

**Thiago Teixeira Pereira  
Luis Henrique Almeida Castro  
Silvia Aparecida Oesterreich  
(Organizadores)**



# Ciências da Saúde Campo Promissor em Pesquisa

**Thiago Teixeira Pereira  
Luis Henrique Almeida Castro  
Silvia Aparecida Oesterreich  
(Organizadores)**



# Ciências da Saúde Campo Promissor em Pesquisa

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Natália Sandrini

**Edição de Arte:** Lorena Prestes

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. 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.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
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. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª 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. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná

Profª Drª 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  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª 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  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª 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. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Msc. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Msc. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Msc. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Msc. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Msc. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Msc. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Msc. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Msc. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof. Msc. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Msc. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>a</sup> Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof<sup>a</sup> Msc. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 Ciências da saúde campo promissor em pesquisa 1 [recurso eletrônico] / Organizadores Thiago Teixeira Pereira, Luis Henrique Almeida Castro, Silvia Aparecida Oesterreich. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2020.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-85-7247-998-1  
DOI 10.22533/at.ed.981203101

1. Ciências da saúde – Pesquisa – Brasil. 2. Saúde – Brasil. I. Pereira, Thiago Teixeira. II. Castro, Luis Henrique Almeida. III. Oesterreich, Silvia Aparecida.

CDD 362.1

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A obra “Ciências da Saúde: Campo Promissor em Pesquisa” apresenta um panorama dos recentes estudos tecnocientíficos realizados na área da saúde por profissionais, acadêmicos e professores no Brasil. Seu conteúdo, disponibilizado neste e-book, aborda temas contemporâneos e multitemáticos apresentando um compêndio conceitual no intuito de embasar futuras pesquisas. Trata-se de um compilado de cento e cinco artigos de variadas metodologias: revisões de literatura, estudos primários, estudos-piloto, estudos populacionais e epidemiológicos, ensaios clínicos, relatos de experiência, dentre várias outras.

De modo a orientar e guiar a leitura do texto, a obra está dividida em quatro volumes: o primeiro destaca questões relacionadas à profilaxia de forma geral, apresentando possíveis tratamentos de cunho farmacológico e não farmacológico; o segundo abarca estudos focados nas afecções patológicas humanas abordando suas origens, incidências, ocorrências, causas e inferências ao indivíduo e à coletividade; o terceiro tem seu cerne nas políticas públicas, ações educacionais e ações comunitárias, buscando teorizar possíveis ações necessárias para a melhora do bem-estar e da qualidade de vida das populações; e, por fim, o quarto volume engloba trabalhos e produções no eixo temático da inter e da multidisciplinaridade discorrendo sobre como esta conjuntura pode impactar a prática clínica e da pesquisa no âmbito das ciências da saúde.

Apesar de diversos em sua abordagem, o conteúdo deste livro retrata de forma fidedigna o recente cenário científico editorial: dentre os países que compõem a Comunidade de Países de Língua de Portuguesa, o Brasil liderou em 2018, a exemplo, o ranking de maior número de produções indexadas nas bases de dados Scopus, Web of Science e MEDLINE. Tal, além de colocar a ciência brasileira em posição de destaque, vem reforçar ainda mais a área da saúde como um campo promissor em pesquisa. Desta forma, enquanto organizadores, esperamos que esta obra possa contribuir no direcionamento da investigação acadêmica de modo a inspirar a realização de novos estudos fornecendo bases teóricas compatíveis com a relevância da comunidade brasileira para a ciência na área da saúde.

Thiago Teixeira Pereira  
Luis Henrique Almeida Castro  
Silvia Aparecida Oesterreich

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A APLICABILIDADE DA MUSICOTERAPIA NAS TERAPÊUTICAS DE TRANSTORNO DE ANSIEDADE	
Dannicia Silva Conceição	
Carla Franciane Santos de Almeida	
Maikon Chaves de Oliveira	
Renata de Sá Ribeiro	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9812031011</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
A IMPORTÂNCIA DO ACOMPANHAMENTO LABORATORIAL PARA SAÚDE DOS PACIENTES EM USO DE CARBONATO DE LÍTIO DIAGNOSTICADOS COM TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR	
Diego Brito Dos Santos	
Fernanda Leticia Rodrigues	
Sebastião Silveira Nunes Junior	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9812031012</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>15</b>
A IMPORTÂNCIA DO DESENVOLVIMENTO DE NOVAS TERAPIAS PARA O LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO	
Lennara Pereira Mota	
Rafael Everton Assunção Ribeiro da Costa	
Gabriel Barbosa Câmara	
Elielton Sousa Montelo	
Pollyana Cordeiro Barros	
Vitória Regia Sales Pontes	
Ana Carolina de Macêdo Lima	
Janaina de Oliveira Sousa	
Luana Áquila Lima da Silva Oliveira	
Loisláyne Barros Leal	
Jefferson Abraão Caetano Lira	
Rutielle Ferreira Silva	
Julyanne dos Santos Nolêto	
Jairo José de Moura Feitosa	
Jussara Maria Valentim Cavalcante Nunes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9812031013</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>22</b>
A UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS NO PROCESSO TERAPÊUTICO COMPLEMENTAR DAS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS	
Dayane de Melo Barros	
Tamiris Alves Rocha	
Danielle Feijó de Moura	
Marllyn Marques da Silva	
Silvio Assis de Oliveira Ferreira	
Gisele Priscilla de Barros Alves Silva	
José André Carneiro da Silva	
Juliana de Oliveira Costa	
Andressa da Silva Pereira	
Amanda Felix de Sousa	
Andressa Thauany de Sousa Alves	
Thiago da Silva Freitas	
Normanda Pereira da Silva	

José Hélio Luna da Silva  
Estefany Karolayne dos Santos Machado  
Lucimara Martins da Silva  
Marcela de Albuquerque Melo  
Roberta de Albuquerque Bento da Fonte

**DOI 10.22533/at.ed.9812031014**

**CAPÍTULO 5 ..... 41**

**AVALIAÇÃO DA FORÇA RESPIRATÓRIA EM IDOSAS DE UM GRUPO DE EXERCÍCIOS FÍSICOS EM MEIO AQUÁTICO**

Jaqueline de Fatima Biazus  
Gabriele dos Santos Ibarro  
Pietro Diniz Bataglin  
Alethéia Peters Bajotto  
Lilian Oliveira de Oliveira  
Tiago José Nardi Gomes  
Carla Mirelle Giotto Mai  
Minéia Weber Blattes  
Luiz Fernando Rodrigues Junior  
João Rafael Sauzem Machado

**DOI 10.22533/at.ed.9812031015**

**CAPÍTULO 6 ..... 52**

**ABORDAGEM DO TRATAMENTO DA ALOPECIA AREATA ATRAVÉS DO MICROAGULHAMENTO ISOLADO ASSOCIADO AO MINOXIDIL**

Murilo Marques Costa  
Renata Sousa Nunes  
Suelen Marçal Nogueira  
Vinicius de Oliveira Costa  
Rosimeire de Moraes Oliveira  
Khezia Almeida Araújo Guimarães  
Samara Rodrigues Campos  
Geisenely Vieira dos Santos Ferreira  
Vanessa Bernardo Lima

**DOI 10.22533/at.ed.9812031016**

**CAPÍTULO 7 ..... 65**

**AGRANULOCITOSE INDUZIDA POR DAPSONA**

Tania Rita Moreno de Oliveira Fernandes  
Tathyane Trajano Barreto  
Bruno Nascimento de Jesus  
Anderson de Almeida Pereira  
Amanda Teixeira de Medeiros Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.9812031017**

**CAPÍTULO 8 ..... 70**

**ANTICONCEPCIONAL HORMONAL ORAL: USO E SEUS EFEITOS COLATERAIS**

Letícia Fernandez Frigo  
Laura Leal Pontelli  
Linda Cristina Nagorny de Andrades  
Vinicius Braga Rubin  
Yan Barbieri

**DOI 10.22533/at.ed.9812031018**

**CAPÍTULO 9 ..... 78**

**CHECKPOINT: INIBIÇÃO DA MITOSE NO TRATAMENTO ANTINEOPLÁSICO**

Hyan Ribeiro Da Silva  
Ivanira Vieira Loiola Coutinho  
Luã Kelvin Reis De Sousa  
Camila Maria Batista Lima  
Sérgio Augusto De Souza Cavalcante  
Fernanda Cristina Dos Santos Soares  
Lexlanna Aryela Loureiro Barros  
Lígia Lages Sampaio  
Carlos Antonio Alves De Macedo Júnior  
José Chagas Pinheiro Neto  
Mateus Henrique De Almeida Da Costa  
Rayssa Hellen Ferreira Costa  
Laila Karina Da Silva Fernandes  
Sallysa Emanuely Barbosa Leite  
Lorena Almeida Lima  
Gerson Tavares Pessoa

**DOI 10.22533/at.ed.9812031019**

**CAPÍTULO 10 ..... 84**

**COLETOR MENSTRUAL: UMA OPÇÃO SUSTENTÁVEL?**

Marília Queiroga de Lima  
Iasmyn Florencio de Araujo Silva  
Ohana da Cunha Cavalcanti  
Klenia Felix de Oliveira Bezerra

**DOI 10.22533/at.ed.98120310110**

**CAPÍTULO 11 ..... 93**

**CRIAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM SENSOR DE PRESSÃO PARA ATENUAR LESÕES EM PACIENTES ACAMADOS**

Henrique Rezer Mosquér da Silva  
Magnus Trommer Neto  
Ingrid Rosales Costa  
Mirkos Ortiz Martins  
Anderson Luiz Ellwanger

