

resultando em uma lista de genes. Desta lista, 43 genes tiveram os seus níveis de expressão associada com sobrevivência global (Kaplan Meyer com $p < 0,05$) validados nas três coortes independentes. Com o propósito de entender as relações entre os 43 genes identificados, foi feita uma rede de interação proteína-proteína (string-db versão 11), e adicionados 11 genes para conectar todos os nodos da rede. Os termos do Gene Ontology (GO) relacionadas à autofagia, como autophagy e macroautophagy tiveram o maior número de representantes (17 e 16) dentro da rede e os menores valores de p ajustado ($< 0,0001$). Para as vias do Kegg e Reactome, também foi encontrado a autofagia. Esses achados indicam que a autofagia é um processo bastante relevante dentro da nossa rede e pode ser um marcador potencial de desfecho do SE no momento do diagnóstico.

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

2093

EVALUATION OF THE PRESENCE OF LEUKOCYTES AND BACTERIAL COMMUNITIES OF SPUTUM FROM CYSTIC FIBROSIS PATIENTS

FABIANA CAROLINE ZEMPULSKI VOLPATO; DAIANA DE LIMA-MORALES; PABULO HENRIQUE RAMPELOTTO; PAULO JOSÉ CAUDURO MARÓSTICA; AFONSO LUÍS BARTH
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Cystic Fibrosis (FC) is a recessive genetic disease, which affects mainly the respiratory tract of patients causing chronic and persistent bacterial infection of the airways. The lungs of CF patients can be colonized by a complex of microbial communities. It is considered that the composition of these communities may be related to the CF lung disease progression. The aim of this study was to correlate the diversity of the bacterial communities with the presence or absence of leukocytes in sputum samples from CF patients. In order to evaluate the microbiome of the sputum of the CF patients we performed 16S rRNA sequencing using the Illumina MiSeq platform. Eleven CF sputum samples were submitted to DNA extraction with QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia CA), with proteinase K pre-treatment (60 minutes at 56°C), followed by bead-beating with zirconia/silica that were beads in a FastPrep 24 5G system (Qbiogene, CA), for 10 seconds at 6.0 m/sec (repeated 3 times). The 16S rRNA gene library was prepared according to 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina protocol, using V5V6 region. A set of sputum was evaluated in triplicate in order to guarantee the reproducibility of the technique. The presence or absence of leukocytes was evaluate using a differential slide counting of sputum smears stained with May-Grunwald-Giemsa. Alpha diversity measures were calculated based on OTU counts rarefied to the minimum sample size. The triplicate analysis presented homogeneous results indicating reproducibility of our methods for DNA extraction, amplification and sequencing. The metagenomics analysis indicated that the microbiome profile is particular of each patient. It was also possible to observe that the absence of leukocytes was associated to the heterogeneity of the sputum microbial community. In fact, the less diverse bacterial communities were related to an increase number of leukocytes ($p = 0.004329$). This study results indicated that the presence of leukocytes in a sputum sample are directly correlate to a homogeneous bacterial community. Further studies are necessary to evaluate other inflammatory markers, which will give a better understanding of the relationship between bacterial infection and host responses in CF patient.

2882

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA DE PACIENTES COM HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA PORTADORES DA VARIANTE P.TRP323TER

GABRIELA GARCIA SILVANO; SORAIA POLONI; EMILIA KATIANE EMBIRUÇU; GIOVANA WEBER-HOSS; GUSTAVO MOTTIN RIZOWY; KARINA COLONETTI; PATRÍCIA PONTES CRUZ; TACIANE BORSATTO; IDA VANESSA DOEDERLEIN SCHWARTZ;
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

INTRODUÇÃO: A Homocistinúria Clássica (HCU) é um erro inato do metabolismo causado pela deficiência da enzima cistationina-beta-sintase, o que acarreta acúmulo de metionina (Met) e homocisteína (Hcy) levando a complicações como luxação do cristalino, osteoporose, comprometimento cognitivo e tromboembolismo. O tratamento é realizado para diminuir as concentrações de homocisteína através da administração de piridoxina (vitamina B6), betaína, suplementação alimentar com folato e/ou restrição dietética de metionina. A variante p.Trp323Ter (c.969G>A) está localizado no éxon 9 do gene CBS e anteriormente só havia sido descrita na Arábia Saudita. Em estudo prévio, identificamos que esta variante foi prevalente em pacientes brasileiros (11,3% dos alelos não relacionados).

OBJETIVOS: Descrever o perfil clínico e bioquímico dos pacientes brasileiros com HCU portadores da variante p.Trp323Ter. **MÉTODOS:** Estudo transversal de pacientes com HCU portadores da variante p.Trp323Ter. A identificação das variantes foi realizada através da amplificação da região codificante do gene CBS através de reação de PCR convencional, purificado e sequenciado por Sanger para detecção das variantes patogênicas. Além disso, foi realizada a consulta aos prontuários médicos, analisando os dados de exames laboratoriais e manifestações clínicas.

RESULTADOS: Dentre os pacientes brasileiros analisados ($n=76$), foram encontrados dez (sexo masculino $n=6$, mediana de idade=15 anos) que apresentaram a variante p.Trp323Ter, todos em homozigose (4 famílias não relacionadas). Consanguinidade parental foi reportada em 2/4 famílias. Todos os pacientes com a variante são oriundos da Bahia. A média dos níveis de Hcy total foi de $191,8 \pm 103,6 \mu\text{mol/L}$ (VR 5-15) e de Met $330 \pm 397,6 \mu\text{mol}$ (VR 7-47, DP 397,6). Todos eram não responsivos à piridoxina. Dentre as manifestações clínicas, todos apresentaram alterações oftalmológicas (sendo 6/10 luxação do cristalino), 8/10 déficits cognitivo, 5/10 eventos tromboembólico prévio e 8/10 alterações ósseas.