

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO CERRADO
PATROCÍNIO
Graduação em Ciências Biológicas

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TUMORAL DO EXTRATO
DICLOROMETÂNICO DE *Chenopodium ambrosioides* EM TUMORES
EPITELIAIS EM *Drosophila melanogaster***

Karolline Estefânia Silva Cardoso

PATROCÍNIO – MG
2018

KAROLLINE ESTEFÂNIA SILVA CARDOSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TUMORAL DO EXTRATO
DICLOROMETÂNICO DE *Chenopodium ambrosioides* EM TUMORES
EPITELIAIS EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como exigência parcial para obtenção do grau
de Bacharelado em Ciências Biológicas, pelo
Centro Universitário do Cerrado Patrocínio.

Orientadora: Prof.^a Dra. Lilian Cristina
Barbosa.

**PATROCÍNIO
2018**



Centro Universitário do Cerrado Patrocínio
Curso de Graduação em Ciências Biológicas

Trabalho de conclusão de curso intitulado “*Avaliação da atividade tumoral do extrato Diclorometânico de Chenopodium ambrosioides em tumores epiteliais em Drosophila Melanogaster*”, de autoria da graduanda Karolline Estefânia Silva Cardoso, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof^ª. Dra. Lilian Cristina Barbosa.

Instituição: UNICERP

Prof^ª. Dra. Rafaela Cabral Marinho

Instituição: UNICERP

Prof^ª. Me. Queroanne Isabel Xavier Ferreira

Instituição: UNICERP

Data de aprovação: 10/12/2018

Patrocínio, 10 de Dezembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por nunca ter me desamparado durante essa longa jornada e por me permitir chegar até aqui.

À minha mãe que recebi o dom mais precioso: a vida. Que foi amiga e companheira, sempre me incentivando a progredir. Abdicou seus sonhos em favor dos meus, minha eterna gratidão.

À minha Avó, meu eterno amor, na certeza de que essa caminhada seria mais rica e alegre com a sua presença, terei a certeza de que onde estiver, estará repartindo comigo a alegria desse momento.

Agradeço também a minha orientadora Prof^a. Dr^a. Lilian Cristina Barbosa pela oportunidade dada a participar dessa pesquisa e por ter me auxiliado durante a execução desse trabalho.

Quero agradecer também a Prof^a. Dr^a. Rafaela Cabral Marinho por ter ajudado na implantação dessa pesquisa de tamanha importância no Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio.

À Tamires pela ministração do mini curso e palestra sobre as *Drosophilas*, que foi de grande importância para realização da pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na realização dessa pesquisa.

RESUMO

Introdução: A utilização de plantas como recurso terapêutico é uma prática bastante antiga, e desde então tem sido alvo de muitos estudos. Entre elas a *Chenopodium ambrosioides*, conhecida popularmente como erva-de-Santa-Maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças. *C. ambrosioides* apresenta uma ampla distribuição pelo mundo, utilizada em muitos lugares como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, antirreumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro. No entanto é necessário ressaltar o risco do uso indiscriminado de plantas popularmente conhecidas como medicinais devido a vários compostos presentes em seus extratos dos quais muitos deles tem ação desconhecida. Muitas dessas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos a essa molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer. **Objetivo:** Diante do exposto este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral do extrato Diclorometânico da *C. ambrosioides*, (EX.DCL) pelo teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophila melanogaster*. **Material e métodos:** O teste utilizado foi o teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophilas melanogaster*. Larvas de *D. melanogaster* de 3º estágio, descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹* e machos *mwh/mwh* foram expostas ao extrato Diclorometânico da *C. ambrosioides* nas concentrações 0,50%; 0,25%; 0,125% e 0,0625%. O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura. **Resultados:** Os resultados obtidos com o teste *wts*, para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*, e em observação à frequência do aparecimento de tumor em várias partes do corpo das moscas, mostrou um resultado negativo para ação carcinogênica do extrato em todas as concentrações utilizadas. No entanto foi observado que nas concentrações 1%, 0,5% e 0,25% houve uma redução no desenvolvimento das *Drosophilas* nos dois estágios de pulpa e adulto quando comparadas ao controle negativo. **Conclusão** Nas condições experimentais utilizadas os EX.DCL não apresentou efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações utilizadas. Em relação à sua influência no desenvolvimento dos estágios da *Drosophila*, mais estudos são necessários para melhor elucidar o seu efeito repelente.

Palavras-chave: *Chenopodium ambrosioides*, carcinogenicidade; *Drosophila melanogaster*; tumor.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 DESENVOLVIMENTO	14
3.1 INTRODUÇÃO	15
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.2.1 Extrato Diclorometânico da <i>C. ambrosioides</i>	17
3.2.2.1 Teste de detecção de tumor epitelial em <i>Drosophila melanogaster</i>	17
3.2.3 Linhagens de <i>Drosophila melanogaster</i>	17
3.2.4 Cruzamento	18
3.2.5 Tratamento	19
3.2.6 Análise do material biológico	19
3.2.7 Infraestrutura	19
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
3.4. CONCLUSÕES	22
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
5 CONCLUSÕES	28
6 REFERÊNCIAS	29