**DOI 10.22533/at.ed.98120310111**

**CAPÍTULO 12 ..... 100**

**CUIDADOS DE MULHERES GRAVIDAS DIAGNOSTICADAS COM INFECÇÃO SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEL**

Iara Nadine Vieira da Paz Silva  
Haysha Lianne Oliveira Raposo  
Rafael Everton Assunção Ribeiro da Costa  
Mariana de Sousa Ferreira  
Rafael de Castro Santos  
Esdras Andrade Silva  
Paula Fernanda Silva Moura Machado  
José Nilton de Araújo Gonçalves  
Felipe Souza Nascimento  
Ana Cláudia Silva Brito  
Eduarda Siqueira Camêlo  
Bárbara Sandra Pinheiro dos Santos  
Maria Bianca Nunes de Albuquerque  
Álvaro Sepúlveda Carvalho Rocha

Ana Suênnya de Sousa Pires

DOI 10.22533/at.ed.98120310112

**CAPÍTULO 13 ..... 108**

CUIDADOS INOVADORES DE ENFERMAGEM NA POLICLÍNICA PIQUET CARNEIRO

Alessandra Sant'Anna Nunes

Ellen Marcia Peres

Bruna Maiara Ferreira Barreto Pires

Livia Fajin de Mello dos Santos

Raíla de Souza Santos

Carla Tatiana Garcia Barreto

Alyne Corrêa de Freitas Reis

Rachael Miranda dos Santos

Juliana Agra Santos

Mara Lúcia Amantéa

Patrícia Ferraccioli Siqueira Lemos

Helena Ferraz Gomes

DOI 10.22533/at.ed.98120310113

**CAPÍTULO 14 ..... 120**

DESENVOLVIMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DE POMADA A BASE DE EXTRATOS VEGETAIS COM AÇÃO CICATRIZANTE

Maria Emilia Vasconcelos Souza

Sibely de Espíndola Souza Batista

Lidiany da Paixão Siqueira

DOI 10.22533/at.ed.98120310114

**CAPÍTULO 15 ..... 137**

DESMISTIFICANDO O IMPACTO DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA NA MATURESCENCIA FEMININA: PROMOVEDO SEU BEM ESTAR SOCIAL

Márcia Regina Silvério Santana Barbosa Mendes

Pamela Regina dos Santos

Simone Viana da Silva

Iago Augusto Santana Mendes

Diego Santana Cação

DOI 10.22533/at.ed.98120310115

**CAPÍTULO 16 ..... 142**

EFEITOS ANTITUMORAIS DO 2,4-DINITROFENOL ASSOCIADO MONOALQUILFOSFATO EM CÉLULAS TUMORAIS DE MAMA HUMANA TRIPLIO NEGATIVO

Manuela Garcia Laveli da Silva

Laertty Garcia de Sousa Cabral

Monique Gonçalves Alves

Thais de Oliveira Conceição

Rosely Cabette Barbosa Alves

Rosa Andrea Nogueira Laiso

Maria Carla Petrellis

Sergio Mestieri Chammas

Daniel Conceição Rabelo

Durvanei Augusto Maria

DOI 10.22533/at.ed.98120310116

**CAPÍTULO 17 ..... 158**

INFLUÊNCIA DA METFORMINA E MELATONINA NO TRATAMENTO DA DIABETES

Cintia Giselle Martins Ferreira

Bruno Mendes Tenorio  
Carolline Guimarães D'Assunção  
Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório  
Geovanna Hachyra Facundo Guedes  
Jennyfer Martins de Carvalho  
José Anderson da Silva Gomes  
Maria Eduarda da Silva  
Maria Luísa Figueira de Oliveira  
Marcos Aurélio Santos da Costa  
Diana Babini Lapa de Albuquerque Britto  
Carlos Fernando de Britto Costa Filho  
Carina Scanoni Maia  
Juliana Pinto de Medeiros

**DOI 10.22533/at.ed.98120310117**

**CAPÍTULO 18 ..... 171**

MUSICOTERAPIA COMO ATIVIDADE OCUPACIONAL EM UMA INSTITUIÇÃO DE SAÚDE MENTAL EM IMPERATRIZ MARANHÃO: RELATO DE EXPERIÊNCIA

Helena de Paula Martins Gonçalves  
Regiane Aquino Alves da Silva  
Patrício Francisco da Silva  
Amanda Costa Fernandes  
Ida Caroline Dourado Portela  
Bárbara dos Santos Limeira  
Patrícia Kelly Alves de Sousa

**DOI 10.22533/at.ed.98120310118**

**CAPÍTULO 19 ..... 177**

NEUROFISIOLOGIA DO SONO E O USO DE *SMARTPHONES* COMO EFEITO MODULADOR DA SÍNTESE DE MELATONINA

Marcos Roberto Nascimento Sousa  
Anna Gabriely Costa  
Sabrina Sousa Barros  
Acácio Costa Silva  
Aloiso Sampaio Souza  
Gabriel Mauriz de Moura Rocha  
Flávia Samara Freitas de Andrade  
Carla Nayara Dos Santos Souza Vieira  
Hulianna Ximendes Escórcio de Brito  
Lucidelva Marques da Costa  
Antônio Lindomar Alves da Silva  
Gerardo de Andrade Machado

**DOI 10.22533/at.ed.98120310119**

**CAPÍTULO 20 ..... 188**

O CONHECIMENTO DO USO DE FLORAIS NA ANSIEDADE RELACIONADA AO PROCESSO DE AMAMENTAÇÃO

Tatiana Carneiro de Resende  
Ana Cristina Freitas de Vilhena Abrão  
Karla Oliveira Marcacine  
Maria Cristina Gabrielloni

**DOI 10.22533/at.ed.98120310120**

**CAPÍTULO 21 ..... 202**

PREPARO PARA ALTA E SEGMENTO DOMICILIAR DE CRIANÇAS EM PROCESSO DE RECONSTRUÇÃO ANORRETAL

Andrezza Rayana da Costa Alves Delmiro  
Alexandre Cavalcante Diniz Junior  
Kananda Silva Campos  
Érika Acoli Gomes Pimenta  
Adriana Maria Pereira da Silva  
Kenya de Lima Silva  
Maria da Guia Lima de Lucena Brasil  
Gildênia Calixto dos Santos Oliveira  
Ana Jacira Fernandes de Sena

**DOI 10.22533/at.ed.98120310121**

**CAPÍTULO 22 ..... 209**

PRINCIPAIS DIAGNÓSTICOS E TRATAMENTOS ASSOCIADOS À SEPSE NEONATAL

Paulo Sérgio da Paz Silva Filho  
Márcia Valéria Pereira de Carvalho  
Vandelma Lopes de Castro  
Adryana Ryta Ribeiro Sousa Lira  
Lorena Rocha de Abrantes Carcará  
Francelly Carvalho dos Santos  
Brena Costa de Oliveira  
Janaina de Oliveira Sousa  
Vanessa Elaine Ferreira de Araújo  
Rafael Everton Assunção Ribeiro da Costa  
Ana Kelline da Silva Rodrigues  
Jairo José de Moura Feitosa  
Keuri Silva Rodrigues  
Annarely Morais Mendes  
Dalila Marielly Alves de Sousa

**DOI 10.22533/at.ed.98120310122**

**CAPÍTULO 23 ..... 215**

POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO DE MONOFOSFOESTERES LIPÍDICO EM CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA HUMANO

Laertty Garcia de Sousa Cabral  
Manuela Garcia Laveli da Silva  
Monique Gonçalves Alves  
Henrique Hayes Hesse  
Sergio Mestieri Chammas  
Maria Carla Petrellis  
Rosa Andrea Nogueira Laiso  
Rosely Cab Durvanei Augusto Maria

**DOI 10.22533/at.ed.98120310123**

**CAPÍTULO 24 ..... 230**

REABILITAÇÃO SOCIAL DO SORRISO DE ADOLESCENTES UTILIZANDO A TÉCNICA DE “COLAGEM DE FRAGMENTOS”: UM RELATO DE CASO

Anderson Carlos de Oliveira  
Paula Nunes Guimarães Paes  
Letícia de Souza Lopes  
Hugo de Andrade Filho  
Hélio Rodrigues Sampaio-Filho  
Mauro Sayão de Miranda

<b>CAPÍTULO 25</b> .....	<b>247</b>
TRATAMENTO DE NEURALGIA DO TRIGÊMIO ATRAVÉS DA LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE	
Valeska Maria Souto Paiva Tânia Lemos Coelho Rodrigues Fabiano Gonzaga Rodrigues	
<b>DOI 10.22533/at.ed.98120310125</b>	
<b>CAPÍTULO 26</b> .....	<b>259</b>
TENTATIVA DE SUICÍDIO E FATORES ASSOCIADOS À SINTOMAS DEPRESSIVOS	
Eliana Lessa Cordeiro Murilo Duarte da Costa Lima Iracema da Silva Frazão Joicy Lira Santos Liniker Scolfild Rodrigues da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.98120310126</b>	
<b>CAPÍTULO 27</b> .....	<b>275</b>
A IMPORTÂNCIA DA IMUNOHISTOQUÍMICA NO TRATAMENTO DO CÂNCER	
Iago Dillion Lima Cavalcanti José Cleberson Santos Soares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.98120310127</b>	
<b>CAPÍTULO 28</b> .....	<b>286</b>
FATORES DE RISCO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO DO CÂNCER DE PRÓSTATA	
Paulo Sérgio da Paz Silva Filho Francisco de Assis da Silva Sousa Erika dos Santos Pinheiro Lusiane Lima de Oliveira Bruno Leonardo de Sousa Figueiredo Christianne Rodrigues de Oliveira Rafael Everton Assunção Ribeiro da Costa Daniel Ximenes de Aguiar Olenka de Souza Dantas Wanderley Jaqueline Pereira de Sousa Francisco Alex da Rocha Coelho Maria Thaís dos Santos Costa Joaffson Felipe Costa dos Santos Isabella Chaves Napoleão do Rêgo Hudson Francisco Silva Sales Amadeu Luis de Carvalho Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.98120310128</b>	
<b>SOBRE OS ORGANIZADORES</b> .....	<b>294</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>296</b>

