

LABORATORIO DE INMUNOALERGIAY PROTEÓMICA
MARTA MARTIN-LORENZO
marta.martin@fjd.es

Análisis moleculares masivos e integrados para un diagnóstico de precisión en enfermedades cardiovasculares y renales

TRAYECTORIA CLINICO-CIENTÍFICA



LABORATORIO DE INMUNOALERGIAY PROTEÓMICA

Vanesa Esteban Vazquez, PhD

Emilio Nuñez-Borque

Sergio Fernandez-Bravo

Diana Betancor-Perez

Lucia Palacio-Garcia

Gloria Alvarez-Llamas, PhD

Marta Martin-Lorenzo, PhD

Aranzazu Santiago-Hernandez, PhD

Ariadna Martin-Blazquez

Miriam Anfaiha-Sanchez



IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

UAM Universidad Autónoma
de Madrid

Hospital Universitario
Fundación Jiménez Díaz
Grupo Quironsalud

**IIS
FJD**
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
SANITARIA
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

LÍNEAS CLÍNICAS DEL LABORATORIO



INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

ANTECEDENTES

► J Mol Med (Berl). 2017 Dec;95(12):1399-1409. doi: 10.1007/s00109-017-1594-5. Epub 2017 Oct 4.

Urine metabolomics insight into acute kidney injury point to oxidative stress disruptions in energy generation and H₂S availability

Marta Martin-Lorenzo¹, Laura Gonzalez-Calero¹, Angeles Ramos-Barron², Maria D Sanchez-Niño³, Carlos Gomez-Alamillo², Juan Manuel Garcia-Segura^{4 5}, Alberto Ortiz³, Manuel Arias², Fernando Vivanco^{1 5}, Gloria Alvarez-Llamas⁶

► Sci Rep. 2016 Jan 21;6:19667. doi: 10.1038/srep19667.

Urinary Kininogen-1 and Retinol binding protein-4 respond to Acute Kidney Injury: predictors of patient prognosis?

Laura Gonzalez-Calero¹, Marta Martin-Lorenzo¹, Angeles Ramos-Barron², Jorge Ruiz-Criado², Aroa S Maroto¹, Alberto Ortiz³, Carlos Gomez-Alamillo², Manuel Arias², Fernando Vivanco^{1 4}, Gloria Alvarez-Llamas¹

GRUPOS COLABORADORES



Servicio de Nefrología
Dr. Alberto Ortíz



CAI Resonancia Magnética Nuclear
Dr. Juan Manuel García



Servicio de Nefrología
Dra. Ángeles Ramos
Dr. Carlos Gómez
Dr. Manuel Arias

IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022



INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

> [Antioxidants \(Basel\)](#). 2021 Jun 2;10(6):896. doi: 10.3390/antiox10060896.

Urinary Spermidine Predicts and Associates with In-Hospital Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery

Marta Martín-Lorenzo ¹, Angeles Ramos-Barrón ², Paula Gutiérrez-García ¹,
Ariadna Martín-Blázquez ¹, Aranzazu Santiago-Hernández ¹, Emilio Rodrigo Calabia ^{2,3},
Carlos Gómez-Alamillo ², Gloria Álvarez-Llamas ^{1,3}

Problema Clínico

IRA-30% pacientes de cirugía cardiaca

- mala prognosis a corto y largo plazo
- nueva cirugía (resultados contradictorios)
- elevado coste económico

