

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE COMPOSTOS
ORGÂNICOS DE TELÚRIO SOBRE O
DESENVOLVIMENTO PRÉ-NATAL EM
CAMUNDONGOS**

TESE DE DOUTORADO

Silvane Souza Roman

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE COMPOSTOS
ORGÂNICOS DE TELÚRIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO
PRÉ-NATAL EM CAMUNDONGOS**

por

Silvane Souza Roman

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Bioquímica Toxicológica, Área de Concentração em Bioquímica Toxicológica,
da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial
para a obtenção do grau de
Doutor em Bioquímica Toxicológica

Orientador: Prof^a Dr^a Cristina Wayne Nogueira

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica
Toxicológica**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS DE
TELÚRIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO PRÉ-NATAL EM
CAMUNDONGOS**

elaborada por
Silvane Souza Roman

Com requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Bioquímica Toxicológica

COMISSÃO ORGANIZADORA:

Cristina Wayne Nogueira, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Robson Luiz Puntel, Dr. (UNIPAMPA/ Campus Uruguaina)

Thais Posser, Dra. (UNIPAMPA/ Campus São Gabriel)

Cinthia Melazzo Andrade Mazzanti, Dra. (UFSM)

Marilise Escobar Bürger, Dra. (UFSM)

Santa Maria, 25 de março de 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar com sua luz, sua energia, tranquilidade e força divina nos momentos de angústia e desespero por achar que não iria conseguir.

A Minha família pelo exemplo de responsabilidade, apoio, compreensão, caráter e estrutura emocional e moral. Vocês sempre foram à base de minha vida profissional.

Ao João, meu grande amor, minha vida, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, pelo carinho, apoio, incentivo, alegrias vividas e principalmente pela compreensão, calma e muita paciência nos finais de semana pelo pequeno tempo despendido á você durante esses anos. Te amo muito!

À Professora Cristina, minha querida orientadora, pelo meu crescimento pessoal e profissional, sabedoria, conhecimento, direcionamento, criatividade e pela oportunidade em estar com vocês para crescer de conhecimentos e idéias. Pelo apoio, amizade, incentivo e principalmente pelo imenso exemplo como orientadora e excelente pesquisadora que levarei para o resto de minha vida. Seu exemplo de sabedoria me proporcionou a busca, criatividade, segurança, conquistas e conhecer os limites de cada ser humano. Com você Cristina, aprendi que a soma de todos, por menor que seja, é que faz a diferença na vida e na pesquisa. Obrigada por tudo!

Ao professor Gilson, pelo apoio, disponibilidade, ensinamentos, carinho e atenção, como também o exemplo de pesquisador que és.

A Ethel, Cristiano, Ricardo, Simone, Cristina, Ana, Bibiana, Carmine, Marina, meus colegas e grandes amigos do Laboratório. Muito obrigada pela ajuda incondicional em todos os momentos, pela dedicação e pela amizade que nunca será esquecida, podendo o tempo e a distância passar, mas meus sentimentos sempre serão os mesmos por vocês.

A Simone e Alexandre pela amizade, apoio, incentivo e colaboração árdua na primeira fase do doutorado, mas que nunca será esquecida. Devo muito a vocês meus amigos.

A Luciele pelo grande apoio inicial, amizade e ter me proporcionado conhecer a minha orientadora e amigos nesse Laboratório e de outros.

Aos colegas do laboratório da Cris. A todos vocês, que compartilharam comigo os meus ideais, os meus dilemas, a minha gratidão e respeito. Foi muito bom trabalhar na companhia de todos.

Aos colegas do laboratório do Professor Gilson e do Professor João, pela parceria, pela companhia, amizade, e pela síntese dos compostos.

Aos funcionários da Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica da UFSM pela disponibilidade e rapidez com que resolvem nossos problemas.

Aos docentes do curso de Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica da UFSM pelos ensinamentos.

Aos meus grandes amigos Assis, Diana, Alexandra e Sandra, pessoas muito especiais para mim, que merecem muito o meu respeito e admiração, pela ajuda incansante e incondicional. Pela amizade, dedicação e disponibilidade em todos os momentos. Sandra você é minha irmã de coração. Obrigada pelas palavras de conforto, por escutar e entender meus dilemas e angústias. Obrigada pelo tempo e dedicação despendida na leitura.

Aos colegas Luis Carlos, Neiva, Arno e alunos do meu grupo de pesquisa da URI, pelas palavras de apoio, ajuda, companheirismo e amizade.

Agradeço, enfim, à Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realização deste curso e a Universidade Regional Integrada-URI-Campus de Erechim pela liberação e auxílio financeiro.

Que eu continue com vontade de viver,
mesmo sabendo que a vida é, em muitos momentos,
uma lição difícil de ser aprendida.
Que eu permaneça com vontade de ter grandes amigos,
mesmo sabendo que, com as voltas do mundo,
eles vão indo embora de nossas vidas.
Que eu realmente sempre a vontade de ajudar as pessoas,
mesmo sabendo que muitas delas são incapazes de ver,
sentir, entender ou utilizar essa ajuda.
Que eu mantenha meu equilíbrio,
mesmo sabendo que muitas coisas que vejo no mundo
escurecem meus olhos.
Que eu realmente a minha garra,
mesmo sabendo que a derrota e a perda são ingredientes
tão fortes quanto o sucesso e a alegria.
Que eu atenda sempre mais à minha intuição,
que sinaliza o que de mais autêntico eu possuo.
Que eu pratique mais o sentimento de justiça,
mesmo em meio à turbulência dos interesses.
Que eu manifeste amor por minha família,
mesmo sabendo que ela muitas vezes
me exige muito para manter sua harmonia.
E, acima de tudo...
Que eu lembre sempre que todos nós
fazemos parte dessa maravilhosa teia chamada vida,
criada por alguém bem superior a todos nós!
E que as grandes mudanças não ocorrem por grandes feitos
de alguns e, sim, nas pequenas parcelas cotidianas
de todos nós!

Chico Xavier

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS DE TELÚRIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO PRÉ-NATAL EM CAMUNDONGOS

AUTORA: SILVANE SOUZA ROMAN

ORIENTADORA: CRISTINA WAYNE NOGUEIRA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 25 de março de 2011

É sabido que a maioria dos agentes químicos atravessam facilmente a placenta e, dessa maneira, pode-se considerar que a exposição materna a agentes externos pode resultar em efeitos tóxicos sobre o organismo embrio-fetal. Considerando as características químicas dos compostos orgânicos de telúrio, tais como a solubilidade lipídica e o peso molecular o que possibilitaria a passagem pela barreira placentária, estudos toxicológicos devem ser conduzidos a fim de verificar os efeitos desses compostos sobre o desenvolvimento intrauterino em modelos experimentais. Além do mais, compostos orgânicos de telúrio têm sido vistos como uma alternativa promissora na área da saúde por apresentarem propriedades farmacológicas em diferentes modelos em que o estresse oxidativo está envolvido. Baseado nisso, esta tese propôs verificar o efeito toxicológico de compostos orgânicos de telúrio com ênfase sobre o desenvolvimento embrionário e fetal em camundongos. No **artigo 1**, a exposição materna ao ditelureto de difenila (PhTe)₂ na dose aguda de 60 mg/kg, via subcutânea, foi embriotóxico no 4º e 14º dia de gestação e na ausência de toxicidade materna, mas diferente dos resultados obtidos em ratos (em nosso laboratório), que foi tóxico para as mães e teratogênico para os fetos, com dose extremamente inferiores a de camundongos. Esses achados mostram que fatores farmacocinéticos podem estar envolvidos na diferença de suscetibilidade a teratogênese entre ratos e camundongos, como também o período da gestação. No **manuscrito 1**, a administração aguda de 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno (BTMT) na dose de 32,8 mg/kg, via oral, no 8º dia de gestação, um dos dias do período da organogênese em camundongos, não alterou os parâmetros de estresse oxidativo materno e fetal, porém foi embriofetal na ausência de toxicidade materna. Esses resultados indicaram a embriofetalidade causada pelo BTMT. No **manuscrito 2**, a administração de 2-feniletinil-butyl telúrio (PEB) na dose aguda por via oral de 10 mg/kg não induz a toxicidade materna, mas afeta o sucesso reprodutivo no 14º dia de gestação. Pode-se supor que a principal razão para os efeitos diferentes encontrados para o PEB e ao BTMT quando comparados com o (PhTe)₂, é que a estrutura química dos diteluretos e dos monoteluretos, já estudadas e relatadas na literatura é muito diferente. Isso porque os diteluretos são mais reativos que teluretos por causa da fraca ligação Te-Te quando comparado com a ligação Te-carbono, uma vez que o processo de biotransformação parece ser importante para as ações desses compostos *in vivo*. Juntos, estes dados sugerem que a exposição aguda aos diferentes compostos orgânicos de telúrio induziu a efeitos adversos sobre o desenvolvimento intrauterino dependentes da via de administração, estrutura química dos compostos, dose, espécie animal e período da gestação, portanto, tornando difícil a comparação dos efeitos observados no artigo com os resultados dos manuscritos 1 e 2, mas que não impossibilitam ou descartam a

continuidade e a importância de pesquisas adicionais sobre as propriedades farmacológicas e toxicológicas destes compostos.

Palavras-chave: organotelúrio; gestação; desenvolvimento; toxicidade; camundongo.

ABSTRACT

Thesis of Doctor's Degree
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF ORGANOTELLURIUM COMPOUNDS ON PRENATAL DEVELOPMENT IN MICE

AUTHOR: SILVANE SOUZA ROMAN

ADVISOR: CRISTINA WAYNE NOGUEIRA

Date and Place of the Defense: Santa Maria, march 25, 2011

It is known that most chemical agents readily cross the placenta and thus may be considered that maternal exposure to external agents can result in toxic effects on embryo-fetal organism. Considering the chemical characteristics of organotellurium compounds, such as lipid solubility and molecular weight that facilitate the cross placental barrier, toxicological studies should be conducted to verify the effects of these compounds on intrauterine development in experimental models. Furthermore, organotellurium compounds have been reported as a promising alternative in health by showing pharmacological properties in different models in which oxidative stress plays a role. Based on these considerations, this thesis investigated the toxic effects of organotellurium compounds, with emphasis on embryonic and fetal development in mice. Article 1, the maternal exposure to diphenyl ditelluride (PhTe)₂ at single dose of 60 mg/kg, s.c on GD 4 or GD 14 was embryotoxic in the absence of maternal toxicity but different from the results in rats, which was toxic to the dams and teratogenic to fetus at dose extremely lower than that of mice. These findings showed that pharmacokinetic factors may be involved in susceptibility to teratogenesis differences between rats and mice as well as the period of gestation. In the first manuscript, mice orally exposed to a single dose of 32.8 mg/kg of 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT) at GD 8, one day of the organogenesis period, did not altered the parameters of maternal and fetal oxidative stress, but was embryo-lethal in the absence of maternal toxicity. These results indicate embryo-lethality caused by BTMT in mice. In the second manuscript, the exposure to 2-phenylethynyl-butyl tellurium (PEB) in mice at single dose of 10 mg/kg did not induce maternal toxicity, but affect the reproductive success at GD 14. In mice, the acute exposure to different organotellurium compounds at doses considerably high showed adverse effects on intrauterine development ranging from discrete embryotoxic insult to embryo-lethality. We assume that the main reason for the different effects found for PEB and BTMT when compared to (PhTe)₂ is that the molecular structures of these organotellurium are very different. Ditellurides are more reactive than tellurides because of the weak Te-Te bond when compared to the Te-carbon bond, since biotransformation process has been seem to be important for the actions of these compounds *in vivo*. Together, these data suggest that acute exposure to different organic compounds of tellurium induced adverse effects on intrauterine development dependent on the route of administration, the chemical structure of compounds, dose, animal species and period of gestation, therefore making it difficult to compare effects seen in the article with the results of manuscripts 1 and 2, but that does not impossible or discarded the importance of continuity and further research into the pharmacological and toxicological properties of these compounds.

Key words: organotellurium; gestation; development; toxicity; mice.

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

FIGURA 1- Período de desenvolvimento dos diferentes órgãos e sistema do rato.....	18
FIGURA 2- Risco de desenvolvimento de anomalias durante o período da gestação em humanos.....	19
FIGURA 3- Representação esquemática da relação dos fatores de susceptibilidade materna e toxicidade desenvolvimental.....	26
FIGURA 4- Representação esquemática dos mecanismos de defesa antioxidante enzimáticos e não enzimáticos.....	28
FIGURA 5- Potencial interação entre as vias de ERO e ERN.....	30
FIGURA 6- Estrutura química dos compostos orgânicos de telúrio.....	34
FIGURA 7- Estrutura química do ditelureto de difenila.....	35

Artigo 1

FIGURE 1- Effect of (PhTe) ₂ exposure during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods on fetal body weight.....	44
FIGURE 2- Effect of (PhTe) ₂ exposure during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods on fetal biometry.....	44

Manuscrito 1

FIGURE 1- Chemical structure of 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene	73
FIGURE 2- Photomicrography of the maternal organ segments with a detail on the right.....	74

Manuscrito 2

FIGURE 1- Chemical structure of 2-phenylethynyl-butyl tellurium	93
------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Revisão Bibliográfica

TABELA 1- Tabela mostrando a etiologia das malformações congênitas em humanos.....	22
TABELA 2- Tabela mostrando a classificação das substâncias químicas de acordo com o seu potencial teratogênico segundo o FDA.....	24

Artigo 1

TABLE 1- Skeletal anomalies in fetuses of mice exposed to (PhTe) ₂ during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods.....	45
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Manuscrito 1

TABLE 1- Maternal effects of pregnant mice exposed to BTMT on GD 8.....	69
TABLE 2- Reproductive parameters from dams exposed to BTMT on GD 8.....	70
TABLE 3- Incidences of skeletal anomalies in fetuses of dams exposed to BTMT on GD 8.....	71
TABLE 4- Effect of BTMT on biochemical parameters in liver and brain of dams and fetuses, and placenta of dams on GD 8.....	72

Manuscrito 2

TABLE 1- Maternal toxicity of pregnant mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy	90
TABLE 2- Reproductive and developmental toxicity in pregnant mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy	91
TABLE 3- Skeletal anomalies in fetuses of mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy	92

LISTA DE ABREVIATURAS

(PhTe)₂ - ditelureto de difenila
BTMT - 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno
PEB - 2-feniletinil-butil telúrio
LOAEL - lowest-observed-adverse-effect-level
RCIU - restrição de crescimento intra-uterino
ALT - alanina aminotransferase
GPx - glutationa peroxidase
δ-ALA-D - delta aminolevulinato desidratase ou porfobilinogênio sintase
CAT- catalase
SOD - superóxido dismutase
SNC - sistema nervoso central
EROs - espécies reativas de oxigênio
ERNs - espécies reativas de nitrogênio
HPLC - high-performance liquid chromatography
GC - cromatografia de gás
AA – ácido ascórbico
TBARS - thiobarbituric acid reactive substances
GST- glutationa-S-transferase
GD – gestational day
FDA – Food and Drug Administration