## EFEITOS ANTITUMORAIS DO 2,4-DINITROFENOL ASSOCIADO MONOALQUILFOSFATO EM CÉLULAS TUMORAIS DE MAMA HUMANA TRIPLO NEGATIVO

Data de aceite: 12/12/2019

### **Manuela Garcia Laveli da Silva**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/6104089055258182>

### **Laerty Garcia de Sousa Cabral**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/7923575344808069>

### **Monique Gonçalves Alves**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/5064541647940418>

### **Thais de Oliveira Conceição**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/5866318279550816>

### **Rosely Cabette Barbosa Alves**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

### **Rosa Andrea Nogueira Laiso**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

### **Maria Carla Petrellis**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

### **Sergio Mestieri Chammas**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

### **Daniel Conceição Rabelo**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

### **Durvanei Augusto Maria**

Instituto Butantan – Laboratório de Biologia  
Molecular  
São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/8472079174657098>

**RESUMO:** O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais letal para as mulheres em todo o mundo, apesar das diversas abordagens convencionais como a radioterapia, quimioterapia e a terapia hormonal. A resistência de células tumorais à quimioterapia constitui um importante obstáculo clínico para o sucesso da terapia do câncer. O câncer de mama triplo negativo (TNBC) é o subtipo de câncer de mama que não superexpressa os receptores do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2),

não possui expressão de receptores de estrogênio (ER) e receptores de progesterona (PR). O TNBC, é responsável por cerca de 20 a 20% dos cânceres de mama invasivos, e está associado a um crescimento rápido, formação de metástases e menor sobrevida global e sem recidivas. O monoalquilfosfato (Pho-s) é um fosfolípido fosforilado com diversas propriedades antiproliferativas e indutoras de morte celular do tipo apoptose. O 2,4-Dinitrofenol é um desacoplador químico que age na redução do potencial de membrana mitocondrial, sem modificar a síntese de ATP. A viabilidade das células tumorais de adenocarcinoma de mama humana MDA-MB-231 foi avaliada pelo método colorimétrico MTT para a determinação da IC50% e o teste de lipoperoxidação para a quantificação da produção de radicais livres.

**PALAVRAS-CHAVE:** Câncer de mama triplo negativo, Monoalquilfosfato, 2,4-Dinitrofenol, Viabilidade celular.

**ABSTRACT:** Breast cancer is the second most lethal type of cancer for women worldwide, despite several conventional approaches such as radiotherapy, chemotherapy and hormone therapy. Tumor cell resistance to chemotherapy is a major clinical obstacle to successful cancer therapy. Triple negative breast cancer (TNBC) is the subtype of breast cancer that does not overexpress human epidermal growth factor 2 receptors (HER2), while also lacking expression of estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR). TNBC, which accounts for an estimated 20% of invasive breast cancers, has been associated with rapid growth, metastasis, and shorter overall and relapse-free survival. Monoalkylphosphate (Pho-s) is an artificially phosphorylated phospholipid with various antiproliferative and apoptosis inducing properties. 2,4-Dinitrophenol is a chemical decoupler that acts to reduce mitochondrial membrane potential without modifying ATP synthesis. The viability of MDA-MB-231 human breast adenocarcinoma tumor cells was evaluated by the MTT colorimetric method for the determination of the IC50% and the lipoperoxidation test for the quantification of free radical production.

**KEYWORDS:** Triple negative breast cancer, Monoalkylphosphate, 2,4-Dinitrophenol, Cell viability.

## 1 | INTRODUÇÃO

A cada ano, o câncer provoca cerca de 8 milhões de mortes no mundo. Estima-se que um terço dessas mortes poderia ter sido evitado com mais prevenção, detecção precoce e acesso aos tratamentos existentes. O INCA estima cerca de 600 mil casos novos da doença para 2019, o qual deve estar relacionado ao aumento da expectativa de vida, a urbanização e a globalização (INCA, 2019). De todos os casos de tumores, são fatores comuns em cerca de 85% os fatores ambientais como, cigarro, exposição excessiva ao sol, alguns vírus. Os tumores são tecidos complexos constituídos por vários tipos de células distintas que participam das

interações heterotípicas umas com as outras (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

O câncer de mama é o mais comum entre as mulheres no Brasil, depois do câncer de pele não melanoma, correspondendo cerca de 25% dos novos casos a cada ano. O câncer de mama também acomete homens, porém é mais raro, representando apenas 1% do total de casos da doença. Estatísticas indicam aumento da sua incidência tanto nos países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento, para o ano de 2019, o INCA estima cerca de 59.700 novos casos da doença (INCA, 2019). O aumento das taxas de incidência e mortalidade por câncer de mama está associado a diferentes fatores de risco, entre estes a interação de fatores genéticos, como o estilo de vida, hábitos reprodutivos e o meio ambiente. Os principais fatores de risco do câncer de mama em mulheres são a idade, infertilidade, idade da primeira gravidez, menopausa tardia, uma mutação herdada no gene BRCA1/BRCA2 e uso de hormônios (estrogênio e progesterona) em fase pós-menopausa (DONEPUDI et al., 2015).

Os BRCA1 e BRCA2 são oncogenes supressores envolvidos no risco de câncer de mama. BRCA1 e BRCA2 estão localizados respectivamente, nos cromossomos 17q21 e 13q12. A deficiência de BRCA1 leva à desregulação do ponto de checagem do ciclo celular, à duplicação anormal do centrôssomo, à instabilidade genética e à apoptose. O risco de câncer de mama pode aumentar muito se um indivíduo herda mutações deletérias nesses genes. Mutações no BRCA1/2 são herdadas de maneira autossômica dominante, embora o segundo alelo seja normal. No total, cerca de 20-25% dos cânceres de mama hereditários e 5-10% de todos os cânceres de mama são causados por mutações BRCA1/2 (DINE; DENG, 2013).

Câncer de Mama Triplo Negativo (TNBC) é um subtipo de câncer de mama que, baseado na marcação por imunohistoquímica, é negativo para o receptor de estrogênio (ER), negativo em receptor de progesterona (PR) e negativo para o fator de crescimento epidérmico humano (HER2). O TNBC é caracterizado por seu perfil molecular único, natureza agressiva, padrões metastáticos distintos e falta de terapias direcionadas específicas e com baixa resposta terapêutica. Não existe terapia direcionada para o TNBC que constitua 15 a 20% dos casos de câncer de mama e, portanto, a quimioterapia citostática convencional permanece a única opção terapêutica. A falha do tratamento em todos esses tipos de câncer de mama ocorre como consequência da resistência inerente ou adquirida (O'TOOLE et al., 2013).

A quimioterapia adjuvante não apenas prolonga a sobrevida livre de doença em pacientes, mas também a sobrevida global como um todo; no entanto, o TNBC não possui os receptores direcionados típicos encontrados nos tumores luminiais ou HER-2 e, portanto, não pode ser tratado com agentes hormonais, como os moduladores seletivos do receptor de estrógeno (SERMS - trifeniletílenos, benzotiofenos, tetra-

hidronaftalenos, indóis e benzopiranos), inibidores de aromatase ou antagonistas de HER2. Para combater esta questão, vários estudos neoadjuvantes foram realizados, o que acentuou a relação entre quimio-sensibilidade e desfecho, revelando uma sensibilidade proporcionalmente maior à antraciclina ou à quimioterapia baseada em antraciclina/taxano, como doxorrubicina e ciclofosfamida. Embora a doença triplo-negativa seja altamente responsiva ao tratamento de quimioterapia convencional com antraciclina/taxano, um alto risco de recidiva ainda mesmo que o tumor não for completamente erradicado (AYOUB; AL-SHAMI; YAGHAN, 2019).

Os alquilfosfolípidos sintéticos (APLs) são novos fármacos antineoplásicos com propriedades antiproliferativas, quimicamente divididos em duas classes principais: alquil-lisofosfolípidos e alquilfosfocolinas. O grupo de lípidos antitumorais também inclui os lípidos éteres antitumorais glicosilados e os fosfolípidos glicosilados. Estes agentes interferem na homeostase lipídica devido à sua semelhança com os fosfolípidos endógenos, visando os *lipid rafts* da membrana e alterando a sinalização ligada aos lípidos, levando a apoptose (VAN BLITTERSWJIK, VERHEIJ, 2008; VAN BLITTERSWJIK, VERHEIJ, 2013). Os *lipid rafts* são microdomínios da membrana enriquecidos em esteróis e esfingolípidos, que desempenham um papel importante para o correto funcionamento de várias vias de sinalização de sobrevivência celular, assim como de transportadores e canais iônicos (MOLLINEDO; GAJATE, 2015).

