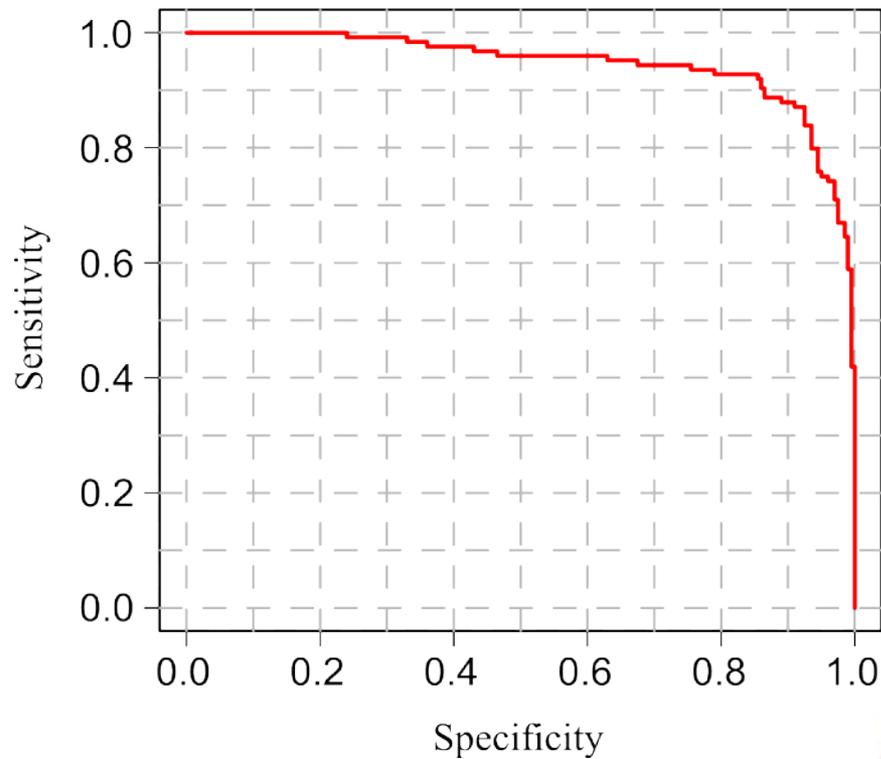
0.982

1.000

AUC: área bajo la curva ROC; se: error estándar

Curvas ROC calculadas para las cohortes de estimación (negro) y validación (gris)

ROC Analysis



AUC: 0.946 se:0.012

Specificity = 0.935

Sensitivity = 0.831

**28 lipid
biomarkers for all
BMI**

OWLiver® : Informe esteatohepatitis



INFORME DE RESULTADOS

DATOS DE CONTACTO DEL SOLICITANTE

Nombre del prescriptor: Colegiado:
Centro médico / Hospitalario: Departamento:
Dirección: C.P.: Población:
E-mail: Teléfono: Fax:

Datos de identificación del paciente

Núm. de Referencia: Sexo: Edad:
Fecha de recogida de la muestra:

Se ha informado y solicitado consentimiento informado del paciente:

Datos clínicos del paciente

Peso: Altura: IMC:
Perímetro Abdominal: Glucosa: Colesterol Total:
Colesterol HDL: Triglicéridos: ALT:
AST: GGT: Ferritina:
Insulina: HOMA-IR: Bilirrubina:

Medicación habitual:
Intervenciones anteriores:

Patologías previas:
Diabetes: Hipercolesterolemia: Hepatitis: Alcoholismo: Otras:
Especificar:

Motivo de la consulta / Sintomatología:
Observaciones:

En base a la muestra y datos aportados*, el análisis OWLiver determina un resultado^o:

ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (NASH)

*La aportación de datos clínicos es relevante para establecer el resultado. Nota: La muestra será destruida en tres meses salvo notificación contraria.
^oSolo resultado debe ser valorado por su médico.

