



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES DE ESTÁGIO

MARIANA PORTO

**INSTRUMENTAÇÃO NO LABORATÓRIO DE FITOMEDICAMENTOS,
FARMACOLOGIA E BIOTECNOLOGIA (FITOARMATEC) EM DOENÇAS
INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS**

BOTUCATU

2026

MARIANA PORTO

RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES DE ESTÁGIO

**INSTRUMENTAÇÃO NO LABORATÓRIO DE FITOMEDICAMENTOS,
FARMACOLOGIA E BIOTECNOLOGIA (FITOARMATEC) EM DOENÇAS
INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências de
Botucatu da Universidade Estadual
Paulista Julio de Mesquita Filho como
requisito parcial à obtenção de título de
Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Luiz Claudio Di Stasi

BOTUCATU

2026

P853i Porto, Mariana
Instrumentação no Laboratório de Fitomedicamentos,
Farmacologia e Biotecnologia (FitoFarmaTec) em
Doenças Inflamatórias Intestinais / Mariana Porto. --
Botucatu, 2026
21 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Luiz Claudio Di Stasi

1. Farmacologia. 2. Laboratórios. 3. Relatórios. I.

Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados
fornecidos pelo autor(a).

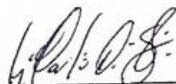
MARIANA PORTO

Instrumentação no Laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia (FitoFarmaTec) em Doenças Inflamatórias Intestinais

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a Universidade Estadual Paulista, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel, do curso de Graduação em Ciências Biológicas.

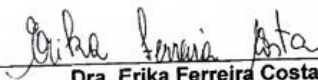
Botucatu, 6 de agosto de 2026.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Luiz Claudio Di Stasi (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (UNESP). Campus de Botucatu. Instituto de Biociências (IBB)



Dra. Erika Ferreira Costa

Universidade Estadual Paulista (UNESP). Campus de Botucatu. Instituto de Biociências (IBB)

“Não importa o quão devagar você vá, desde que não pare.”

Confúcio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Cláudia Porto e Denilson Porto, por todo o amor, paciência, confiança e incentivo mesmo nos momentos mais difíceis, e à minha irmã, Ana Carolina Porto, por todo apoio e por todos os conselhos que tornaram a graduação mais leve. Obrigada por acreditarem em mim, por enfrentarem as dificuldades ao meu lado e por não permitirem que eu desistisse.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Claudio Di Stasi, pela orientação, oportunidade, paciência e por todos os ensinamentos compartilhados.

Aos colegas e profissionais do Laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia (FitoFarmaTec), pelo acolhimento, disponibilidade e por compartilharem seus conhecimentos. Agradeço a todos por me ensinarem as técnicas e as análises desenvolvidas no laboratório e por contribuírem para a realização deste trabalho e para minha formação como bióloga.

Aos amigos de longa data e aos amigos que fiz em Botucatu, em especial à República Topa Tudo, por me acolher e por se tornar a casa que sempre posso chamar de lar.

Resumo

Trabalho de Conclusão de Curso realizado no Laboratório Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia (FitoFarmaTec) do Instituto de Biociências de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. O presente trabalho apresenta o relatório de atividades realizadas durante estágio em farmacologia, bem como o uso de técnicas e equipamentos de análise em doença inflamatória intestinal.

Abstract

Final Course Project carried out at the Phytopharmaceuticals, Pharmacology, and Biotechnology Laboratory (FitoFarmaTec) of the Institute of Biosciences in Botucatu, São Paulo State University Júlio de Mesquita Filho. This paper provides a report on the activities conducted during the pharmacology internship, along with the utilization of analytical techniques and equipment in inflammatory bowel disease research.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO AO LABORATÓRIO FITOFARMATEC
2. MANEJO DE ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO
3. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL
 - 3.1. Modelo TNBS
4. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *in vitro*
 - 4.1. Células CACO2
5. MÉTODO DE FERMENTAÇÃO *in vitro*
6. ANÁLISE DE MEDIADORES
 - 6.1. MPO
 - 6.2. GSH
7. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA
8. ANÁLISE DE BACTÉRIAS – EXPRESSÃO GÊNICA
9. ANÁLISE DE MEDIADORES DA INFLAMAÇÃO – EXPRESSÃO GÊNICA
10. REUNIÕES CIENTÍFICAS
11. CONCLUSÃO
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INTRODUÇÃO AO LABORATÓRIO FITOFARMATEC