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fenótipo dos pelos (setas) no corpo da mosca das diferentes progênes.....18
- Figura 2:** Taxa de sobrevivência da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*,
Água - Controle negativo (CN); extrato Diclorometânico de *C. ambrosioides*.....22

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com diferentes concentrações de EX.DCL.
.....20

LISTA DE SIGLAS

DNA	Ácido desoxirribonucléico
EX.DCL	Extrato Diclorometânico
CN	Controle Negativo
WTS	Warts
MWH	Multiple wing hairs
S.A.	Sociedade anônima
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
INCA	Instituto Nacional de Câncer

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
1°	Primeiro (a)
2°	Segundo (a)
3°	Terceiro (a)
<	Maior
ml	Mililitro
kg	Quilograma
g	Gramma
h	Horas
cm	Centímetros
mm	Milímetros
±	Mais ou menos

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como recurso terapêutico é uma prática bastante antiga, e desde então tem sido alvo de muitos estudos (ARUMUGAM et al., 2013). Entre elas a *Chenopodium ambrosioides* (*C. ambrosioides*), conhecida popularmente como erva-de-santa-maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças.

C. ambrosioides apresenta uma ampla distribuição pelo mundo, utilizada em muitos lugares como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, antirreumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro (LORENZI et al., 2002). Rêgo (2008) descreve a utilização desta espécie como anti-inflamatório, no tratamento das afecções do fígado, vermífugo, gripes e fraturas e antiparasitária.

Segundo PACIORNIK (1990) apresenta hábito herbáceo, com até um metro de altura, caule piloso e sulcado, folhas inteiras e simples, sendo as superiores sésseis e as inferiores pecioladas, de dimensões variadas e providas de pêlos.

Apesar dessa intensa utilização popular a espécie foi retirada da nossa Farmacopeia devido a sua toxicidade, podendo causar convulsões, irritação de mucosas, vômitos, vertigens, dores de cabeça, problemas renais e hepáticos e surdez temporária (PACIORNIK, 1990; VIEIRA et al., 2011).

Essa toxidez, dependente da dose, como na maioria das drogas, é causada por um monoterpeneo constituinte de seu óleo essencial denominado ascaridol, cujo teor no óleo nunca é inferior a 60% (SOUSA et al., 1991).

Sendo assim, é necessário ressaltar o risco do uso indiscriminado de plantas popularmente conhecidas como medicinais devido a vários compostos presentes em seus extratos dos quais muitos deles tem ação desconhecida.

Ainda segundo a literatura muitas substâncias podem interagir com a molécula de DNA induzindo danos na molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer. O câncer pode ser definido como um conjunto de doenças que apresentam o aspecto em comum de crescimento desordenado, que desencadeia na formação de uma massa de células denominada neoplasia ou tumor (ALVES, 2012).

NEVES (2002) declara que o câncer apresenta uma etiologia muito complicada e sabe-se que diversos aspectos estão associados ao desenvolvimento da grande parte dos tumores malignos. O câncer provém de mutações genéticas onde as células passam a adquirir capacidades especiais, como descontrole na reprodução celular, evasão de apoptose, invasão de outros tecidos e angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) (MARTINEZ et al., 2006).

Os proto-oncôgenos e os genes supressores de tumor são de modo abrangente os principais grupos de genes causadores de modificações genéticas relacionadas ao aparecimento de um tumor (BRASIL, 2004). Quando acontecem mutações os proto-oncôgenos se tornam oncogênese, que são carcinógenos e atuam na reprodução celular intensa. Os genes supressores de tumor, que funcionam como “freio” da multiplicação celular irão ficar inertes por meio da mutação, o que acarretará na perda da sua funcionalidade deixando a célula ausente de proteção, levando assim ao descontrole do ciclo celular (RIVOIRE, 2001).

Vários testes são utilizados para avaliar a atividade tumoral das substâncias. Entre os mais recomendados é o teste em tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*.

A *Drosophila melanogaster* é um organismo eucarionte, e a partir de suas características peculiares seu pequeno tamanho, facilidade de manutenção em laboratório, possuir grande progênie, curto tempo de geração, baixo número de cromossomos e apresentar reações metabólicas semelhantes às dos mamíferos, mostra-se ideal para os testes de detecção de agentes genotóxicos e de antígenotóxicos (GRAF, 2006).

Além dessas características, apresenta um excelente banco de informações sobre mutações, ecologia e comportamento (FONSECA; PEREIRA, 2004).

A conservação evolutiva de genes supressores de tumor entre *Drosophila* e mamíferos tem estimulado estudos na indução e no desenvolvimento de tumores em *Drosophila*, estudos estes que podem contribuir diretamente para o entendimento de cânceres em seres humanos. Em adição, numerosos proto-oncogenes e supressores de tumores de mamíferos são conhecidos em *Drosophila* (EEKEN et al., 2002).

Testes bem definidos para verificação da mutagenicidade de agentes físicos, químicos e naturais são desenvolvidos em *Drosophila melanogaster*, os quais são capazes de medir um amplo espectro de danos genéticos induzidos em células germinativas, assim como em células somáticas (WÜRGLER et al., 1984 apud FARIA, 2006).

