

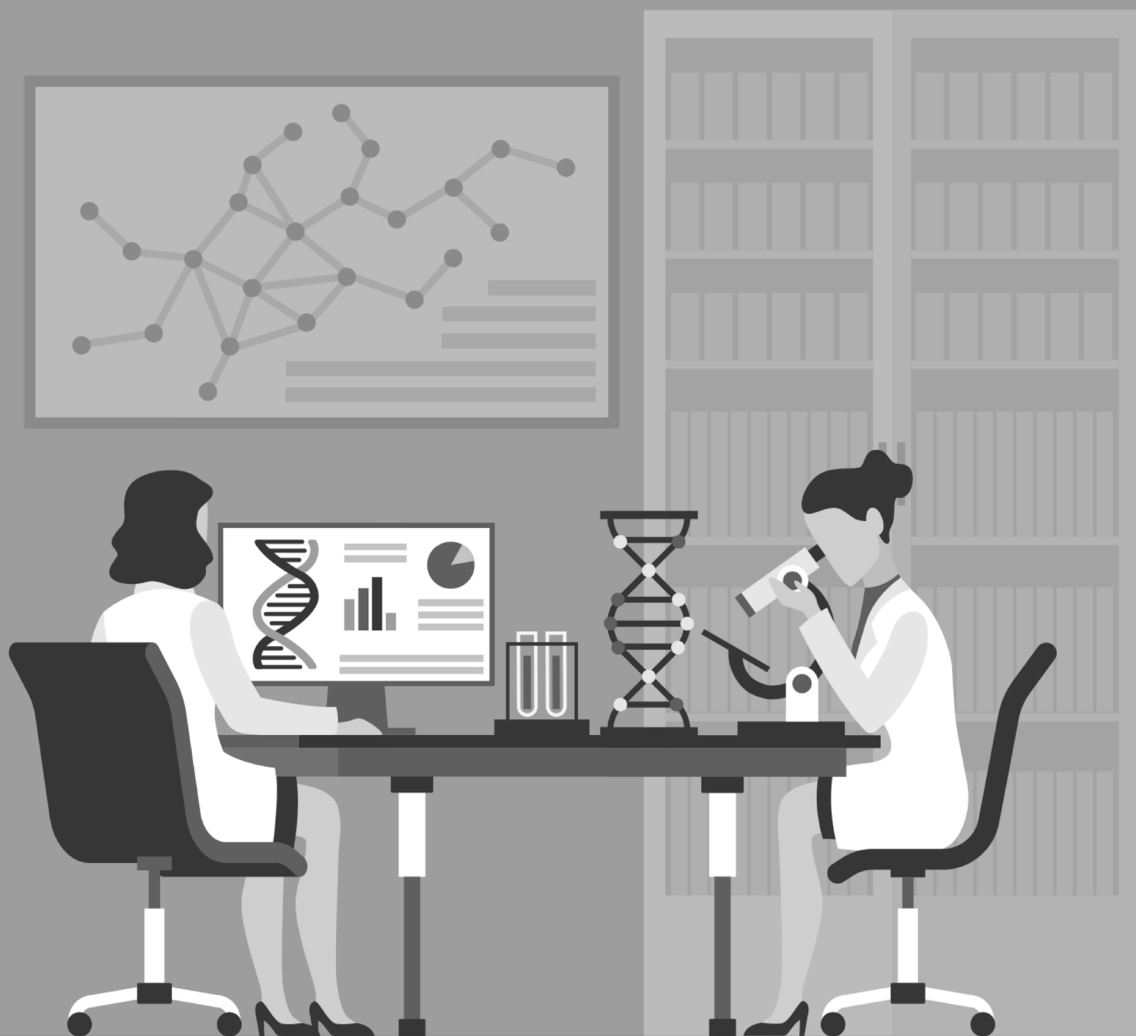
O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces



Poliana Arruda Fajardo
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2021

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces



Poliana Arruda Fajardo
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^ª Dr^ª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof^ª Dr^ª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^ª Dr^ª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof^ª Dr^ª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof^ª Dr^ª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^ª Dr^ª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^ª Dr^ª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Prof^ª Dr^ª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof^ª Dr^ª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^ª Dr^ª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Prof^ª Dr^ª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^ª Dr^ª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^ª Dr^ª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof^ª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^ª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Prof^ª Dr^ª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^ª Dr^ª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Prof^ª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Prof^ª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Prof^ª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Ma. Lilians Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^ª Dr^ª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof^ª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Prof^ª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Prof^ª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof^ª Dr^ª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Prof^ª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Prof^ª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Prof^ª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof^ª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Prof^ª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Poliana Arruda Fajardo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F736 O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces / Organizadora Poliana Arruda Fajardo. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-809-0

DOI 10.22533/at.ed.090211102

1. Ciências biológicas. I. Fajardo, Poliana Arruda (Organizadora). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

A obra “O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces” apresenta artigos de todo o território nacional que demonstram exatamente essa característica das Ciências Biológicas: suas diversas conexões com outras áreas o que a torna a cada dia mais imprescindível para a construção de uma sociedade mais sustentável.

Assim em seus 19 capítulos este *e-book* apresenta artigos que envolverão o(a) leitor(a) em temas que evidenciam essa interface como: educação em saúde prevenção de patologias a formação inicial de estudantes da área imunologia e imunogenética biodigestão anaeróbia interações moleculares de medicamentos no corpo humano modelo didático de anatomia humana plantas invasoras detecção de bactérias em alimentos crus efeitos de herbicidas em peixes registro de lobo marinho subantártico no litoral paulista otimização de técnicas para estudo de câncer de intestino síndrome metabólica em idosos utilização de música para o trabalho com questões de gênero na disciplina de Biologia do Ensino Médio propriedades físicas do solo em diferentes usos na floresta Amazônica e abordagem do atropelamento de fauna em estudo de impacto ambiental.

Essa variedade de temas corrobora portanto a importância e o fortalecimento das Ciências Biológicas não somente para a pesquisa científica como também para o cotidiano e formação de profissionais da Educação Medicina Farmácia Geologia Educação Física Engenharia de alimentos Engenharia Agrônômica Engenharia Civil e até mesmo Ciências Sociais entre tantos outros.

Considerando-se o exposto e agradecendo a todos(as) os(as) autores(as) bem como à estrutura disponibilizada pela Atena Editora em sua plataforma digital desejo uma ótima leitura bem como ampliação e aprofundamento de conhecimentos com os trabalhos aqui apresentados.