A doença inflamatória intestinal engloba a retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC), sendo ambas caracterizadas por inflamação crônica no intestino. No laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia (FitoFarmaTec), liderado pelo professor Dr. Luiz Claudio Di Stasi e localizado no Instituto de Biociências de Botucatu (IBB - UNESP), são realizados experimentos que reproduzem as doenças crônicas não transmissíveis em ratos e camundongos, principalmente a doença inflamatória intestinal e a obesidade, utilizando produtos de alimentos funcionais e/ou outros produtos de origem vegetal e avaliando a eficácia destes produtos. Através da suplementação em dietas com compostos naturais, são analisadas as atividades antiinflamatória, moduladora da microbiota intestinal e antioxidante em modelos *in vivo* e *in vitro*. Além disso, são realizados ensaios com produtos naturais no controle da obesidade e com produtos dermo-cosméticos à base de extratos vegetais.

Dentro do laboratório, são realizadas análises macroscópicas, histológicas e bioquímicas, como glutatona e mieloperoxidase (MPO), e análises que utilizam as células Caco2, no intuito de avaliar viabilidade celular, ensaios com lipopolissacarídeos (LPS), expressão gênica de biomarcadores da inflamação, análise de microRNAs, produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e expressão de bactérias que estão relacionadas a doença inflamatória intestinal.

2. MANEJO DE ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

A experimentação animal é de extrema importância para o desenvolvimento de medicamentos, compreensão de doenças e eficácia de tratamentos com produtos naturais. São utilizados ratos Wistar e camundongos (linhagens C57BL/6J e BALB/c), devido à praticidade, manipulabilidade genética e algumas semelhanças importantes com o organismo humano. Os camundongos, diferentemente dos ratos Wistar, costumam ter um comportamento mais agressivo, territorialista e, às vezes, canibalista; quando este último ocorre, o animal dominante ataca os outros animais da mesma caixa, e é necessário separá-los até que a ferida cicatrize. Ratos Wistar possuem um comportamento mais tranquilo, e raramente atacam se forem manipulados da forma correta.

Antes de começar os experimentos, é necessário que os animais utilizados sejam manuseados e aclimatados ao ambiente e aos odores, o que facilitará o controle deles

posteriormente. As caixas devem ser limpas e trocadas semanalmente, bem como a maravalha, água e ração, sendo que estas duas últimas dependem de cada experimento. Para manusear os animais, é necessário pegá-los pela base da cauda ou contê-los ao agarrá-los com o indicador e o polegar perto da base da cabeça; dessa forma, o animal é segurado firmemente e permanece imóvel durante as administrações. Os animais são separados em diferentes grupos, como branco, controle, açaí 5% e 10%, cevada, banana nanica verde, inulina, mate e diferentes associações entre os tratamentos, dependendo de cada experimento.

A administração de substâncias é feita através de via oral (gavagem) após contê-los, ou por outras vias como intraperitoneal (em anestésias) ou intra-retal (como nos casos de administração de TNBS). Os tratamentos utilizados no laboratório são implementados na alimentação junto à ração dos animais, podendo ser micronizados ou não, ou dados aos animais via gavagem. Caso sejam implementados na ração, é necessário que ocorra, antes do experimento, a produção de ração na UNIPEX (Unidade de Pesquisa Experimental – localizada na UNESP Botucatu). Os produtos são misturados à ração, todos em forma de farelo, e, após a adição da quantidade de água necessária, são transformados em formato cilíndrico (pellet) por uma peletizadora. Após a peletização, a ração em formato de pellet precisa passar por processos de resfriamento e secagem para ser oferecida aos animais.