Sendo assim, a utilização desses organismos em estudos que avaliam o potencial mutagênico das substâncias presentes nos extratos de plantas medicinais são de extrema importância.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade tumoral do extrato Diclorometânico da erva-de-Santa-Maria (EX.DCL) pelo teste de detecção de clones de tumor (*Warts*) em *Drosophila melanogaster*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações dos extratos Diclorometânico da erva-de-Santa-Maria na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*;
- Avaliar a frequência de tumor nos diversos compartimentos da mosca (olhos, cabeça, asas, corpo, pernas e halteres), expostas à diferentes concentrações do EX.DCL comparando os dados com moscas expostas ao controle negativo (água ultrapura).
- Inferir dados sobre o comportamento dos compostos presentes no extrato.

3 DESENVOLVIMENTO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TUMORAL DO EXTRATO DICLOROMETÂNICO DA ERVA-DE-SANTA-MARIA EM TUMORES EPITELIAIS EM *Drosophila melanogaster*

LILIAN CRISTINA BARBOSA¹
KAROLLINE ESTEFÂNIA SILVA CARDOSO²

RESUMO

Introdução: A utilização de plantas como recurso terapêutico é uma prática bastante antiga, e desde então tem sido alvo de muitos estudos. Entre elas a *Chenopodium ambrosioides*, conhecida popularmente como erva-de-Santa-Maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças. *C. ambrosioides* apresenta uma ampla distribuição pelo mundo, utilizada em muitos lugares como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, antirreumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro. No entanto é necessário ressaltar o risco do uso indiscriminado de plantas popularmente conhecidas como medicinais devido a vários compostos presentes em seus extratos dos quais muitos deles têm ação desconhecida. Muitas dessas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos a essa molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer. **Objetivo:** Diante do exposto este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral do extrato Diclorometânico da *C. ambrosioides*, (EX.DCL) pelo teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophila melanogaster*. **Material e métodos:** O teste utilizado foi o teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophilas melanogaster*. Larvas de *D. melanogaster* de 3º estágio, descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹* e machos *mwh/mwh* foram expostas ao extrato Diclorometânico da *C. ambrosioides* nas concentrações 0,50%; 0,25%; 0,125% e 0,0625%. O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura. **Resultados:** Os resultados obtidos com o teste *wts*, para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*, e em observação à frequência do aparecimento de tumor em várias partes do corpo das moscas, mostrou um resultado negativo para ação carcinogênica do extrato em todas as concentrações utilizadas. No entanto foi observado que nas concentrações 1%, 0,5% e 0,25% houve uma redução no desenvolvimento das *Drosophilas* nos dois estágios de pupa e adulto quando comparadas ao controle negativo. **Conclusão:** Nas condições experimentais utilizadas os EX.DCL não apresentou efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações utilizadas. Em relação à sua influência no desenvolvimento dos estágios da *Drosophila*, mais estudos são necessários para melhor elucidar

¹ Professora orientadora. Doutora e docente do Curso de Ciências Biológicas, Medicina Veterinária e outros cursos de graduação do UNICERP: lilian@unicerp.edu.br.

² Discente do curso de Ciências Biológicas do UNICERP;

o seu efeito repelente.

Palavras-chave: *Chenopodium ambrosioides*, carcinogenicidade; *Drosophila melanogaster*; tumor.

ABSTRACT

Introduction: The use of plants as a therapeutic resource is a very ancient practice, and has since been the subject of many studies. Including the *Chenopodium ambrosioides*, popularly known as grass-de-Santa-Maria, it has been widely used by the population for the treatment of various diseases. *C. ambrosioides* has a wide distribution throughout the world, used in many places as febrifuge, antispasmodic, tonic, digestive aid, antirheumatic and antipyretic, being considered by the World Health Organization as one of the species most commonly used among traditional medicines worldwide. However it is necessary to highlight the risk of indiscriminate use of plants popularly known as medicinal due to various compounds present in its extracts of which many of them have unknown action. Many of these substances can act with the DNA molecule by inducing damage to this molecule, leading to uncontrolled cell cycle, thus inducing the emergence of cancer. **Objective:** In the above this study was to evaluate tumor activity of the dichloromethanic extract of *Chenopodium ambrosioides* (EX.DCL) the tumor clones detection test (Warts) in *Drosophila melanogaster*. **Material and methods:** The test used was the detecção tumor clones test (Warts) in *Drosophila melanogaster*. *D. melanogaster* larvae of the 3rd stage, crossing the progeny of virgin females wts / TM3, Sb1 and male MWh / MWh were exposed to the dichloromethanic extract of *Chenopodium ambrosioides* at concentrations of 0.50%; 0.25%; 0.125% and 0.0625%. The wts test was accompanied by negative control, ultrapure water. **Results:** The results obtained with the wts test for detection of epithelial tumor cells in somatic *D. melanogaster*, and observing the frequency of tumor occurrence in many parts of the body of the flies showed a negative result for carcinogenic action of the extract on all concentrações used. However it was observed in 1%, 0.5% and 0.25% concentrations there was a reduction in the development of *Drosophila* in the two stages of pupae and adults compared to the negative control. **Conclusion:** In the experimental conditions used had no effect EX.DCL carcinogenic in any of the concentrations used. In relation to their influence on the development of the *Drosophila* stages, more studies are needed to further elucidate its repellent effect.