Nosso grupo de pesquisa tem estudo o monoalquilfosfato (Pho-s), como uma molécula envolvida na biossíntese de fosfolípidos, capaz de reduzir a expressão de moléculas pró-apoptóticas Bad/Bax em células tumorais de melanoma B16F10, o que leva ao aumento da atividade da caspase-3, desencadeando a apoptose e bloqueando o ciclo celular na fase de síntese ou na fase G2/M, dependendo da concentração do fármaco. O tratamento de camundongos portadores de melanoma B16F10 com a Pho-s resultou na inibição de crescimento tumoral, aumento da sobrevivência e redução de metástases (FERREIRA et al., 2012). Entretanto, quando testada em fibroblastos e células endoteliais humanas normais, a Pho-s não foi capaz de alterar a viabilidade das células normais (FERREIRA et al., 2011). Pho-s também resultou na inibição de ascite neoplásica e evitou aumento do nível sérico de marcadores bioquímicos, pois a análise bioquímica dos camundongos BALB/c não tratados revelaram aumento na dosagem de transaminases hepáticas. Pode-se sugerir que a inibição da ascite neoplásica pela Pho-s impede insuficiência hepática (FERREIRA et al., 2012).

Pho-s é citotóxico para células tumorais de mama MCF7, diminuindo a viabilidade celular, acompanhada por alterações morfológicas e descolamento das células a partir da cultura de monocamada. Além disso, células não tratadas mostraram distribuição intracelular, peri-nuclear normal da mitocôndria, enquanto que em células MCF-7 tratadas com Pho-s, apresentaram profundas mudanças na

morfologia mitocondrial e mitocôndrias agregadas no citoplasma (FERREIRA et al., 2013; LAVELI-SILVA, 2017).

2,4-dinitrofenol (DNP) é um sólido amarelo cristalino que foi utilizado para a produção de munições na França durante a primeira guerra mundial. Diversos sintomas de envenenamento, como náuseas, suores, dores de cabeça e redução de peso corporal foram observados nos operários. Assim, surgiu à ideia de usar o DNP como uma droga anti-obesidade. DNP é um desacoplador artificial da fosforilação oxidativa e que bloqueia a criação de fosfatos ricos em energia (ATP). Na década de 1930, foram observados efeitos colaterais graves em pacientes tratadas com DNP, a Administração de Drogas e Alimentos dos Estados Unidos (FDA) revogou a aprovação para o DNP contendo drogas até os dias atuais. Na Alemanha, a distribuição do DNP como um produto farmacêutico ou produto dietético também foi proibido (ZACK et al., 2016).

O 2,4-dinitrofenol é um composto que, por meio de facilitação do fluxo prótons da matriz mitocondrial, é capaz de reduzir o potencial mitocondrial ( $\Delta\Psi$ ) e desacopla a fosforilação oxidativa da produção de ATP. Embora desacoplamento crônico e completo, o que provoca o colapso do  $\Delta\Psi$  e reduz os depósitos de energia e, por causa da grande gradiente de prótons que persiste por meio da membrana mitocondrial interna, não tem nenhuma efeito sobre os níveis de ATP. Com base na relação entre  $\Delta\Psi$ , à produção de ROS mitocondrial e a absorção de  $\text{Ca}^{2+}$ , por isso Korde e colaboradores acreditam na hipótese de que o desacoplamento pode ser neuroprotetor (KORDE, 2005).

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Cultura Celular

Foi utilizada a linhagem tumoral de mama humana triplo negativo: MDA-MB-231 originária da ATCC, tendo o respectivo código HTB-26TM, mantida e estocada no banco de células pelo Prof. Dr. Durvanei Augusto Maria (Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Butantan). As células foram cultivadas com meio de cultura Leibovitz (Cultilab, Campinas-SP) suplementado com soro fetal bovino 10%, bicarbonato de sódio 200 mM, pH= 7,4 em estufa 5%  $\text{CO}_2$  à 37°C. A viabilidade celular foi determinada pelo teste de exclusão pelo azul de Tripán, sendo considerada ideal para a execução dos experimentos a viabilidade superior a 94%.

### 2.2 Determinação da atividade citotóxica pelo método MTT

As células tumorais MDA-MB-231 foram incubadas em placas de 96 orifícios a concentração  $1 \times 10^5$  células/mL durante 24 h e tratadas com os grupos descritos

abaixo, em diversas concentrações. Após 24 h de tratamento o sobrenadante foi coletado em outra placa e adicionou-se 100  $\mu$ L de MTT (Calbiochem – Darmstadt, Alemanha) na concentração de 5 mg/mL, as células foram incubadas no escuro por 3 horas em estufa contendo 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Após este período, o conteúdo foi removido e acrescentou-se 100  $\mu$ L de álcool metílico para dissolver os cristais de formazan formados e precipitados. A quantificação da absorbância foi feita em leitor de ELISA em comprimento de onda de 540 nm. A concentração que induz toxicidade em 50% das células (IC50%) foi determinada no tratamento após 24 h em diferentes concentrações para avaliação do efeito dose-resposta.

Foram avaliados os seguintes grupos experimentais:

<b>Grupo I</b>	Controle negativo – veículo/meio
<b>Grupo II</b>	Monoalquilfosfato (Pho-s)
<b>Grupo III</b>	2,4-Dinitrofenol (DNP)
<b>Grupo IV</b>	Monoalquilfosfato + 2,4-Dinitrofenol

### 2.3 Determinação da produção de lipídeos peroxidados polissaturados

A quantificação da peroxidação de lipídeos é baseada na formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), predominantemente o malondialdeído (MDA), que ocorre após a lipoperoxidação das membranas celulares. Estas substâncias produzem uma coloração característica que é medida espectrofotometricamente. Os sobrenadantes das culturas celulares tumorais e normais utilizadas para a metodologia do MTT foram recolhidos antes do teste de citotoxicidade MTT e mantidos sob-refrigeração de -20°C. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente. Em microtubo foi adicionado 50  $\mu$ L da amostra e adicionados com 250  $\mu$ L de ácido tricloroacético - TCA 20% (Sigma-Aldrich) em outro microtubo, 50  $\mu$ L da mesma amostra foi adicionada com 250  $\mu$ L de ácido tiobarbitúrico – TBA 0,86% (Sigma-Aldrich, Cat.: T550-0). Os microtubos foram colocados em banho-maria a 100°C por 20 min, seguido de resfriamento a 0°C por 20 min, centrifugação a 8000 rpm por 4 min e o sobrenadante foi utilizado para a quantificação das TBARS. A leitura foi realizada no espectrofotômetro no comprimento de onda de 535 nm.

### 2.4 Análises estatísticas

Todos os valores obtidos das linhagens celulares (MDA-MB-231 e FN1) foram expressos em média  $\pm$  desvio médio e após a obtenção dos valores individuais

das células tratadas e controle, os resultados foram tabelados e analisados no programa Graphpad, Version 5.0 e InStatPad Prism Version 5.0. A análise dos dados foi realizada pelas comparações de dois ou mais grupos com distribuição não paramétrica utilizando-se a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparação múltipla de TUKEY-KRAMER, considerando como nível crítico para significância valores de  $p < 0.05$ .

### 3 | RESULTADOS

#### 3.1 Determinação da atividade citotóxica pelo método MTT

As células tumorais de mama humana triplo negativo MDA-MB-231 foram incubadas com a Pho-s nas concentrações de 10 a 100 mM no tempo de 24 horas de tratamento. As células tumorais foram observadas no microscópio de luz invertido e analisadas mudanças morfológicas com o aspecto de lise e a formação de debris celular no sobrenadante, a partir da concentração de 10 mM. Após as análises para a obtenção da equação da reta e comparações estatísticas programa no GraphPad Prism 5 foi obtido o valor da IC50% de 20,44 mM (Figura 01).

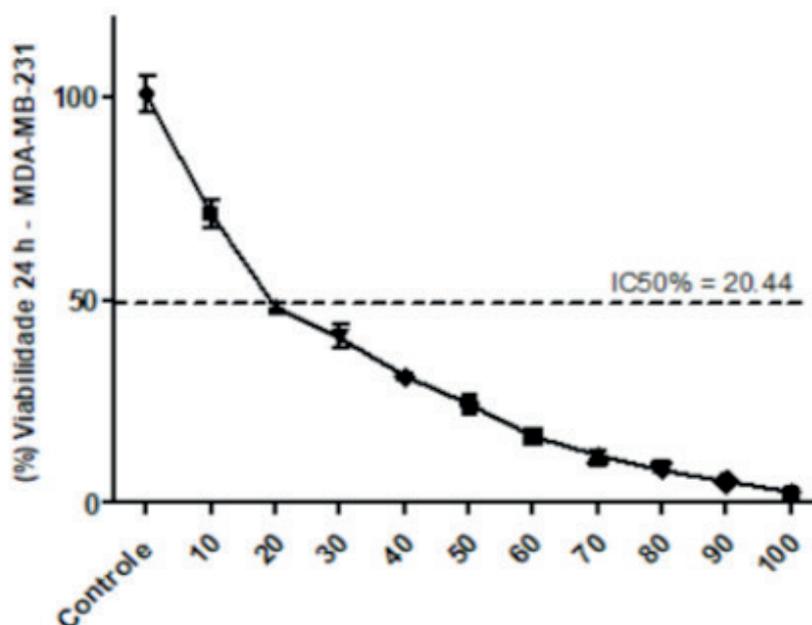


Figura 01 – Avaliação da Toxicidade do composto Pho-s em células tumorais de mama humana MDA-MB-231. Gráfico de dispersão dos valores da média  $\pm$  dp da viabilidade da célula de câncer de mama humano triplo negativo MDA-MB-231, após 24 horas de tratamento com a Pho-s em diferentes concentrações, obtido pelo programa GraphPad Prism 5. Experimentos realizados  $n=5$ , em octuplicadas.