Sin marcadores predictores

Objetivo

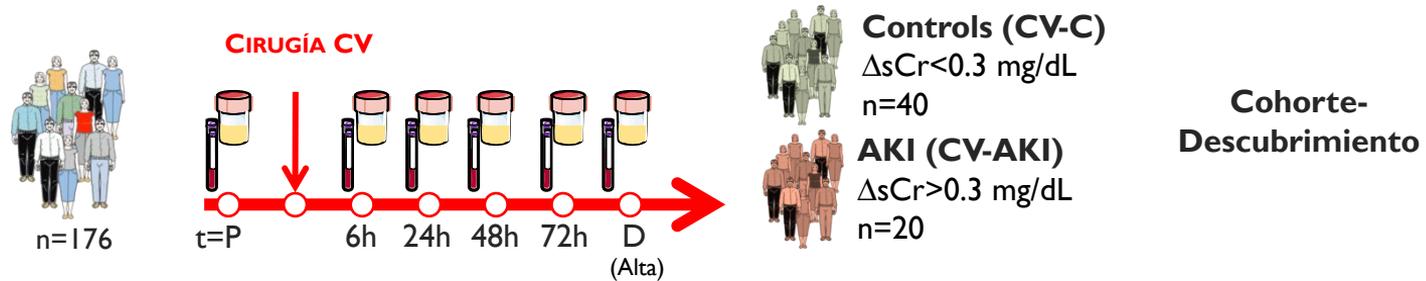
Identificación de moléculas predictoras: PRE-CIRUGÍA

Población

110 patients → 60 incluidos (40 AKI-CV, 20 controles)

INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

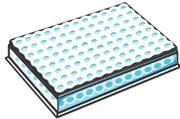
Seguimiento Clínico



Análisis Prospectivo

A) Dirigido

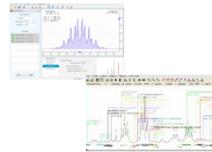
B) Sin Sesgo



ELISA
uKIM-1
uNGAL
Cystatin C



Screening
NMR



Selección
candidatos



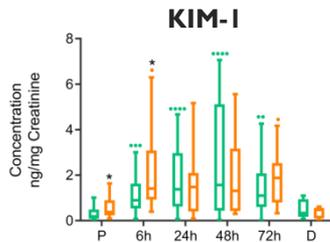
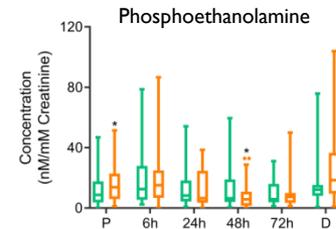
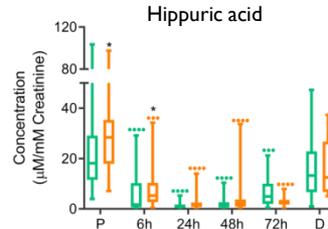
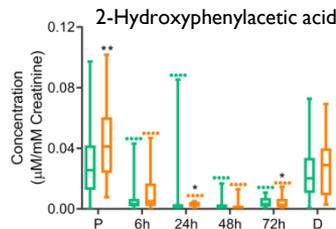
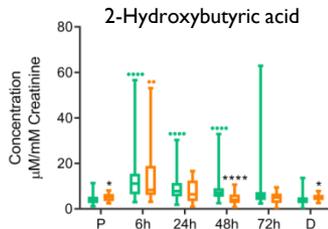
Confirmación /
Cuantificación
LC-MS/MS



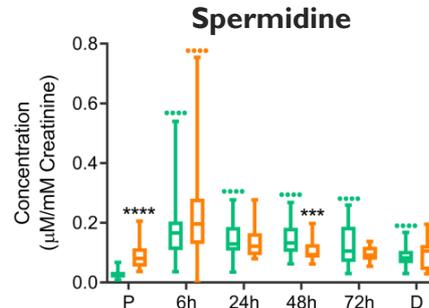
Análisis
Estadístico

INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

6 Moléculas eran capaces de predecir el desarrollo de IRA después de una intervención cardiaca. **KIM-1** y **Spermidina** eran los mejores predictores y además asociaban con el IRA post-operatorio



KIM-1
 ↑ (p=0.0392).
 Predictor (AUC= 0.721)
 Asociación (OR= 5.333, p= 0.0264)