Poliana Arruda Fajardo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

A IMPORTÂNCIA DA HIGIENE PESSOAL NA PREVENÇÃO DE PATOLOGIAS TRANSMITIDAS EM BANHEIROS ESCOLARES: RELATO DE EXPERIÊNCIA BASEADO NO ARCO DE MAGUEREZ

Ana Carla Vilhena Barbosa
Georgia Helena de Oliveira Sotirakis
Juciane Sousa Dias
Maria das Graças Carvalho Almeida
Paulo Elias Gotardelo Audebert Delage

DOI 10.22533/at.ed.0902111021

CAPÍTULO 2..... 11

APLICAÇÃO DE UM INSTRUMENTO DIAGNÓSTICO: EVOLUÇÃO NA FORMAÇÃO INICIAL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gabriel Sevilha
Fernanda da Rocha Brando Fernandez

DOI 10.22533/at.ed.0902111022

CAPÍTULO 3..... 29

ATIVIDADES REALIZADAS PELA LIGA ACADÊMICA DE IMUNOLOGIA BÁSICA E IMUNOGENÉTICA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

Jeane Eliete Laguila Visentainer
Larissa Danielle Bahls Pinto
Mariana de Souza Terron Monich
Lais Maria Barazzetti Pereira da Silva
Felipe Antonio Carvalho da Costa
Gabriela Franco de Oliveira Barbosa
Maelly Thaís da Silva
Mariana Bonfim Track
Roberta Gabrielly Borges Araújo
Vitória Monteiro de Araújo Vilela
Pedro Henrique Rodrigues do Amaral
Wellington Dias Liziero

DOI 10.22533/at.ed.0902111023

CAPÍTULO 4..... 33

BIODIGESTÃO ANAERÓBIA EM SUBSTRATO COM ALTAS CONCENTRAÇÕES DE SULFATO

Gabriela Maria Ferreira Lima Leite
Rubens Perez Calegari
Tamires Marques Faria
Laysa Maciel Lewandowski Meira Prado
Eric Alberto da Silva
Maria Carolina Pastre
Layna Mota Amorim
Antonio Sampaio Baptista

DOI 10.22533/at.ed.0902111024

CAPÍTULO 5	49
CARACTERIZAÇÃO DAS INTERAÇÕES MOLECULARES ENTRE METFORMINA E FATOR INTRÍNSECO HUMANO	
Mayse Manuele Freitas Viana Leal	
Dijanah Cota Machado	
Janilson José da Silva Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.0902111025	
CAPÍTULO 6	55
CONFEÇÃO DE MODELO DIDÁTICO USANDO CRÂNIO HUMANO: UMA FERRAMENTA PARA FACILITAR A APRENDIZAGEM DE ANATOMIA	
Bruna Fátima Sczepanhak	
Jéssica Correia de Oliveira	
Marcia Miranda Torrejais	
Angelica Soares	
DOI 10.22533/at.ed.0902111026	
CAPÍTULO 7	62
EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO METILARSENATO MONOSSÓDICO (MSMA) NA MORFOLOGIA PROTÁTICA DE RATOS WISTAR MACHOS	
Pedro Víctor de Carvalho Costa	
Igor Buzzatto Leite	
Thaís Metzker Pinto	
Juliana Castro Monteiro Pirovani	
DOI 10.22533/at.ed.0902111027	
CAPÍTULO 8	74
EFEITOS DO FORMALDEÍDO SOBRE O APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E FEMININO E NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL DE RATOS WISTAR	
Ana Rosa Crisci	
Júlia Marcolino Perdiz	
Jeovan dos Santos Macedo	
Wilson Roberto Malfará	
Amadeu Pasqualim Neto	
Lucila Costa Zini Angelotti	
DOI 10.22533/at.ed.0902111028	
CAPÍTULO 9	85
EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E DETECÇÃO DE GENES DE ENTEROTOXINAS DE ESCHERICHIA COLI EM ALIMENTOS CRUS	
Leonardo Copetti da Silva	
Renata de Alcântara Fenner	
Natasha de Oliveira Machado	
Bruna Nathiely Werberich da Costa	
Elisson Furlan Figueiredo	
Carina Sperotto Librelotto	
DOI 10.22533/at.ed.0902111029	

CAPÍTULO 10..... 96

INTRODUÇÃO E OCUPAÇÃO DAS FITO INVASORAS *CRYPTOSTEGIA MADAGASCARIENSIS* BOJER EX DECNER E *PROSOPIS JULIFLORA* (SW.) DC. NO NORDESTE BRASILEIRO

Francisca Renata Alves de Lima

Oriel Herrera Bonilla

Ivina Beatriz Menezes Farias

Natália Morena Fernandes Soltys

Sandro Ferreira do Nascimento

Klever Cavalcante da Silva

DOI 10.22533/at.ed.09021110210

CAPÍTULO 11..... 108

MEDIAÇÃO NO ENSINO E SENSIBILIZAÇÃO EM TEMPOS DE CRISE: RELATO DE EXPERIÊNCIA NO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO À DOCÊNCIA – PIBID

Andreza Aquino Pereira

Karolina Felizardo dos Santos

Antônio Maxuel Lima da Silva

Ednalva da Silva Santos

Dayana Menezes dos Santos

Vanda Lúcia Roseno Batista

Francisco Walison dos Santos Machi

DOI 10.22533/at.ed.09021110211

CAPÍTULO 12..... 120

NÍVEIS PROTEICOS DE PEIXE-ZEBRA (*DANIO RERIO*) EXPOSTOS A DUAS FORMULAÇÕES DE HERBICIDA

Taisson Kroth Thomé da Cruz

Manoel Francisco Mendes Lassen

Tamiris Rosso Storck

Aline Monique Blank do Amaral

Dionatan de Pellegrin

Vania Lucia Loro

DOI 10.22533/at.ed.09021110212

CAPÍTULO 13..... 127

REGISTROS DE LOBO-MARINHO SUBANTÁRTICO (*ARCTOCEPHALUS TROPICALIS*) NA PORÇÃO CENTRAL DO LITORAL DO ESTADO DE SÃO PAULO NO PERÍODO ENTRE 1998 E 2007

André Fabiano de Castro Vicente

Fernando Siqueira Alvarenga

DOI 10.22533/at.ed.09021110213

CAPÍTULO 14..... 132

OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE REAL TIME-PCR PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO CÂNCER DE INTESTINO