De acordo com cada pesquisa realizada, deve ser feita a pesagem de cada animal, assim como a pesagem da ração consumida e o consumo de água em cada caixa utilizada. São coletadas amostras de fezes dos animais para que, posteriormente, sejam realizadas análises da expressão gênica e análises da microbiota intestinal dos animais. Comportamentos diferentes, consumos de água e ração fora do normal, animais feridos ou mortos e alterações em órgãos coletados devem ser anotados.

Na última semana do experimento, os animais utilizados são mortos com dosagens de quetamina e xilazina administradas de acordo com o peso de cada animal, e posteriormente os órgãos (como fígado, testículos, coração, baço, cérebro, intestinos, gordura epididimal, músculos específicos, sangue) são coletados dependendo do intuito do experimento, pesados e analisados.

3. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL

3.1. Modelo TNBS

O TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzeno sulfônico) é comumente utilizado em modelos animais para induzir uma inflamação intestinal transmural, na qual todas as paredes do intestino são afetadas, mimetizando a doença inflamatória intestinal que ocorre em humanos. O TNBS é um ácido que atua como um hapteno e liga-se a proteínas teciduais do cólon, provocando uma resposta imune Th1 mediada por linfócitos T CD4+, além de neutrófilos e macrófagos, com subsequente produção de citocinas próinflamatórias, como IL-12 e TNF- α (SILVA et al., 2022), e resulta em inflamação no cólon dos animais. Durante o processo, há um aumento de leucócitos, além de provocar edemas e ulceração na mucosa intestinal.

De acordo com o Morris, et al. (1989), o TNBS é dissolvido em etanol, com doses e aplicações a depender do modelo animal e do grau de inflamação (aguda ou crônica), e aplicado via intra-retal. O álcool é utilizado devido à capacidade de danificar a barreira da mucosa, permitindo que o TNBS tenha acesso às paredes intestinais. Para a indução, após 12-24 horas de jejum e anestesia, utiliza-se um catéter com, aproximadamente, 2 mm de diâmetro, introduzindo-o cerca de 8 cm da base anal do animal; após a aplicação, mantém-se o animal de cabeça para baixo para evitar o refluxo do TNBS. É um modelo amplamente utilizado atualmente devido ao custo acessível, duração curta e à capacidade de avaliar efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes de compostos químicos e naturais na microbiota intestinal.

O TNBS tem a capacidade de induzir tanto os estágios agudos quanto crônicos da inflamação, a depender das concentrações de TNBS ou de administrações seguidas (ANTONIOU et al., 2016).

4. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *in vitro*

4.1. Células Caco2

As células Caco2 derivam de uma linhagem de adenocarcinoma de cólon humano e, quando cultivadas em condições adequadas por aproximadamente 21 dias, se diferenciam espontaneamente em células com características morfológicas e funcionais semelhantes às dos enterócitos. Devido a isso, são comumente utilizadas, em modelos *in vitro*, para estudar atividades anti-inflamatórias e avaliar a integridade da barreira epitelial intestinal, mecanismos de toxicidade e processos inflamatórios, reproduzindo a interação entre os sistemas imunológico e gastrointestinal. Ao serem expostas a agentes próinflamatórios, como LPS, TNF- α , IL-1 β e IFN- γ , as células Caco2 aumentam a

produção de mediadores inflamatórios, reduzem a integridade da barreira e expressam genes relacionados às vias inflamatórias (como NF- κ B), simulando características da doença inflamatória intestinal (VAN DE WALLE et al., 2010).