Keywords: *Chenopodium ambrosioides*, carcinogenicity; *Drosophila melanogaster*; tumor.

3.1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais representam fator de grande importância para a manutenção das condições de saúde das pessoas (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006).

Algumas características desejáveis das plantas medicinais são sua eficácia, baixo risco de uso, assim como reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Entretanto, devem ser levados em conta alguns pontos para formulação dos fitoterápicos, necessitando do trabalho multidisciplinar, para que a espécie vegetal seja selecionada corretamente, o cultivo seja

adequado, a avaliação dos teores dos princípios ativos seja feita e para que a manipulação e a aplicação na clínica médica ocorram (ARMOUS; SANTOS; BEINNER, 2005).

Os extratos de plantas medicinais tem sido muito utilizados por vários pesquisadores com o objetivo de avaliar em quais circunstâncias os compostos presentes nos extratos podem trazer riscos ou benefícios à saúde humana.

Segundo a literatura várias substâncias presentes nos extratos de plantas medicinais podem interagir com a molécula de DNA, causando danos a essa molécula, sendo por isso chamadas de substâncias mutagênicas.

Substâncias mutagênicas são aquelas que tem o potencial de danificar a molécula de DNA, causando mutações em sua estrutura, podendo causar vários tipos de doenças entre elas o câncer.

As mutações podem afetar genes necessários para a sobrevivência das células ou genes envolvidos no controle da multiplicação celular (SANTOS, 2006). No último caso, essa alteração pode levar a um descontrole na proliferação de células, com o consequente aparecimento de processos cancerígenos (HIB; ROBERTIS, 1998).

NEVES (2002) declara que o câncer apresenta uma etiologia muito complicada e sabe-se que diversos aspectos estão associados ao desenvolvimento da grande parte dos tumores malignos. O câncer provém de mutações genéticas onde as células passam a adquirir capacidades especiais, como descontrole na reprodução celular, evasão de apoptose, invasão de outros tecidos e angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) (MARTINEZ et al., 2006).

O homem, em sua vida moderna, mantém uma constante interação com agentes químicos, físicos e biológicos. Para tanto, surge a necessidade de se testar agentes químicos, sintéticos e naturais, que estão em grande número em nosso meio ambiente, quanto a possíveis efeitos carcinogênicos e/ou mutagênicos. Entre esses agentes, pesquisas sobre os extratos de plantas medicinais amplamente utilizados pela população é de extrema necessidade.

Testes bem definidos para verificação da mutagenicidade de agentes físicos e químicos são desenvolvidos em *Drosophila melanogaster*, os quais são capazes de medir um amplo espectro de danos genéticos induzidos em células germinativas, assim como em células somáticas (WÜRGLER et al., 1984 apud FARIA, 2006).

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca das frutas é um organismo eucarionte, da ordem Díptera, largamente utilizado pelos pesquisadores, por ser de fácil manutenção em laboratório, ter um ciclo reprodutivo curto, fornecer um grande número de indivíduos por progênie e apresentar reações metabólicas semelhantes às dos mamíferos, o que permite certo grau de extrapolação para humanos (GRAF, 2006). Além dessas

características, apresenta um excelente banco de informações sobre mutações, ecologia e comportamento (FONSECA; PEREIRA, 2004) apud (ORSOLIN e NEPOMUCENO, 2009).

A conservação evolutiva de genes supressores de tumor entre *Drosophila* e mamíferos tem estimulado estudos na indução e no desenvolvimento de tumores em *Drosophila*, estudos estes que podem contribuir diretamente para o entendimento de cânceres em seres humanos. Em adição, numerosos proto-oncogenes e supressores de tumores de mamíferos são conhecidos em *Drosophila* (EEKEN et al., 2002). Esses organismos são bastante utilizados em estudos que avaliam o potencial mutagênico das substâncias presentes nos extratos de plantas medicinais

Levando-se em consideração tais aspectos, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral do extrato Diclorometânico de erva-de-Santa-Maria em *Drosophila melanogaster*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Extrato Diclorometânico da *C. ambrosioides*

O EX.DCL foi gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Wagner Antônio Bernardes, que produziu o extrato no laboratório de pesquisa do Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio.

3.2.2.1 Teste de detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster*

3.2.3 Linhagens de *Drosophila melanogaster*

Para desenvolvimento do teste de detecção de tumor epitelial, foram utilizadas duas linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster*: linhagem *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-0,3) e linhagem *warts* (*wts*,3-100).

1) Linhagem *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-0,3): mantida em homozigose recessiva para o marcador *mwh*, que se encontra localizado no cromossomo 3, na posição distal ao centrômero (*mwh*, 3-0,3). Quando expresso em homozigose recessiva o gene *mwh*, apresenta fenótipo de pelos múltiplos nas asas da mosca, diferente do fenótipo selvagem (um único pelo por célula).

2) Linhagem *warts* (*wts*,3-100): possui o marcador *wts* no cromossomo 3, que é conservado em homozigose na presença do balanceador cromossômico TM3, Sb¹. O marcador *wts*, quando expresso em condição selvagem, atua como um gene supressor de tumor.