Rafaela Ansiliero

César Milton Baratto

DOI 10.22533/at.ed.09021110214

CAPÍTULO 15..... 145

PERFIL MICROBIOLÓGICO E SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DAS INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA A SAÚDE DAS UTIS DO HOSPITAL LAURO WANDERLEY - UFPB EM 2018

Thaís de Souza de Matos

DOI 10.22533/at.ed.09021110215

CAPÍTULO 16..... 153

PREVALÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA EM IDOSOS FREQUENTADORES DO LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO FÍSICA E PRÁTICA ESPORTIVA DA UNIVERSIDADE DE MARÍLIA/SP

Jaqueline Catarina Martins

Carolina Pereira de Moura

Guilherme da Silva Araujo

DOI 10.22533/at.ed.09021110216

CAPÍTULO 17..... 166

PROBLEMATIZANDO AS QUESTÕES DE GÊNERO E AS SEXUALIDADES ATRAVÉS DA MÚSICA NO ENSINO BIOLOGIA

Alan Belizário Cruz

Gizeuda Fernandes da Silva Araújo

Lara Rhayanne Fernandes Xavier

Maria Jamilis da Silva Santos

Maria Eudair Oliveira da Silva

Maria Edilania da Silva Serafim Pereira

Socorro Marcia Gomes Torres

Francileide Vieira Figueiredo

Cicero Magerbio Gomes Torres

DOI 10.22533/at.ed.09021110217

CAPÍTULO 18..... 178

PROPRIEDADES FÍSICAS DO SOLO EM DIFERENTES USO DA TERRA NO DE ESTADO DE RORAIMA BRASIL

Arnoldo Marcílio Gonçalves dos Santos

Alcides Gatto

Sônia Sena Alfaia

Fabiana Piontekowski Ribeiro

Marco Bruno Xavier Valadão

DOI 10.22533/at.ed.09021110218

CAPÍTULO 19..... 190

ATROPELAMENTO DE FAUNA SILVESTRE E MEDIDAS MITIGADORAS. ESTUDO DE CASO DA BR-101/BA

Nadine Helena Leal

Maria Dolores Alves dos Santos Domit

Joyce Silvestre

DOI 10.22533/at.ed.09021110219

SOBRE A ORGANIZADORA.....	198
ÍNDICE REMISSIVO.....	199

OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE REAL TIME-PCR PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO CÂNCER DE INTESTINO

Data de aceite: 04/02/2021

Data de submissão: 05/12/2020

Rafaela Ansiliero

Universidade do Oeste de Santa Catarina
Videira - Santa Catarina

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9214-0307>

César Milton Baratto

Universidade do Oeste de Santa Catarina
Videira - Santa Catarina

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1160-0883>

RESUMO: O presente estudo tem como objetivo otimizar a técnica de Real Time-PCR (qPCR) para análise quantitativa da expressão gênica de ratos suplementados com *Lactobacillus* probióticos os quais possuem lesões cancerosas no cólon induzidas por 1 2-dimetilhidrazina (DMH). Foram utilizados *Rattus norvegicus* Wistar com os tratamentos: 1- solução salina; 2 - DMH; 3 - DMH + *Lactobacillus casei*; 4 - DMH + *L. brevis*; 5 - DMH + *L. curvatus*. Após eutanásia o segmento colorretal foi coletado realizando-se extração de RNA síntese de cDNA e otimização da reação de qPCR para os genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS utilizando o equipamento QuantStudio 3 com o sistema SYBR Green/Rox. A concentração ideal de primers variou conforme o gene alvo consistindo em 1250nMx1250nM para os genes GAPDH Bcl-2 IL-10 e TNF- α 625nMx1250nM para p53 e FAS. A quantidade

de amostra inicial também variou conforme gene de interesse com 100ng para GAPDH IL-10 e TNF- α 4ng para p53 e 20ng para Bcl-2 e FAS. Foi possível otimizar a técnica de Real Time-PCR no que se refere a concentração de primers e de amostra inicial para os genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS.

PALAVRAS-CHAVE: Lactobacilos. Probióticos. Câncer colorretal. qPCR. DMH.

OPTIMIZATION OF THE REAL TIME-PCR TECHNIQUE FOR QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF GENES RELATED TO BOWEL CANCER

ABSTRACT: The aim of the present study is to optimize the Real Time-PCR (qPCR) technique for quantitative analysis of rats gene expression supplemented with probiotic *Lactobacillus* which have cancerous colon lesions induced by 1 2-dimethylhydrazine (DMH). *Rattus norvegicus* Wistar were used with the treatments: 1- saline solution; 2 - DMH; 3 - DMH + *Lactobacillus casei*; 4 - *L. brevis*; 5 - DMH + *L. curvatus*. After euthanasia the colorectal segment was collected performing RNA extraction cDNA synthesis and the qPCR reaction optimization for the genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α and FAS using the QuantStudio 3 with the SYBR Green / Rox system. An analysis of gene expression was also performed by qPCR. The primers ideal concentration varied according to the target gene consisting of 1250nMx1250nM for the GAPDH Bcl-2 IL-10 and TNF- α genes 625nMx1250nM for p53 and FAS. The initial sample quantity also had variations according to the gene of interest with 100ng for GAPDH IL-10 and TNF- α 4ng for

p53 and 20ng for Bcl-2 and FAS. It was possible to optimize the Real Time-PCR technique with regard to the concentration of primers and initial sample for the GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α and FAS genes.

KEYWORDS: Lactobacilli. Probiotics. Colorectal cancer. qPCR. DMH.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer é um problema mundial caracterizado pelo crescimento anormal de células além de seus limites habituais induzindo a formação de tumores que podem se espalhar para outras regiões do corpo (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER 2019). Conforme a Organização Mundial da saúde a origem da doença é multifatorial e envolve agentes ambientais alterações no desenvolvimento e na replicação do DNA além de deficiências do sistema imunológico (WHO 2020).

Ademais o mesmo é um grande problema de saúde pública sendo considerado a segunda principal causa de morte no mundo com estimativa de 9 6 milhões de óbitos no ano de 2018 (WHO 2019). Nessa perspectiva mais de 600 tipos de câncer foram relatados sendo o câncer colorretal o terceiro de maior incidência mundial (FERLAY et al. 2018; WHO 2020). A estimativa é que no Brasil para cada ano do triênio de 2020-2022 surjam 40.990 novos casos de câncer colorretal (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER 2019).