Para serem utilizadas como células semelhantes aos enterócitos, é necessário que ocorra o cultivo adequado das Caco2. As células são primeiramente descongeladas, plaqueadas em meio DMEM e mantidas em uma incubadora a 37° C em 5% de CO₂. Ao atingirem alta confluência, entre 70-80%, as células são tripsinizadas, ou seja, o meio é removido com uma pipeta sorológica descartável acoplada à bomba de vácuo e lavado com PBS, com posterior adição de tripsina-EDTA 0,25%; a solução de tripsina é utilizada porque digere e cliva as proteínas de adesão das células. A garrafa de cultivo deve ser incubada por 15 minutos e, em seguida, é adicionado o soro fetal bovino, interrompendo a ação da tripsina. O conteúdo da garrafa de cultivo é passado para um tubo falcon e este é centrifugado a 1.500 rpm por 5 minutos, com posterior eliminação do sobrenadante. O botão celular é ressuspensionado e homogeneizado e, em seguida, mistura-se ao reagente Trypan Blue para realizar a contagem das células viáveis em microscópio. O Trypan Blue penetra a membrana das células mortas, corando-as e diferenciando-as das células vivas, as quais estarão transparentes, e é usado na concentração de 1% em PBS. As células viáveis são plaqueadas e mantidas na estufa por 24 h para crescimento e aderência à placa.

Após a confluência e o período de aproximadamente 21 dias, com o meio trocado a cada 2-3 dias, as células diferenciam-se espontaneamente, possuindo características dos enterócitos. Posteriormente, as células Caco2 são expostas a agentes inflamatórios e submetidas aos tratamentos de interesse utilizados no laboratório FitoFarmaTec.

5. MÉTODO DE FERMENTAÇÃO *in vitro*

A fermentação *in vitro* é utilizada com o intuito de simular o meio intestinal para entender como microrganismos presentes na microbiota intestinal fermentam substratos e como funciona a posterior produção de metabólitos como os ácidos graxos de cadeia curta, mais especificamente butirato, propionato e acetato. No laboratório FitoFarmaTec, a técnica de fermentação *in vitro* utilizada é do tipo “batch” e visa reproduzir o ambiente

intestinal, contendo componentes próprios do intestino, como líquidos, enzimas e pH, além de simular um meio anaeróbico.

Para a realização da técnica, é necessário que haja a coleta de fezes, com posterior separação de 2 gramas de fezes para tubos Falcon de 50 ml e homogeneização de cada amostra em 10 ml de solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) em uma atmosfera de argônio. O NaHCO_3 é utilizado como um alcalinizador para que o pH do meio seja semelhante ao pH do intestino, enquanto o argônio é utilizado com o intuito de simular o ambiente anaeróbico intestinal. Em seguida, são adicionados às amostras os produtos de interesse liofilizados e em concentração de mg/ml. Após a adição dos produtos, os tubos Falcon são saturados com argônio e vedados com filme plástico; além das amostras com produtos, também são fermentados tubos Falcon controle, contendo apenas fezes e NaHCO_3 , sem nenhum tratamento.

Os tubos Falcon são mais uma vez homogeneizados em vórtex por um minuto e, sob temperatura de 37 °C, são mantidos por um período de 24 h, protegidos de luz, em agitador termostático com agitação constante de 150 rpm, assim como o processo de peristaltismo que ocorre no meio intestinal. As amostras são replicadas em triplicata, possuindo cópias para posteriores análises, como ácidos graxos de cadeia curta e análise de bactérias (MELLO, 2024).

6. ANÁLISE DE MEDIADORES

6.1. MPO

A infiltração de neutrófilos, característica da doença inflamatória intestinal, é uma resposta do sistema imune a um estímulo inflamatório com o intuito de combater patógenos e outros agentes agressores. No entanto, os neutrófilos infiltrados, ao entrarem em contato com microrganismos invasores, geram espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo contribuir para a lesão na mucosa intestinal. A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima encontrada em neutrófilos e catalisa reações de oxidação dependentes de peróxido de hidrogênio, gerando oxidantes altamente reativos que participam das respostas inflamatórias. Dessa forma, a atividade da MPO no intestino é avaliada com o intuito de quantificar a inflamação local (Krawisz et al., 1984).