Spermidina
 ↑ (p<0.0001)
 Predictor (AUC=0.970)
 Asociación (OR= 69.75, p<0.0001)

Statistical comparison between groups at different time points: Mann-Whitney. Modulation of metabolites concentration along time of CV-C subjects (green) and CV-AKI subjects (orange): Kruskal-Wallis *p<0.05, **p <0.01, ***p <0.001, **** p <0.0001

MEJORA DEL MANEJO DEL PACIENTE

IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
 INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

UAM Universidad Autónoma de Madrid

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz
 Grupo Quironsalud

IIS FJD INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

ALBUMINURIA

ANTECEDENTES

> *Cardiovasc Diabetol.* 2016 Jan 16;15:8. doi: 10.1186/s12933-016-0331-7.

Urinary alpha-1 antitrypsin and CD59 glycoprotein predict albuminuria development in hypertensive patients under chronic renin-angiotensin system suppression

Laura Gonzalez-Calero ¹, Marta Martín-Lorenzo ², Fernando de la Cuesta ³, Aroa S Maroto ⁴, Montserrat Baldan-Martin ⁵, Gema Ruiz-Hurtado ^{6,7}, Helena Pulido-Olmo ⁸, Julian Segura ⁹, Maria G Barderas ¹⁰, Luis M Ruilope ¹¹, Fernando Vivanco ^{12,13}, Gloria Alvarez-Llamas ¹⁴

> *Transl Res.* 2016 Dec;178:25-37.e7. doi: 10.1016/j.trsl.2016.07.003. Epub 2016 Jul 15.

Hypertensive patients exhibit an altered metabolism. A specific metabolite signature in urine is able to predict albuminuria progression

Laura Gonzalez-Calero ¹, Marta Martín-Lorenzo ¹, Paula J Martínez ¹, Montserrat Baldan-Martin ², Gema Ruiz-Hurtado ³, Julian Segura ⁴, Fernando de la Cuesta ², Maria G Barderas ², Luis M Ruilope ⁵, Fernando Vivanco ⁶, Gloria Alvarez-Llamas ⁷

> *Sci Rep.* 2017 Aug 21;7(1):8894. doi: 10.1038/s41598-017-09042-2.

Immune system deregulation in hypertensive patients chronically RAS suppressed developing albuminuria

Marta Martín-Lorenzo ¹, Laura Gonzalez-Calero ¹, Paula J Martínez ¹, Montserrat Baldan-Martin ², Juan Antonio Lopez ³, Gema Ruiz-Hurtado ⁴, Fernando de la Cuesta ², Julián Segura ⁴, Jesús Vázquez ³, Fernando Vivanco ^{1,5}, Maria G Barderas ², Luis M Ruilope ^{6,7}, Gloria Alvarez-Llamas ⁸

> *Oncotarget.* 2017 Jul 4;8(27):44217-44231. doi: 10.18632/oncotarget.17787.

Urinary exosomes reveal protein signatures in hypertensive patients with albuminuria

Laura Gonzalez-Calero ¹, Paula J Martínez ¹, Marta Martín-Lorenzo ¹, Montserrat Baldan-Martin ², Gema Ruiz-Hurtado ³, Fernando de la Cuesta ², Eva Calvo ⁴, Julian Segura ³, Juan Antonio Lopez ⁵, Jesús Vázquez ⁵, Maria G Barderas ², Luis M Ruilope ³, Fernando Vivanco ^{1,6}, Gloria Alvarez-Llamas ¹

GRUPOS COLABORADORES



Dra. Gema Ruiz-Hurtado
Dr. Luis M Ruilope
Dr. Julian Segura



Dra. Maria G Barderas



Dr. Jesús Vázquez
Dr. Juan Antonio López



Dr. Pablo Mínguez

IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022



ALBUMINURIA

> J Hypertens. 2021 Nov 1;39(11):2220-2231. doi: 10.1097/HJH.0000000000002936.