O mesmo acomete um segmento do intestino grosso (cólon) e o do intestino reto acarretando em tumores as quais são geralmente iniciados a partir de lesões benignas denominadas pólipos curáveis quando diagnosticadas precocemente (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER 2019). Em adição acredita-se também que a microbiota intestinal patogênica influencia na inflamação local um dos fatores predisponentes mais relevantes para a tumorigênese do cólon contribuindo para o desenvolvimento do câncer acarretando em danos à saúde (URBANSKA ZHANG PRAKASH 2015).

Desta forma linhagens probióticas têm sido obtidas para restaurar a barreira intestinal prejudicada neutralizando efeitos deletérios na microbiota (BARZ et al. 2015) podendo vir a reduzir a produção estimulada de mediadores pró-inflamatórios contribuindo pela melhora da saúde do intestino (RODRÍGUEZ-NOGALES et al. 2015).

Os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios ao hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas exibindo antagonismo contra patógenos estimulando o sistema imunológico modulando atividades enzimáticas relacionadas à metabolização de vários carcinógenos e outras substâncias tóxicas (BARZ et al. 2015; PLAZA-DIAZ et al. 2019). Estudos em modelos de camundongos e humanos demonstram resultados promissores entre o uso de probióticos a patogênese e tratamento do câncer colorretal (HENDLER; ZHANG 2018). No entanto estudos sobre o tema ainda são escassos para formular resposta definitiva necessitando de novos estudos que elucidem os mecanismos de atuação dos microrganismos suas propriedades e linhagens potenciais

(DRAGO 2019; MOLSKA; REGUŁA 2019).

Nessa perspectiva o gênero *Lactobacillus* se destaca possuindo cerca de 18 espécies com interesse probiótico (ALMADA et al. 2015). Em estudo realizado a utilização de *Lactobacillus* probiótico em pacientes com câncer colorretal surtiu efeitos positivos na redução dos sintomas intestinais do câncer na prevenção e na redução de lesões pré-cancerosas (LEE et al. 2014; IRECTA-NÁJERA et al. 2017).

A fim de constar respostas positiva em lesões intestinais cancerígenas após a administração de probióticos é possível avaliar a expressão gênica de genes marcadores de apoptose e anti-inflamatórios (STEINBERG et al. 2014; PAIVA et al. 2016) tendo em vista que alterações na expressão gênica das células com o acionamento de vias metabólicas distintas são características do câncer (MIRANDA 2016; FABRE et al. 2018). Nessa perspectiva o gene p53 possui papel importante vindo a reparar danos que ocorrem no DNA e quando os danos excedem os mecanismos de reparo o mesmo juntamente com a proteína p21 induz a célula à morte celular (NAKAYAMA 2019; XUE; SAN; LANE 2019). Ademais o gene induz a apoptose ao regular a expressão de mediadores anti ou pró-apoptóticos envolvidos em atividades celulares como os genes Bcl-2 BAX BAK BID e FAS (PECORINO 2016).

Os genes IL-5 IL-6 IL-10 IL-12 e IL-17 codificam para a produção de citocinas que estão diretamente ligadas às células de defesa sendo responsáveis por induzir a produção e a diferenciação de células B células T e células natural killer (FABRE et al. 2018; DENNIS et al. 2013). Em adição a citocina IFN- γ regula positivamente parâmetros pró-inflamatórios tais como IL -12 IL-15 e o fator de necrose tumoral (TNF- α) o qual possui uma vasta gama de ações pró-inflamatórias exibindo efeitos supressores de tumor inibindo a progressão do ciclo celular e promovendo a apoptose (URBANSKA; ZHANG; PRAKASH 2015; SYED 2016).

Logo para análise da expressão gênica a partir da quantificação absoluta e quantificação relativa de cada gene em relação a um gene de expressão constitutiva o uso da PCR Quantitativa em Tempo Real (qPCR) é essencial (TALARICO 2012; SILVA et al. 2013).

A técnica de Real Time-PCR é semelhante à técnica de PCR convencional porém sua principal vantagem se baseia na possibilidade de quantificação do material genético em tempo real com maior sensibilidade (MARTINS 2017) porém para seu uso é necessário a otimização do equipamento (FERREIRA 2016). Com base no exposto essa pesquisa tem como objetivo otimizar a técnica de Real Time-PCR para análise quantitativa da expressão gênica de genes de apoptose e do sistema imunológico de ratos suplementados com probióticos *Lactobacillus sp.* os quais possuem lesões cancerosas no cólon induzidas por 1,2-dimetilhidrazina.

2 | METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido na Universidade do Oeste de Santa Catarina na cidade de Videira SC. O mesmo foi iniciado após aprovação pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste de Santa Catarina – Unoesc / Joaçaba segundo definição da Resolução nº. 100/CONSUN/2016 se fazendo cumprir a Lei nº. 11.794 de 08 de outubro de 2008 e demais normas aplicáveis nos aspectos éticos envolvendo a utilização de animais no desenvolvimento das atividades de ensino pesquisa e extensão através do parecer consubstanciado pelo protocolo número 04/2018.

2.1 Seleção e Preparo dos Probióticos

Linhagens com potencial probiótico de *Lactobacillus casei* *Lactobacillus curvatus* e *Lactobacillus brevis* isoladas de alimentos cárneos e lácticos pertencentes a coleção da UNOESC - Videira-SC (BARATTO et al. 2012; SCHNEIDER 2016; ANDRADE 2017) foram selecionadas.

Os lactobacilos foram cultivados em caldo MRS por 24h a 37+/- 2°C em jarras de anaerobiose e incubados em estufa bacteriológica para preparo das soluções probióticas. O material foi centrifugado a 3200 g/10 minutos em centrífuga (Parsec) e após descarte do sobrenadante as células bacterianas foram ressuspensas com solução salina 0 85% até atingir DO equivalente a 1-9x10¹⁰ UFC/0 5mL analisado em espectrofotômetro (biospectro) no comprimento de onda de 600nm.

2.2 Delineamento Experimental e Aplicação dos Probióticos *In Vivo*

Para o estudo *in vivo* foram utilizados ratos *Rattus norvegicus* Wistar machos com cinco semanas de idade. Estes foram mantidos no biotério da UNOESC/Videira em gaiolas conforme os preceitos éticos para experimentação animal. As cobaias foram separadas em grupos contendo de 6 a 8 animais e após 15 dias em período de adaptação iniciou-se os tratamentos: Grupo 1- solução salina; Grupo 2 - DMH; Grupo 3 - DMH + *L. curvatus*; Grupo 4 - DMH + *L. casei*; Grupo 5 - DMH + *L. brevis*.