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. Teratologia	15
2.1.1. Histórico	15
2.1.2. Princípios básicos da teratologia	16
2.1.2.1 Estágio de desenvolvimento do concepto	17
2.1.2.2 Genótipo materno-fetal.....	19
2.1.2.3 Relação entre dose e efeito	19
2.1.2.4 Mecanismo patogênico específico de cada agente	19
2.1.3. Agentes teratogênicos.....	20
2.1.3.1. Desconhecidos.....	20
2.1.3.2. Fatores genéticos	21
2.1.3.3. Fatores ambientais	21
2.1.4 Avaliação da toxicidade para o desenvolvimento	22
2.1.4.1 Classificação das substâncias químicas de acordo com o seu potencial teratogênico segundo o Food and Drug Administration (FDA)	22
2.2 Transporte transplacentario	24
2.3 Estresse oxidativo	26
2.3.1 Defesas antioxidantes	27
2.3.2 Estresse oxidativo e mecanismo de teratogenicidade	28
2.4 Telúrio	30
2.4.1 Farmacologia dos compostos orgânicos de telúrio	32
2.4.2 Toxicologia dos compostos orgânicos de telúrio	34
2.4.2.1 Propriedades toxicológicas no desenvolvimento	35
3. OBJETIVOS	38

3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Especificos	38
APRESENTAÇÃO	39
4. ARTIGO CIENTÍFICO E MANUSCRITOS	40
4.1 Artigo 1: Efeito do ditelureto de difenila sobre o desenvolvimento embrio/fetal em camundongos: Diferenças interespecies	41
4.2 Manuscrito 1: Avaliação desenvolvimental e do perfil oxidativo em camundongos submetidos a uma única administração de 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno	49
4.3 Manuscrito 2: Toxicidade desenvolvimental e materna do 2-feniletinil-butil telúrio em camundongos	75
5. DISCUSSÃO	94
6. CONCLUSÕES	103
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
8. APÊNDICE	118

1. INTRODUÇÃO

A teratologia, o estudo das anormalidades do recém nascido é uma velha preocupação humana. Anteriormente se acreditava que embriões de mamíferos, que se desenvolviam no útero dito “impenetráveis” de suas mães, estavam protegidos de todo e qualquer fator extrínseco. Entretanto, após o desastre da talidomida, na década de 60, se tornou mais claro e aceitável que os embriões em desenvolvimento poderiam estar vulneráveis a determinados agentes ambientais (Smithells e Newman, 1992). Em virtude deste acontecimento, a inquietude quanto à inocuidade de xenobióticos durante a gestação e a prevenção de defeitos congênitos através da identificação de teratógenos em potencial, passou a ser uma preocupação da Saúde Pública. Um teratógeno é definido como qualquer fator ou substância que pode produzir uma anormalidade permanente na estrutura ou função, restrição de crescimento, ou morte do embrião ou feto. Esses fatores incluem medicamentos, drogas, produtos químicos e condições maternas ou doenças, incluindo infecções (Friás e Gilbert-Barnes, 2008).

Ao longo dos anos, no entanto, as pesquisas foram se intensificando com o intuito de esclarecer o que realmente estava acontecendo (Kalter, 2003). As agências regulatórias e os organismos internacionais pertinentes, por sua vez, tornaram mais rigorosas as exigências quanto aos estudos de segurança e eficácia de novos medicamentos, incluindo os estudos de toxicidade reprodutiva, e estenderam tais exigências a outros produtos, tais como pesticidas, aditivos alimentares e substâncias químicas em geral. Desta forma, nos estudos de toxicidade reprodutiva os efeitos de um agente ambiental sobre o embrião ou o feto dependem da natureza química ou física do agente, além de vários outros fatores, como a dose, via e período da exposição e da gestação, a susceptibilidade genética materna ou embrio-fetal e a presença e natureza de exposições simultâneas (Wilson, 1977; Brent, 2001).

Diante desses achados, saber se um agente pode atuar como um teratógeno é importante não só para que se possa prevenir o aparecimento de malformações congênitas, como também para que se possam desenvolver drogas que sejam seguras para o uso terapêutico em mulheres grávidas. Embora houvesse avanços nos últimos 50 anos com o desenvolvimento científico de novas tecnologias por meio de utilização de imagens de ultra-som, capacidade de diagnosticar e controlar anormalidades fetais, ainda somos incapazes de diagnosticar ou prever todas as doenças genéticas ou malformações anatômicas pré-natal ou até mesmo meses ou anos após o nascimento (Chervenak et al., 2010).

Há tempos já se sabe que compostos tóxicos presentes no sangue materno facilmente atravessa a placenta e atinge a corrente sanguínea do feto (Myllynen et al., 2005), portanto não se trabalha mais com o conceito de “barreira placentária” (Laporte et al., 1989). Embora, o organismo materno seja capaz de alterar uma substância química ou pelo menos, reduzir sua concentração, há muito tempo já se sabe que as funções protetoras da placenta são limitadas. Neste sentido, determinados xenobióticos além de afetarem diretamente o desenvolvimento pré-natal, podem causar sequelas que só serão detectadas na vida adulta.

Os compostos de telúrio, que têm propriedades metálicas, atravessam a barreira hematoencefálica, a barreira placentária e a barreira endodimial-fluido cérebro espinhal-sangue fetal (Duckett e Ellem, 1971). Dessa forma, pode-se constatar que compostos contendo telúrio são altamente tóxicos para o desenvolvimento cerebral em mamíferos em desenvolvimento. O ditelureto de difenila (PhTe)₂, um composto orgânico de telúrio, bastante estudado em nosso grupo de pesquisa, quando administrado em ratas prenhas, causa múltiplas malformações nos fetos em desenvolvimento (Stangherlin et al., 2005) e é dependente do período gestacional. O contrário foi visto em camundongos, onde os efeitos do (PhTe)₂ sobre o desenvolvimento embrio-fetal foi menos pronunciado nos diferentes períodos da gestação, reforçando que os camundongos são mais resistentes a toxicidade deste composto organotelúrio do que ratos (Roman et al., 2007). A exposição materna a baixas doses deste composto durante a lactação causa mudanças neurocomportamentais em ratos (Stangherlin et al., 2006b) e é altamente tóxico ao Sistema Nervoso Central (SNC) em roedores durante a gestação e lactação (Stangherlin et al., 2009).

Se de um lado os compostos de telúrio apresentam efeitos tóxicos, por outro lado estão sendo vistos os efeitos biológicos de alguns derivados inorgânicos e orgânicos em terapias médicas bastante promissoras. Compostos orgânicos de telúrio têm sido relatados como excelentes antioxidantes em diversos modelos de estresse oxidativo (Engman et al., 1995; Briviba et al., 1998; Jacob et al., 2000), especialmente no cérebro (À vila et al., 2007; 2008). Estudos têm mostrado que compostos teluroacetenos, em baixas concentrações, apresentam atividade antioxidante em homogeneizado de cérebro de ratos *in vitro*. Dentre eles, o 2-feniletinil-butil telúrio protegeu contra o dano oxidativo causado pelo nitroprussiato de sódio (SNP) em encéfalo de camundongos, confirmando o potencial antioxidante deste composto *in vivo* (Souza et al., 2009). Outra classe de compostos orgânicos de telúrio bastante promissora é o 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno um telureto vinílico com atividade antioxidante e baixa toxicidade em roedores (Savegnago et al., 2006).

Considerando o efeito duplo dos compostos orgânicos de telúrio novas investigações de seus efeitos tóxicos são necessárias, sobretudo relacionados à toxicidade reprodutiva desenvolvimental, uma vez que estes compostos parecem ser promissores por apresentar alta atividade antioxidante, serem facilmente sintetizados e apresentarem baixa toxicidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Teratologia

A palavra teratologia, derivado do grego *teras* significa monstro, é o estudo do desenvolvimento anormal ou produção de defeitos no feto. O sentido original da palavra refere-se a malformações anatômicas macroscópicas, embora atualmente tenha se expandido sua definição para englobar anomalias desde uma desordem em nível funcional, como é o caso de retardo mental, passando por um estágio de retardo no crescimento intra-uterino, malformações, e em última instância, a morte (Kalter, 2003; Friás e Gilbert-Barness, 2008).

Esses defeitos podem ser deformidades, rupturas, displasia ou malformações (Hansen e Yankowitz, 2002). Malformações são defeitos morfológicos de um órgão ou em parte do corpo resultante de um processo de desenvolvimento intrinsecamente anormal (Brunoni, 2002). Conforme Bernardi (2002) malformação não significa apenas formação anormal de tecidos, mas também anormalidades bioquímicas. Estas podem ser causadas pela ação direta de um agente tóxico sobre o feto ou através de ação sobre o organismo materno.

A incidência de defeitos ao nascimento varia entre 2-3%, mas duplica no período pós-natal devido ao fato de que muitas disfunções não são perceptíveis no nascimento (Schumacher, 2004).

2.1.1. Histórico

A história da Teratologia, uma ciência essencialmente descritiva, nos remete a reflexões sobre as diversas religiões, crenças, visões e o grau de desenvolvimento tecnológico em diferentes civilizações ao longo dos tempos. A malformação congênita sempre despertou o interesse do homem, especialmente quando se manifesta em características externas incomuns. Historicamente o pai ou a mãe de uma criança malformada era exposto ao ridículo, à crítica ou mesmo a superstição (Schumacher, 2004). Folclore e superstição dominavam o

campo aliado à falta de conhecimento, as causas de malformações foram atribuídas aos maus espíritos, fornicção com animais, pensamentos lascivos ou outros atos imorais. Certamente, em 1600, ninguém poderia ter pensado em receber uma indenização pelo nascimento de criança malformada (Brent, 2007). Foi a partir destes acontecimentos que Etienne Geoffroy de Saint-Hilaire (1772-1844) derivou o termo teratologia. Um grande avanço foi dado à investigação teratológica no século XX pelo médico Australiano Gregg em 1941, após a observação de crianças gravemente deformadas, causadas pelo sarampo, durante o período inicial da gestação, assim como várias outras doenças virais incluindo hepatite, papeira, sarampo, poliomielite, varicela e síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) que também podiam induzir os efeitos teratogênicos (Schumacher, 2004).

Antigamente, acreditava-se que o útero era intransponível a agentes externos e que a placenta constituía-se em uma verdadeira barreira entre o organismo materno e o organismo fetal. O conceito de que o feto estaria pouco exposto a substâncias utilizadas pela gestante foi abalado após as consequências das bombas atômicas que destruíram Hiroshima e Nagasaki, em 1945, a catástrofe da talidomida na Alemanha bem como em outros países no período de 1959-1962 e o desastre de TCDD (tetraclorodibenzo-dioxina) de Seveso no Norte da Itália em 1976 (Schumacher, 2004). Consequentemente pode-se concluir que a “tragédia da talidomida” um medicamento comercializado como um sedativo moderado, usado para diminuir as náuseas em mulheres grávidas, provocou uma revolução nas pesquisas sobre a Teratologia Experimental e os levantamentos epidemiológicos com relação às investigações das malformações congênitas. Paralelamente, se determinaram precauções, controle e grande cautela na prescrição de novos medicamentos, particularmente para mulheres durante o período de gestação (Saldanha, 1994). Consequentemente sabe-se que a maioria dos fármacos contidos nos medicamentos utilizados por gestantes atravessa a placenta e atinge a corrente sanguínea do feto (Myllynen et al, 2005), portanto, não se trabalha mais com o conceito “barreira placentária” (Laporte et al., 1989). Considera-se que a alegação de teratogenicidade depende de critérios metodológicos precisos e encadeados dentro de um protocolo de investigação científica (Brent, 1986; 1993).

2.1.2. Princípios básicos da teratologia

A ação de um agente teratogênico sobre o embrião ou feto em desenvolvimento depende de diversos fatores e então, para o estudo deste ramo da ciência devemos levar em consideração os seguintes princípios (Wilson, 1977; Brent, 2001):

2.1.2.1 Estágio de desenvolvimento do concepto

É fundamental o conhecimento das etapas do desenvolvimento embrionário, pois alguns estágios do desenvolvimento são mais vulneráveis que outros (Figura 1). É importante salientar que normalmente os agentes atuam não apenas em uma estrutura específica, mas em um grande número de estruturas que estão se definindo durante determinado momento. O período gestacional em que acontece a exposição a um determinado agente é um fator relevante, levando à divisão da gestação em mamíferos em três fases:

- *Período de implantação ou pré-embrionário*: Da fecundação à implantação. Ocorre até o final da segunda semana de desenvolvimento em humanos (Figura 1) e, em roedores ocorre até o sexto dia de prenhez (Figura 2) (Damasceno et al, 2008). Logo após a fecundação, é marcado pela fusão dos núcleos do óvulo e do espermatozóide; após o zigoto atinge o estágio de blástula que se segue pelo implante do blastocisto no útero. Neste período, qualquer interferência produzida por um medicamento leva a embriofetalidade, sendo rara a ocorrência de teratogênese. Danos severos podem causar a morte do produto da concepção ou, devido à natureza das células pluripotentes, o prejuízo pode ser compensado por vias de reparação permitindo a continuidade do desenvolvimento normal (Friás e Gilbert-Barness, 2008).

- *Período embrionário*: A partir da terceira à oitava semana pós-fecundação em humanos (Figura 1) e, em roedores estende-se do sexto ao 15º dia de prenhez (Figura 2) (Damasceno et al, 2008). É o período de pico em relação à divisão celular, diferenciação e morfogênese do embrião (período principal de organogênese), sendo por isso o período mais crítico com relação ao aparecimento de malformações (período teratogênico clássico) (Gilbert, 2003; Opitz, 2007). Agentes teratogênicos agem de maneira específica sobre o desenvolvimento de células e tecidos para iniciar as sequelas da embriogênese anormal que incluem: redução ou excesso na morte celular, a interferência na sinalização e diferenciação celular, diminuição na biossíntese, alteração nos movimentos morfogenéticos e a ruptura dos tecidos (Prolifka e Friedman, 2002). Qualquer xenobiótico quando administrado nas mães

podem ser teratogênicos, caso a lesão for compatível com a vida do embrião ou feto; ou embrioletal, caso não seja (Lemonica, 2001).

