

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 evaluated 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.

CONCLUSÃO: A variante foi mais prevalente em pacientes do estado da Bahia, o que levanta a hipótese de um cluster da doença no estado e de um efeito fundador. Observou-se um fenótipo grave, controle metabólico inadequado e complicações multi-sistêmicas, o que se assemelha ao perfil descrito na Arábia Saudita. A perspectiva da pesquisa é realizar estudo sobre haplótipos de forma a elucidar a origem desta variante no Brasil.

3279

AVALIAÇÃO DO FENÓTIPO KNOCKOUT DA PROTEÍNA COFILINA-1 EM ADENOCARCINOMA PULMONAR

LIA FRANCIÊ RIBEIRO DOS SANTOS BRUSCHI; LUCIANA RELLY BERTOLINI; PRISCILA VIANNA; CRISTIANO VALIM BIZARRO; PEDRO FERRARI DALBERTO; BIBIANA FRANZEN MATTE; MARCELO LAZZARON LAMERS ; EDUARDO CREMONESE FILIPPI CHIELA; PATRÍCIA LUCIANA DA COSTA LOPEZ; FÁBIO KL
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A cofilina-1 é uma proteína citosólica que atua como fator de regulação do turnover de actina, e dessa forma a dinâmica de migração e invasão celular. Previamente demonstramos o envolvimento da cofilina-1 (gene CFL1 em humanos) na resistência de células de câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC) à cisplatina. O CPNPC representa aproximadamente 85% de todos os carcinomas pulmonares, sendo o tipo de câncer mais letal no mundo. Apesar dos avanços nas opções para o tratamento, o prognóstico para o CPNPC permanece ruim, especialmente devido ao desenvolvimento de resistência à quimioterapia, ao diagnóstico tardio e à grande capacidade das células tumorais de invadirem o tecido saudável e provocar metástases. Níveis aumentados de CFL1 são geralmente correlacionados a um pior prognóstico em diversos tipos tumorais. Assim, há a necessidade do desenvolvimento de um modelo celular knockout (KO) para determinar o papel desse gene na biologia tumoral. Nesse trabalho, o sistema CRISPR/Cas9 foi usado para a alteração sítio dirigidas para anulação do gene CFL1 em linhagem de células de adenocarcinoma pulmonar, com o objetivo de melhor compreender o papel desta proteína na biologia destes tumores e na resposta à quimioterapia. O vetor pX458 foi editado para o KO de CFL1 na linhagem celular A549. As colônias monoclonais obtidas após edição foram separadas por single cell sorting e sequenciadas por SANGER para confirmação da edição gênica. Foram realizados ensaios de WB e espectrometria de massas que confirmaram a perda de expressão de CFL1. O fenótipo celular foi analisado inicialmente pela proliferação celular e padrões morfométricos. Foi avaliada a influência de CFL1 na dinâmica da actina através de ensaios de migração por microscopia time-lapse. O tempo de duplicação celular das KO apresentou diferença na proliferação, e apesar de se manter em crescimento exponencial, houve redução na capacidade clonogênica, foi observado também um significativo aumento de direcionalidade de migração dessas células ($P < 0.0001$). A polaridade e análise morfométrica nuclear evidenciaram alteração no fenótipo celular para um tipo mais fusiforme, com padrão nuclear elipsoide. Esses dados sugerem a robustez do modelo KO para CFL1, que ainda serão estudados quanto a superexpressão e knockdown, bem como tratamentos com quimioterápicos. Assim, a linhagem KO obtida permitirá maiores estudos que esclarecerão sobre o papel de CFL1 na malignidade de CPNPC e na resistência a quimioterapia.

CARDIOLOGIA

2254

TELECONSULTA MULTIPROFISSIONAL EM CARDIOLOGIA FRENTE A PANDEMIA DE COVID-19

VITÓRIA EUGÊNIA DA COSTA LAGRANHA; AMANDA FARIAS OSÓRIO; EDUARDA BORDINI FERRO; ARIEL RIBAS FOGAÇA; SIMONI CHIARELLI DA SILVA POKORSKI; ANE GLAUCE FREITAS MARGARITES; LUCIANA KAERCHER JOHN DOS SANTOS; ISABEL CRISTINA ECHER
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A pandemia de Coronavírus (SARS-CoV-2) trouxe desafios quanto à organização do processo de trabalho em ambiente hospitalar. Os atendimentos eletivos foram readaptados em consonância com as regras de distanciamento social e os protocolos institucionais. Assim, o ambulatório da equipe multiprofissional em cardiologia (EMC), que realiza atendimentos a pacientes em pós-alta de eventos cardíacos isquêmicos passou a ser realizado na modalidade de teleconsulta. **Objetivos:** Relatar a experiência da Residência Integrada Multiprofissional em Atenção Cardiovascular no atendimento a pacientes por teleconsulta. **Metodologia:** Trata-se de um relato de experiência do atendimento a pacientes de agendas que inicialmente eram presenciais e foram transformadas em teleconsulta por meio do sistema AGH-USE do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de 19 de março a 13 de agosto/2020. As teleconsultas são realizadas semanalmente por profissionais de Enfermagem, Fisioterapia e Nutrição, com supervisão de preceptores e professores. **Modificações de práticas:** Estabeleceu-se um roteiro para a teleconsulta com base em referencial teórico e criou-se um protocolo em planilha no Google Sheets, o qual compreende questões sobre sinais e sintomas cardiológicos, medicamentos em uso, hábitos alimentares, atividades de vida diária, atividade laboral, exercício físico, vacinas e consumo de drogas lícitas e ilícitas. É realizada uma primeira ligação para coleta de dados e posteriormente cada caso é discutido no grupo de profissionais. Utilizou-se o telefonema devido à facilidade de acesso, pois grande parte dos pacientes atendidos não possui internet ou possibilidade de videoconferência. Foram atendidos 61 pacientes, o tempo de cada consulta variou entre 20 e 40 minutos. A partir da discussão dos casos são realizadas orientações ao paciente/família/cuidador com foco no controle dos fatores de risco coronarianos, além de encaminhamentos para rede básica ou equipe médica a qual o paciente está vinculado. **Considerações:** A teleconsulta mostra-se como uma alternativa de manter o cuidado assistencial em cenários desfavoráveis. Apesar das limitações impostas pela metodologia, como ligações não atendidas e exame físico não realizado, considera-se a experiência satisfatória, pois tem se conseguido identificar situações de risco, assim como realizar o encaminhamento de pacientes para outro nível de assistência, mantendo o formato interdisciplinar e garantindo o cuidado integral em saúde.