O tratamento com a solução contendo os microrganismos probióticos foi realizado mediante gavagem (dose= 1-9x10¹⁰ UFC/dia) seis vezes na semana durante 15 semanas. Após 15 dias de uso dos probióticos iniciou-se a indução de tumores coloretais usando a droga DMH (1 2-dimetilidrazina) na dose de 30 mg/kg administrada intraperitonealmente uma vez por semana durante 13 semanas concomitantemente ao uso dos probióticos.

Ao final do tratamento as cobaias foram submetidas à eutanásia por overdose de quetamina/xilasina (> 150 mg/kg / > 16 mg/kg) via intraperitoneal seguindo preceitos do Comitê de Ética em Cuidados com Animais. O segmento colorretal de três cobaias referente a cada um dos tratamentos foi coletado para otimização da técnica de qPCR com posterior análise da expressão gênica.

2.3 Extração de Rna e Síntese De Cdna

O RNA total das amostras da região colorretal do intestino das cobaias anteriormente coletadas foi extraído com TRIZOL® (Invitrogen). O RNA extraído foi quantificado e avaliado com DO a 260/280nm e 260/230nm em espectrofotômetro e após tratados com DNase I (Invitrogen). A síntese de cDNA foi realizada utilizando o kit High-CapacitycDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems).

2.4 Amplificação dos Genes em Pcr Convencional

Amostras de DNA genômico de fígado de *Rattus norvegicus* Wistar pertencentes ao banco da Unoesc/Videira foram utilizadas para avaliar a amplificação dos genes utilizados no presente estudo em PCR convencional com os respectivos pares de primers (Tabela 1).

Gene	Senso (5'-3')	Antisenso (5'-3')	Produto (pb)
*p21	TGTCTTGCACCTCTGGTGTCT	GGCACTTCAGGGTTTTCTCT	149
p53	GTAACGCTTCGAGATGTTCC	GA CTGGCCCTTCTTGGTCT	123
Bax	ACAGGGGCCTTTTTGCTAC	GAGACTCAGCTCAGCTTCTT	125
FAS	CTGCGATGAAGAGCATGGTT	GCAGCGAACACAGTGTTCACA	121
Bcl-2	AGAGACTCACCAGGGTCTGC	GCACTACCTGCGTTCTCCTC	113
GAPDH	GTGTCCGTCGTGGATCTGAC	GGAGACAACCTGGTCTCAG	132
BID	GAGATGGACCACAACATCCA	AGGCTGTCTTACCTCATCAA	126
BAK	TACCTCCACCAGCAGGAAC	GACCCACCTGACCCAAGA	125
**IL-5	AGCACAGTGGTGAAGAGACCTT	TCCAATGCATAGCTGGTGATT	117
IL-6	GAGGATACCCTCCCAACAGACC	AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA	141
IL-10	GGTTGCCAAGCCTTATCGGA	ACCTGCTCCACTGCCTTGCT	191
IL-12	GGAAGCACGGCAGCAGAATA	AACTTGAGGGAGAAGTAGGAATGG	180
IL-17	GCTCCAGAAGGCCCTCAGA	AGCTTCCCTCCGCATTGA	142
IFN-γ	TCAAGTGGCATAGATGTGGAAGAA	TGGCTCTGCAGGATTTTCATG	92
TGF-β1	TGACGTCACTGGAGTTGTACGG	GGTTCATGTCATGGATGGTGC	170
TNF-α	CATCTTCTCAAATTCGAGTGACAA	TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC	175

Tabela 1. Sequência de Primer utilizados nas reações de PCR convencional e qPCR.

Legenda: Fonte: *Silva (2013) WANG et al. (2017); ** Steinberg et al. (2014).

As reações de amplificação foram realizadas realizada em termociclador conforme técnica de Reação em Cadeia Polimerase (PCR-convencional) efetuadas em 35 ciclos onde cada ciclo consistiu na desnaturação a 94°C/30s anelamento a 60° C/40s e extensão a 72° C/30s. Após os 35 ciclos uma etapa final de extensão a 72 ° C/10min foi realizada seguida por resfriamento a 4°C/10 min. A fim de analisar a presença/ausência de amplificação e se as mesmas eram específicas o material foi analisado em eletroforese em gel de agarose 1% 60V e após 60 minutos visualizado em luz UV.

Ademais um “pool” de cDNA sintetizado anteriormente foi utilizado para avaliar a amplificação dos genes em PCR convencional. Além disso visou-se otimizar a temperatura

ideal de anelamento de cada par de primer respectivo a cada gene (Tabela 1) as temperaturas de anelamento avaliadas foram: 50°C 55°C 60°C 62°C e 65°C. As reações de amplificação foram realizadas em 35 ciclos conforme mencionado anteriormente.

2.5 Otimização da Técnica de Qpcr Para Análise da Expressão Gênica: Concentração de Primers e de Amostra Inicial

Para realização dos experimentos de qPCR foi utilizado o equipamento QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Applied biosystems USA) empregando o sistema SYBR Green/Rox qPCR (Thermo scientific USA).

Para otimização da reação de Real-Time PCR (qPCR) foram utilizadas diferentes concentrações de iniciadores *sense* e *antisense* para os genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS sendo elas: 625nM 1250nM e 1875nM para isso foram utilizados 100ng de *pool* de cDNA sintetizado e a reação seguiu conforme realizado por Perazzoli et al. (2017).

Para determinar a faixa de quantidade de amostra inicial com a qual se pode trabalhar na reação de qPCR foram realizadas diluições seriadas de uma amostra inicial de um *pool* de cDNA observando os perfis de amplificação dos genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS. As amplificações foram realizadas com a amostra em concentração inicial (100ng) e diluições da mesma de 5x 25x 125x e 625x. As reações seguiram conforme Perazzoli et al. (2017).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Amplificação dos Genes em Pcr Convencional

Os resultados obtidos referentes à amplificação de genes em PCR convencional demonstram que os genes p53 BAX Bcl-2 GAPDH BID BAK IL-10 IL-12 e TNF- α foram amplificados mediante uso de primers específicos em DNA genômico e cDNA de *Rattus norvegicus* Wistar. A imagem 1 demonstra que a amplificação dos genes em cDNA não foi tão específica aparecendo *smear* no gel de agarose quando visualizado em luz UV o qual pode interferir nas reações de qPCR pois a mesma é sensível que a PCR convencional (MARTINS 2017).