- *Período fetal*: A partir da nona semana pós-fecundação até o nascimento em humanos (Figura 1). Em roedores estendendo-se do 15º dia ao final da prenhez (Damasceno et al, 2008). Nesse período o feto é menos suscetível a alterações morfológicas, pois o processo de desenvolvimento da maioria dos órgãos já foi concluído. As anomalias mais comuns associadas com riscos teratogênicos durante o período fetal podem ser: restrição de crescimento fetal (retardo de crescimento intra-uterino) e leves erros de morfogênese (Frias e Carey, 1996) que resultam em alterações estruturais ou funcionais (Friás e Gilbert-Barnes, 2008). Embora existam numerosas exceções a estas generalizações, caso o xenobiótico venha a ser eliminado lentamente pelo embrião e permanecer em alta concentração durante o período fetal, muito semelhante o que acontece em casos de lesões irreversíveis no DNA embrionário, devido à ausência de uma reparação adequada persistir no feto (Wells et al., 2009).

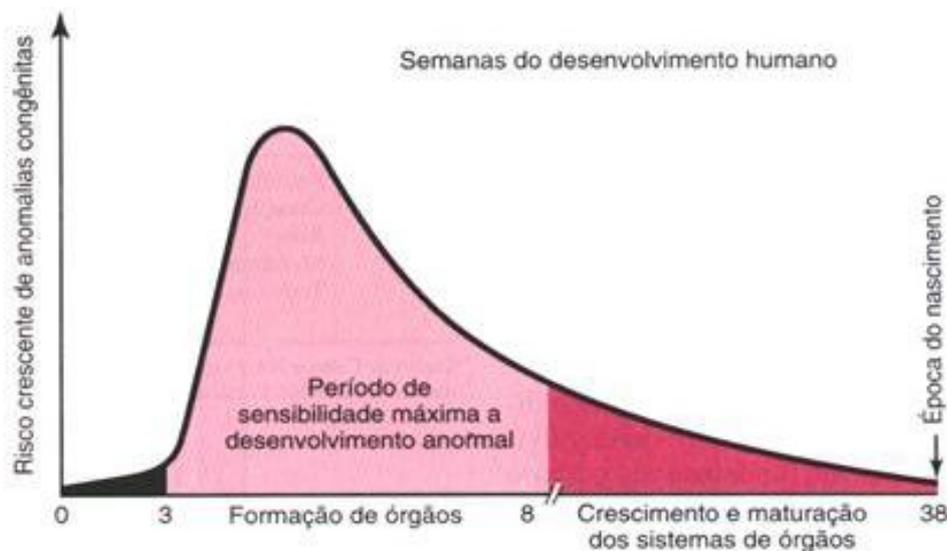


Figura 1- Risco de desenvolvimento de anomalias durante o período da gestação em humanos. Do zero a 3º semana de gestação pode ocorrer a morte do embrião; Da terceira a 8º pode ocorrer malformação do embrião e; Da oitava a 38º semana pode ocorrer perturbação funcional do feto.

Fonte: O'rahilly e Muller, 2005.

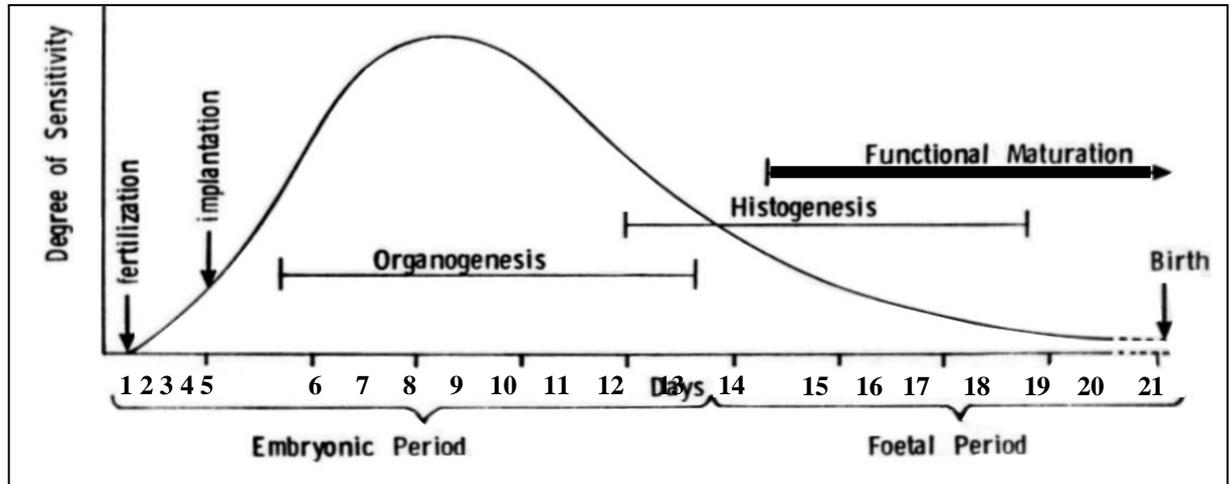


Figura 2- Período de desenvolvimento dos diferentes órgãos e sistema do rato e susceptibilidade à teratogênese. **Fonte:** Bernardi, 2002.

2.1.2.2 Genótipo materno-fetal

A heterogeneidade genética tanto da mãe como do feto pode conferir maior suscetibilidade ou resistência à manifestação de um determinado agente. Sabe-se que a constituição genética de uma população é um fator importante de predisposição a determinado efeito teratogênico. Assim, um agente pode ser teratogênico para uma determinada população e/ou raça, e não para outras (Wilson, 1977; Brent, 2001).

2.1.2.3 Relação entre dose e efeito

O aumento nas manifestações do desenvolvimento anormal do embrião ou feto é relacionado à dose do agente, o que pode variar desde nenhum efeito, seguido por danos funcionais e malformações até a morte do organismo embrio-fetal (Wilson, 1977; Brent, 2001).

2.1.2.4 Mecanismo patogênico específico de cada agente

Os agentes teratogênicos atuam por caminhos específicos (mecanismos) durante o desenvolvimento das células e dos tecidos para iniciar os eventos de um desenvolvimento anormal (patogênese) (Wilson, 1977; Brent, 2001).

2.1.3. Agentes teratogênicos

Um agente teratogênico ou teratógeno é definido como qualquer substância, organismo, agente físico ou estado de carência que, estando presente durante a vida embrionária ou fetal, produz uma alteração na estrutura ou função da descendência (Opitz, 1982). Essas alterações podem se refletir como perda da gestação, malformações ou alterações funcionais (retardo de crescimento, por exemplo), ou ainda distúrbios neuro-comportamentais, como o retardo mental (Kalter, 2003).

As malformações congênitas podem ser resultantes de fatores genéticos e fatores ambientais ou pela combinação destes dois fatores (etiologia multifatorial). De acordo com Chervenak et al. (2010), mulheres saudáveis e sem história pessoal ou familiar de defeitos reprodutivos ou desenvolvimental, já apresentam 3% de chance de possuir defeitos ao nascimento do feto e que após a descoberta da gravidez pela falha do primeiro ciclo menstrual já existia uma chance de 15% de risco de aborto. Há também um risco de prematuridade e complicações na gestação. Esses riscos se aplicam em todas as mulheres grávidas (Chervenak et al., 2010). Estima-se que aproximadamente 10% das malformações congênitas são resultantes dos efeitos adversos de fatores ambientais sobre o desenvolvimento pré-natal e 25% dos casos a causa é atribuída a fatores genéticos (Brent, 2001) (Tabela 1).

2.1.3.1. Desconhecidos

Dentre elas compõem a poligenia, multifatoriais (interação gene-ambiente), erros espontâneos de desenvolvimento, e interação sinérgica de teratógenos (Chervenak et al., 2010). Esses agentes desconhecidos causam malformações que ocorrem espontaneamente em uma frequência muito baixa, pelo simples fato de erros espontâneos acontecerem (Brent e Beckman, 1990). Muitas malformações congênitas detectadas no primeiro ano de vida de uma criança têm etiologia desconhecida, com aproximadamente 65 a 75% das causas suspeitas. A etiologia e os mecanismos envolvidos nestas malformações dependem da identificação dos genes envolvidos em processos plurogênico ou poligênica com a interação de determinantes genéticos e ambientais de características multifatoriais e os riscos matemáticos de erro, durante os importantes processos embrionários do desenvolvimento normal (Brent e Beckman, 1990).

2.1.3.2. Fatores genéticos

Constituem em torno de 15 a 25% das malformações congênitas (Chervenak et al., 2010) e incluem os *fatores gênicos* que deriva de mutação, que é um erro na replicação do DNA que gera variações no conjunto de genes da população (Schumacher, 2004); os *fatores cromossômicos* que consiste em anormalidades cromossômicas estruturais ou numéricas e consequentemente altera o número de cromossomos (Schumacher, 2004) e as *novas mutações* que deriva de mutações que ocorrem durante a oogênese ou espermatogênese, induzindo às doenças genéticas hereditárias e malformações anatômicas, sem história familiar (Chervenak et al., 2010).

2.1.3.3. Fatores ambientais

Segundo Chervenak et al. (2010), representam em torno de 10% das malformações congênitas. Estão incluídas neste grupo, as *Condições e doenças maternas* com 4% de riscos de defeitos no nascimento. Pode diminuir a fertilidade e a implantação, causar prejuízo nas funções placentárias induzindo o aborto, restrição do crescimento fetal (Johns et al., 2006) e defeitos congênitos na prole (Frias and Gilbert-Barness, 2008); *Agentes infecciosos*, são agentes causadores de infecções e são conhecidos por induzirem diversos tipos de alterações congênitas, como por exemplo, o vírus influenza, o citomegalovírus, sífilis, herpes simples (Chervenak et al, 2010). Com 3% de riscos de defeitos no nascimento estão os *Problemas mecânicos (deformações)* como: Constrição das bandas amnióticas, compressão do cordão umbilical, disparidade no tamanho e conteúdo uterino. Representam 1 a 2% de riscos de defeitos no nascimento (Chervenak et al., 2010). *Agentes físicos*: destaca-se, principalmente, a radiação. Os efeitos da radiação podem ser manifestados agudamente e resultarem em morte celular, morte embrionária, retardo de crescimento e teratogênese. Outros efeitos poderão ser verificados no período pós-natal ou na fase adulta (Brent, 2009). *Agentes químicos*: envolvem substâncias químicas, drogas e fármacos utilizados na gestação. Embora, poucas são as drogas associadas a verdadeiros efeitos teratogênicos em humanos, o uso destas na gravidez permanece controverso. Entre os possíveis fatores ambientais, as drogas determinam aproximadamente 1 a 2% de todos os defeitos congênitos de etiologia conhecida (De Santis et al., 2004; Chervenak et al., 2010). Alguns exemplos clássicos são a talidomida, abordada

anteriormente (Newman, 1986; Lenz, 1988), o ácido retinóico, (Soprano e Soprano, 1995) e o ácido valpróico (Nau et al., 1991; Ehlers et al., 1992; Ornoy, 2009).

Tabela 1- Etiologia das malformações congênitas em humanos observadas no primeiro ano de vida.

Causa suspeita	% do total
Desconhecida	65-75
Poligênica	
Multifatorial (interação ambiente-gene)	
Erros espontâneos de desenvolvimento	
Interação sinérgica de teratógenos	
Genética	15-25
Doença genética inerente ligada ao sexo e autossômico	
Citogenética (anormalidades cromossômicas)	
Novas mutações	
Ambiental	10
Condições materna: alcoolismo, diabetes, endocrinopatias, fenilcetonúria, tabagismo e nicotina, deficiência nutricional	4
Agentes infecciosos: rubéola, toxoplasmose, sífilis, herpes simples, citomegalovírus, varicela zoster, encefalite eqüina Venezuelana	3
Problemas mecânicos (deformações): constrição na banda amniótica, restrição no cordão umbilical, disparidade no tamanho uterino e conteúdo uterino	1-2
Químicos, prescrição de drogas, radiação ionizante em altas doses, hipertermia	1-2

Fonte: Chervenak et al., 2010. Modificado de Brent, 2004.

2.1.4 Avaliação da toxicidade no desenvolvimento

2.1.4.1 Classificação das substâncias químicas de acordo com o seu potencial teratogênico segundo o *Food and Drug Administration* (FDA) (EUA)

Em referência às práticas clínicas, diversas classificações dos riscos farmacológicos em relação à gravidez foram determinados e tem sido copiada por vários países. Em particular em 1982, a Agência de Drogas e Alimentos dos Estados Unidos (FDA) instituiu uma categorização das drogas de acordo com sua potencial teratogenicidade (Tabela 2). As categorias variam de A, que inclui drogas que podem ser utilizados com segurança durante a

gravidez, a X, que inclui aqueles que são contra-indicadas na gravidez, pois estudos demonstraram teratogenicidade humana (Kelsey, 1982; Friás e Gilbert-Barness, 2008).

Infelizmente, nem sempre esses critérios são baseados em evidências, pois as informações sobre os riscos teratogênicos ou a segurança da maioria dos medicamentos são limitadas pelo fato de mulheres grávidas serem excluídas dos ensaios clínicos por razões éticas e estudos em animais não costumam prever os efeitos da droga no embrião ou no feto humano (Brent, 2001; Lo e Friedmann, 2002). Esta falta de informação também se aplica a medicamentos sem receita, dietas e suplementos de ervas, que não são controlados pelo FDA, podendo alguns de seus componentes apresentar efeitos adversos no desenvolvimento pré-natal (Friás e Gilbert-Barness, 2008). Os testes de toxicologia reprodutiva compreendem geralmente a exposição de animais sexualmente maduros antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal e após o nascimento e, continuamente, até sua maturação sexual (Lemônica, 2001).

Estudos com animais de laboratório são utilizados para identificar a relação entre a dose e a exposição a uma substância e os efeitos adversos associados (Manson e Kang, 1989). Devido às diferenças de sensibilidade entre as espécies animais e visando extrapolar os dados experimentais para o homem, são exigidos testes de no mínimo, três doses diferentes de exposição (Schuler-Faccini et al., 2001; Friás and Gilbert-Barness, 2008). Os efeitos teratogênicos, assim como de toxicidade geral, são dependentes da dose, portanto, a redução da dose e do tempo da exposição são os métodos mais eficazes de reduzir o risco (Neubert, 1992). De acordo com Brent (2009), um estudo positivo quanto à teratogenicidade não significa que a droga ou agente seja teratogênico e destaca três pontos fundamentais na pesquisa: a qualidade dos estudos epidemiológicos, estudos envolvendo a radiação em mamíferos prenhes e a plausibilidade biológica.

Outro ponto relevante é avaliar a toxicidade materna em estudos de toxicidade reprodutiva e desenvolvimental porque pode potencialmente alterar o resultado do estudo, influenciando assim na avaliação dos riscos e decisões regulamentares (Beyer e Kim, 2009). Efeitos adversos na prole são vistos apenas em dosagens maternalmente tóxicas, causados pelo efeito direto, efeito indireto (mediado maternalmente) ou uma combinação dos dois. Efeitos sobre o desenvolvimento da ninhada também podem resultar do estresse materno, bem como (ou talvez em adição) da toxicidade materna (Hood e Rogers, 2009).