Para realizar a análise de MPO, primeiramente as tiras do cólon dos animais, retiradas e separadas no dia da morte e coleta de órgãos, são pesadas após serem descongeladas a 37 °C e misturadas ao tampão HTAB (brometo de hexadeciltrimetilamônio) em uma proporção de 20 vezes o peso da tira de tampão HTAB; em seguida, as tiras são homogeneizadas no Precellys. Retira-se, então, 1 ml da amostra e sonicanização por 10 segundos. A amostra é submetida a um triplo congelamento e, posteriormente, centrifugada a 8.300 rpm por 10 minutos a 4 °C. Para realizar a curva padrão, é feita uma diluição seriada da enzima peroxidase e, para a placa, utiliza-se 50 µL da amostra e 150 µL de tampão de reação. A placa é lida em um espectrofotômetro de placas para finalizar a análise.

6.2. GSH

A glutathiona (GSH) representa o principal agente antioxidante não enzimático presente na mucosa gastrointestinal, protegendo-a do estresse oxidativo. No contexto da doença inflamatória intestinal, ocorre aumento da produção de radicais livres e a diminuição de espécies antioxidantes (Loguercio et al., 2003). Dessa forma, a atividade e os níveis de glutathiona no tecido colônico são avaliados com o intuito de melhorar a inflamação intestinal.

Para realizar a análise de glutathiona, primeiramente as tiras do cólon dos animais são pesadas e homogeneizadas em 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) no Precellys; por ser um ácido potente, o TCA pode causar a explosão dos tubos Eppendorf quando homogeneizados no Precellys, logo é necessário que os tubos sejam vedados firmemente com dois Parafilms. O TCA é utilizado porque atua desnaturando e precipitando macromoléculas e proteínas do cólon, além de inativar enzimas do cólon que poderiam degradar a glutathiona. A proporção de adição do TCA para cada amostra é de até 20 vezes o peso da tira. As amostras devem, então, ser centrifugadas por 10 minutos a 4 °C em 4.000 rpm e, depois, devem ser novamente centrifugadas por 5 minutos a 4 °C em 10.000 rpm.

A curva padrão é realizada através de uma diluição seriada utilizando-se 15,4 mg de glutathiona e 1 ml de TCA 5%; após diluir a solução em um falcon, adicionam-se mais 9 ml de TCA 5%. Por fim, na placa utilizam-se 20 µL de PBS para a amostra do grupo branco; para os demais grupos, adicionam-se 20 µL de cada ponto da curva, 140 µL de NADPH, 5 µL de PBS e 20 µL de DTNB; as amostras são incubadas por 5 minutos a 30

°C e adicionam-se 15 µL de glutathione redutase. Por fim, a placa é lida em um espectrofotômetro de placas para finalizar a análise.

7. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA

No trato gastrointestinal existem aproximadamente 100 trilhões de microrganismos, compostos por bactérias, fungos, vírus e arqueias; estes microrganismos são responsáveis pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs). Os AGCCs são ácidos orgânicos compostos por menos de seis átomos de carbono, como acetato, butirato e propionato, e as bactérias intestinais sintetizam estes ácidos através da fermentação de fibras alimentares não digeríveis e de amido resistente no intestino. Dentre estes três, o butirato é o mais importante para a saúde intestinal, sendo a principal fonte de energia dos colonócitos (SHIN et al., 2023).

A disbiose intestinal, característica da doença inflamatória intestinal, altera a composição e a função destes microrganismos produtores de AGCCs ao diminuir a quantidade de substrato disponível no intestino do hospedeiro. A quantificação de AGCCs, no laboratório FitoFarmaTec, avalia o potencial dos AGCCs de modular a microbiota e de fortalecer a barreira intestinal, e é realizada através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Um estudo realizado em 2017 no mesmo laboratório demonstrou que o processo inflamatório induzido por TNBS produziu menores concentrações de AGCCs, e a intervenção dietética com farinha de *Musa* sp. AAA aumentou as concentrações, principalmente de butirato e propionato, modulando o estresse oxidativo e a produção destes ácidos no cólon (Almeida-Junior et al., 2017).