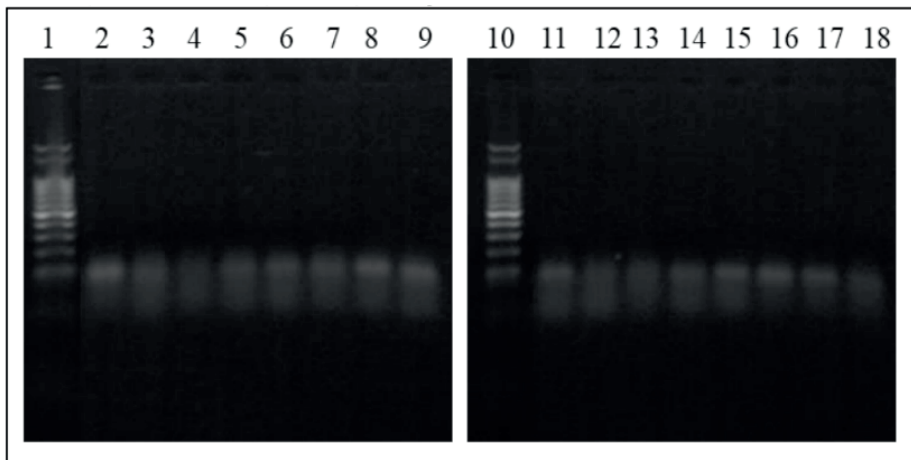


Imagem 1. Eletroforese em gel de agarose de genes de *Rattus norvegicus* Wistar após amplificação de cDNA em PCR convencional.

Ordem= 1: Marcador Ladder 100pb; 2: p53; 3: GAPDH; 4: p21; 5: BID; 6: BAX; 7:BAK; 8: Bcl-2; 9: FAS; 10: Marcador Ladder 100pb; 11: TNF- α ; 12: TGF- β ; 13: IFN- γ ; 14: IL-5; 15: IL-6; 16: IL-10; 17: IL-12; 18: IL-17.

Os genes FAS e IL-6 amplificaram apenas em cDNA pois os primers que amplificam essas regiões projetados conforme Silva (2013) Wang et al. (2017) e Steinberg et al. (2014) podem ter sido desenhados com base em sequências existentes nas extremidades de íntrons resultando em uma longa sequência nucleotídica para amplificação. Apesar dos genes p21 e IL-17 terem amplificado em DNA genômico em cDNA à amplificação não foi observada o que pode indicar que tais genes são pouco expressos resultando em poucos transcritos.

Em estudo realizado por Silva (2013) observou-se forte diminuição na expressão do gene da proteína p21 induzidas por chalconas quando avaliadas linhagem celular de leucemia linfoblástica aguda. Conforme o autor a proteína p21 participa da regulação do ciclo celular e atua induzindo a parada do mesmo. De maneira semelhante Steinberg (2014) avaliou em seu estudo que o gene IL-17 foi pouco expresso na região do colón de camundongos em relação ao segmento proximal do intestino delgado.

Ademais os genes IL-5 IFN- γ e TGF- β 1 não amplificaram em DNA genômico nem em cDNA. Os primers utilizados para amplificar tais genes foram projetados conforme **Silva (2013)** Wang et al. (2017) Steinberg et al. (2014). Observou-se que apenas a sequência *sense* dos primers destes genes apresentou similaridade com o mRNA de *Rattus Norvegicus* (número de acesso: X54419.1; AF010466.1; NM_021578.2) o que justifica a ausência de amplificação dos mesmos devido à ineficiência dos primers.

A partir da otimização da amplificação realizada conforme técnica de PCR-convencional (Tabela 2) observou-se que a temperatura ideal para anelamento para

cada par de primers variou conforme o alvo estudado com faixa de 60 a 65°C onde a temperatura de 60°C foi ideal para a amplificação de 81,8% dos genes. Conforme Exxtend (2018) a maioria dos programas utilizados para projetar primers fornecem um valor de temperatura de anelamento estimado e a mesma deve ser usada como referência sendo essencial testar um gradiente de temperaturas para encontrar a temperatura ideal.

Gene	Temperatura de anelamento (°C)
p53	60 °C
Bax	60 °C
FAS	65 °C
Bcl-2	65 °C
GAPDH	60 °C
BID	60 °C
BAK	60 °C
IL-6	60 °C
IL-10	60 °C
IL-12	60 °C
TNF- α	60 °C

Tabela 2. Temperatura ideal para anelamento para cada par de primer respectivo a cada gene.

A temperatura de anelamento variou conforme os iniciadores utilizados sendo essencial a otimização da mesma para que a reação funcione corretamente a fim de assegurar que o anelamento seja eficiente evitando a formação de dímeros de primers que podem interferir no processo (FERREIRA 2016). Além disto a variação da mesma também pode afetar a capacidade enzimática da polimerase ligação ao iniciador e formação ou fusão da estrutura secundária todas as quais têm efeitos durante a PCR (WONG; MEDRANO 2018).

3.2 Otimização da Técnica de Qpcr para Análise da Expressão Gênica: Concentração de Primers E De Amostra Inicial

Conforme Svec et al. (2015) a RT-qPCR é o método mais sensível para quantificar quantidades minuciosas de um RNAm devido à especificidade ampla faixa de quantificações sensibilidade e boa reprodutibilidade da técnica. Porém a otimização da reação é essencial para garantir a robustez precisão e confiabilidade dos ensaios (FERREIRA 2016) sendo essencial definir a concentração inicial de primers e concentração de amostra (cDNA) (RAYMAEKERS et al. 2009). Com base nisso tais parâmetros avaliados podem ser observados na Tabela 3.

Gene	Concentração de primer		Concentração de amostra inicial
	Sense	Antisense	
GAPDH	1250nM	1250nM	100ng
p53	625nM	1250nM	4ng
Bcl-2	1250nM	1250nM	20ng
FAS	1250nM	625nM	20ng
IL-10	1250nM	1250nM	100ng
TNF- α	1250nM	1250nM	100ng

Tabela 3. Concentração inicial de primer e amostra (cDNA) ideais para amplificação dos genes de interesse em qPCR.

Ademais foi possível otimizar a reação de qPCR no que se refere a concentração de primers e de amostra inicial para os genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS. Observa-se que a concentração ideal de primers sense e antisense variou conforme o gene de interesse sendo selecionadas aquelas em que o gene alvo apresentou menor valor de Cycle threshold ou ciclo limiar (Ct) e maior Δ RN sem a formação de dímeros de primers quando avaliada a curva de *melting* (FERREIRA 2016). Segundo Oliveira (2018) a diminuição da eficiência da amplificação acarreta a valores de Ct mais elevados.