Tabela 2. Classificação das substâncias químicas de acordo com o seu potencial teratogênico, segundo o FDA.

Categoria	Descrição
A	Estudos controlados demonstram não haver risco. Estudos adequados, bem controlados, em mulheres grávidas não mostraram risco para o feto.
B	Sem evidência de risco humano. Estudos em animais mostram risco, mas estudos em humanos não o mostram, ou, se não há estudos adequados em humanos, os estudos animais são negativos.
C	O risco não pode ser afastado. Faltam estudos em humanos, e os estudos em animais ou são positivos para o risco fetal ou igualmente faltam. Entretanto, os benefícios potenciais podem justificar o possível risco.
D	Evidência positiva de risco. Dados de investigação preliminar ou pós comercialização mostram risco para o feto. Entretanto, os benefícios potenciais podem ser maiores que o risco potencial.
X	Contra-indicada na gravidez. Estudos em animais ou humanos, ou relatos de investigação preliminar ou pós-comercialização, mostram risco fetal que claramente se sobrepõe a qualquer possível benefício para a paciente.

Fonte: Kelsey, 1982.

2.2 Transporte transplacentário

A placenta é um órgão transitório materno-fetal com vilosidades coriônicas (fetal) banhada em espaços de sangue materno, que permite a transferência restrita de drogas e metabólitos para áreas especializadas. A placenta desenvolve funções respiratória, nutritiva e excretora até que os órgãos fetais estejam maduros, e também é um importante órgão endócrino ativo capaz de sintetizar e secretar uma grande quantidade de hormônios, (Donnelly e Campling, 2008), fatores de crescimento, citocinas e outros produtos bioativos, agindo como uma barreira para o feto contra patógenos e o sistema imune materno (Regnault et al., 2002). Outrossim, é um órgão regulador de troca, em que vários fluxos de material ocorrem simultâneos à concentração elevadas e em direções opostas, de forma contínua e por longos períodos (Solder et al., 2009). Há muito tempo já se sabe que a função protetora da placenta é limitada e inicia a partir da terceira semana embrionária (Garland et al., 1998). O transporte pode ocorrer por difusão simples, transporte ativo (Chiavegatto e Bernardi, 1992), fagocitose e pinocitose (Garland et al., 1998). Por conseguinte, pode alterar o sistema imunológico, neurológico, endócrino e sistemas do organismo embrio-fetal, no período crítico do

desenvolvimento (Crinnion, 2009). Gases respiratórios e moléculas relativamente pequenas podem atravessar a barreira materno-fetal por difusão passiva e de fluxo limitado.

Por fim, a transferência de uma substância através da barreira materno-fetal é dependente da espessura e dimensão da barreira, gradiente de concentração da substância ou a presença de mecanismos de transporte ativo (Donnelly e Campling, 2008).

A placenta não é meramente uma barreira passiva, ela possui enzimas metabolizadoras e proteínas transportadoras que podem modificar os processos de transferência placentária assim como, respostas placentárias a compostos estranhos (Myllynen et al, 2005). Várias enzimas citocromo P450 (CYP) são expressas na placenta durante o primeiro trimestre e a termo. Contudo, nem todas estas enzimas são funcionais na placenta humana (Foster et al, 2008). Em adição, as enzimas de fase I, a placenta também expressa as enzimas de conjugação de fase II, tais como a Glutathione-S-Transferase (GST), epoxide hidrolase, N-acetiltransferases, sulfotransferases e UDP-Glucuronosil-Transferases (Myllynen et al, 2005; Foster et al, 2008). Essas enzimas são capazes de metabolizar varias drogas e substâncias estranhas que de alguma forma são principais para a formação de metabólicos, como é o caso da GST placentária, com papel de proteção ao feto contra eletrófilos ou estresse oxidativo. Além do mais, a placenta é conhecida por ativar metabolicamente vários agentes farmacológicos/ambientais (Foster et al, 2008).

A toxicidade desenvolvimental normalmente resulta de um insulto do concepto em nível celular, como por meio de um efeito direto sobre o embrião ou feto, ou indiretamente através de toxicidade do agente para a mãe e/ou placenta ou pela combinação dos dois (Chernoff, et al., 1989) (Figura 3). Anormalidades na estrutura e função da placenta induzem a restrição de crescimento intra-uterino (RCIU) por privar o feto em desenvolvimento dos nutrientes necessários para um ótimo crescimento. Muitos fatores, incluindo condições intrínsecas fetal, bem como maternos e questões ambientais, pode levar a RCIU. As causas fetais vão desde malformações genéticas e estruturais a infecções. As causas maternas de RCIU são geralmente relacionadas à redução de fluxo sanguíneo uteroplacentária, redução do volume de sangue materno e na capacidade de transporte de oxigênio ou diminuição de nutrição para o feto (Hendrix e Berghella, 2008).

As propriedades fisicoquímicas das drogas também têm um papel significativo na determinação de permeabilidade trofoblástica. Moléculas que são lipofílicas, com baixa ligação protéica, um baixo grau de ionização e com peso molecular inferior a 600 Kd, permeiam rapidamente através da camada do sinciciotrofoblasto (Audus, 1999).

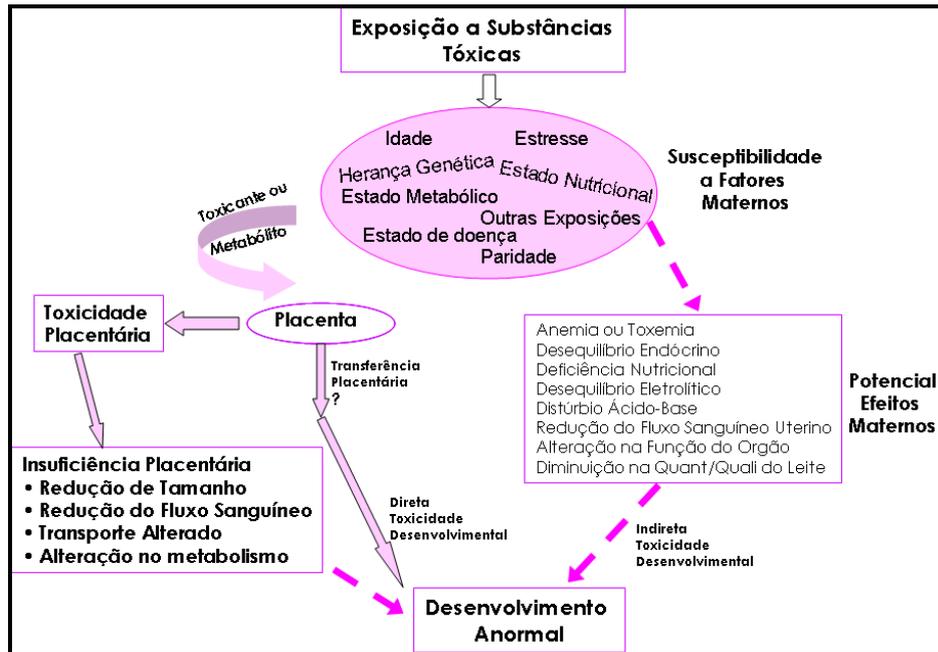


Figura 3- Interrelacionamento entre os fatores de susceptibilidade materna, metabolismo, indução de alterações funcionais e fisiológicas materna, toxicidade e transferência placentária e toxicidade desenvolvimental. Um toxicante desenvolvimental pode causar desenvolvimento anormal por meio de uma ou a combinação dessas vias. Os fatores de susceptibilidade materna determinam a predisposição da mãe à resposta ao insulto tóxico, e os efeitos maternos listados podem afetar adversamente o desenvolvimento do conceito. Muitos químicos atravessam a placenta de alguma forma, e esta pode ser um alvo de toxicidade. Em muitos casos, a toxicidade desenvolvimental é provavelmente mediada através da combinação dessas vias.

Fonte: Rogers e Kavlock, 2003.

2.3 Estresse oxidativo

Os radicais livres podem ser definidos como “qualquer espécie química capaz de existir independentemente que contém um ou mais elétrons ímpares”. Assim, o oxigênio desempenha um papel importante como oxidante na forma de superóxido (O_2^-), hidroxila (OH^\bullet), radical peróxila (ROO^\bullet) e seus derivados, denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) (Halliwell e Gutteridge, 1990). Durante o metabolismo basal das células aeróbicas normais existe uma produção constante de espécies reativas de oxigênio (EROs), acompanhada pela sua contínua inativação através da ação de antioxidantes, de forma a manter a integridade estrutural e funcional das biomoléculas (Davies, 1991). A extensão e o tipo de dano causado pelas ERO dependem da quantidade e da natureza dos mesmos, bem como das defesas antioxidantes celulares (Davies, 1991). O estresse oxidativo é causado basicamente por dois mecanismos que são: a redução da concentração de antioxidantes (por

exemplo, devido à mutação de enzimas antioxidantes, toxinas, ou a redução da ingestão de antioxidantes naturais); e o aumento do número de espécies reativas de carbono/nitrogênio/oxigênio derivadas dos fagócitos ativos, isto é, no caso de inflamação crônica (doença) (Sies, 1991; Somogyi et al., 2007). Estes podem induzir alterações químicas em várias organelas celulares e biomoléculas como: a alteração do DNA e proteínas, peroxidação dos lipídios (Sohal, 2002; Barzilai e Yamamoto, 2004; Ohshima et al., 2006), mutagênese, carcinogênese e fragmentação de carboidratos (Sies, 1986).

2.3.1 Defesas antioxidantes

Halliwell e Gutteridge (1990) definem como antioxidante qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas a de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação deste substrato. Os antioxidantes podem direta ou indiretamente proteger as células contra os efeitos prejudiciais de espécies reativas. Esta definição compreende compostos de natureza enzimática e não enzimática. Assim, por diferentes mecanismos, as ERO são inativadas de forma a impedir reações oxidativas posteriores e propagação (Sies, 1993) (Figura 4).

Entre as principais enzimas responsáveis pela defesa antioxidante do organismo destacam-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e as enzimas do ciclo redox da glutathiona, particularmente a glutathiona peroxidase (GPx), que constituem a primeira defesa endógena de neutralização das ERO. Elas são todas determinadas geneticamente e, portanto, as diferenças genéticas podem ordenar a capacidade antioxidante do organismo (Ornoy, 2007). Com isso, as células tentam manter baixas as quantidades do radical superóxido e de peróxidos de hidrogênio, evitando assim, a formação do radical hidroxila (Boveris e Cadenas, 1997). A SOD, presente na quase totalidade dos organismos eucarióticos catalisa a dismutação do radical/ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (McCord e Fridovich, 1969). O H_2O_2 por sua vez é degradado pela ação da CAT ou GPx, resultando em água e oxigênio molecular (O_2) (Farber et al., 1990). As Glutathiona-S-Transferases (GSTs) são uma família de enzimas citosólicas envolvidas na detoxificação de uma variedade de compostos xenobióticos pela conjugação de glutathiona. A proteção exercida por estas enzimas sobre as células é essencial para manter os processos biológicos normais contra os possíveis compostos eletrofílicos que são prejudiciais ao organismo (Kilty et al., 1998).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular hidrofílicos e lipofílicos estão incluídos as vitaminas A, E e C, flavonóides, ubiquinonas e o conteúdo de glutathiona reduzida (Gianni et al., 2004). O ácido ascórbico (vitamina C) é um dos antioxidantes mais importantes em tecidos de mamíferos (Banhegyi et al., 1997), sendo ele eficiente na redução da toxicidade de vários xenobióticos (Vannucchi et al., 1998). Existem ainda, as enzimas de reparação, que reparam ou removem biomoléculas danificadas pela ERO. Estas incluem as enzimas de reparo de DNA e metionina sulfóxido redutase (Halliwell, 1990).

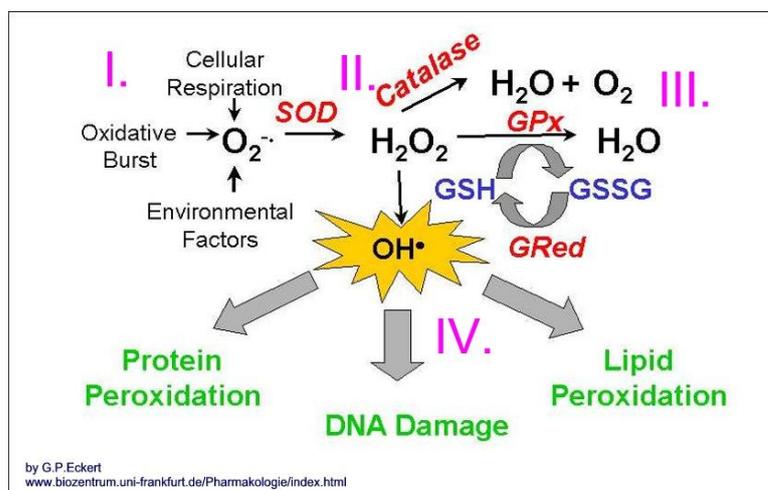


Figura 4 - Representação esquemática dos mecanismos de defesa antioxidante enzimáticos e não enzimáticos. A SOD catalisa a dismutação do radical/ânion superóxido em peróxido de hidrogênio. O H_2O_2 por sua vez é degradado pela ação da CAT ou GPx, resultando em água e oxigênio molecular (O_2). As GSTs estão envolvidas na detoxificação de uma variedade de compostos xenobióticos pela conjugação de glutathione. Radical anion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$); Peróxido de hidrogênio (H_2O_2); Água (H_2O); Glutathione oxidada (GSSG); Glutathione-S-Transferases (GSTs).

Fonte: www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html.

2.3.2 Estresse oxidativo e mecanismo de teratogenicidade

Durante o início do desenvolvimento embrionário ocorre à utilização das vias metabólicas aeróbicas e anaeróbicas, devido à necessidade de mudanças na concentração de oxigênio nas diferentes fases de desenvolvimento embrionário (Lima-Verde et al., 2007; Ornoy et al., 1996; Ornoy et al., 1999). Na fase da implantação, a elevação de oxigênio é relativamente tóxica para a formação do blastocisto, assim como para os embriões em desenvolvimento, os quais parecem ser muito sensíveis em níveis elevados de ERO, especialmente durante a organogênese. Consequentemente, os radicais superóxido e outras

ERO, criadas em tais condições estão em excesso em relação à capacidade antioxidante dos embriões em desenvolvimento, levando à produção de espécies altamente reativas de oxigênio ou nitrogênio e desencadeando estresse oxidativo e danos embrionários (Ornoy et al., 1996; Ornoy et al., 1999) como bloqueio ou retardo de crescimento, anomalias congênitas e inclusive a morte embrionária (Zaken et al., 2000; Lima-Verde et al., 2007) (Figura 5). Apesar disso, o papel exato do estresse oxidativo no desenvolvimento embrionário não está ainda bem elucidado.