As demais concentrações de tratamento com a Pho-s mostraram efeitos citotóxicos significativos, com aumento percentual da mortalidade celular, perda da aderência celular, fragmentação da membrana citoplasmática, perda da progressão

e projeção dos prolongamentos citoplasmáticos e foram visualizados formação de vacúolos no citoplasma celular nas concentrações de 10 e 20 mM (Figura 02).

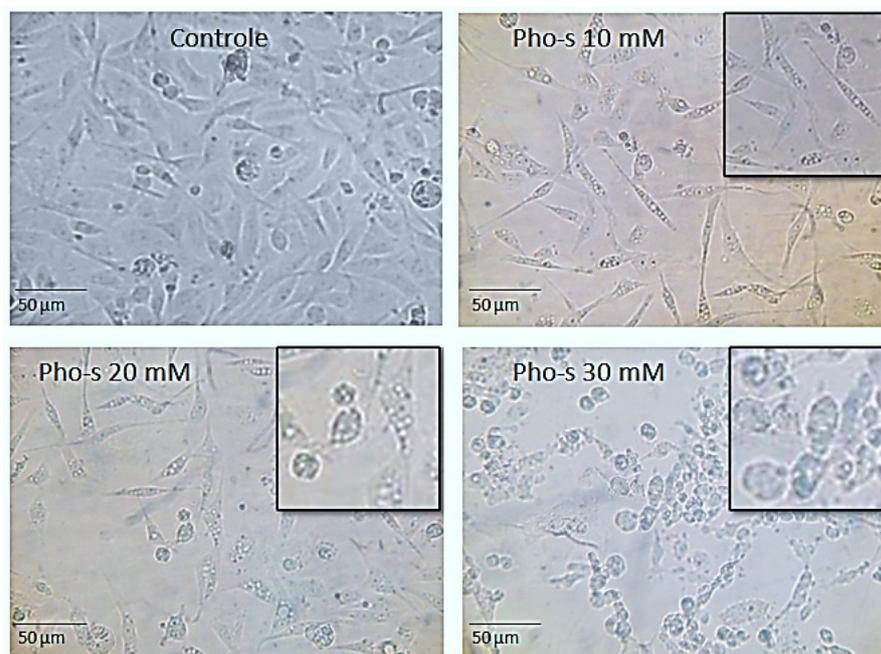


Figura 02 - Fotomicrografia dos aspectos celulares das células tumorais de mama humana MDA-MB-231. Aspectos das modificações celulares dos grupos controle e tratados com as diferentes concentrações da Pho-s, após 24 h de tratamento, obtidas em Microscopia Invertida de Luz. Os círculos em vermelho destacam os vacúolos intracitoplasmáticos, nota-se que a partir da concentração de 20 mM há uma redução expressiva na densidade celular.

O tratamento com o composto 2,4-Dinitrofenol, após 24 horas, nas células tumorais de mama humano triplo negativo – MDA-MB-231, resultou em perda dos prolongamentos citoplasmáticos e diminuição da densidade celular, a partir da concentração de 6,25 mM. Após as análises para a obtenção da equação da reta e comparações estatísticas programa no GraphPad Prism 5 foi obtido o valor da IC50% de 25 mM (Figura 03).

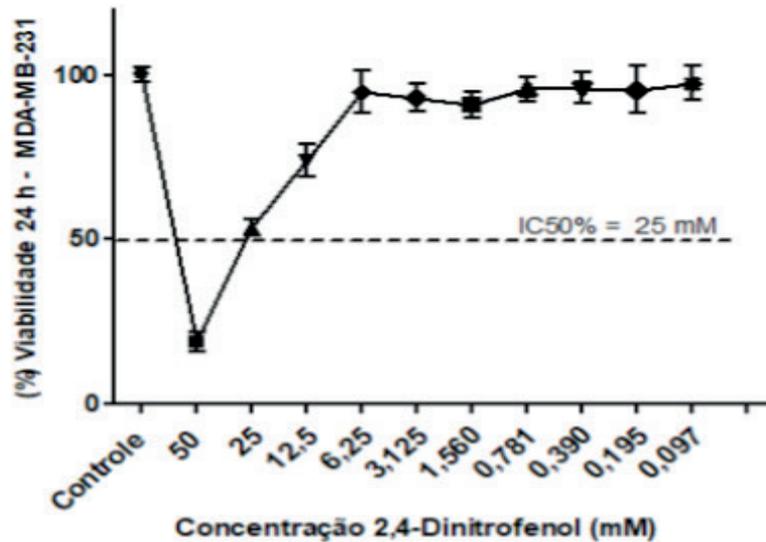


Figura 03 - Avaliação da Toxicidade do composto 2,4-Dinitrofenol em células tumorais de mama humano MDA-MB-231. Gráfico de dispersão dos valores da média  $\pm$  dp da viabilidade da célula de câncer de mama humano triplo negativo MDA-MB-231, após 24 horas de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol em diferentes concentrações, obtido pelo programa GraphPad Prism 5. Experimentos realizados  $n=5$ , em octuplicadas.

As concentrações de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol mostraram efeitos citotóxicos, como o aumento percentual da mortalidade celular, diminuindo a densidade celular e perda dos prolongamentos citoplasmáticos a partir da concentração de 6,25 mM (Figura 04).

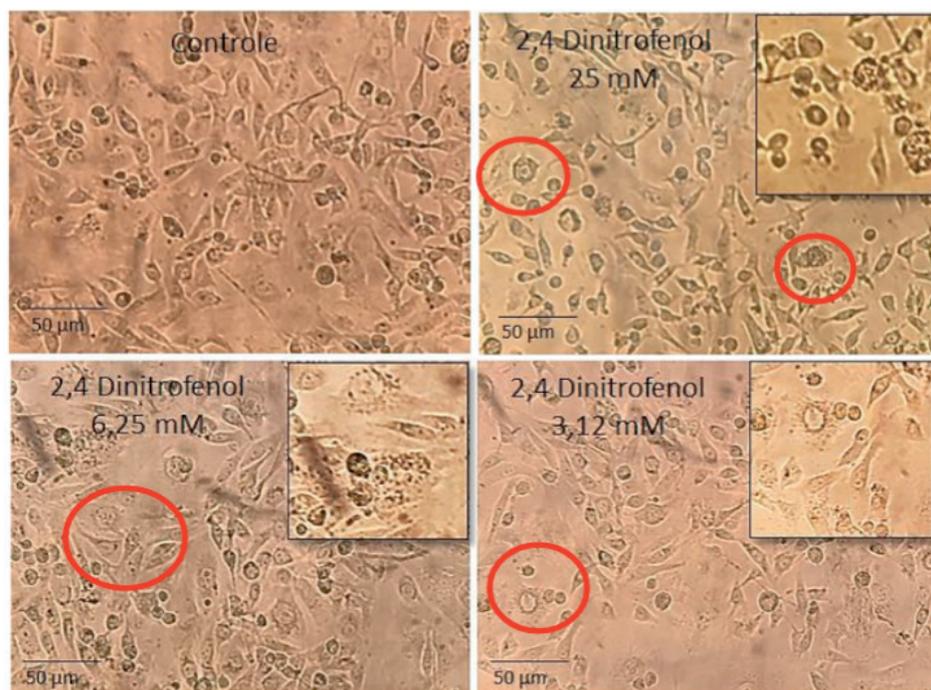


Figura 04 - Fotomicrografia dos aspectos celulares das células tumorais de mama humana MDA-MB-231. Aspectos celulares dos grupos controle e tratados com as diferentes concentrações do 2,4-Dinitrofenol após 24 h de tratamento, obtidas em Microscopia Invertida de Luz. Os círculos indicam a perda dos prolongamentos citoplasmáticos, nota-se que há uma redução na densidade celular nas maiores concentrações.

Com o tratamento 2,4-Dinitrofenol + Pho-s, as células MDA-MB-231 mostraram perda dos prolongamentos citoplasmáticos e diminuição da densidade celular, a partir da concentração de 6,12 mM. Após as análises para a obtenção da equação da reta e comparações estatísticas programa no GraphPad Prism 5 foi obtido o valor da IC50% de 27 mM (Figura 05).

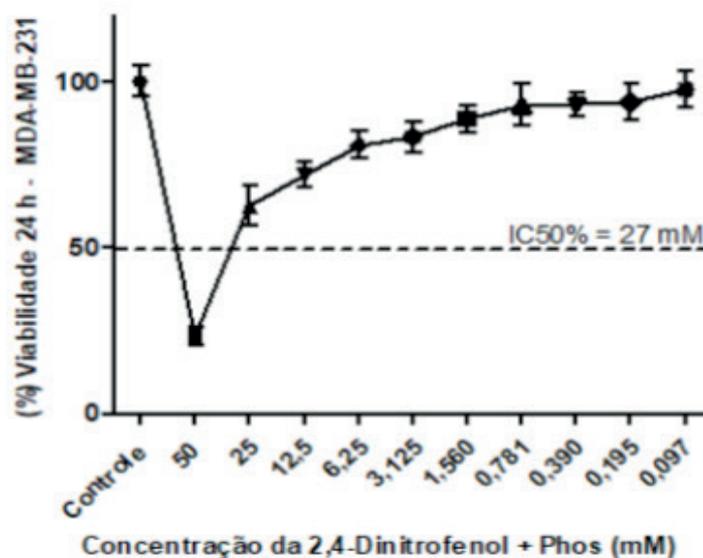


Figura 05 - Avaliação da Toxicidade do composto 2,4-Dinitrofenol + Pho-s em células de tumores de mama humano MDA-MB-231. Gráfico de dispersão dos valores da média  $\pm$  dp da viabilidade da célula de câncer de mama humano triplo negativo MDA-MB-231, após 24 horas de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol + Pho-s em diferentes concentrações, obtido pelo programa GraphPad Prism 5. Experimentos realizados n=5, em octuplicadas.