Early renal and vascular damage within the normoalbuminuria condition

Aranzazu Santiago-Hernandez¹, Marta Martin-Lorenzo¹, Paula J Martínez¹,
María Gómez-Serrano^{2 3}, Juan Antonio Lopez^{2 4}, Pablo Cannata⁵, Vanesa Esteban^{6 7 8},
Angeles Heredero⁹, Gonzalo Aldamiz-Echevarria⁹, Jesús Vázquez^{2 4}, Gema Ruiz-Hurtado^{4 10},
Maria G Barderas¹¹, Julian Segura¹², Luis M Ruilope¹⁰, Gloria Alvarez-Llamas^{1 13}

> Antioxidants (Basel). 2021 Jul 9;10(7):1100. doi: 10.3390/antiox10071100.

TCA Cycle and Fatty Acids Oxidation Reflect Early Cardiorenal Damage in Normoalbuminuric Subjects with Controlled Hypertension

Aranzazu Santiago-Hernandez¹, Marta Martin-Lorenzo¹, Ariadna Martin-Blazquez¹,
Gema Ruiz-Hurtado^{2 3}, Maria G Barderas⁴, Julian Segura⁵, Luis M Ruilope^{2 3 6},
Gloria Alvarez-Llamas^{1 7}

> Clin Kidney J. 2022 Jan 12;15(7):1217-1220. doi: 10.1093/ckj/sfac007. eCollection 2022 Jul.

Evidence of chronic kidney injury in patients not meeting KDIGO criteria for chronic kidney disease

Gloria Alvarez-Llamas¹, Aranzazu Santiago-Hernandez¹, Luis M Ruilope²

Problema Clínico

Desarrollo de Albuminuria

- mayor riesgo CV
- mayor riesgo perdida función renal

Normoalbuminúricos (<30 mg/g ACR)

- sin seguimiento clínico
- posible daño subclínico

Objetivo

Estratificación condición de normoalbuminuria
Alteraciones tempranas ↔ desarrollo de albuminuria

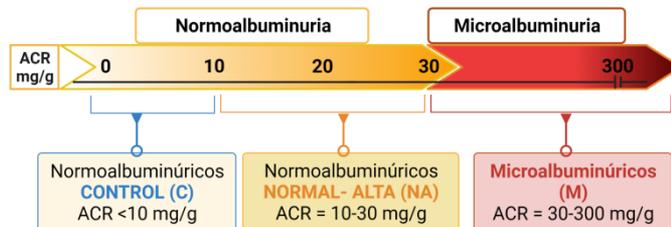
Población

37 hipertensos con supresión crónica de RAS
C (ACR <10mg/g) = 21
Normal Alto (NA) (ACR 10-30mg/g) = 16

ALBUMINURIA

SEGUIMIENTO CLÍNICO

12 MESES



ESTRATIFICACIÓN DE LA CONDICIÓN DE ALBUMINURIA

DESCUBRIMIENTO

Metaboloma



RMN



Proteoma

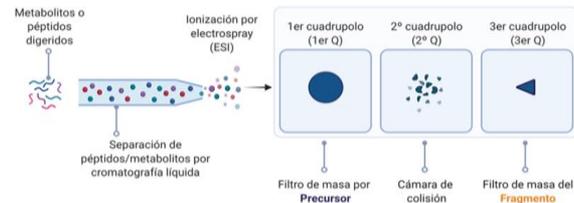


TMT®
LC-MS/MS



CONFIRMACIÓN

Análisis cuantitativo dirigido por Selected reaction monitoring (SRM)



IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

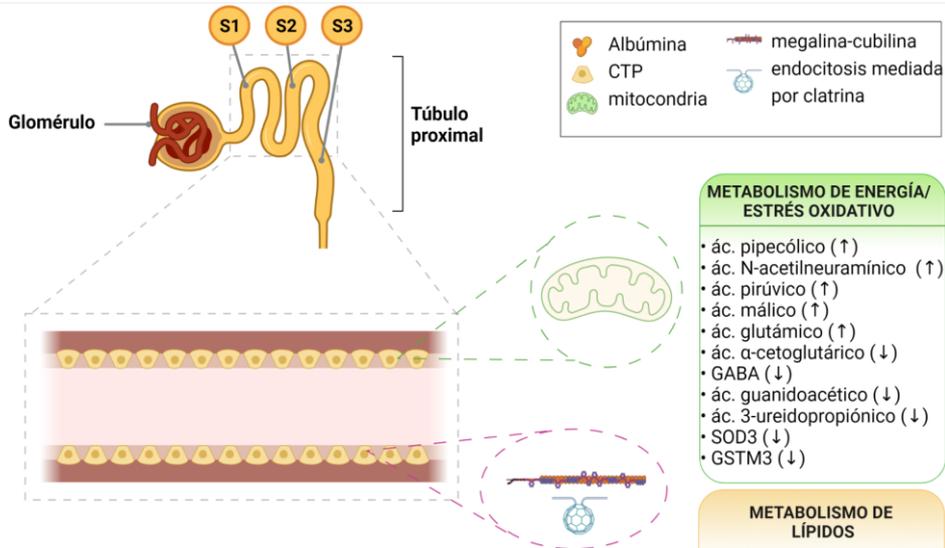
UAM Universidad Autónoma de Madrid

Hospital Universitario
Fundación Jiménez Díaz

Grupo Quironsalud

IIS
FJD

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ



INFLAMACIÓN / SISTEMA INMUNE

- Endocitosis mediada por clatrina (↑)
- Señalización de IL-12 (↑)
- Activación de FXR/RXR (↑)
- IGHG1/2/3/4 (↑)
- A2MG (↑)
- CERU (↑)
- ACCT (↑)/ANT3 (↑)/A1AT (↑)
- KNG1 (↓)

COAGULACIÓN Y SISTEMA DEL COMPLEMENTO

- Degranulación plaquetaria
- Vías del complemento (MBL, alternativa y clásica)
- F-XII (↑)
- F-XIII (↑)
- CERU (↑)
- HPTR (↑)
- ATL2 (↑)
- TRFE (↑)

DISFUNCIÓN RENAL Y VASCULAR

- Glomerulonefritis y nefritis focal (↑)
- Disfunción renal (↑)
- Aumento de daño renal (↑)
- A1AT (↑)
- VTDB (↑)
- KNG1 (↓)
- ATL2 (↑)
- GABA (↓)

TRANSPORTE DE IONES/METABOLISMO DEL HIERRO

- Afecta al transporte de potasio (K⁺) (↑)
- Transporte de cationes monovalentes (↑)
- CERU (↑)
- DBF4A (↑)
- HPTR (↑)
- TOM6 (↑)
- TRFE (↑)

ENDOCITOSIS/RECEPTOR MEGALINA-CUBILINA

- Endocitosis mediada por clatrina (↑)
- MEG (↓)
- CUB (↓)
- CERU (↑)
- HPTR (↑)
- VTDB (↑)
- A1AT (↑)
- TRFE (↑)

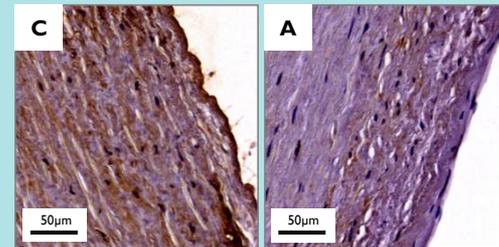
METABOLISMO DE ENERGÍA/ESTRÉS OXIDATIVO

- ác. pipecólico (↑)
- ác. N-acetilneuramínico (↑)
- ác. pirúvico (↑)
- ác. málico (↑)
- ác. glutámico (↑)
- ác. α-cetoglutarico (↓)
- GABA (↓)
- ác. guanidoacético (↓)
- ác. 3-ureidopropiónico (↓)
- SOD3 (↓)
- GSTM3 (↓)