Algumas evidências sugerem que as ERO têm um papel importante na etiologia de várias anomalias congênitas, como a produzida pela diabete materna, radiação, cocaína e a ingestão de álcool. Este mecanismo de ação também foi descrito para vários medicamentos com ação teratogênica, tais como fenitoína e talidomida (Ornoy et al., 1996; Ornoy, 2007). As ERO apresentam um período de vida curto (Kohen e Nyska, 2002), conseqüentemente, não são transferidas para o embrião ou o feto em desenvolvimento. De fato, as EROs embrionárias não são de origem materna e o aumento observado no embrião em desenvolvimento tem como causa as alterações metabólicas embrionárias. Porém, essas alterações podem ser iniciadas por vários metabólitos maternos, como aumento na taxa de glicose ou pela ação direta de teratógenos específicos sobre o embrião, tais como o etanol (Ornoy, 2007).

Em adição, um agente ambiental ou doença materna induz a um aumento nos níveis de radicais livres no embrião podendo afetar o desenvolvimento do embrião, induzindo a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos no DNA e RNA (Ornoy, 2007). A indução da teratogênese via estresse oxidativo embrionário já foi descrita por meio de radiação ionizante, cocaína e álcool, hipóxia e tabagismo e vários fármacos (Ornoy, 2007).

Segundo Wells et al. (2005), a reação reversível de ERO com proteínas de transdução de sinal altera as vias de transdução de sinal embrionários e fetais. Desta forma, o risco embriopático é teoricamente determinado pelo equilíbrio entre as vias patogênicas e embrioprotetora (Halliwell e Gutteridge, 1999). Em alguns casos, a via materna de diferente natureza pode indiretamente contribuir para o risco, se associado com níveis excessivos de exposição à xenobióticos e/ou uma deficiência em termos quantitativos nas principais via materna de metabolismo e eliminação, como glucuronidação. De fato, a glucuronidação mantém um xenobiótico e/ou seus metabólitos estáveis sem atingir o embrião (Wells et al., 2005).

Da mesma forma como acontece com as EROs, as espécies reativas de nitrogênio (ERN) podem induzir a efeitos adversos no desenvolvimento embrionário, mediados em nível

molecular, via desregulação da transdução de sinal e/ou dano macromolecular tanto por conta própria e/ou em conjunto com as EROs. Embora pouco se sabe sobre os efeitos desenvolvimental das ERN, há evidências de que elas podem contribuir para o mecanismo da teratogênese de alguns xenobióticos (Wells et al., 2009) (Figura 5).

Vários trabalhos têm demonstrado o papel importante dos radicais livres nas funções da placenta que regula a tensão do oxigênio para o embrião. Desequilíbrio no sistema de proteção pode levar a perda precoce da gravidez pelo descontrole no fornecimento de oxigênio para o embrião em desenvolvimento, resultando em danos embrionários causados pelos radicais livres (Carter, 2009).

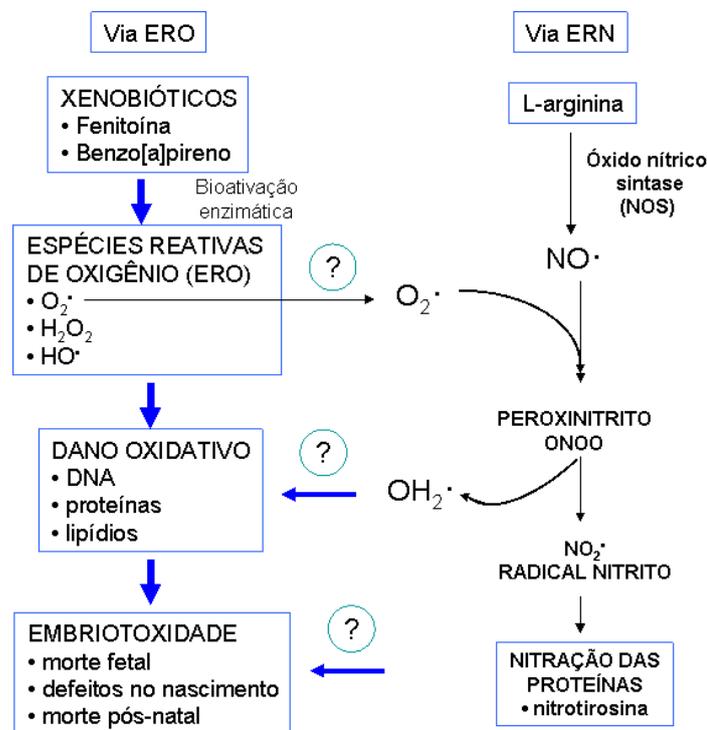


Figura 5- Potencial interação entre as vias de ERO e ERN na indução a efeitos adversos no desenvolvimento embrionário, mediados a nível molecular, via desregulação da transdução de sinal e/ou dano macromolecular tanto por conta própria e/ou em conjunto. Radical anion superóxido ($O_2^{\bullet-}$); Peróxido de hidrogênio (H_2O_2); radical hidroxila (OH^{\bullet}).

Fonte: Kasapinovic et al., 2004; Wells et al., 2009.

2.4 Telúrio

O elemento telúrio foi descoberto em minerais existentes no Distrito de Ouro da Transilvania por Von Reichenstein em 1782 (Cunha et al, 2009). Entretanto, a inclusão desse átomo em moléculas orgânicas ocorreu no início do século XIX. No Brasil, a química de

telúrio foi introduzida pelo Prof. Reinbolt, o qual se dedicou ao estudo sistemático de compostos orgânicos contendo telúrio e sua aplicabilidade como intermediários em síntese orgânica (Petraghani, 1995; Comasseto et al., 1997; Zeni et al., 2003). O telúrio é um elemento que pertence ao grupo 16 da tabela periódica, denominada família dos calcogênios, podendo apresentar-se sob múltiplos estados de oxidação: telurato (Te^{+6}), telurito (Te^{+4}), telúrio elementar (Te^0) e telureto (Te^{-2}) (Scansetti, 1992). É encontrado em muitos minérios, estando em maior frequência na forma de teluretos de ouro, bismuto, chumbo e prata (Scansetti, 1992). Atualmente, pesquisas estão sendo desenvolvidas com respeito a emissões antropogênicas de compostos de telúrio e as suas implicações no ar (Fischer, 2001).

Telúrio elementar (Te^0) é usado como componente de muitas ligas metálicas, na composição da borracha, componentes eletrônicos e em sistemas de energia fotovoltaica (Fairhill, 1969). Ele também é utilizado na produção industrial de vidro e aço e como um aditivo antidetonante na gasolina (Fairhill, 1969). O telúrio inorgânico é encontrado em soluções oxidantes que servem para polir metais (Yarema e Curry, 2005) e na indústria de semicondutores particulados (Green et al., 2007; Zhang e Swihart, 2007). Portanto, espera-se um aumento na exposição ao telúrio na vida cotidiana. Embora o telúrio seja conhecido como um metalóide não essencial e nocivo, seus efeitos tóxicos e no metabolismo são pouco conhecidos (Nogueira et al., 2004). Na maioria das afirmações sobre a sua toxicidade encontrada em artigos dedicados à sua aplicação sintética, são totalmente inadequadas (Comasseto, 2010). São raros os casos de intoxicação ocupacional aguda por telúrio, entretanto, quando ocorrem, os sintomas são: dores de cabeça, sonolência, náuseas, alteração da frequência cardíaca, bem como odor característico de alho, na respiração e na urina (Müller et al., 1989; Taylor, 1996). De acordo com Comasseto (2010), é necessário esclarecer cientificamente as consequências da manipulação de reagentes de telúrio por seres humanos, portanto, foi visto que parte do folclore sobre a instabilidade e o cheiro de compostos de telúrio era falsa, como também que os químicos desenvolveram maneiras seguras de lidar com esses reagentes.

O telúrio pode ser prontamente absorvido pelo organismo em ratos, através da dieta e reduzido de telurito a telureto como metabólitos intermediários, com aumento na excreção urinária e redução na excreção fecal (Ogra et al, 2008), principalmente na forma de compostos orgânicos, mas também ocorre a absorção de telúrio inorgânico na forma de teluritos e teluratos (Larner, 1995).

Embora o átomo de telúrio seja geralmente considerado como um metalóide tóxico, os seus efeitos biológicos e de alguns derivados inorgânicos e orgânicos têm sido estudados e revelam um conjunto de aplicações diversificadas interessantes e promissoras (Cunha et al, 2009) e interagem com os organismos de uma maneira específica.

2.4.1 Farmacologia dos compostos orgânicos de telúrio

A história da busca de efeitos farmacodinâmicos em moléculas orgânicas contendo telúrio é relativamente recente, quando comparada com a farmacologia e toxicologia dos compostos orgânicos de selênio. Os testes biológicos de compostos orgânicos de telúrio baseiam-se nos efeitos farmacodinâmicos de moléculas contendo selênio e da semelhança química existente entre esses dois elementos (Nogueira et al, 2004).

Os compostos orgânicos de telúrio são facilmente oxidados do estado divalente ao tetravalente. Por conseguinte, esta propriedade torna os teluretos atraentes como *scavengers* de agentes oxidantes com grande reatividade tais como o peróxido de hidrogênio, hipoclorito e radical peróxido (Nogueira et al., 2004). A busca por compostos orgânicos contendo telúrio com ação antioxidante recebeu grande atenção o que os torna candidatos promissores para o uso no desenvolvimento de terapias antioxidantes (Cunha et al., 2009).

Diversas moléculas foram sintetizadas e testadas em diversos modelos *in vitro* comprovando a atividade antioxidante desses compostos (Briviba et al., 1998; Jacob et al., 2000), especialmente no cérebro (Ávila et al., 2007; 2008), além de apresentarem baixa toxicidade aguda em modelos animais (Ávila et al., 2006; Savegnago et al., 2006). Além dessa propriedade alguns compostos orgânicos de telúrio possuem capacidade de mimetizar a atividade da GPx (Engman et al., 1995; Ren et al., 2001), uma importante enzima endógena que participa de reações de neutralização de agentes pró oxidantes. Evidências sugerem que grande parte da atividade biológica desses compostos está diretamente relacionada às suas interações químicas específicas com tióis endógenos (Hassan et al., 2009).

Compostos teluroacetilenos, em baixas concentrações, apresentam atividade antioxidante em homogeneizado de cérebro de ratos *in vitro*, sendo que este efeito deve-se à atividade *escavenger* de radicais livres e espécies reativas, especialmente, o 2-feniletinil-butílic telúrio que protegeu contra o dano oxidativo causado por nitroprussiato de sódio (SNP) em cérebro de camundongos, confirmando o seu potencial antioxidante *in vivo* (Souza et al., 2009) (Figura 6).

Os teluretos vinílicos são importantes intermediários sintéticos devido à sua fácil transformação em outros compostos orgânicos com total retenção de configuração (Comasseto et al., 1997). Estudos *in vitro* mostraram que o dietil-2-fenil-2-telurofenil vinilfosfonato, possui efeito antioxidante contra a peroxidação lipídica induzida por ferro (Àvila et al., 2006) e pelo SNP, mostrando uma possível atividade neuroprotetora, sem alterar o sistema glutamatérgico em roedores (Àvila et al., 2008). Foi visto que este composto não apresenta toxicidade subaguda em camundongos (Àvila et al., 2006; 2007). O 1-butiltelurenil-2 metil tiohepteno (Figura 6), outro telureto vinílico tem demonstrado um composto bastante promissor por possuir potente atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* e induzir menores efeitos toxicológicos com doses inferiores a DL_{50} (Savegnago, et al., 2006). Da mesma forma, derivados de teluretos vinílicos também mostraram atividade antioxidante e baixa toxicidade (Borges et al., 2008).

Além da propriedade antioxidante, já foram vistos o potencial terapêutico de alguns compostos orgânicos de telúrio. Em 1981, o AS-101 (telurato de tricloro amônio-dioxoetileno-O,O') foi a primeira molécula estudada com essa natureza, demonstrando atividade imunomoduladora, anti-inflamatória, podendo ainda ser empregados como drogas antitumorais e antivirais (Hayun et al., 2006; Frei et al., 2008; Sredni-Kenigsbuch et al., 2008; Friedman et al., 2009). Ademais, foi visto a proteção e restauração dos neurônios dopaminérgicos em modelos de doença de Parkinson (Sredni et al., 2007), e, em combinação com agentes terapêuticos poderá servir como ferramenta para a interação entre as células de mieloma e o microambiente da medula óssea (Hayun et al., 2009).

Os teluretos são eficientes drogas antitumorais por exercer atividade citotóxica em estudos *in vitro* (Engman et al., 2000; Cunha et al., 2005; Gay et al., 2010). O alquinil vinil teluretos mostrou ser uma importante fonte de novos medicamentos antidepressivos quando administrados por via oral em camundongos (Okoronkwo et al., 2009).

O organoteluroxetano RF-07 (4-{2-Cloro-3-[clorometilideno]-1-oxa-2 λ -teluraspiro[3.5]non-2-yl}fenil Metil Eter) exerce efeito anticonvulsivante associado com a inibição de caspases, sugerindo um promissor potencial terapêutico de compostos organotelúrio como agentes antiepiléptogênico (Persike et al., 2008), bem como, o RT-04 (3-metil-3-hidroxi-butino) que induz a apoptose em linhagem celular da leucemia promielocítica humana (HL60) (Abondanza et al., 2008).

Estas propriedades farmacológicas fazem com que estes compostos sejam extremamente atraentes em terapias médicas.

2-feniletinil-butil telúrio

1-butiltelurenil-2 metil tiohepteno

Figura 6- Estrutura química de compostos orgânicos de telúrio.

2.4.2 Toxicologia dos compostos orgânicos de telúrio

O mecanismo proposto para explicar toxicidade dos compostos orgânicos de telúrio envolve a interação com sulfidrilas (-SH) de moléculas biologicamente ativas (Blais et al., 1972; Deuticke et al., 1992). Esses compostos têm a capacidade de oxidar os grupamentos sulfidrílicos, inativando enzimas e/ou diminuindo a concentração de moléculas sulfidrílicas não-protéicas, como a GSH. A oxidação da GSH em GSSG pode ser um dos principais fatores da toxicidade causada pelos compostos orgânicos de telúrio (Barbosa et al., 1998; Nogueira et al., 2003a). De fato, os compostos de telúrio, inibem enzimas sulfidrílicas, incluindo δ -aminolevulinato desidratase (Barbosa et al., 1998; Nogueira et al., 2003b), esqualeno epoxidase (Laden and Porter, 2001) e Na^+/K^+ ATPase (Borges et al., 2005). Recentemente foi visto que concentrações relativamente elevadas de compostos orgânicos de telúrio apresentam ação hemolítica e genotóxica em células do sangue humano (Santos et al., 2009), e hemólise *in vitro* em eritrócitos humanos (Schiari et al., 2009) o que provavelmente estão ligados à atividade tiol oxidase pela interação com grupos sulfidrilas. Além do mais, 3-butil-1-fenil-2-(fenilteluro)oct-en-1-one provoca lesão oxidativa no SNC em ratos (Penz et al., 2009).