As concentrações de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol + Pho-s mostraram efeitos citotóxicos significativos, como o aumento percentual da mortalidade celular, perda dos prolongamentos citoplasmáticos, debris celular a partir da concentração de 6,12 mM (Figura 06).

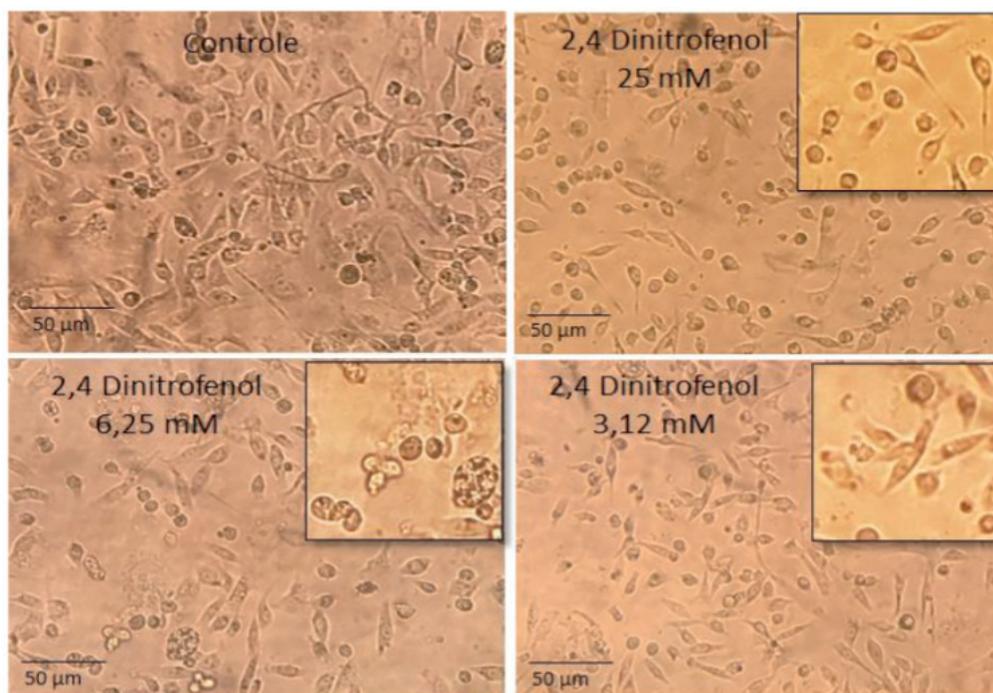


Figura 06 - Fotomicrografia dos aspectos celulares das células tumorais de mama humana MDA-MB-231. Aspectos celulares dos grupos controle e tratados com as diferentes concentrações do 2,4-Dinitrofenol + Pho-s após 24 h de tratamento, obtidas em Microscopia Invertida de Luz. Os quadros à direita indicam a perda dos prolongamentos citoplasmáticos.

### 3.2 Determinação da produção de lipídeos peroxidados polissaturados

O tratamento com a Pho-s resultou em diferença significativa na formação de radicais peroxidados lipídicos da linhagem tumoral de mama MDA-MB-231. Após o tratamento de 24 horas houve diminuição significativa da produção de radicais peroxidados lipídicos nos sobrenadantes das culturas celulares das células tumorais MDA-MB-231 tratadas com a Pho-s a partir da concentração de 20 mM (Figura 07A). As relações entre a viabilidade celular e a produção de lipoperoxidos em células tumorais de mama MDA-MB-231 mostraram correlação positiva significativa entre a diminuição da viabilidade e a produção de lipoperoxidos (Figura 07B).

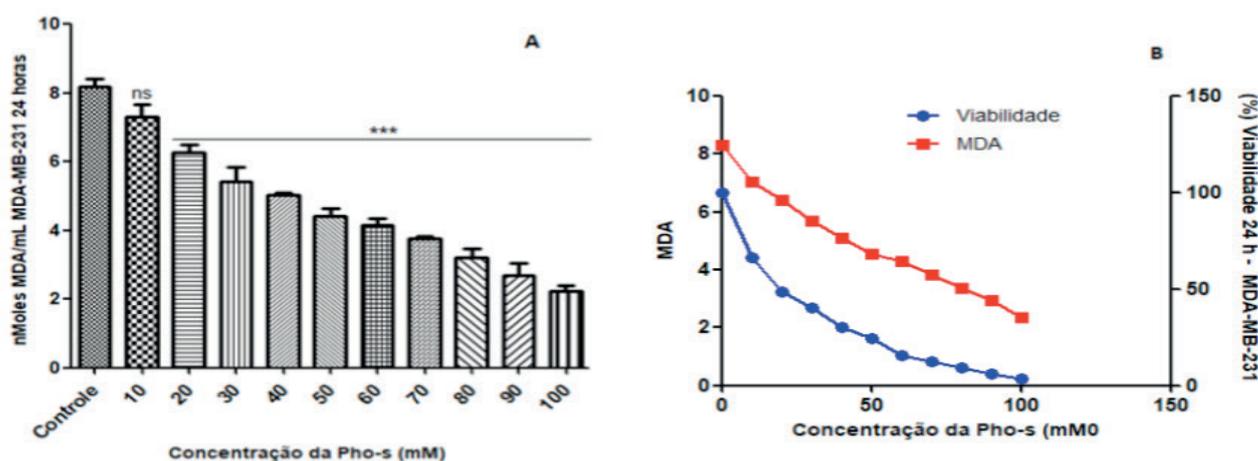


Figura 07 – Produção de radicais lipoperoxidados em células tumorais de mama humana MDA-MB-231. (A) Gráficos de barras dos valores da média  $\pm$  dp da produção de radicais peroxidados

lipídicos após 24 horas de tratamento com a Pho-s. (B) Gráfico de dispersão da correlação positiva da produção de radicais livres lipoperoxidados com a viabilidade celular obtida no teste do MTT. Valores de significância com  $p^{***}<0.01$  e ns obtido pelo teste de variação do ANOVA seguido pelo teste múltiplo de Turkey-Kremer. Experimentos realizados independentes  $n=5$ , em octuplicadas.

O tratamento das células MDA-MB-231 com o 2,4-Dinitrofenol após 24 horas mostrou diminuição significativa da produção de radicais peroxidados lipídicos nos sobrenadantes das culturas celulares das células tumorais nas concentrações (Figura 08A). Não há correlação significativa positiva entre a viabilidade e a produção de lipoperoxidos (Figura 08B).

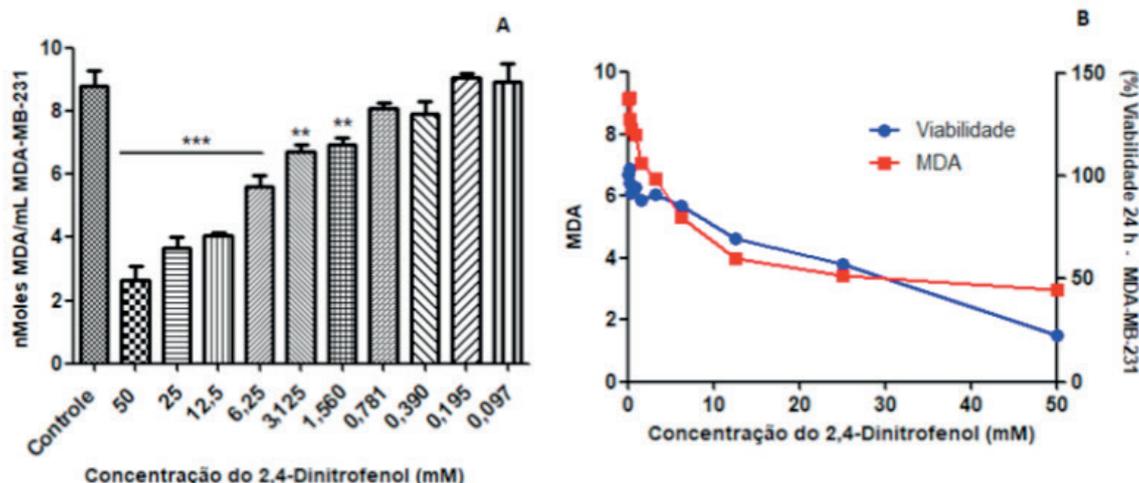


Figura 08 – Produção de radicais lipoperoxidados em células de mama humana MDA-MB-231. (A) Gráficos de barras dos valores da média  $\pm$  dp da produção de radicais peroxidados lipídicos após 24 horas de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol. (B) Gráfico de dispersão da correlação positiva da produção de radicais livres lipoperoxidados com a viabilidade celular obtida no teste do MTT. Valores de significância com  $p^{***}<0.01$  e ns obtido pelo teste de variação do ANOVA seguido pelo teste múltiplo de Turkey-Kremer.

Experimentos realizados independentes  $n=5$ , em octuplicadas.

O tratamento com o 2,4-Dinitrofenol + Pho-s após 24 horas mostrou diminuição significativa da produção de radicais peroxidados lipídicos nos sobrenadantes das culturas celulares das células tumorais MDA-MB-231 nas concentrações (Figura 09A). Não há correlação significativa positiva entre a viabilidade e a produção de lipoperoxidos (Figura 09B).

