

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRA DE  
CÃES COM LINFOMA PARA A PCR-PARR**

*Vinício Cascardo (vinicio.cascardo@gmail.com)*

*Carla Beatriz Ventura Leite (venturacarlab@gmail.com)*

*Matheus De Souza Santana (matheus\_santana@ufrj.br)*

*Marcos Roberto Barros Freitas (marcosfreitasvet@gmail.com)*

*Fabíola Aparecida De Oliveira Nogueira (fabiolanogueiravet@gmail.com)*

*Huarrisson Azevedo Santos (huarrisson@yahoo.com.br)*

*Thiago Souza Costa (thiago.souza.costa@hotmail.com)*

*Andresa Guimarães (andresaguimaraes02@yahoo.com.br)*

O linfoma é a neoplasia hematopoiética mais prevalente em cães, cujo diagnóstico definitivo requer, além da citologia e da histopatologia, métodos complementares, como imunofenotipagem e análises moleculares. Entre estes, a técnica de PCR para detecção de Rearranjo de Receptor de Antígeno (PCR-PARR) tem se destacado por permitir identificar a clonalidade das células, diferenciando com maior precisão proliferações linfoides reativas de neoplásicas, além de determinar o fenótipo tumoral. O diagnóstico preciso é fundamental para o estadiamento, escolha terapêutica e prognóstico, visto que essa neoplasia apresenta comportamento clínico heterogêneo em cães. Este estudo teve como objetivo comparar a viabilidade de diferentes tipos de amostras: aspirados de linfonodo, lâminas citológicas e blocos parafinados, em

cães com linfoma, bem como realizar a reação de PCR convencional para o controle endógeno das amostras que serão submetidas ao PARR. O presente projeto foi aprovado na CEUA (protocolo número: 2060160424), foram analisadas 46 amostras, incluindo aspirados de linfonodo (n=18), lâminas citológicas (n=17) e blocos parafinados (n=11). O DNA foi extraído pelo método fenol-clorofórmio, quantificado por espectrofotometria utilizando o equipamento Nanodrop 2000 e submetido à PCR convencional para o controle endógeno, utilizando os primers descritos na literatura (1) e protocolo adaptado (2). As concentrações foram padronizadas a 100 ng/μL sempre que possível, e amostras com menor rendimento foram utilizadas conforme disponíveis. Para testar as diferenças quantitativas das concentrações de DNA extraído entre os grupos de amostras em bloco, aspirado e lâminas foi utilizado o programa estatístico BioEstat 5.0. Inicialmente foi realizada a estatística descritiva dos dados (média aritmética, desvio padrão, erro padrão, valor mínimo e valor máximo), em seguida, para cada uma das 3 variáveis, foi testado a normalidade da distribuição dos dados através do teste de Lilliefors, porém os dados apresentaram distribuição não-paramétrica, por isso, foi utilizado teste de Mann-Whitney, à 5% de significância. A extração por fenol-clorofórmio demonstrou eficácia semelhante para blocos parafinados, lâminas citológicas e aspirados de linfonodo. Todas as amostras apresentaram amplificação positiva no controle endógeno, confirmando a integridade do DNA e sua adequação ao PARR. Embora tenham ocorrido variações nas concentrações entre os grupos, não houve diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Amostras com concentrações inferiores a 100 ng/μL também apresentaram desempenho satisfatório (Exemplo: Valor mínimo aspirado: 7,10 ng/μL, bloco: 11,70 ng/μL, lâmina: 7,60 ng/μL), em contraste com estudos anteriores que sugerem a necessidade de maiores quantidades de DNA (3). Além disso, blocos parafinados e lâminas citológicas, frequentemente descritos como limitantes devido à degradação ou baixo rendimento (2), mostraram desempenho equivalente aos aspirados, reforçando sua aplicabilidade como fontes confiáveis para o ensaio PARR. Esses resultados demonstram que a metodologia pode ser empregada com sucesso em diferentes tipos de amostras, ampliando as possibilidades de diagnóstico molecular em casos de linfoma canino.

1. BURNETT, R. C.; VERNAU, W.; MODIANO, J. F.; OLVER, C. S.; MOORE, P. F.; AVERY, A. C. Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal

rearrangements of antigen receptor genes. *Veterinary Pathology*, v. 40, n. 1, p. 32-41, 2003.

2. NOWOSH, V.; MACIEIRA, D. B.; ALENCAR, N. X. Applicability of PCR-based clonality assay in dogs with multicentric lymphoma. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 69, p. 761-765, 2017.

3. LANGNER, K. F. A.; JOETZKE, A. E.; NERSCHBACH, V.; EBERLE, N.; SCHUBERTH, H. J.; KOY, M.; NOLTE, I.; BETZ, D. Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *BMC Veterinary Research*, v. 10, n. 1, p. 1-5, 2014.

Palavras-chave: parr; linfoma de células b; linfoma de células t; neoplasias.