Pesquisas realizadas por nosso grupo de pesquisa têm mostrado que o $(\text{PhTe})_2$, um composto orgânico que contém telúrio (Figura 7), é neurotóxico para camundongos (Maciel et al., 2000; Nogueira et al., 2001; 2002; Moretto et al., 2003), além de causar toxicidade renal e hepática em roedores, quando administrado em doses muito baixas (Meotti et al., 2003). Além do mais, o $(\text{PhTe})_2$ é capaz de reduzir a neurotransmissão glutamatérgica em plaquetas de humanos (Borges et al., 2004) e de inibir a enzima δ -aminoluvulinato desidratase (δ -ALA-D) em eritrócitos de humanos (Nogueira et al., 2003b). Além destas propriedades a administração

repetida deste composto induz a desordem hematológica pelo aumento do número total de leucócitos e fornece evidências de toxicidade renal e hepática em ratos (Borges et al., 2007). Realmente, muitos efeitos tóxicos dos compostos orgânicos contendo telúrio devem-se à inibição da atividade enzimática.

Recentemente em nosso laboratório foi sucitado um possível mecanismo molecular de toxicidade do $(\text{PhTe})_2$ gerando a produção de EROs. A exposição aguda a este composto causa lesão oxidativa e uma resposta adaptativa de antioxidantes em tecido pulmonar de ratos (Pinton et al., 2010 *in press*).

Vários destes compostos, com diferentes características e estruturas químicas, vêm sendo estudados quanto às suas propriedades farmacológicas e toxicológicas, sendo alguns deles já descritos na literatura. A presença do cloro na molécula do $(\text{PhTe})_2$ não altera a atividade *escavengers* e antioxidante *in vitro*, porém aumenta a toxicidade do $(\text{PhTe})_2$ em ratos (Pinton et al., 2010).



Figura 7- Estrutura química do ditelureto de difenila

2.4.2.1 Propriedades toxicológicas no desenvolvimento

Os compostos de telúrio, que têm propriedades metálicas, atravessam a barreira hematoencefálica, barreira placentária e a barreira endodimial-fluido cérebro espinhal-sangue fetal (Duckett e Ellem, 1971). Já foi demonstrado que o telúrio metálico (Te_0) atravessa as membranas celulares se localizando no citoplasma das células (Mizuno, 1969), mais especificamente nas mitocôndrias, nos primeiros estágios de intoxicação (Duckett e White, 1974). A ingestão de determinadas quantidades de telúrio por mamíferos adultos e pássaros faz com que apareçam grânulos negros ou cristais em forma de agulha no citoplasma das células do sistema urogenital, do trato alimentar, dos órgãos respiratórios, do sistema reticulo-endotelial e do sistema nervoso (Pentschew et al., 1962, Carlton e Kelly, 1967). O

metabolismo do telúrio nos tecidos não está esclarecido, mas é sugerido que os depósitos negros ou os cristais puntiformes são telúrio reduzido ou telúrio elementar (Duckett, 1972).

Relatos na literatura mostraram pela primeira vez o efeito de um agente teratogênico na indução do aparecimento de hidrocefalia e a presença de telúrio nos tecidos fetais de rato. Malformações em outros órgãos não foram verificadas nos animais hidrocefálicos no estudo em questão, esses dados foram confirmados posteriormente (Agnew et al., 1968; Duckett e Ellem, 1971). Também foram realizados estudos que avaliaram o período crítico em que o telúrio metálico causa dano aos tecidos fetais. Constatou-se que a administração de telúrio, no período do 10º ao 15º dia de gestação, induziu o surgimento de malformações congênitas em ratas (Duckett e Scott, 1971). Outro estudo, porém, indicou o 9º e 10º dia de gestação, também como sendo o período mais suscetível ao aparecimento de hidrocefalia induzida por esse composto em ratas (Agnew e Curry, 1972).

Em adição, foi verificada a histopatologia do tecido cerebral. Nesta, foi observada uma estenose dos aquedutos cerebrais, associada com o fechamento do espaço subaracnóideo pelo aumento do volume nos ventrículos cerebrais fetais, possivelmente pela superprodução de fluido cerebrospinal e/ou a não absorção desse fluido induzidas pelo telúrio. As alterações observadas foram incompatíveis com a vida (Duckett, 1972).

O dióxido de telúrio (TeO_2), um composto inorgânico, foi teratogênico para os fetos de ratos por induzir a formação de hidrocefalia, edema, exoftalmia, hemorragia ocular, hérnia umbilical, a não descida dos testículos, rins pequenos e diminuição no tamanho corporal, quando administrado diariamente em injeções subcutânea (s.c) do 15º ao 19º dia de gestação (Perez-D'Gregorio e Miller, 1988). Igualmente, o $(\text{PhTe})_2$ quando administrado em ratas, causa múltiplas malformações nos fetos em desenvolvimento (Stangherlin et al., 2005). Neste trabalho o estágio fetal tardio do desenvolvimento pré-natal foi o período mais sensível à exposição do telúrio orgânico em ratos. Dessa forma, pode-se constatar que compostos contendo telúrio são altamente tóxicos, particularmente para mamíferos em desenvolvimento.

Na possibilidade de que a exposição paterna ao $(\text{PhTe})_2$ também poderia afetar o desenvolvimento fetal, Fávero et al. (2007) verificaram que a exposição subcrônica em ratos machos a doses baixas de $(\text{PhTe})_2$ não induz a nenhum efeito adverso em sua progênie. A exposição aguda e crônica ao $(\text{PhTe})_2$, não altera o comportamento sexual e performance reprodutiva em ratos machos (Stangherlin et al., 2006a). Entretanto, no estudo de Stangherlin et al. (2009) foi visto efeitos tóxicos do $(\text{PhTe})_2$ sobre o desenvolvimento cerebral de ratos após o nascimento. Neste estudo, o $(\text{PhTe})_2$ causou estresse oxidativo no cortex cerebral,

hipocampo e estriado de ratos jovens, via leite materno. Além disso, a exposição materna a baixas doses deste composto durante a lactação alterou os parâmetros de comportamento relatados para a função neural em ratos jovens (Stangherlin et al., 2006b).

Novas investigações sobre os efeitos toxicológicos dos compostos orgânicos contendo telúrio são necessárias pelo fato de algumas moléculas mostrarem-se bastante tóxicas, para com isso serem identificadas às faixas seguras de doses para os testes farmacológicos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos toxicológicos da exposição aguda ao ditelureto de difenila (PhTe)₂, 2-feniletinil-butil telúrio (PEB) e 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno (BTMT) sobre os parâmetros reprodutivos maternos e fetal, em diferentes períodos da gestação, em camundongos.

3.2 Objetivos Especificos

- Avaliar a toxicidade materna e efeito teratogênico da exposição subcutânea ao (PhTe)₂ em diferentes períodos da gestação em camundongos e comparar com os resultados obtidos em ratos, em estágio similar de desenvolvimento;
- Verificar a toxidade da exposição oral ao BTMT, no 8º dia de gestação, sobre os parâmetros reprodutivos materno e fetal, bem como determinar os ensaios bioquímicos materno e fetal e a análise histológica hepática, renal e placentária materna;
- Analisar a toxicidade materna e os efeitos adversos desenvolvimental nos fetos após a exposição oral ao PEB, no 4º, 8º e 14º dia de gestação, bem como a análise histológica hepática, renal e placentária materna.

APRESENTAÇÃO

Os resultados que fazem parte desta tese estão apresentados sob a forma de artigos, os quais se encontram no item **ARTIGO CIENTÍFICO E MANUSCRITOS**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão dos Resultados e Referências Bibliográficas, encontram-se nos próprios artigos científicos e manuscritos e representam na íntegra o presente estudo.

Os itens, **DISCUSSÃO E CONCLUSÕES** encontrados no final desta tese apresentam interpretações e comentários gerais sobre o artigo científico e manuscritos contidos neste trabalho.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** e **DISCUSSÃO** desta tese.

4. ARTIGO CIENTÍFICO E MANUSCRITOS

O artigo está disposto da mesma forma que foi publicado na revista científica (artigo 1). Os manuscritos 1 e 2 estão dispostos da mesma forma que serão submetidos para avaliação.

4.1 Artigo 1

**Efeito do ditelureto de difenila sobre o desenvolvimento embrio/fetal em camundongos:
Diferenças interespecies**

**DIPHENYL DITELLURIDE EFFECT ON EMBRYO/FETAL DEVELOPMENT IN
MICE: INTERSPECIES DIFFERENCES**

Silvane Souza Roman, Alexandra Nava, Alexandre Marafon Favero, Simone Nardin Weiss,
Gilson Zeni, João B. T. Rocha, Cristina Wayne Nogueira

Toxicology 231 (2007) 243-249

Available online at www.sciencedirect.com
TOXICOLOGY

Toxicology 231 (2007) 243–249

www.elsevier.com/locate/toxicol

Short communication

Diphenyl ditelluride effect on embryo/fetal development in mice: Interspecies differences

Silvane Souza Roman^{a,b}, Alexandra Nava^b, Alexandre Marafon Favero^a,
Simone Nardin Weis^a, Gilson Zeni^a, Joao B.T. Rocha^a, Cristina Wayne Nogueira^{a,*}

^a Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

^b Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, CEP 99700-000, Erechim, RS, Brazil

Received 20 May 2006; received in revised form 23 November 2006; accepted 28 November 2006

Available online 1 December 2006

Abstract

It is well established that diphenyl ditelluride, (PhTe)₂, is a potent teratogen in rats, however, little is known about its effects on embryo/fetal development in mice. The present study was undertaken to investigate whether any differences exist on embryo/fetal development of mice exposed to (PhTe)₂ during distinctive periods of gestation compared to rats. Dams were treated subcutaneously (s.c.) with 0.12 or 60.0 mg/kg (PhTe)₂ on gestational day (GD) 4, 8 or 14. Cesarean section was performed on GD18 and external and skeletal alterations were examined. The lower dose did not affect any parameter evaluated in mouse fetuses. The maternal body weight for 60 mg/kg (PhTe)₂ groups, at all periods studied, was not affected. Maternal liver and spleen weights were increased at GD8. At GD14, maternal relative weight of kidney was also increased. A significant reduction in the number of implantation sites at GD4 was found. At GD4 and GD14, there was a reduction in the fetal weight and biometry. A few signs of reduced ossification in sternbrae and limbs were observed at GD14 in (PhTe)₂ group. In conclusion, (PhTe)₂ was not toxic to dams and affected some fetal endpoints only at the dose about 500-fold higher than the dose that was teratogenic in rats, suggesting a different developmental toxicity induced by (PhTe)₂ among species. Thus, the mice were less susceptible to toxic effects induced by (PhTe)₂ than were rats. © 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Diphenyl ditelluride; Tellurium; Gestation; Developmental; Mice; Species differences

1. Introduction

The magnitude of susceptibility to toxicant exposure is often related to species differences in the ability to metabolize the chemicals (Hucker, 1970; Caldwell, 1981, 1982). Understanding species differences in toxicity to drugs is of fundamental importance in assessing

mechanisms of drug-induced toxicity as well as being crucial to understanding risk assessment of new chemical entities within pharmaceutical development (Bollard et al., 2005).

Tellurium compounds have been used or produced in various industrial processes, for example steel production and the electrolytic refining of heavy metals, and tellurium salts were popular as therapeutic agents in the early years of past century, particularly for the treatment of syphilis. Inorganic tellurium compounds are used in the microelectronic industry as a semiconductor (Larner, 1995). This implies in an increase in the risk of

* Corresponding author. Tel.: +55 55 3220 8140; fax: +55 55 3220 8978.

E-mail address: criswn@quimica.ufsm.br (C.W. Nogueira).

occupational and environmental human exposure to this element.

Diphenyl ditelluride, (PhTe)₂, is a solid, non-volatile and highly hydrophobic organotellurium compound used as an important and versatile intermediate in organic synthesis. Our research group has obtained persuasive points of evidence indicating that (PhTe)₂ is a neurotoxic compound for mice and rats (Maciel et al., 2000; Nogueira et al., 2001, 2002, 2004; Moretto et al., 2003) and provided evidence for renal and hepatic toxicity of this organotellurium compound for rodents (Meotti et al., 2003).

Recently, we reported that (PhTe)₂ can be teratogenic for rat fetuses and toxic for dams (Stangherlin et al., 2005). In fact, this study established that a single subcutaneous injection of 0.12 mg/kg (PhTe)₂ (1/3 LD₅₀) reduced fetal size and weight and induced various morphological abnormalities in rat fetuses, when administered at days 10 or 17, but not at day 6 of gestation. Teratogenic/fetotoxic effects were manifested by the presence of exophthalmia, hydrocephalus and edema caused by the test compound. Interestingly, the late fetal stages of rat prenatal development appeared uniquely sensitive to organic tellurium exposure (Stangherlin et al., 2005). The exposure to this compound caused maternal body weight loss for three days after the treatment. In contrast to rats, no information concerning the developmental toxic potential of (PhTe)₂ is available in mice.

The route of (PhTe)₂ administration was selected based both on the exposure conditions performed on the prior rat studies (Stangherlin et al., 2005) and because the primary route of occupational exposure of (PhTe)₂ may be via dermal absorption. In fact, in the organic synthesis laboratory an inadequate handling of the solid compound, (PhTe)₂, can lead to dermal absorption of tellurium in humans.

Therefore, the present study was performed to evaluate the effects of (PhTe)₂ on mice embryo/fetal development when administered at distinctive periods of gestation. Of particular importance, this report investigated whether any differences exist on developmental toxicity caused by (PhTe)₂ in mice in comparison to rats (Stangherlin et al., 2005).

2. Materials and methods

2.1. Materials

Diphenyl ditelluride was synthesized according to literature methods (Paulmier, 1986). Analysis of the ¹H NMR and ¹³C NMR spectra showed that (PhTe)₂ obtained presented analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned

structure. The chemical purity of (PhTe)₂ (99.9%) was determined by GC/HPLC. This drug was dissolved in canola oil, which was obtained from standard commercial supplier. All other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers.

