

PAULA PESSINA¹, ANDRÉS LÓPEZ², MARTÍN BREIJO³, ROSINA SÁNCHEZ SOLE¹

¹Laboratorio de Análisis Clínicos, Departamento de Clínicas y Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Físicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay

³Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

INTRODUCCIÓN

El linfoma multicéntrico canino es un tumor hematopoyético prevalente y esta representado por un grupo de neoplasias biológica y metabólicamente heterogéneas que surgen de la transformación maligna de células linfoides. Los trabajos recientes en pacientes con cáncer se centran en la búsqueda de nuevos biomarcadores que colaboren en el diagnóstico e impacten en la supervivencia de los pacientes con linfoma. Este estudio explora posibles biomarcadores séricos de utilidad diagnóstica, que permitan a su vez comprender las alteraciones metabólicas asociadas a la patogenia del linfoma en caninos y a los diferentes inmunofenotipos.

OBJETIVOS

Examinar y comparar los perfiles de diferentes metabolitos en suero de perros sanos y perros con linfoma multicéntrico, identificar posibles biomarcadores para el diagnóstico de esta patología y comprender las alteraciones metabólicas asociadas con el desarrollo de esta enfermedad y sus diferentes inmunofenotipos

METODOLOGÍA

Protocolo experimental fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Facultad de Veterinaria, UdelaR (Exp. N° 111900-000780-19).

Se evaluaron los perfiles de metabolitos séricos de 39 perros con linfoma multicéntrico (22 LB, 10 LTCD45+, 7 LTCD45-) y 25 perros sanos por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H.

Grupo caninos sanos
(n= 25)

Grupo Linfoma
Multicéntrico
(n= 39)

Diagnostico clínico y citológico
Sin tratamiento previo
Sin enfermedades concomitantes

Aspirado con aguja fina de un
linfonodo neoplásico



BD Accuri C6 (BD BIOSCIENCES CA, EE. UU.)

Perros con Linfoma B
(LB; n= 22)

Perros con Linfoma CD 45+
(LTCD45+; n= 10)

Perros con Linfoma CD 45-
(LTCD45-; n= 7)

Muestras de sangre de vena cefálica
Se centrifugó a 3000 g, 10 minutos
Suero se almacenó a -80 °C

SUERO



Bruker AVANCE III 500

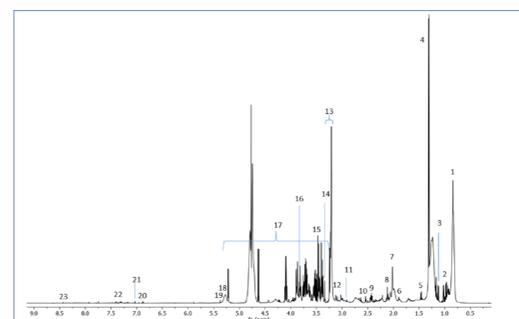
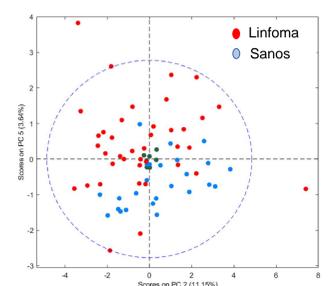
Análisis estadístico

Se realizaron análisis univariados (PAST 4.03, Universidad de Oslo, Oslo, Noruega) y multivariados incluyendo el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA), con el paquete PLS_Toolbox (versión 8.5, Eigenvector Research Inc., Manson, WA, EE. UU.), implementado para MATLAB. El efecto del grupo (LB vs. LTCD45+ vs. LTCD45- vs. sano) sobre la concentración de metabolitos se analizó mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA). Las diferencias se consideraron significativas cuando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

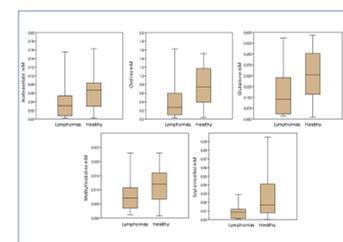
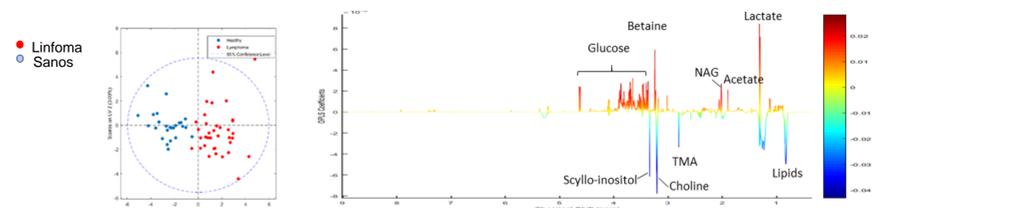
El análisis del perfil de metabolitos reconoció **22 metabolitos y lípidos** demostrando ser un enfoque eficaz para diferenciar muestras de perros con linfoma y controles sanos según el análisis de componentes principales de los espectros de RMN

PCA: espectros de RMN ¹H para todas las muestras de suero. El gráfico de puntos sugiere una diferenciación según el estado de salud (sano vs enfermo), indicando una diferencia metabólica entre los dos grupos.



Espectro de RMN ¹H representativo de una muestra de suero de un perro con linfoma.

Los gráficos de carga OPLS-DA correspondientes indican que la glucosa, betaína, NAG, acetato y lactato estaban en mayor concentración en el grupo de linfoma, mientras que la colina, el escilo-inositol, el TMA y los lípidos estaban en menor concentración.



Niveles de metabolitos séricos
(Grupo sano vs linfoma).

No se encontraron diferencias entre los diferentes inmunofenotipos

CONCLUSIÓN

- El estudio metabólico basado en RMN mostró cambios en los perfiles de metabolitos séricos en perros con linfoma en relación a perros sanos.
- El metabolismo energético, de los aminoácidos, de los ácidos grasos y de la colina se alteraron en perros con linfoma.
- Identificamos biomarcadores candidatos potencialmente novedosos en el linfoma canino como glucosa, lactato, NAG, escilo-inositol y colina.
- Mayores investigación de estos metabolitos séricos son necesarias para confirmar sus posibles funciones en la linfomagénesis y su utilidad diagnóstica y pronóstica en subtipos específicos de linfoma en perros.

AGRADECIMIENTOS