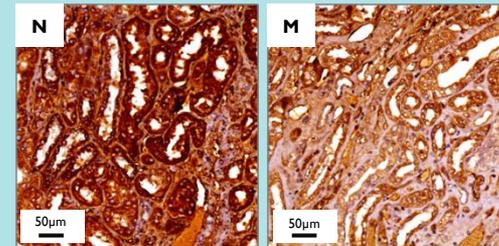
METABOLISMO DE LÍPIDOS

- Activación de FXR/RXR (↑)
- Concentración de lípidos (↑)
- Trastorno en el metabolismo de los lípidos (↑)
- β-oxidación de los AGs
- AGL (↑)
- FABP1 (↑)
- ác. α-cetoglutarico (↓)
- GABA (↓)
- ác. N-acetilneuramínico (↑)
- ác. 2-hidroxifenilacético (↑)

DAÑO CARDIOVASCULAR



DAÑO RENAL



Túbulo proximal

- Absorción incrementada de ác. grasos
- Reabsorción de hierro

**SEGUIMIENTO CLÍNICO
NECESARIO
NORMOALBUMINURIA**

ATEROSCLEROSIS

ANTECEDENTES

> J Proteomics. 2015 Aug 3;126:245-51. doi: 10.1016/j.jprot.2015.06.005. Epub 2015 Jun 12.

Molecular anatomy of ascending aorta in atherosclerosis by MS Imaging: Specific lipid and protein patterns reflect pathology

Marta Martín-Lorenzo ¹, Benjamin Balluff ², Aroa S Maroto ¹, Ricardo J Carreira ², Rene J M van Zeijl ², Laura Gonzalez-Calero ¹, Fernando de la Cuesta ³, Maria G Barderas ³, Luis F Lopez-Almodovar ⁴, Luis R Padial ⁵, Liam A McDonnell ⁶, Fernando Vivanco ⁷, Gloria Alvarez-Llamas ⁸

> Metabolomics. 2015;11(5):1056-1067. doi: 10.1007/s11306-014-0761-8. Epub 2014 Dec 14.

KLK1 and ZG16B proteins and arginine-proline metabolism identified as novel targets to monitor atherosclerosis, acute coronary syndrome and recovery

Marta Martín-Lorenzo ¹, Irene Zubiri ¹, Aroa S Maroto ¹, Laura Gonzalez-Calero ¹, María Posada-Ayala ¹, Fernando de la Cuesta ², Laura Mourino-Alvarez ², Luis F Lopez-Almodovar ³, Eva Calvo-Bonacho ⁴, Luis M Ruilope ⁵, Luis R Padial ⁶, María G Barderas ², Fernando Vivanco ⁷, Gloria Alvarez-Llamas ¹

> Biochim Biophys Acta. 2016 Apr;1862(4):725-732. doi: 10.1016/j.bbdis.2015.12.006. Epub 2015 Dec 7.

Cytoskeleton deregulation and impairment in amino acids and energy metabolism in early atherosclerosis at aortic tissue with reflection in plasma

Marta Martín-Lorenzo ¹, Laura Gonzalez-Calero ¹, Aroa S Maroto ¹, Paula J Martínez ¹, Irene Zubiri ¹, Fernando de la Cuesta ², Laura Mourino-Alvarez ², María G Barderas ², Angeles Heredero ³, Gonzalo Aldamiz-Echevarría ³, Fernando Vivanco ⁴, Gloria Alvarez-Llamas ¹

> Atherosclerosis. 2019 Mar;282:67-74. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.003. Epub 2019 Jan 14.