Essas linhagens foram mantidas em estoque, em frascos contendo ¼ litro com meio de cultura padrão Bloomington (250 mL de água; 1,50 g de ágar; 2,50 g de farinha de soja; 18,25 g de fubá, 4,50 g de fermento biológico; 19,25 g de xarope de glicose; 1,50 ml de solução de nipagin e 1,25 ml de solução ácida) em estufa B.O.D (SOLAB) em ciclos luz/escuro (12h:12h) na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade relativa.

3.2.4 Cruzamento

O cruzamento foi realizado entre machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens da linhagem *wts*. Serão geradas duas progênes desse cruzamento: a progênie MH, trans-heterozigoto marcado (*mwh+/+wts*) e a progênie BH, heterozigoto balanceado (*mwh+/+TM3, Sb¹*). No Teste de Detecção de Tumor epitelial (teste *wts*), apenas a progênie MH é analisada. A identificação é feita mediante a expressão do balanceador cromossômico *TM3, Sb¹*, aos quais as moscas apresentam fenotipicamente pelos curtos e espessos no seu corpo, sendo assim diferente da progênie MH, que apresenta fenótipo de pelos longos e finos, conforme **Figura 1**.



Figura 1: Fenótipo dos pelos (setas) no corpo da mosca das diferentes progênes.
Fonte: Cortesia do Laboratório de Genética (LABGEN) da Universidade Federal de Uberlândia (2015).

3.2.5 Tratamento

A coleta de ovos do cruzamento *mwh+/+mwh* x *wts+/TM3, Sb¹* ocorreu durante um período de 8 horas em frascos contendo meio de cultura a base de ágar (4%) e fermento biológico suplementado com sacarose. Após 72 ± 4 horas, as larvas de 3º estágio foram lavadas com água ultrapura MiliQ (Millipore) e coletadas com auxílio de peneira de malha fina. Em seguida as larvas foram mantidas em tratamento crônico (48 horas) até completar o processo da metamorfose. As larvas foram colocadas em *vials* (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de comprimento) contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) e EX.DCL nas concentrações 0,50%; 0,25%; 0,125% e 0,0625%. O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura.

3.2.6 Análise do material biológico

Após o término da metamorfose os adultos eclodidos do cruzamento *mwh+/+mwh* x *wts+/TM3, Sb¹* foram fixados em etanol 70% (v/v) e posteriormente analisados sob lupa estereoscópica em placa de petri com glicerina, com auxílio de pinças entomológicas. Os resultados desta análise foram registrados em um diagrama padrão expressando os números de tumores observados em cada parte do corpo das moscas: cabeça, olhos, corpo, pernas, asas e halteres, separadamente para cada concentração testada.

3.2.7 Infraestrutura

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética da UNICERP, em parceria com a Universidade Federal de Uberlândia (UFU), que disponibilizou alguns materiais necessários ao experimento.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 1** mostra a frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophila melanogaster* no grupo controle negativo e grupo tratado com diferentes concentrações do

EX.DCL. Pode-se observar que o grupo controle negativo não apresentou frequência alta de tumores, conforme o esperado. Esta discreta indução de tumores observados no grupo tratado com água ocorre devido à predisposição genética do organismo teste.

Já o grupo tratamento com EX.DCL nas suas diferentes concentrações apresentou frequência de tumores bem próxima ao grupo controle negativo. Esses dados sugerem a ausência do efeito carcinogênico do EX.DCL nas condições experimentais utilizadas.

Esses dados são muito importantes, pois sugerem o uso seguro da Erva-de-Santa-Maria nas condições experimentais utilizadas, uma vez que essa planta é muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças.

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com diferentes concentrações de EX.DCL.

Tratamento (mM)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		Olhos	Cabeça	Asas	Corpo	Pernas	Halteres	Total
Controle negativo	25	0	0	1	1	0	0	2
EX.DCL 0,0625%	25	0	1	0	0	0	0	1
EX.DCL 0,125%	25	0	0	0	0	0	0	0
EX.DCL 0,25%	25	0	0	0	0	0	0	0
EX.DCL 0,5%	25	0	0	1	0	0	0	1

A *Drosophila melanogaster* é considerada um eficiente organismo teste para avaliação de efeitos carcinogênicos e anticarcinogênicos, isso mediante a alta capacidade de detectar alterações nos genes de controle do ciclo de divisão celular e também por apresentar grande similaridade genômica com o ser humano (FARIA, 2006) apud (NEPOMUCENO E SILVA, 2011).

O estudo da genética tornou-se essencial para compreender a fisiopatogenia de doenças, visto que os conhecimentos genéticos fornecem base para a compreensão das funções biológicas celulares do organismo, controladas a partir da expressão de genes codificadores de proteínas e enzimas funcionais e para a compreensão da ação de produtos gênicos (LOURO et al., 2002).

O cenário mundial atual da produção de produtos naturais revela o grande interesse quanto à qualidade e a segurança do que se é consumido pela população. O potencial risco à saúde humana da presença composto desconhecido nos produtos de origem vegetal tem buscado cada vez mais estudos para garantir o uso seguro pela população.

Em relação a atividade mutagênica, vale ressaltar que mais estudos são necessários para melhor elucidar o mecanismo da ação mutagênica do EX.DIC em condições experimentais diferentes.

A **Figura 2** mostra a taxa de sobrevivência do grupo de tratamento EX.DCL da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*.