Para realizar a análise de AGCCs, é adicionado 1 ml de ácido ortofosfórico 0,5% em 1 ml de cada uma das amostras de homogeneizados fecais fermentados, com posterior agitação em vórtex por 1 minuto. As fezes frescas não fermentadas são separadas em 200 mg, eluídas em 2 ml de ácido ortofosfórico 0,5% e submetidas à agitação em vórtex por 1 minuto. O ácido ortofosfórico transformará as amostras em soluções heterofásicas, que facilitarão a detecção dos AGCCs. Em seguida, as preparações homogeneizadas são transferidas para tubos Eppendorf e centrifugadas a 17950 x g por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante é retirado e misturado ao acetato de etila na proporção de 1:1, com posterior agitação por 1 minuto e centrifugação. Este segundo sobrenadante é colocado em vials de 1,5 ml, com posterior adição de ácido octanóico em uma concentração final de 0,755

mg/ml. Por último, é injetado em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa para análise dos AGCCs (MELLO, 2024).

8. ANÁLISE DE BACTÉRIAS POR EXPRESSÃO GÊNICA

A microbiota intestinal é composta por aproximadamente 100 trilhões de microrganismos e, em relação às demais partes do corpo, contém a maior diversidade microbiana, incluindo fungos, vírus, bactérias e arqueias. Dentre as bactérias intestinais, mais de 90% pertencem aos filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacterias* e *Actinobacteria*, e podem ser diferenciadas em bactérias benéficas ou oportunistas. O desequilíbrio entre estas bactérias benéficas e oportunistas causa disbiose e afeta diretamente o hospedeiro (Quaglio; Castilho; Di Stasi, 2015). Em processos inflamatórios e após tratamentos específicos, a função, o comportamento e a quantidade destas bactérias são alterados. Dessa forma, no contexto das doenças inflamatórias intestinais, a análise de bactérias é feita através da expressão gênica a partir das fezes coletadas dos animais dos grupos branco, controle e tratados, e tem como objetivo avaliar a atividade bacteriana na microbiota intestinal. Para a análise, após o processo de fermentação, o RNA total da amostra é extraído e convertido em DNA complementar (cDNA) e, em seguida, é feito qPCR em genes bacterianos específicos.

9. ANÁLISE DE MEDIADORES DA INFLAMAÇÃO POR EXPRESSÃO GÊNICA

A expressão gênica de mediadores da inflamação, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, é feita através da técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa com transcrição reversa (RT-qPCR). Para realizá-la, o RNA total das células é extraído e purificado, seguindo as etapas do kit “PureLink RNA Mini Kit” disponível no laboratório FitoFarmaTec; em seguida, o RNA obtido é convertido em DNA complementar (cDNA) através da transcrição reversa. Este cDNA é utilizado para a amplificação e quantificação de genes específicos, de acordo com primers escolhidos com base nas sequências dos animais utilizados no experimento. A diminuição de genes específicos que estão envolvidos na resposta inflamatória após os tratamentos utilizados indica que houve atividade anti-inflamatória.

10. REUNIÕES CIENTÍFICAS

Além dos experimentos e pesquisas realizados diariamente, são feitas reuniões com todos os integrantes do laboratório FitoFarmaTec todas as terças e quintas-feiras às 10h da manhã. Durante estas reuniões, são apresentados os experimentos de cada integrante – estagiário, mestrando ou doutorando – e os resultados de cada experimento, com posterior discussão acerca dos temas; dessa forma, é possível que todos acompanhem o andamento das pesquisas. Além disso, são feitas análises dos dados de cada experimento e levantamento de ideias, dúvidas e sugestões. É necessário que os integrantes do laboratório tenham um caderno específico para anotar os acontecimentos do laboratório, desde pesquisas e protocolos aos temas das reuniões.