A escolha dos primers com definição da quantidade a ser utilizada é essencial para o sucesso da reação (RAYMAEKERS et al. 2009) tendo em vista que os mesmos devem garantir uma eficiente amplificação dos genes de interesse (OLIVEIRA 2018).

A quantidade de amostra inicial (cDNA) com a qual se pode trabalhar em qPCR também variou conforme gene alvo com 100ng para o gene GAPDH 4ng para p53 0 8ng para p21 e 20ng para os genes Bcl-2 e FAS. As mesmas foram definidas com base nos perfis de amplificação que produziram curvas de amplificação específicas com o menor Ct ou seja maior eficiência de amplificação (RAYMAEKERS et al. 2009). Ademais a presença de um único pico analisado por meio da curva de *melting* mostrou que não houve amplificações inespecíficas e estruturas secundárias nos primers.

A análise da expressão de genes antitumorais e antiinflamatórios como o p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS é importante para avaliar se houve melhora em lesões intestinais cancerígenas após a administração de probióticos (PAIVA et al. 2016). Tendo em vista que alterações na expressão gênica das células com o acionamento de vias metabólicas distintas são características do câncer (MIRANDA 2016; FABRE et al. 2018).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliou-se que 31 3% (n=5) dos genes avaliados no presente estudo não foram amplificados no cDNA de ratos Wistar sintetizado. Destes 18 75% (n=3) ocorreu devido a ineficácia dos primers e 12 5% (n=2) foi decorrente do baixo número de transcritos desses genes indicando que os mesmos são pouco expressos no intestino das cobaias. Ademais

a temperatura ideal para anelamento para cada par de primers variou conforme o alvo estudado com faixa de 60 a 65°C onde a temperatura de 60°C foi ideal para a amplificação de 81,8% dos genes.

Foi possível otimizar a técnica de Real Time-PCR no que se refere a concentração de primers e de amostra inicial para os genes GAPDH p53 Bcl-2 IL-10 TNF- α e FAS do intestino de ratos Wistar suplementados com probióticos *Lactobacillus sp.* os quais possuem lesões cancerosas no cólon induzidas por 1,2-dimetilhidrazina.

5 | APOIO FINANCEIRO

Esta pesquisa teve apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq mediante Bolsa de pesquisa de Iniciação Científica - PIBIC.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq a Universidade do Oeste de Santa Catarina.

REFERÊNCIAS

ALMADA C. N. et al. **Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts.** Applied Microbiology and Biotechnology v. 99 n. 10 p. 4175-4199 2015.

ANDRADE E. H. B. **Análise do potencial probiótico e antioxidante de lactobacilos produtores de b-galactosidase.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Biotecnologia) – Universidade do Oeste de Santa Catarina Videira p. 1-72 mar. 2017.

BARATTO C. M. et al. **Molecular and phenotypic characterization of Lactobacillus curvatus isolated from handmade Brazilian salami.** African Journal of Biotechnology v. 11 p. 11724-11731 2012.

BARZ M. L. et al. **Probiotics as complementary treatment for metabolic disorders.** Diabetes & Metabolism Journal. Canadá v. 4 n. 39 p. 291 – 303 ago. 2015.

DENNIS K. L. et al. **Current status of interleukin-10 and regulatory T-cells in cancer.** Curr Opin Oncol s/L v. 25 n. 6 p. 637-645 nov./2013.

DRAGO L. **Probiotics and Colon Cancer.** Microorganisms v. 7 n. 3 p. 66 2019.

EXXTEND. **Qual a temperatura de anelamento dos primers para PCR?**. Disponível em: <https://www.exxtend.com.br/perguntas-frequentes>. Acesso em: 11 jul. 2020.

FABRE J. A. S. et al. **The Interleukin-17 Family of Cytokines in Breast Cancer.** International Journal of Molecular Sciences Paris v. 19 n. 1 p. 1-16 dez. 2018.

FERLAY J. et al. **Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018**. *European Journal of Cancer* v. 103 p. 356-387 2018.

FERREIRA G. G. **Avaliação in vitro de efeitos anti-inflamatórios de extratos de Pouteria torta (mart.) Radlk e Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade de Brasília 2016.

HENDLER R.; ZHANG Y. **Probiotics in the treatment of colorectal cancer**. *Medicines* v. 5 n. 3 p. 101 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer**. Rio de Janeiro RJ: Ministério da Saúde 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>. Acesso em: 15 junho 2020.

IRECTA-NÁJERA Cesar Antonio et al. **Protective effect of Lactobacillus casei on DMH-induced colon carcinogenesis in mice**. *Probiotics and antimicrobial proteins* v. 9 n. 2 p. 163-171 2017.

LEE J. Y. et al. **Effects of 12 weeks of probiotic supplementation on quality of life in colorectal cancer survivors: a double-blind randomized placebo-controlled trial**. *Digestive and Liver Disease* v. 46 n. 12 p. 1126-1132 2014.

MARTINS C. A. P. **Quantificação de DNA por PCR em Tempo Real em diferentes Amostras Forenses**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Forenses) - Universidade do Porto 2017.

MIRANDA D. C. de. **Avaliação da expressão gênica de tecidos intestinais neoplásicos de ratos tratados com dibenzotiofeno e naftaleno**. 2016. Dissertação (Pós graduação em Biotecnologia)- Universidade Federal de Ouro Preto MG Brasil 2016.

MOLSKA M.; REGUŁA J. **Potential Mechanisms of Probiotics Action in the Prevention and Treatment of Colorectal Cancer**. *Nutrients* v. 11 n. 10 p. 2453 2019.

NAKAYAMA M.; OSHIMA M. **Mutant p53 in colon cancer**. *Journal of molecular cell biology* v. 11 n. 4 p. 267-276 2019.

OLIVEIRA L. F. **Estudo de expressão gênica em pau-ferro: estratégias otimizadas para a detecção e análise de genes associados com tolerância à seca**. 2018. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí Teresina 2018.

PAIVA I. M. et al. **Lactobacillus kefirifaciens and Lactobacillus satsumensis isolated from Brazilian kefir grains produce alpha-glucans that are potentially suitable for food applications**. *LWT-Food Science and Technology* v. 72 p. 390-398 2016.

PECORINO L. **Molecular biology of cancer: mechanisms targets and therapeutics**. Oxford University Press USA 2016.