Identification of six cardiovascular risk biomarkers in the young population: A promising tool for early prevention

Paula J Martínez ¹, Montserrat Baldán-Martín ², Juan A López ³, Marta Martín-Lorenzo ¹, Aránzazu Santiago-Hernández ¹, Marta Agudiez ¹, Martha Cabrera ⁴, Eva Calvo ⁴, Jesús Vázquez ³, Gema Ruiz-Hurtado ⁵, Fernando Vivanco ⁶, Luis M Ruilope ⁷, María G Barderas ², Gloria Alvarez-Llamas ⁸

> J Mol Med (Berl). 2020 Nov;98(11):1603-1613. doi: 10.1007/s00109-020-01976-x. Epub 2020 Sep 11.

Urinary metabolic signatures reflect cardiovascular risk in the young, middle-aged, and elderly populations

Paula J Martínez ¹, Marta Agudiez ¹, Dolores Molero ², Marta Martín-Lorenzo ¹, Montserrat Baldán-Martín ³, Aránzazu Santiago-Hernández ¹, Juan Manuel García-Segura ^{2, 4}, Felipe Madruga ⁵, Martha Cabrera ⁶, Eva Calvo ⁶, Gema Ruiz-Hurtado ^{7, 8}, María G Barderas ³, Fernando Vivanco ^{1, 4}, Luis M Ruilope ^{7, 8, 9}, Gloria Alvarez-Llamas ^{10, 11}

GRUPOS COLABORADORES



Servicio de Cirugía Cardíaca
Dr. Gonzalo Aldamiz



Dr. Ron Heeren
Dr. Benjamin Balluff



Dr. Erik Biessen
Dr. Judith Sluimer



Dra. María G Barderas
Dr. Luis R Padial



Dr. Jesús Vázquez
Dr. Juan Antonio López



Dr. Pablo Mínguez
Dr. Vanesa Esteban



Dr. Liam McDonnell



CAI RMN

Dr. Juan Manuel García



Dra. Eva Calvo
Dra. Marta Cabrera

IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022



ATEROSCLEROSIS

In-situ análisis

Problema Clínico

Primera causa de muerte

Riesgo Cardiovascular

Objetivo

Estudios in-situ

Mejorar la estimación del riesgo cardiovascular

Población

15 *ldlr*^{-/-} and 4 *apoe*^{-/-} / 22 *ldlr*^{-/-} (11 C; 11A)

51 patients → 27 CABG, 24 C / HA-VSMCs)

> J Am Soc Mass Spectrom. 2020 Sep 2;31(9):1825-1832. doi: 10.1021/jasms.0c00070.
Epub 2020 Aug 12.

Atheroma-Specific Lipids in *ldlr*^{-/-} and *apoe*^{-/-} Mice Using 2D and 3D Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging

Jianhua Cao¹, Pieter Goossens², Marta Martin-Lorenzo^{1,3}, Frédéric Dewez^{1,4}, Britt S R Claes¹, Erik A L Biessen², Ron M A Heeren¹, Benjamin Balluff¹

> BMC Biol. 2020 Dec 14;18(1):192. doi: 10.1186/s12915-020-00924-y.

Analysis of urinary exosomal metabolites identifies cardiovascular risk signatures with added value to urine analysis

Marta Agudiez¹, Paula J Martínez¹, Marta Martin-Lorenzo², Angeles Heredero³, Aranzazu Santiago-Hernandez¹, Dolores Molero⁴, Juan Manuel García-Segura^{4,5}, Gonzalo Aldamiz-Echevarria³, Gloria Alvarez-Llamas^{6,7}

> Antioxidants (Basel). 2021 Aug 27;10(9):1369. doi: 10.3390/antiox10091369.