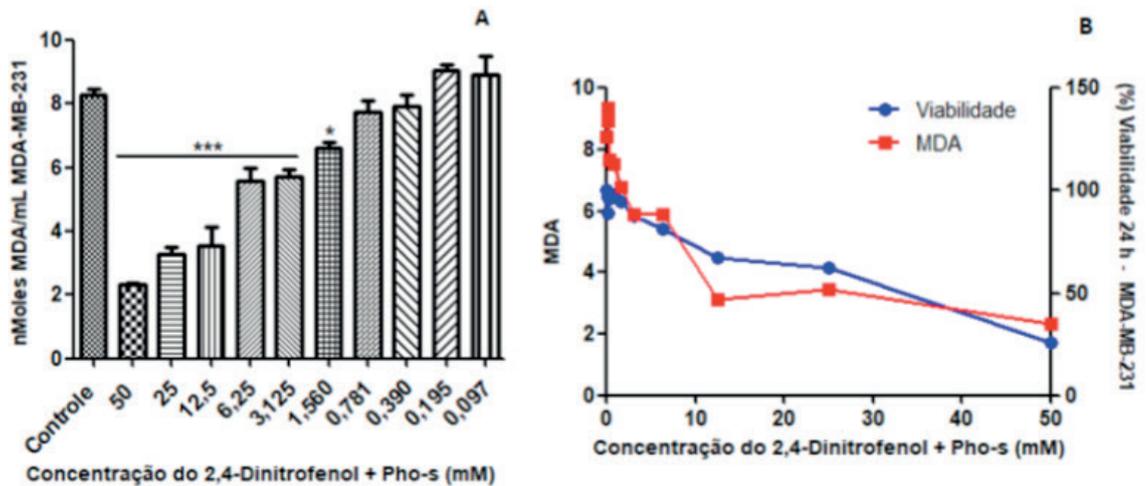


Figura 09 – Produção de radicais lipoperoxidados em células de mama humana MDA-MB-231. (A) Gráficos de barras dos valores da média  $\pm$  dp da produção de radicais peroxidados lipídicos após 24 horas de tratamento com o 2,4-Dinitrofenol + Pho-s. (B) Gráfico de dispersão da correlação positiva da produção de radicais livres lipoperoxidados com a viabilidade celular obtida no teste do MTT. Valores de significância com  $p^{***}<0.01$  e ns obtido pelo teste de variação do ANOVA seguido pelo teste múltiplo de Turkey-Kremer.

Experimentos realizados independentes  $n=5$ , em octuplicadas.

#### 4 | DISCUSSÃO

O tumor de mama triplo-negativo (TNBC) é um subtipo de tumor de mama, caracterizado molecularmente pela expressão negativa dos receptores de estrogênio e progesterona 2 e a ausência de superexpressão da proteína HER2 ou amplificação do gene HER2, ou ambos. Geralmente o TNBC afeta mulheres mais jovens e geralmente apresenta um prognóstico ruim. A progressão metastática nesse fenótipo é tipicamente marcada por recidiva precoce e predominância de metástases hepáticas, pulmonares e do sistema nervoso central. Embora, seja geralmente aceito o TNBC em estágio inicial é sensível à quimioterapia, porém o regime de tratamento ideal permanece indefinido. A quimioterapia neoadjuvante é um padrão de tratamento para um TNBC localmente avançado ou inoperável. Desta forma, nossos resultados mostraram que no modelo *in vitro* com o monoalquilfosfato (Pho-s) e o 2,4-Dinitrofenol e sua associação são eficazes na capacidade de diminuir a viabilidade das células de tumor de mama humano MDA-MB-231. Em células de adenocarcinoma de mama humano - MCF7 com o tratamento da Pho-s, houve diminuição da viabilidade celular e inibição da proliferação celular. Em células tumorais de adenocarcinoma de mama humana MCF7, responsivas às terapêuticas hormonais, a Pho-s se mostrou eficaz na capacidade de inibir a proliferação celular dos diferentes tempos. A viabilidade celular foi avaliada após 24, 48 e 72 horas de tratamento com a Pho-s, levando a uma redução da viabilidade celular tempo-concentração dependente. Após o tratamento as células MCF7 apresentaram

aspectos de lise e formação de debris celular, a partir da concentração de 20 mM. Dados que corroboram com trabalhos anteriores, no qual o tratamento com Pho-s mostrou-se citotóxico em células tumorais (LAVELI-SILVA, M. G. et al., 2017). As células tumorais MDA-MB-231 não apresentaram diferenças entre a sensibilidade dos efeitos de toxicidade, quando comparada às células tumorais luminal MCF-7 (LAVELI-SILVA, 2019).

O tratamento com o 2,4-Dinitrofenol (DNP) nas células tumorais de mama MDA-MB-231 que apresentaram perda dos prolongamentos citoplasmáticos e diminuição da densidade celular, com a obtenção da IC50% em 25 mM, assim como, o tratamento com sua associação com a Pho-s resultou no aumento do percentual significativo de morte celular, com a IC50% em 27 mM, não havendo efeitos potencializadores ou sinérgicos.

O 2,4-dinitrofenol estimula a respiração, aumenta o consumo de O<sub>2</sub> e provoca a perda do gradiente de pH através da membrana mitocondrial interna. Por isso, tem sido demonstrado que o mesmo tem um potencial de auto-oxidação, aumentando a produção de ROS e reduzindo o potencial da membrana mitocondrial. Além disso, o 2,4-dinitrofenol tem a capacidade de aumentar a indução de morte por apoptose em algumas linhagens celulares tumorais (Jukat, CEM, SKW6 e HeLa). Em contrapartida, alguns estudos têm mostrado que o 2,4-dinitrofenol não conseguiu induzir a apoptose em células humanas dopaminérgicas, mas a apoptose induzida por diminuição dos níveis de ATP em fibroblastos humanos e células germinativas masculinas humanas. No entanto, as suas propriedades como um agente antitumoral não foram totalmente compreendidas (ZACK et al., 2016). Portanto, o efeito do 2,4-dinitrofenol sobre o crescimento das células tumorais via apoptose ou parada do ciclo celular necessita de ser elucidados.

Em condições mitocondriais normais, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é baixa, a produção de ATP é alta, o Ca<sup>2+</sup> livre é baixo no citosol e o armazenamento de Ca<sup>2+</sup> na mitocôndria é alto, mas sob controle. Existe um limite para a capacidade de armazenamento do Ca<sup>2+</sup>. Uma célula em estado de disfunção mitocondrial tem um mosaico de capacidade mitocondrial, com disfunção mitocondrial, a produção de ATP pode ser variável e a produção de ROS maior. Quando ROS se formam como um subproduto da respiração em condições normais, o mecanismo antioxidante mantém seguramente em níveis baixos. A grande produção de ROS, promove o ataque de estruturas celulares, incluindo proteínas, DNA e lipídios (GEISLER, 2019). Desta forma, foi avaliada a produção de radicais lipoperoxidados nas células normais e tumorais com todos os tratamentos.

Nas células tumorais de mama humano triplo negativo MDA-MB-231 tratadas com Pho-s e o 2,4-Dinitrofenol e sua associação, houve diminuição da formação de radicais peroxidados lipídicos quando comparado ao grupo controle. Isto

ocorre, provavelmente, pela diminuição significativa da viabilidade celular após os tratamentos, sendo que ROS são subprodutos do metabolismo celular e no método colorimétrico MTT foi observado em células tumorais MDA-MB-231 a partir das observações obtidas nos ensaios de citotoxicidade.

## REFERÊNCIAS

Ayoub, N. M.; Al-Shami, K. M.; Yaghan, R. J. **Immunotherapy for HER2-positive breast cancer: recent advances and combination therapeutic approaches.** Breast Cancer, 11:53-69, 2019.

Dine, J.; Deng, C. X. **Mouse models of BRCA1 and their application to breast cancer research.** Cancer Metastasis Rev. 32: 25-37, 2018.

Donepudi, M. S.; Kondapalli, K.; Amos, S. J.; Venkateshan P. **Breast cancer statistics and markers.** Journal of Cancer Research and Therapeutics. v. 10, 2015.

Hanahan, D.; Weinberg, R.A. **Hallmarks of cancer: the next generation.** Cell. 144: 646-674, 2011.

Ferreira, A. K.; Meneguelo, R.; Neto, S. C.; Chierice, G. O.; Maria, D. A. **Synthetic Phosphoethanolamine Induces Apoptosis Through Caspase-3 Pathway by Decreasing Expression of Bax/Bad Protein and Changes Cell Cycle in Melanoma.** J. Cancer Sci Ther. 3: 53-59, 2011.

Ferreira, A. K.; Meneguelo, R.; Marques, F. L.; Radin, A. **Synthetic phosphoethanolamine a precursor of membrane phospholipids reduce tumor growth in mice bearing melanoma B16-F10 and in vitro induce apoptosis and arrest in G2/M phase.** Biomed Pharmacother. 66: 541-8, 2012.

Ferreira, A. K.; Meneguelo, R.; Pereira, A.; Filho, O. M. R.; Chierice, G. O.; Maria, D. A. **Anticancer effects of synthetic Phosphoethanolamine on Ehrlich ascites tumor: an experimental study.** Anticancer Research. 32: 95-104, 2012.

Ferreira, A. K.; Meneguelo, R.; Pereira, A.; Mendonça, O. R. F.; Chierice, G. O.; Maria, D. A. **Synthetic phosphoethanolamine induces cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells through the mitochondrial pathway.** Biomedicine & Pharmacotherapy. 67: 481-487, 2013.