13 de marzo de 2015

Firma del responsable de Laboratorio

Le informo de que los datos que figuran en el presente documento, así como los que se recaban relativos a su persona, proceden a partir de un fichero propiedad de ONE VERY LIVER GENOMICS, S.L., domiciliado en Davao del Sur (Visayas), Parque Tecnológico y Científico de Valencia, edificio IMB Planta B, que tiene como finalidad la gestión y administración de la redacción, realización, acceso e informe de los que puede ejercer sus derechos en la dirección indicada.

Parque Científico y Tecnológico de Valencia - Edificio IMB, planta B - 46100 Davao (España) - Tel: +34 94 001 06 08 - Fax: +34 94 001 71 08 - contact@oneveryliver.com



ANEXO I - Resultado del perfil metabólico

Datos de identificación del paciente

Núm. de Referencia: Sexo: Edad:

Resultados del análisis OWLiver

Evaluación del test de hígado graso



Representación gráfica del resultado del test, que refleja la aproximación del estado del hígado del paciente a:

▲ no NAFLD ▲ Esteatosis ▲ NASH

NOTAS: Sólo los colores relevantes al resultado del test son visibles en la gráfica
NAFLD: Enfermedad de hígado graso no alcohólico (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)
NASH: Esteatohepatitis no alcohólica (Non-Alcoholic SteatoHepatitis)

Observaciones

Bibliografía:

Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Parallel Metabolic Profiling of Human and Mouse Model Serum Reveals Putative Biomarkers Associated with the Progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
J. Barr, M. Vázquez-Chantada, C. Alonso, M. Pérez-Cormenzana, R. Mayo, A. Galina, J. Caballería, A. Martín-Duce, A. Tran, C. Wagner, Z. Lukic, S. C. Lu, A. Castro, Y. Le Marchand-Brustel, M.L. Martínez-Chantar, N. Veyrie, K. Clément, J. Torrijman, P. Gual, J.M. Mato. *Journal of Proteome Research* 2010, 9, 4501-4512

Obesity-Dependent Metabolic Signatures Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression
J. Barr, J. Caballería, I. Martínez-Arranz, A. Domínguez-Díez, C. Alonso, J. Muntané, M. Pérez-Cormenzana, C. García-Monzón, R. Mayo, A. Martín-Duce, M. Romero-Gómez, O. Lo Iacono, J. Torrijman, R. J. Andrade, M. Pérez-Carreras, Y. Le Marchand-Brustel, A. Tran, C. Fernández-Escalante, E. Arevalo, M. García-Uzuneta, K. Clément, J. Crespo, P. Gual, M. Gómez-Fleitas, M. L. Martínez-Chantar, A. Castro, S.C. Lu, M. Vázquez-Chantada, J.M. Mato. *Journal of Proteome Research* 2012, 11, 2521-2532

Algunos de nuestros clientes

Clientes	Aplicación
 Abbott A Promise for Life	Marcadores de eficacia de fármacos
 gsk GlaxoSmithKline	Búsqueda de biomarcadores
 SERVIER	Proyectos de I+D
 astellas Leading Light for Life	Mecanismos de acción de fármacos
 LEO	Marcadores de eficacia dermatológica
 affinity <i>because you care</i>	Proyectos en dermatología
 cno	Marcadores de envejecimiento

Agradecimientos

Director

Dr. Azucena Castro

Services manager

Dr. Cristina Alonso

Software designer

Itziar Mincholé

Technicians

Jessica Arribas
Maite Gutierrez

CEO

Dr. Pablo Ortíz

UHPLC-MS

Dr. Rebeca Mayo
Dr. David Balgoma

Data mining

Ibon Martínez-Arranz
Miriam Pérez-Cormenzana
Dr. Ainara Cano

Sales&Marketing

Dr. Will García
Tim Montgomery

Accounts&Administration

Itziar Lauzirika
Lourdes Jiménez

Scientific Advisor

Prof. José María Mato