Metabolic Alterations Identified in Urine, Plasma and Aortic Smooth Muscle Cells Reflect Cardiovascular Risk in Patients with Programmed Coronary Artery Bypass Grafting

Aranzazu Santiago-Hernandez¹, Paula J Martínez¹, Marta Agudiez¹, Angeles Heredero², Laura Gonzalez-Calero¹, Alma Yuste-Montalvo³, Vanesa Esteban^{3,4,5}, Gonzalo Aldamiz-Echevarria², Marta Martin-Lorenzo¹, Gloria Alvarez-Llamas^{1,6}

IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

UAM Universidad Autónoma
de Madrid

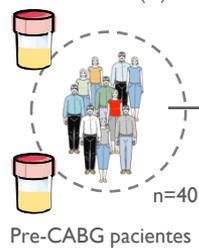
Hospital Universitario
Fundación Jiménez Díaz
Grupo Quironsalud

IIS
FJD
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
SANITARIA
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

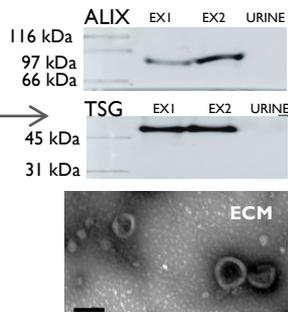
ATEROSCLEROSIS: Riesgo Cardiovascular

EXOSOMAS

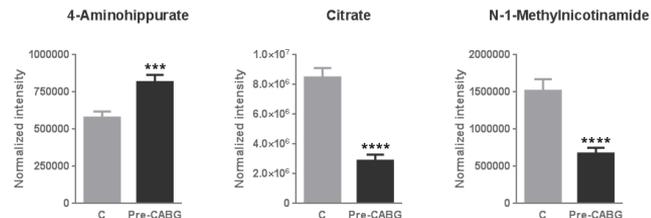
CONTROLES (C)



Ultracentrifugación
175000g



EVs de ORINA

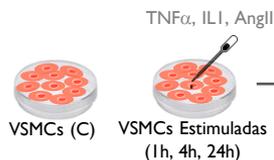


AUC=0.989 [0.91-1]

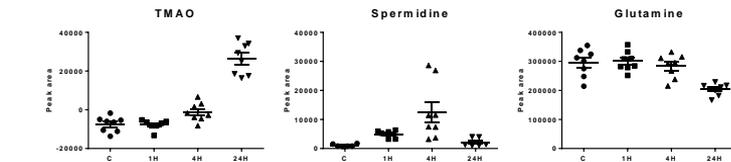
Primer estudio NMR exosomas orina
Mejora tratamiento paciente

HU-VSMCs

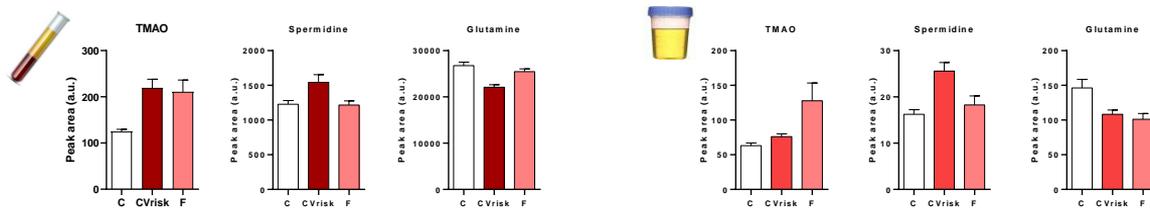
SECRETOMA



SRM (LC-MS/MS)



TMAO, Espermidina y Glutamina:
Marcadores
Reflejo del secretoma de las
VSMCs



IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

GRACIAS



FUNDACIÓN
MUTUAMADRILEÑA



IV REUNIÓN ANUAL DEL ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
INFLAMATORIAS Y CRÓNICAS DEL IIS-FJD 21 de abril del 2022

UAM Universidad Autónoma
de Madrid

Hospital Universitario
Fundación Jiménez Díaz
Grupo Quironsalud

IIS
FJD
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
SANTARIA
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