PERAZZOLI M. A. et al. **Gallic Acid and Dodecyl Gallate Prevents Carbon Tetrachloride-Induced Acute and Chronic Hepatotoxicity by Enhancing Hepatic Antioxidant Status and Increasing p53 Expression**. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* v. 40 p. 425-434 2017.

PLAZA-DIAZ J. et al. **Mechanisms of action of probiotics**. *Advances in Nutrition* v. 10 n. suppl_1 p. S49-S66 2019.

RANI M. et al. **Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 9783 Isolated from Rhizosphere of Chickpea Plant and Its Antagonism Towards *Rhizoctonia Solani* AG-7 Causing Root Rot in Cotton Crops.** *Advances in Environmental Biology* v. 8 n. 13 p. 879-884 2014.

RAYMAEKERS M. et al. **Checklist for optimization and validation of real-time PCR assays.** *Journal of clinical laboratory analysis* v. 23 n. 3 p. 145-151 2009.

RODRÍGUEZ-NOGALES A. et al. **The viability of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 is not essential to exert intestinal anti-inflammatory properties.** *Food & function* v. 6 n. 4 p. 1176-1184 2015.

SAMBROOK J.; RUSSEL D.W. **Molecular cloning.** A laboratory manual. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001.

SCHNEIDER K. **Aplicação de bactérias lácticas com ação antimicrobiana em queijo minas frescal.** Dissertação (Pós-graduação em Ciência e Biotecnologia) – Universidade do Oeste de Santa Catarina Videira p. 1-92 fev. 2016.

SILVA E. W. et al. **Mecanismos de citotoxicidade de chalconas isoladas e encapsuladas em nanopartículas lipídicas sobre uma linhagem celular de leucemia linfoblástica aguda e identificação de novos inibidores da proteína de resistência ABCG2.** 2013. Tese (Pós-graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina 2013.

STEINBERG R. S. et al. **Effect of intestinal colonisation by two *Lactobacillus* strains on the immune response of gnotobiotic mice.** *Beneficial microbes* v. 5 n. 4 p. 409-419 2014.

SVEC D. et al. **How good is a PCR efficiency estimate: Recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments.** *Biomolecular detection and quantification* v. 3 p. 9-16 2015.

SYED V. **TGF- β Signaling in Cancer.** *Journal of Cellular Biochemistry* v. 117 n. 1 p. 1279-1287 jan./2016.

TALARICO S. T. **Detecção e quantificação de bactérias anaeróbias na microbiota fecal de crianças de zero a 12 meses de idade.** 2012. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo. 2012.

URBANSKA A. M.; ZHANG X.; PRAKASH S. **Bioengineered colorectal cancer drugs: orally delivered anti-inflammatory agents.** *Cell biochemistry and biophysics* v. 72 n. 3 p. 757-769 2015.

WANG K. D. et al. **Inhibitory effect of vaginal *Lactobacillus* supernatants on cervical cancer cells.** *Probiotics and antimicrobial proteins* v. 10 n. 2 p. 236-242 2018.

WONG M. L.; MEDRANO J. F. **Real-time PCR for mRNA quantitation.** *Biotechniques* v. 39 n. 1 p. 75-85 2018.

World Health Organization - WHO. **Cancer.** 2019. Disponível em: <https://www.who.int/cancer/en/>. Acesso em: 15 junho 2020.

World Health Organization - WHO. **WHO report on cancer: setting priorities investing wisely and providing care for all.** 2020 Disponível em: <https://www.who.int/publications/item/who-report-on-cancer-setting-priorities-investing-wisely-and-providing-care-for-all>. Acesso em: 15 junho 2020.

XUE Y.; LUIS B. S.; LANE D. P. **Intratour heterogeneity of p53 expression; causes and consequences.** The Journal of pathology v. 249 n. 3 p. 274-285 2019.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Agrotóxico 62, 121

Antártica 127

Apocynaceae 96, 97, 98, 105, 107

Aprendizagem 7, 9, 10, 55, 56, 57, 60, 61, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 176

B

Biodigestão anaeróbia 5, 6, 33, 34, 35, 36, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 48

Biogás 33, 34, 35, 36, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 47, 48

Bioinvasão 96, 97, 98, 101, 103, 104, 105

C

Capoeira Manejada 178

Corpo Humano 5, 55, 58, 60

D

Densidade 65, 158, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 187, 188

Diabetes Mellitus 49, 50, 54, 153, 154, 155

E

Ecologia 14, 16, 105, 106, 127, 190, 193, 196

Ecologia de Estradas 196

Educação em saúde 5, 1, 3, 4, 9

Enfermagem 1, 9, 56, 156, 164, 176

Ensino de Biologia 12, 27, 28, 111, 166, 167, 170, 175, 177

Epistemologia 11, 12, 23

Escherichia coli 7, 7, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 147

Escola 1, 2, 3, 4, 5, 6, 27, 33, 47, 48, 61, 84, 109, 111, 113, 116, 119, 147, 166, 167, 168, 171, 172, 173, 175, 176, 177

Estereologia 62

F

Fabaceae 96, 97, 101, 106

Fatores de virulência 87

Fauna Silvestre Atropelada 190, 193

Formaldeído 7, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 82, 83, 84

H

Hipercolesterolemia 153, 155

Hiperplasia 62, 68, 69

I

Imunologia 5, 6, 29, 30, 31

Infecções relacionadas à assistência à saúde 152

interações moleculares 5, 7, 49, 51

Intoxicação alimentar 85

L

Liga Acadêmica 6, 29, 30, 31

M

Metformina 49, 50, 51, 52, 53, 54

Morfometria 7, 49, 62, 68

O

Oficina Didática 167

P

Pastagem 178, 181, 182, 184, 186, 187, 188

Pinípedes 127, 131

Prevenção 5, 6, 1, 5, 8, 9, 32, 104, 134, 152, 158, 164, 165

Proteína Bradford 120

R

Reprodução 15, 18, 62, 74, 82, 83, 116, 170

Rizipiscicultura 120, 121, 124

S

Sensibilidade antimicrobiana 9, 93, 145, 147, 148, 149, 150, 151

Síndrome Metabólica 5, 9, 153, 154, 155, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165

Síntese Estendida 11, 12, 13, 14, 18, 21, 23, 24, 25, 26

Sistema agroflorestal 178, 180, 184, 186

Sulfato de ferro 33, 34, 36, 37, 45

U

Unidade de Terapia Intensiva 145, 151, 152





V

Vinhaça 33, 34, 35, 36, 37, 40, 42, 43, 45, 46, 47, 48

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br