Geisler, J. G. **2,4 Dinitrophenol as Medicine.** Cells. 8: 280, 2019.

Instituto Nacional do Câncer. **Estimativas 2016: Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2019.

Korde, A. S.; Creed, P. L.; Craddock, S. D.; Maragos, W. F. **The mitochondrial uncoupler 2,4-dinitrophenol attenuates tissue damage and improves mitochondrial homeostasis following transient focal cerebral ischemia.** Journal of Neurochemistry. v.94, n. 1676-1684, 2005.

Laveli-Silva, M. G. **Antitumor evaluation of synthetic phosphoethanolamine and liposomal formulation DODAC/synthetic phosphoethanolamine in human breast tumor cells.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2017. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-11052017-142120/pt-br.php>.

Laveli-Silva, M. G.; Knop, L. B.; Maria, D. A. **Meclizine Chloridrate and Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin Associated with Monophosphoester Synthetic Phosphoethanolamine Modulating Proliferative Potential in Triple-Negative Breast Cancer Cells.** Journal of Pharmacy and Pharmacology. 7: 408-

420, 2019.

Mollinedo, F.; Gajate, C. **Lipid rafts as major platforms for signaling regulation in cancer.** Adv Biol Regul. 57: 130–146, 2015.

O'Toole, S. A.; Beith, J. M.; Millar, E. K.; West, R.; McLean, A.; et al. **Therapeutic targets in triple negative breast cancer.** J Clin Pathol. 2013.

Van Blitterswijk, W. J.; Verheij, M. **Anticancer alkylphospholipids: mechanisms of action, cellular sensitivity and resistance, and clinical prospects.** Curr Pharm Des 14:2061–74, 2008.

Van Blitterswijk, W. J.; Verheij, M. **Anticancer mechanisms and clinical application of alkylphospholipids.** Biochim. Biophys Acta , 1831: 663 – 674, 2013.

Zack, F.; Blaas, V.; Goos, V.; Rentsch, D.; Büttner, A. **Death within 44 days of 2,4-dinitrophenol intake.** Int J Legal Med, 2016.

## SOBRE OS ORGANIZADORES

**THIAGO TEIXEIRA PEREIRA** - Possui graduação em Educação Física Licenciatura e Bacharelado pela Universidade Católica Dom Bosco – UCDB (2018). Concluiu especialização em Educação Especial pela Universidade Católica Dom Bosco em 2019. Ingressou na pós-graduação (*Stricto Sensu*) a nível de mestrado em 2019 pela Fundação Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, área de concentração em Farmacologia, no qual realiza experimentos em animais na área de toxicologia e endocrinologia, associando intervenção com extratos de plantas e/ou ervas naturais e exercício físico. É membro do Grupo de Pesquisa de Biologia Aplicada à Saúde, cadastrado no CNPq e liderado pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Silvia Aparecida Oesterreich. Em 2019, foi professor tutor do curso de Graduação Bacharel em Educação Física, modalidade Educação à Distância, pela Universidade Norte do Paraná polo de Campo Grande-MS (UNOPAR/CG). Foi revisor dos periódicos *Lecturas: Educación Física y Deportes* e *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*. Possui experiência profissional em treinamento funcional e musculação, avaliação antropométrica, testes de aptidão física e cardiovasculares, montagem de rotinas de treinamento, orientação postural e execução de exercícios, periodização do treinamento e treinamento resistido com enfoque em hipertrofia máxima e promoção da saúde. Atualmente está desenvolvendo estudos com diferentes extratos de *Punica granatum* L. em animais da linhagem Wistar, associado ao exercício físico de força. Recentemente, participou como coautor de um estudo de metanálise inédita intitulada: *Comparative Meta-Analysis of the Effect of Concentrated, Hydrolyzed, and Isolated Whey Protein Supplementation on Body Composition of Physical Activity Practitioners*, que buscou verificar a eficiência de *whey protein* dos tipos concentrado, isolado e hidrolisado comparado a placebos isocalóricos sobre os desfechos de composição corporal em adultos saudáveis praticantes de atividade física.

**LUIS HENRIQUE ALMEIDA CASTRO** - Possui graduação em nutrição pela Universidade Federal da Grande Dourados concluída em 2017 com a monografia “*Analysis in vitro and acute toxicity of oil of Pachira aquatica Aublet*”. Ainda em sua graduação, no ano de 2013, entrou para o Grupo de Pesquisa Biologia Aplicada à Saúde sendo um de seus membros mais antigos em atividade realizando projetos de ensino, pesquisa e extensão universitária desde então. Em 2018 entrou no Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados com o projeto de pesquisa: “*Avaliação da Toxicidade Reprodutiva Pré-clínica do Óleo da Polpa de Pequi (Caryocar brasiliense Camb.)*” no qual, após um ano e seis meses de Academia, obteve progressão direta de nível para o Curso de Doutorado considerando seu rendimento acadêmico e mérito científico de suas publicações nacionais e internacionais; além disso, exerce no mesmo Programa o cargo eletivo (2018-2019) de Representante Discente. Em 2019 ingressou também no Curso de Especialização em Nutrição Clínica e Esportiva pela Faculdade Venda Nova do Imigrante. Atua desde 2018 enquanto bolsista de Pós-Graduação pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) desenvolvendo pesquisas em duas principais linhas de atuação: nutrição experimental, na qual desenvolve estudos farmacológicos e ensaios de toxicidade com espécies vegetais de interesse para a população humana; e, nutrição esportiva, no tocante à suplementação alimentar, metabolismo energético, fisiologia do exercício e bioquímica nutricional. Atualmente é revisor científico dos periódicos *Journal of Nutrition and Health Sciences*, *Journal of Human Nutrition and Food Science* e do *Journal of Medicinal Food*. É ainda membro do Corpo Editorial do *Journal of Human Physiology* e membro do Conselho

Técnico Científico da própria Atena Editora.

**SILVIA APARECIDA OESTERREICH** - Possui graduação em Ciências Biológicas pelas Faculdades Reunidas de Administração, Ciências Contábeis e Ciências Econômicas de Palmas (FACEPAL), com especialização em Biologia pela Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO-PR). Em 2000 obteve o título de Doutora em Ciências da Atividade Física e Desportes pela Universidade de León- Espanha, revalidado pela Universidade de São Paulo como Doutorado em Educação Física, área de concentração Biodinâmica do Movimento Humano. Atualmente é professora associada de Fisiologia Humana e diretora da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Docente do quadro permanente dos Programas de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (mestrado e doutorado) e Nutrição, Alimentos e Saúde, (mestrado) da FCS. Líder do grupo de pesquisa Biologia aplicada à saúde com três orientações em andamento de doutorado e cinco de mestrado. Coordenadora do Laboratório de Ensaio Toxicológicos (LETOX) da FCS onde desenvolve pesquisas na área de Farmacologia, ensaios pré-clínicos visando avaliar a ação farmacológica de compostos ativos naturais sobre os sistemas orgânicos (toxicidade e genotoxicidade) e fatores de risco associados à saúde.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Agranulocitose 65, 66, 67, 68, 69  
Alopecia Areata 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63  
Amamentação 103, 188, 192, 194, 195, 196, 197, 198, 199  
Anticoncepcionais 71, 72, 73, 76  
Antimitóticos 78, 80, 81  
Antineoplásicos 145, 226, 283  
Arnica 120, 121, 122, 123, 126, 134, 135, 136  
Ataque Ácido Dentário 231

### C

Cicatrização 59, 120, 121, 122, 135, 204, 206, 248, 251, 253, 256

### D

Depressão 9, 10, 57, 176, 184, 195, 196, 197, 250, 259, 260, 261, 263, 268, 270, 271, 272, 273  
Diabetes mellitus 23, 24, 25, 30, 33, 35, 36, 38, 39, 158, 159, 160, 161, 168, 169, 170  
Dinitrofenol (2,4-Dinitrofenol) 142, 143, 146, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155  
Doenças Cardiovasculares 20, 23, 25, 33, 34, 35, 75, 160

### E

Envelhecimento 41, 42, 49, 50, 137, 139, 140, 141, 277  
Espécies Reativas de Oxigênio 155, 164

### G

Gestão em saúde 109, 113, 114, 177  
Glioblastoma 215, 216, 218, 224, 227, 228

### H

Hanseníase 65, 66, 67, 68, 69  
Hidroterapia 42, 47  
HIV 104, 105, 106

### I

Incontinência Urinária 137, 138, 139, 140, 293  
Insulina 26, 27, 28, 30, 75, 158, 159, 160, 161, 166, 167, 168, 183

### L

Lesão por Pressão 93, 99  
Lítio 9, 10, 11, 12, 13, 14  
Lúpus Eritematoso Sistêmico 15, 16, 17, 18, 20, 21

## M

Malformações Anorretais 203

Melatonina 158, 159, 166, 167, 168, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 186, 187

Minoxidil 52, 53, 54, 55, 59, 60, 61, 62, 63

Musicoterapia 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 171, 172, 173, 174, 175, 176

## N

Neuralgia do Trigêmeo 248, 254, 255, 256, 257

## O

Obesidade 23, 25, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 39, 146, 162

## P

Produtos de Higiene Menstrual 87, 88, 89, 90

## R

Reparo do DNA 217, 281

Restauração Dentária Permanente 231

## S

Sepse Neonatal 209, 210, 211, 212, 213, 214

Sono 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 186, 187, 194

## T

Tentativa de Suicídio 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266, 267, 268, 271, 272, 273, 274

Terapia Floral 189, 190, 197

Transtornos de Ansiedade 1, 2, 3, 8

Tratamento farmacológico 9, 10, 12, 13

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**