2.2. Animals

Female Swiss mice (25–35 g) from our own breeding colony were used. The animals were maintained on a 12-h light/dark cycle, in an air-conditioned room (22–24 °C), with free access to water and food (CR1 Nuvilab, Nuvilab Ltd., Curitiba, PR, Brazil). The animals were used according to the guidelines of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, Erechim, RS, Brazil.

2.3. Experimental procedure

Two virgin female mice in the proestrous and estrous phases of the cycle were mated overnight with one adult male mouse previously determined to be fertile. The day when vaginal plug was detected was considered to be the gestational day (GD) 0. The dams recognized as pregnant were separated from male and housed individually in standard polypropylene plastic cages.

The pregnant dams received 0.12 or 60.0 mg/kg (PhTe)₂ by subcutaneous (s.c.) injection on GD 4, 8 or 14. The volume of each dose was adjusted to 5 ml/kg total body weight. Control groups were equally manipulated and received vehicle (canola oil, 5 ml/kg) at the same gestational periods. Since no effects appeared in any control groups, these groups were pooled for the sake of clarity in table and figures.

The lower dose was selected based on a previous study conducted with rats, which indicated that (PhTe)₂ is a potent teratogen (Stangherlin et al., 2005). This dose did not affect any parameter evaluated in mouse fetuses (data not shown). On the basis of LD₅₀ values for mice (Meotti et al., 2004), as well as, the lack of effect of the lower dose evaluated in this study, 60.0 mg/kg (PhTe)₂ was tested in pregnant mice.

Dams were daily examined throughout gestation for mortality and signs of toxicity. Maternal body weight was recorded daily until GD 18. At GD 18, all dams were euthanized and their uterine horns were removed and weighed. The absolute and relative (organ-to-body weight, b.w., ratio) weights of the following maternal organs were measured: brain, liver, spleen and kidneys. The number of implantation sites, resorptions, dead and live fetuses were also recorded. The fetuses and their respective placentas were weighed to calculate the placental index (placenta/fetus weight). The viability of the fetuses was determined by the presence of spontaneous breathing or responses to tactile stimulation. The fetuses were examined under magnification for gross external malformation. Findings were classified according to currently used nomenclature (Chahoud et al., 1999). Fetal biometry was performed (Perez-D'Gregorio and

Miller, 1988): crown-rump (CR) length; occipito-nasal length; trans-cervical diameter; trans-umbilical diameter. To identify internal skeletal anomalies three–four fetuses per litter were preserved in 70% ethanol and stained with Alizarin Red S by the technique described by Staples and Schnell (1964).

2.4. Statistical analysis

The litter was used as the experimental unit. Statistical significance was assessed by analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's test when appropriate. Statistical analysis of incidence data (percentage of examined fetuses and percentage of evaluated litters with skeletal anomalies) was performed using the chi-square (χ^2) test. A value of $p < 0.05$ was considered to be significant.

3. Results

3.1. Maternal evaluation

Exposure to (PhTe)₂ did not cause death or behavioral changes. Accordingly, no treatment-related gross findings were observed at necropsy of the dams in any group. The maternal body weight at the end of the experiment was not different from the control group (data not shown). The gravid uterus weight and the body weight gain during gestation were not affected by exposure to (PhTe)₂ at the three different periods of gestation (data not shown). Pregnant dams exposed to (PhTe)₂ on GD8 presented significant increase in the relative weight of liver ($8.52 \pm 0.34\%$ b.w.) when compared to the control ($7.53 \pm 0.15\%$ b.w.). Relative and absolute weights of spleen increased ($0.411 \pm 0.02\%$ b.w. and 0.165 ± 0.01 g, respectively) at the end of gestation compared to control group ($0.293 \pm 0.01\%$ b.w. and 0.124 ± 0.01 g, respectively). Exposure of dams to (PhTe)₂ on GD14 caused an increase in the relative weight of kidney ($0.643 \pm 0.03\%$ b.w.) when compared to the control group ($0.574 \pm 0.01\%$ b.w.). Other maternal organ weights (absolute and relative) were similar between treated and control groups (data not shown).

3.2. Reproductive findings

Totally resorbed litters were not found. No significant differences were observed in resorptions, dead and live fetuses following maternal exposure to (PhTe)₂ at any period. However, a significant reduction in the number of implantation sites was observed (11.75 ± 0.53) in dams treated at GD4 with (PhTe)₂ when compared to the control group (13.38 ± 0.51 , $p < 0.05$).

The placental weight and placental index did not differ between treated and control groups (data not shown).

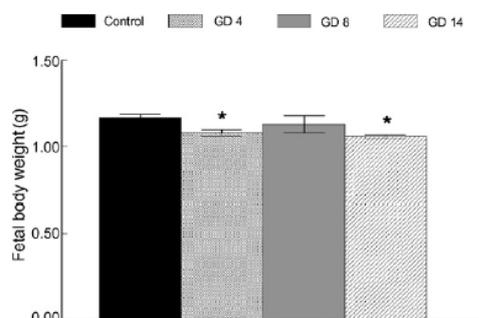


Fig. 1. Effect of (PhTe)₂ exposure during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods on fetal body weight. Data are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ when compared to control group.

Exposure of dams to (PhTe)₂ caused a statistically significant decrease in fetal body weight (Fig. 1) that was accompanied by a similar reduction in all fetal biometrics analyzed (Fig. 2). The fetal body weight was also reduced after exposure to (PhTe)₂ at GD14 (Fig. 1). At this period, prenatal exposure to (PhTe)₂ produced a significant decrease in crown-rump length, trans-cervical and trans-umbilical diameters (Fig. 2). In contrast, (PhTe)₂ administered on GD8 did not cause change the fetal biometry or fetal body weight (Figs. 1 and 2, respectively).

3.3. Skeletal examination

No externally visible abnormalities were found in fetuses from (PhTe)₂-treated groups. As shown in Table 1, the incidence of fetal skeleton alterations was slightly affected by exposure to (PhTe)₂.

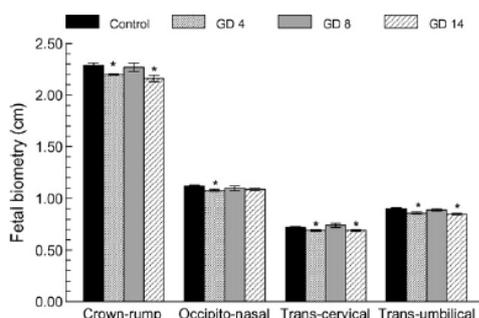


Fig. 2. Effect of (PhTe)₂ exposure during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods on fetal biometry. Data are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ when compared to control group.

Table 1
Skeletal anomalies in fetuses of mice exposed to (PhTe)₂ during implantation (GD4), organogenesis (GD8) or fetal (GD14) periods

Parameters	Control ^a	(PhTe) ₂ , 60.0 mg/kg		
		GD4	GD8	GD14
Total fetuses (litter) examined	71 (25)	21 (9)	18 (6)	24 (9)
Fetuses (litters) showing anomalies in (%) ^b				
Skull				
Frontal				
Incomplete ossification	5 (12.0)	0 (0)	2 (16.7)	0 (0)
Parietal				
Incomplete ossification	4 (12.0)	0 (0)	2 (16.7)	0 (0)
Interparietal				
Incomplete ossification	5 (12.0)	0 (0)	2 (16.7)	0 (0)
Supraoccipital				
Incomplete ossification	11 (32.0)	3 (33.3)	5 (50.0)	2 (11.1)
Bipartite	1 (4.0)	1 (11.1)	0 (0)	0 (0)
Asymmetric	6 (20.0)	2 (22.2)	3 (16.7)	9** (44.4)
Sternebrae				
Incomplete ossification	8 (20.0)	8 (66.7)	1 (16.7)	11** (55.5)
Misshapened	48 (100)	15 (100)	4 (50.0)	13 (77.8)
Bipartite	5 (20)	5 (33.3)	6* (50.0)	5 (44.4)
Misaligned	2 (8.0)	1 (11.1)	0 (0)	1 (11.1)
Supernumerary	0 (0)	1 (11.1)	4** (50.0)	1 (11.1)
Absent	0 (0)	0 (0)	1 (16.7)	1 (11.1)
Ribs				
Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Unilateral short supernumerary	7 (32.0)	2 (22.2)	3 (33.3)	5 (44.4)
Forepaw				
Incomplete ossification of metacarpal bones	5 (12.0)	0 (0)	2 (16.7)	5 (22.2)
Digits incompletely ossified	34 (68.0)	15 (66.7)	6 (50.0)	13 (66.7)
Hindpaw				
Incomplete ossification of metatarsal bones	5 (16.0)	0 (0)	3 (33.3)	7* (44.4)
Digits incompletely ossified	18 (60.0)	13* (66.7)	8 (66.7)	10 (66.7)
Sacral vertebrae				
Incomplete ossification	1 (4.0)	0 (0)	1 (16.7)	0 (0)
Caudal bones				
Incomplete ossification	3 (12.0)	1 (11.1)	1 (16.7)	0 (0)

* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ when compared to the control group by the χ^2 -test.

^a For the sake of clarity the respective control groups of each treated-group were omitted.

^b Data are presented as % of examined fetuses and, between parentheses, as % of evaluated litters.

Fetuses exposed to (PhTe)₂ on GD4 presented incomplete ossification of hindpaw digits (66.7%) when compared to the control group. In (PhTe)₂ group exposed on GD8, significant alterations found were sternebrae bipartite (50%) and supernumerary (50%). There were significant differences on skeletal examinations of mouse fetuses when (PhTe)₂ was given on GD14, including supraoccipital asymmetry (44.4%) and incomplete ossification of sternebrae (55.5%) and metatarsal bones (44.4%) (Table 1).

4. Discussion

The purpose of the current study was to determine if (PhTe)₂ induced toxic effects on mice embryo/fetal development comparing to the toxicity induced by (PhTe)₂ in rats (Stangherlin et al., 2005). The results indicated that developmental toxicity induced by (PhTe)₂ was less pronounced in pregnant mice than was in rats. In addition, it was evident that developmental effects observed not only in mice but also in rats were

dependent of gestational period in which (PhTe)₂ exposure occurred.

In a previous study, (PhTe)₂ given to pregnant rats at three distinctive gestational periods was teratogenic to fetuses, causing malformations in fore- and hind-limbs, absent or short tail, subcutaneous blood clots, exophthalmia, hydrocephalus and presence of exposed brain (Stangherlin et al., 2005). Conversely, no adverse effect was observed when the same dose of (PhTe)₂ was administered at similar periods to pregnant mice, supporting the hypothesis that (PhTe)₂ has different potential toxicity in mouse and rat fetuses.

In the history of drug development, there are a number of famous individual cases and generalizations about species differences in drug properties (Collins, 2001). Regarding (PhTe)₂ general toxicity, it was demonstrated that this compound is more toxic for rats than is for mice (Meotti et al., 2004). In mice, calculated LD₅₀ (s.c. route) was higher than 200 mg/kg, while in rats it was 0.36 mg/kg. In agreement, the developmental data obtained in this study reinforce that mice were more resistant to (PhTe)₂ toxicity when compared to rats.

Maternal exposure to xenobiotics during pregnancy may have different effects on the embryo/fetal development depending on the period of exposure (Lemonica, 1996). Experimental data from the present study showed that 60.0 mg/kg (PhTe)₂ administered to pregnant mice during implantation period (represented by GD4) affected intrauterine growth evidenced by a reduced fetal body weight and all biometrics performed. Since no adverse effects on dams were observed at this period, the foregoing findings were probably a direct effect of (PhTe)₂ and was not a secondary maternal-mediated effect. Conversely, (PhTe)₂ administered in the first period of gestation (represented by GD6) was not toxic for rat fetuses (Stangherlin et al., 2005).

In addition, (PhTe)₂ was not toxic to mothers at GD8, demonstrated by the lack of effect on maternal weight. Tellurium exposure at this period did not produce any impairment to development of fetuses. In fact, no significant differences were observed in prenatal loss and in the common parameters for quantifying changes in growth, i.e. fetal weight and biometry. Skeletal alterations were only observed at sternbrae level, but these changes were unlikely to adversely affect survival or health. According to Chahoud (1997) this effect might result from a delay in growth or morphogenesis that has otherwise followed a normal pattern of development. These findings support the hypothesis that (PhTe)₂ did not interfere in the regular development of mouse fetuses during organogenesis. The study conducted in rats demonstrated that (PhTe)₂ was highly noxious to intrauterine development when

administered in the second period of gestation (represented by GD10).

Furthermore, data from mouse dams treated with (PhTe)₂ on GD14 demonstrated that the compound tested was not toxic to mothers. In addition, viable fetuses from GD14 had their body weight reduced, as well as CR length, trans-cervical and trans-umbilical diameters. The skeletal variations of these fetuses were mainly on supraoccipital, sternbrae and hindpaw bones. An increased incidence of “variations” unaccompanied by a higher occurrence of malformations is not generally interpreted as a teratogenic (Chahoud et al., 1999). In sharp contrast to mouse data, (PhTe)₂ was highly noxious to intrauterine development at the third period of gestation (represented by GD17) in rats. Therefore, these results contribute to emphasize the interspecies differences in toxicity induced by (PhTe)₂.

Stangherlin et al. (2005) reported that (PhTe)₂ was teratogenic to rat fetuses mainly on the late fetal stages of prenatal development and toxic for dams. In the present study, (PhTe)₂ at a much higher dose (500-fold higher than the dose used in rats) affected only a few maternal and fetal endpoints. The first (GD4) and the last (GD14) periods of mice gestation were equally sensitive to this compound, however; the effects were small, despite the statistical significance. Thus, our findings are actually examples of retardation rather than any evidence for frank terata (Khera, 1981) such as found in rat fetuses (Stangherlin et al., 2005). Based on these findings, we infer a different developmental toxicity induced by (PhTe)₂ across species, since the chemical failed to produce any adverse effects in mice, despite a much higher dose. Accordingly, species differences in toxicity are well documented in rodent models (Bollard et al., 2005).

The reasons for differential toxicity between mice and rats are presently unknown. In fact, it can be related to differences in the distribution and excretion of (PhTe)₂ in the two species. The fate of this highly hydrophobic compound in rodents is unknown but probably (PhTe)₂ can be either hydroxylated by liver cytochrome P450 enzymes or its telluride atoms can be oxidized by monooxygenases. If these transformations are faster in mice than in rats, the excretion and clearance of (PhTe)₂ might be higher in mice than in rats. This perhaps could at least, in part, explain the differences in toxicity. However, further detailed studies will be necessary to clarify this.