Pode-se observar a porcentagem da média de moscas adultas sobreviventes submetidas às diferentes concentrações de extratos Diclorometânico de *C. ambrodioides* após o período de experimentação.

De acordo com gráfico abaixo pode-se observar que o extrato interferiu na transformação do estágio de pupa para adulto, principalmente nas concentrações 1%, 0,5% e 0,25%. Os dados sugerem um efeito insetida desse extrato nas três concentrações maiores. Esses dados estão de acordo com os dados encontrado por (SANTOS et al 2016) onde mostraram que o óleo essencial de *C. ambrosioides* apresentou atividade inseticida de efeito fumigante estatisticamente significativa. Nesse trabalho todos os insetos morreram após 12 horas de avaliação, sendo 100% eficientes causando a morte de todos insetos.

A avaliação dos valores de redução do número de indivíduos sobretudo nas concentrações mais altas do extrato, indica uma tendência de ação inseticida do tratamento com o extrato, no que diz respeito à emergência de novos indivíduos. Assim, segundo os dados apresentados, a ação do extrato parece inibir tanto a emergência de imagos, quanto a população adulta.

A ação seletiva de alguns inseticidas contra diferentes fases de vida de um dado inseto pode ser explicada, ao menos parcialmente, pelo mecanismo de ação. Neste contexto, inseticidas que agem seletivamente na metamorfose, por exemplo, tem uma probabilidade menor de causar efeitos tóxicos em insetos adultos (OMOTO, 2000).

O estudo de plantas com propriedades inseticidas tem aumentado em muito nos últimos tempos. As vantagens dos bioinseticidas têm merecido a atenção de especialistas e comunidade em geral, especialmente por suas vantagens potenciais se comparados aos inseticidas sintéticos (QUARLES 1992).

O Extrato de *C. ambrosioides* apresenta vários metabólitos secundários entre eles flavonóides, terpenos e moterpenos como escaridiol e α -terpineno encontrado no extrato hexânico bruto das folhas (JARDIM et al., 2010).

Segundo a literatura o escaridiol também está presente no óleo essencial de *C. ambrosioides*. Tapondjou et al. (2002) relata que o óleo essencial das folhas de *C. ambrosioides* provocou a mortalidade de seis espécies de insetos sendo que a porcentagem em alguns deles chegou a 80%. Sendo assim podemos sugerir o efeito inseticida encontrado nesse extrato se deve principalmente a esse composto.

No entanto esses dados sugerem mais estudos sobre sua atividade inseticida para melhor elucidar o mecanismo de ação e qual condições experimentais pode se observar esse efeito.

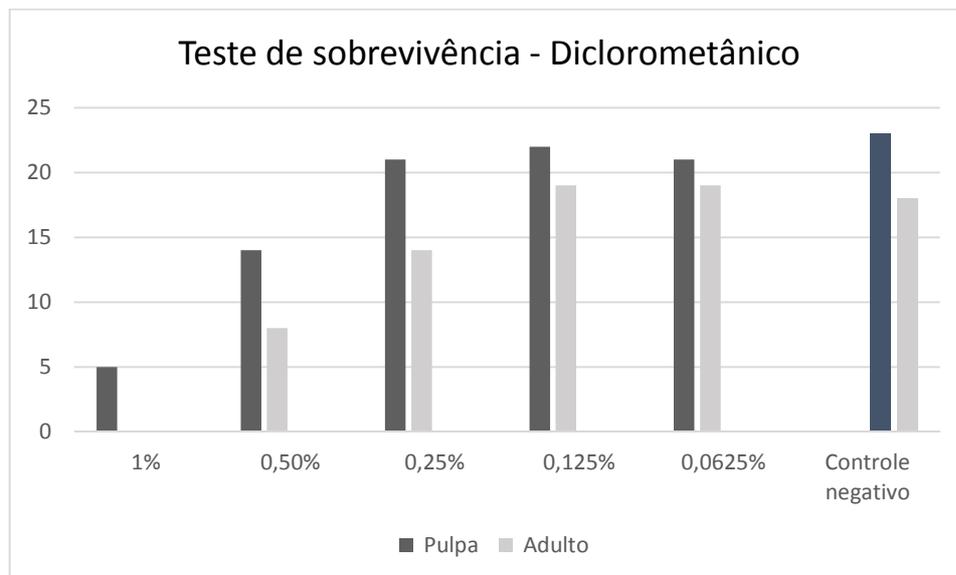


Figura 2: Taxa de sobrevivência da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*, Água - Controle negativo (CN); extrato Diclorometânico de *C. ambrosioides*

3.4 CONCLUSÕES

- O grupo controle negativo e tratamento com diferentes concentrações do EX.DCL não apresentaram diferenças na frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophila melanogaster*.

- Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações do EX.DCL na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*. Os resultados sugerem a ação inseticida do EX.DCL nas concentrações mais altas utilizadas.