11. CONCLUSÃO

O trabalho de conclusão de curso como instrumentação proporcionou a oportunidade de conhecer as atividades e os diversos protocolos experimentais desenvolvidos no laboratório FitoFarmaTec. A descrição e os estudos destes processos permitiram entender como funcionam as técnicas utilizadas, ampliando o conhecimento acerca da pesquisa científica voltada para a doença inflamatória intestinal.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONIOU, E.; MARGONIS, G. A.; ANGELOU, A. et al. The TNBS-induced colitis animal model: an overview. *Annals of Medicine and Surgery*, London, v. 11, p. 9–15, ago. 2016.
- ARDITE, E., SANS, M., PANES, J. et al. Replenishment of Glutathione Levels Improves Mucosal Function in Experimental Acute Colitis. *Laboratory Investigation*, v. 80, p. 735–744, mai. 2000. DOI: 10.1038/labinvest.3780077
- BELAID, M.; JAVOROVIC, J.; PASTORIN, G.; VILASALIU, D. Development of an in vitro co-culture model using Caco-2 and J774A.1 cells to mimic intestinal inflammation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 197, art. 114243, abr. 2024. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114243
- CHEN, W. et al. Fermentation patterns of prebiotics fructooligosaccharides-SCFA esters inoculated with fecal microbiota from ulcerative colitis patients. *Food and Chemical Toxicology*, v. 180, art. 114009, out. 2023. DOI: 10.1016/j.fct.2023.114009
- GUAN, G; LAN, S. Implications of antioxidant systems in inflammatory bowel disease. *BioMed Research International*, v. 2018, art. 1290179, mai. 2018. DOI: 10.1155/2018/1290179
- MELLO, F. P. F. *Fermentação in vitro no mapeamento de atividade prebiótica em produtos de origem vegetal*. Tese – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2024.
- MORRIS, G. P. et al. Hapten-Induced Model of Chronic Inflammation and Ulceration in the Rat Colon. *Gastroenterology*, v. 96, n. 3, p. 795–803, mar. 1989.
- MUKHOPADHYA, I.; LOUIS, P. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and their role in human health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, v. 23, n. 10, p. 635– 651, out. 2025. DOI: 10.1038/s41579-025-01183-w
- PAUL, M. B.; SCHLIEF, M.; DAHER, H.; BRAEUNING, A.; SIEG, H.; BÖHMERT, L. A human Caco-2-based co-culture model of the inflamed intestinal mucosa for particle toxicity studies. *In Vitro Models*, v. 2, p. 43–64, mar. 2023. DOI: 10.1007/s44164-02300047-y
- QUAGLIO, A. E. V.; CASTILHO, A. C. S.; DI STASI, L. C. Evidência experimental da expressão gênica da quinase MAP na resposta de medicamentos anti-inflamatórios intestinais. *Life Sciences*, v. 136, p. 60–66, 2015. *procurar mês
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, v. 25, n. 1, p. 192-205, 1968. DOI: 10.1016/0003-2697(68)90092-4

SHIN, Y.; HAN, S.; KWON, J. et al. Roles of short-chain fatty acids in inflammatory bowel disease. *Nutrients*, v. 15, n. 20, art. 4466, out. 2023.

SILVA, I. et al. Chronic Experimental Model of TNBS-Induced Colitis to Study Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 9, abr. 2022.

VAN DE WALLE, J.; HENDRICKX, A.; ROMIER, B. et al. Inflammatory parameters in Caco-2 cells: effect of stimuli nature, concentration, combination and cell differentiation. *Toxicology in Vitro*, v. 24, n. 5, p. 1441–1449, ago. 2010. DOI: 10.1016/j.tiv.2010.04.002

ZHENG, L. A chronic ulcerative colitis model in rats. *World Journal of Gastroenterology*, v. 6, n. 1, p. 150, jan. 2000.