3.5 REFERÊNCIAS

- ALVES, E. M. Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. **Revista PERQUIRÊRE**, Patos de Minas, v. 9, n. 2, p. 125-129, dez. 2012.
- ARMOUS, A. H. SANTOS, A. S. BEINNER, R. P. C. Plantas Medicinais de Uso Caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, n.2, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Incidência, mortalidade e sobrevida do câncer da infância no município de São Paulo**. São Paulo, SP: Brasil, 2004.
- COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, São Paulo, v.3, n.12, 2000.
- COSTA, M.V.L.; TAVARES E.S. **Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) – erva-de-Santa Maria**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, n.3, p.63-71, 2006
- EEKEN, J. C. J.; KLINK, I.; VEEN, B. L. V; FERRO, W. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor suppressor gene wts. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2002; 40: 277-282.
- FARIA, M. I. de. Efeito anticarcinogênico da graviola (*Annona muricata*) por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. 2006. Monografia de Graduação Curso de Ciências Biológicas, Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, 2006.
- FONSECA, C.A; PEREIRA, D. G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. *Informa*, v.16, n7-8, 2004.

GRAF, U. The Actual Situation of SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) in *D.melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, v.6, n.2, 2006.

HIB, J.; ROBERTIS, E. M. F. Bases da biologia celular e molecular. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Incidência de câncer no Brasil Estimativa 2012**. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/>>. Acesso em 03 mai 2018.

JARDIM, C. M. et al. Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1814-1818, 2010.

JARDIM, C. M. et al. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 9, p. 1212-1218, 2008.

LOURO, I. D; LLERENA Jr., J. C.; MELO, M. S. V.; ASHTON-PROLLA, P.; CNFORTI, N. F. **Genética Molecular do Câncer**. 2.ed. São Paulo: MSG Produção Editorial, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. (2002). Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 542p.

MARTINEZ, M. A. R et al. Molecular genetics of non-melanoma skin cancer. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, n. 5, p. 405-419, 2006.

NEVES, F. J. **Mortalidade por câncer de cólon e reto e perfil de consumo alimentar em capitais brasileiras**. 2002. 125 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Mestrado em Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo

OLIVEIRA, V. B.; ROCHA, M. C. A. **Levantamento das plantas utilizadas como medicinais na cidade de Caxias - MA: uma perspectiva etnofarmacológica**. R. Interd., v. 9, n. 4, p. 43-52, out. nov. dez. 2016.

OMOTO, C. 2000. Modo de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). Bases e técnicas de manejo de insetos. Santa Maria: UFSM. p. 31-49.

ORSOLIN, P. C.; NEPOMUCENO, J. C.. Potencial carcinogênico do açafrão (*Curcuma Longa L*) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**. Patos de Minas, v. 6, p. 55-69, out. 2009.

QUARLES, W. 1992. Botanical pesticides from *Chenopodium*. **IMPM Practitioner**, 14: 1-11.

PACIORNIK, E. F. **A planta nossa de cada dia**: plantas medicinais: descrição e uso. 2. ed. Curitiba: Gráfica Copygraf. Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do UNIVAG - Centro Universitário de Várzea Grande, 1990.

RÊGO, T.J.A.S. **50 Chás medicinais da flora do Maranhão**. 5. ed. São Luís: EDUFMA, 2008.

RIBEIRO, R. V. **Influência do sumo de *Chenopodium ambrosioides* L. (erva de santa maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem wistar**. R. Connectionline, Várzea Grande. n. 3, p. 64-74

RIVOIRE, W. A et al. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 2, p. 179-84, 2001.

SILVA, L. M.; NEPOMUCENO, J. C. Efeito modulador da polpa da graviola (*Annona muricata*) sobre a carcinogenicidade da mitomicina C, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. **PERQUIRERE**. Patos de Minas, vol. 1, n. 8, p. 80-94, jul. 2011.

SCARDOELLI, Paola *et al.* Avaliação dos efeitos da insufção das folhas de *Syzygium cumini* em um modelo experimental de resistência à insulina em *Drosophila melanogaster*. **SALUSVITA**, Bauru, v. 35, n. 3, p. 339-350, 2016.

SOUSA, M.P. et al. (1991). Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. Edições UFC, 416p.

VIEIRA, D. F. et al. **Composição Química do Óleo Essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.** In: XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação - Universidade do Vale do Paraíba. Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Alegre - ES, 2011.

TAPONDJOU, L. A, ANDLER C, BOUDA H, FONTEM D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored products beetles. J Sored Prod Res. 2002;38:395-402.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B. CENTA, M. L. Fototerapia Popular: A Busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. Texto Contexto Enferm, V. 15, n. 1, 2006.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A erva-de-Santa-Maria é uma planta bastante usada pela população para uso medicinal no tratamento de diversas doenças. No entanto, existem diversas substâncias presentes nos extratos dessas plantas podem interagir causando danos na molécula de DNA, podendo causar vários tipos de doenças, entre elas o câncer.

Experimentos confiáveis que mostrem de que maneira a molécula de DNA pode ser afetada são de extrema importância para o meio científico.

Nos resultados encontrados no trabalho pode-se observar que o controle negativo e o tratamento com extrato Diclorometânico nas suas diferentes concentrações não apresentou frequência de tumores, o que sugere a ausência do efeito carcinogênico do EX.DCL nas condições experimentais utilizadas.

Concentrações mais altas do EX.DCL, sugerem uma ação inseticida quanto à sobrevivência das *Drosophilas*. No entanto são necessários estudos sobre sua atividade inseticida para esclarecer melhor o mecanismo de ação e qual condições experimentais pode se observar esse efeito.

O trabalho realizado foi um projeto experimental no qual será ampliado para maiores estudos com diferentes extratos de plantas para avaliação de diferentes efeitos que os compostos desses extratos podem causar.

5 CONCLUSÃO

- O grupo controle negativo e tratamento com diferentes concentrações do EX.DCL não apresentaram diferenças na frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophila melanogaster*.
- Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações do EX.DCL na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*. Os resultados sugerem a ação inseticida do EX.DCL nas concentrações mais altas utilizadas.

6 REFERÊNCIAS

ALVES, E. M. Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. **Revista PERQUIRËRE**, Patos de Minas, v. 9, n. 2, p. 125-129, dez. 2012.

ARMOUS, A. H. SANTOS, A. S. BEINNER, R. P. C. Plantas Medicinais de Uso Caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, n.2, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Incidência, mortalidade e sobrevida do câncer da infância no município de São Paulo**. São Paulo, SP: Brasil, 2004.

COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, São Paulo, v.3, n.12, 2000.

COSTA, M.V.L.; TAVARES E.S. **Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) – erva-de-Santa Maria**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, n.3, p.63-71, 2006

EEKEN, J. C. J.; KLINK, I.; VEEN, B. L. V; FERRO, W. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor supressor gene wts. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2002; 40: 277-282.

FARIA, M. I. de. Efeito anticarcinogênico da graviola (*Annona muricata*) por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. 2006. Monografia de Graduação Curso de Ciências Biológicas, Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, 2006.

FONSECA, C.A; PEREIRA, D. G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. *Informa*, v.16, n7-8, 2004.

GRAF, U. The Actual Situation of SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) in *D.melanogaster*. ***Environmental Mutagenesis***, v.6, n.2, 2006.

HIB, J.; ROBERTIS, E. M. F. Bases da biologia celular e molecular. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Incidência de câncer no Brasil Estimativa 2012**. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/>>. Acesso em 03 mai 2018.

JARDIM, C. M. et al. Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1814-1818, 2010.

JARDIM, C. M. et al. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 9, p. 1212-1218, 2008.

LOURO, I. D; LLERENA Jr., J. C.; MELO, M. S. V.; ASHTON-PROLLA, P.; CNFORTI, N. F. **Genética Molecular do Câncer**. 2.ed. São Paulo: MSG Produção Editorial, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. (2002). Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 542p.

MARTINEZ, M. A. R et al. Molecular genetics of non-melanoma skin cancer. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, n. 5, p. 405-419, 2006.

NEVES, F. J. **Mortalidade por câncer de cólon e reto e perfil de consumo alimentar em capitais brasileiras**. 2002. 125 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Mestrado em Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo

OLIVEIRA, V. B.; ROCHA, M. C. A. **Levantamento das plantas utilizadas como medicinais na cidade de Caxias - MA: uma perspectiva etnofarmacológica**. R. Interd., v. 9, n. 4, p. 43-52, out. nov. dez. 2016.

OMOTO, C. 2000. Modo de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). Bases e técnicas de manejo de insetos. Santa Maria: UFSM. p. 31-49.

ORSOLIN, P. C.; NEPOMUCENO, J. C.. Potencial carcinogênico do açafrão (*Curcuma Longa* L) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**. Patos de Minas, v. 6, p. 55-69, out. 2009.

QUARLES, W. 1992. Botanical pesticides from *Chenopodium*. **IMPM Practitioner**, 14: 1-11.

PACIORNIK, E. F. **A planta nossa de cada dia: plantas medicinais: descrição e uso**. 2. ed. Curitiba: Gráfica Copygraf. Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do UNIVAG - Centro Universitário de Várzea Grande, 1990.

RÊGO, T.J.A.S. **50 Chás medicinais da flora do Maranhão**. 5. ed. São Luís: EDUFMA, 2008.

RIBEIRO, R. V. **Influência do sumo de *Chenopodium ambrosioides* L. (erva de santa maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem wistar**. R. Connectionline, Várzea Grande. n. 3, p. 64-74

RIVOIRE, W. A et al. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 2, p. 179-84, 2001.

SILVA, L. M.; NEPOMUCENO, J. C. Efeito modulador da polpa da graviola (*Annona muricata*) sobre a carcinogenicidade da mitomicina C, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. **PERQUIRERE**. Patos de Minas, vol. 1, n. 8, p. 80-94, jul. 2011.

SCARDOELLI, Paola *et al.* Avaliação dos efeitos da insufção das folhas de *Syzygium cumini* em um modelo experimental de resistência à insulina em *Drosophila melanogaster*. **SALUSVITA**, Bauru, v. 35, n. 3, p. 339-350, 2016.

SOUSA, M.P. et al. (1991). Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. Edições UFC, 416p.

VIEIRA, D. F. et al. **Composição Química do Óleo Essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.** In: XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação - Universidade do Vale do Paraíba. Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Alegre - ES, 2011.

TAPONDJOU, L. A, ANDLER C, BOUDA H, FONTEM D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored products beetles. *J Sored Prod Res*. 2002;38:395-402.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B. CENTA, M. L. Fototerapia Popular: A Busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. *Texto Contexto Enferm*, V. 15, n. 1, 2006.