To our knowledge there are a few data in the literature about developmental toxicity induced by organotellurium compounds in rodents. Recently, it has been established that a single s.c. administration of diphenyl diselenide [(PhSe)₂], a structural analogous of (PhTe)₂, to pregnant rats during organogenesis induces

only slightly embryofetotoxicity, represented by an increase in skeletal anomalies and delayed development (Favero et al., 2005). In addition, our research group has also reported that (PhSe)₂, administered during organogenesis (GD6 through 15), induced adverse effects in mothers and on embryonic/fetal growth without causing externally visible malformations in rat fetuses (Weis et al., 2007).

Organotellurium compounds have been used in industry and have been determined to be promising and advantageous alternative as synthetic intermediates in organic synthesis (for review see Zeni et al., 2006). These compounds are also used in photography (Eastman Kodak, 1985, 1989), stabilizers for polymers (Engman et al., 1996) and as a component of insecticides (Sumitomo Chemical, 1993). In addition, inorganic forms of tellurium are used as a component of many alloys, as a gasoline antiknock additive as well as in the rubber, ceramic, electronic and steel industries (Fairhill, 1969). Indeed, both industrial processes and the use in organic synthesis can lead to potentially hazardous tellurium incorporation in humans. Currently, however, real risks to human health are often difficult to recognize due to the lack of researches in this area. The main part of the available data on the toxicity of tellurium compounds are based on relative toxicity using experimental animals such as rats (Morgan et al., 1995; Nogueira et al., 2001) or mice (Maciel et al., 2000), evaluation of dosage effects on tissue (Barbosa et al., 1998), nervous system (Jortner, 2000) or cell growth inhibition (Sailer et al., 1999). Descriptions of human toxicity from tellurium intoxication are rare (Yarema and Curry, 2005), although acute (Blackadder and Manderson, 1975; Gerhardsson et al., 1986) and chronic (Shie and Deeds, 1920; Keall et al., 1946) occupational exposure has been reported. In addition, an isolated case of poisoning from tellurium-contaminated meat has been reported (Muller et al., 1989). Clinical features of tellurium toxicity after occupational exposure include loss of appetite, dryness of the mouth, suppression of sweating, a metallic taste in the mouth, and most notable, a sharp garlic odor of the breath, sweat and urine (Cerweaka et al., 1961; Muller et al., 1989; Larner, 1995).

In conclusion, the developmental toxicity caused by (PhTe)₂ was less pronounced in pregnant mice than was in rats. These data pointed out interspecies differences in the type and severity of drug-induced toxicity.

Acknowledgements

The financial support by UFSM (FIPE), FAPERGS, CAPES and CNPq are gratefully acknowledged. CWN,

JBTR and GZ are the recipients of CNPq fellowships.

References

- Barbosa, N.B.V., Rocha, J.B.T., Zeni, G., Emanuelli, T., Beque, M.C., Braga, A.L., 1998. Effect of organic forms of selenium on δ -aminolevulinic dehydratase from liver, kidney, and brain of adult rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 149, 243–253.
- Blackadder, E.S., Manderson, W.G., 1975. Occupational absorption of tellurium: a report of two cases. *Br. J. Ind. Med.* 32, 59–61.
- Bollard, M.E., Keun, H.C., Beckonert, O., Ebbels, T.M.D., Antti, H., Nicholls, A.W., Shockcor, J.P., Cantor, G.H., Stevens, G., Lindon, J.C., Holmes, E., Nicholson, J.K., 2005. Comparative metabolomics of differential hydrazine toxicity in the rat and mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 204, 135–151.
- Caldwell, J., 1981. The current status of attempts to predict species-differences in drug-metabolism. *Drug Metab. Rev.* 12 (2), 221–237.
- Caldwell, J., 1982. Conjugation reactions in foreign-compound metabolism—definition, consequences, and species variations. *Drug Metab. Rev.* 13 (5), 745–777.
- Cerweaka Jr, E.A., Cooper, W.C., 1961. Toxicology of selenium and tellurium and their compounds. *Arch. Environ. Health* 3, 189–200.
- Chahoud, I., 1997. Atlas of External and Skeletal Anomalies in Rats. CD-ROM, Leipzig, Berlin.
- Chahoud, I., Buschmann, J., Clark, R., Druga, A., et al., 1999. Classification terms in developmental toxicology: need for harmonization. *Reprod. Toxicol.* 13, 77–82.
- Collins, J.M., 2001. Inter-species differences in drug properties. *Chem. Biol. Interact.* 134, 237–242.
- Eastman Kodak, USA, Assignee, 1985. Divalent chalcogenide fog inhibiting agents for silver halide photography. US Patent 4,607,001, Washington, DC.
- Eastman Kodak, USA, Assignee, 1989. Cyclic dichalcogenide fog inhibitor for silver halide photographic material. US Patent 4,861,703, Washington, DC.
- Engman, L., Stern, D., Stenberg, B., 1996. Organotellurium compounds as stabilizers for polymeric materials. *J. Appl. Polym. Sci.* 59, 1365–1370.
- Fairhill, L.T., 1969. Tellurium. In: *Industrial Toxicology*. Hafner Publishing Co., New York & London, p. 120.
- Favero, A.M., Weis, S.N., Stangherlin, E.C., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W., 2005. Teratogenic effects of diphenyl diselenide in Wistar rats. *Reprod. Toxicol.* 20, 561–568.
- Gerhardsson, L., Glover, J.R., Nordberg, G.F., Vouk, V., 1986. Tellurium. In: *Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V.B. (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals*, vol. 2, 2nd ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 532–548.
- Hucker, H.B., 1970. Species differences in drug metabolism. *Annu. Rev. Pharmacol.* 10, 99–118.
- Jortner, B.S., 2000. Mechanisms of toxic injury in the peripheral nervous system: neuropathologic considerations. *Toxicol. Pathol.* 28, 54–69.
- Keall, J.H.H., Martin, N.H., Tunbridge, R.E., 1946. A report of three cases of accidental poisoning by sodium tellurite. *Br. J. Ind. Med.* 3, 175–176.
- Khera, K.S., 1981. Common fetal aberrations and their teratologic significance: a review. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1, 13–18.
- Larner, A.J., 1995. Biological effects of tellurium: a Review. *Trace Elem. Electrolytes* 12, 26–31.

- Lemonica, I.P., 1996. In: Oga, S. (Ed.), *Fundamentos de Toxicologia*. Atheneu, São Paulo.
- Maciel, E.N., Bolzan, R.C., Braga, A.L., Rocha, J.B.T., 2000. Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride differentially affect aminolevulinic acid dehydratase from liver, kidney and brain of mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 14, 310–319.
- Meotti, F.C., Borges, V.C., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W., 2003. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for rats and mice. *Toxicol. Lett.* 143, 9–16.
- Meotti, F.C., Stangherlin, E.C., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W., 2004. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. *Environ. Res.* 94, 276–282.
- Moretto, M.B., Rossato, J.I., Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B.T., 2003. Ebselen and diorganochalcogenides inhibition of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx into brain synaptosomes is voltage-dependent. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17, 154–160.
- Morgan, D., Shines, C.J., Jeter, S.P., Wilson, R.E., Elwell, M.P., Price, H.C., Moskowitz, P.D., 1995. Acute pulmonary toxicity of copper gallium diselenide, copper indium diselenide, and cadmium telluride intratracheally instilled into rats. *Environ. Res.* 71, 16–24.
- Muller, R., Zschiesche, W., Steffen, H., Schaller, K., 1989. Tellurium-intoxication. *Klin. Wochenschr.* 67, 1152–1155.
- Nogueira, C.W., Rotta, L.N., Perry, M.L., Souza, D.O., Rocha, J.B.T., 2001. Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect the rat glutamatergic system in vitro and in vivo. *Brain Res.* 906, 157–163.
- Nogueira, C.W., Rotta, L.N., Zeni, F.G., Souza, D.O., Rocha, J.B.T., 2002. Exposure to ebselen changes glutamate uptake and release by rat brain synaptosomes. *Neurochem. Res.* 27, 283–288.
- Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B.T., 2004. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem. Rev.* 104, 6255–6286.
- Paulmier, C., 1986. Selenoorganic functional groups. In: Paulmier, C. (Ed.), *Selenium Reagents and Intermediates in Organic Synthesis*, 1st ed. Pergamon Press, Oxford, England, pp. 25–51.
- Perez-D'Gregorio, R.E., Miller, R.K., 1988. Teratogenicity of tellurium dioxide: prenatal assessment. *Teratology* 37, 307–316.
- Sailer, B.L., Prow, T., Dickerson, S., Watson, J., Liles, N., Patel, S.J., Van Fleet-Stalder, V., Chasteen, T.G., 1999. Bacterial cytotoxicity and induction of apoptosis in promyelocytic (line HL-60) cells by novel organotellurium compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2926–2933.
- Shie, M.D., Deeds, F.E., 1920. The importance of tellurium as a health hazard in industry—a preliminary report. *Public Health Rep.* 35, 939–954.
- Stangherlin, E.C., Favero, A.M., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W., 2005. Teratogenic vulnerability of rat fetuses to diphenyl ditelluride. *Toxicology* 207, 231–239.
- Staples, R.E., Schnell, V.L., 1964. Refinements in rapid clearing technique in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain. Technol.* 39, 61–63.
- Sumitomo Chemical, Japan, Assignee, 1993. Insecticides and acaricides containing aromatic ditellurides. Japanese Patent 05112313, Japanese Patent Office, Tokyo, Japan.
- Weis, S.N., Favero, A.M., Stangherlin, E.C., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W., Zeni, G., 2007. Repeated administration of diphenyl diselenide to pregnant rats induces adverse effects on embryonic/fetal development. *Reprod. Toxicol.* 23, 175–181.
- Yarema, M.C., Curry, S.C., 2005. Acute tellurium toxicity from ingestion of metal-oxidizing solutions. *Pediatrics* 116, 319–321.
- Zeni, G., Ludtke, D., Panatieri, R.B., Braga, A.L., 2006. Vinylic tellurides: from preparation to their applicability in organic synthesis. *Chem. Rev.* 106, 1032–1076.

4.2 Manuscrito 1

Avaliação desenvolvimental e do perfil oxidativo em camundongos submetidos a uma única administração de 1-butiltelurenil-2-metil tiohepteno

**DEVELOPMENTAL EVALUATION AND OXIDATIVE PROFILE IN MICE
SUBMITTED TO A SINGLE ADMINISTRATION OF 1-BUTYLTELLURENYL-2-
METHYL THIOHEPTENE**

Silvane Souza Roman; Diana Biasus; Ethel Antunes Wilhelm; Cristiano Ricardo Jesse;
Cristina Wayne Nogueira

Em fase de Redação

**Developmental Evaluation and Oxidative Profile in Mice Submitted to a Single
Administration of 1-Butyltellurenyl-2-Methyl thioheptene**

Silvane Souza Roman,^{a,b} Diana Biasus;^b Ethel Antunes Wilhelm;^a Cristiano Ricardo Jesse;^a

Cristina Wayne Nogueira^a

^aDepartamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, RS, CEP 97105-900, Santa Maria, Brazil

^bDepartamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, RS, CEP 99700-000 Erechim, Brazil

Correspondence should be sent to:

Cristina Wayne Nogueira

Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

Phone: 55-55 3220-8140

FAX: 55-55-3220-8978

E-mail: criswn@quimica.ufsm.br (Nogueira CW)

Abstract

Despite the growing use of organotellurium compounds in the chemical and biomedical fields, there has been no great concern about their toxicity until now. The aim of the present study was to examine whether a single exposure to 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT) induces developmental toxicity in mice. A single oral dose of 32.8 mg/kg of BTMT or vehicle was administered to the pregnant mice at gestation day 8. Evaluations of toxicity were performed on day 18. These include: maternal/fetal organs (brain, liver and placenta) for morphological and histological evaluation and biochemical analysis. BTMT caused developmental toxicity in the absence of maternal toxicity. Developmental toxicity was characterized by embryonic resorptions, prenatal losses, decreased number of live fetuses and viability index. There was no alteration in fetal skeletal development. The biochemistry endpoints indicative of oxidative stress were not altered in organs of exposed dams and fetuses. Histological findings were similar in animals exposed to BTMT and the control group. The results showed that a single administration of BTMT caused low developmental toxicity in mice.

Keywords: toxicity; tellurium; vinylic telluride; developmental; mice.

1. Introduction

Maternal exposure to an enormous amount of natural and synthetic chemicals occurring in the environment during pregnancy may have adverse effects on the embryo development depending on the period of exposure (Paisio et al., 2009), animal species and administration doses (Matsumoto et al., 2008). On one hand, teratogenicity likely depends on a large extent upon a balance between the pathogenic pathways of xenobiotic bioactivation, oxidative macromolecular damage and signal transduction. On the other hand, the protective pathways of maternal elimination, embryonic detoxification of xenobiotic reactive intermediates and reactive oxygen species (ROS) are also important for teratogenicity (Wells et al., 2005). Considering the risk assessment of chemical compounds for developmental toxicity, studies of potential pharmacological agents are relevant.

The pharmacological potential of inorganic and organic tellurium compounds has been demonstrated, leading to a set of interesting and promising applications. In this context, ammonium trichloro (dioxoethylene-O,O') tellurate (AS-101) has been shown to possess several biological activities that would be predicted to be beneficial in stroke including anti-apoptotic, immunomodulatory, and neurotrophic actions (Sredni et al., 1987, 1996; Kalechman et al., 2004). Regarding organotellurium, telluroacetylene compounds have been reported as antioxidants in models of oxidative stress (Briviba et al., 1998; Souza et al., 2009), especially in the brain (Kanski et al., 2001). Recently, the protective effect of an organotelluroxetane in an animal model of epilepsy was demonstrated (Persike et al., 2008). Besides, studies *in vitro* have demonstrated that tellurides are proficient antitumoral drugs and their chemoprotective effects are related to their cytotoxicity (Engman et al., 2000; Cunha et al., 2005). Moreover, 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT), a non toxic vinylic telluride, has antioxidant property *in vitro* (Savegnago et al., 2006).

Despite the growing use of organotellurium compounds in the chemical and biomedical fields, there has been no great concern about their toxicity until now. In fact, there are just few reports on the toxicology of organotellurium compounds (Cunha et al., 2009). In this context, diphenyl ditelluride has been explored in toxicological studies, which indicate that low doses of this organotellurium are hepatotoxic (Meotti et al., 2003), neurotoxic (Nogueira et al., 2004; Stangherlin et al., 2009), teratogenic (Stangherlin et al., 2005; Roman et al., 2007) and lethal to rodents (Meotti et al., 2003, Nogueira et al., 2004). Diphenyl ditelluride derivatives have been also reported as cytotoxic agents *in vitro* (Sailer et al., 2004). Besides, oxidative damage has been related to *in vitro* exposure to vinylic tellurides (Penz et al., 2009).

Based on the considerations outlined above, the aim of the present study was to examine whether a single exposure to 1-butyrtellurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT) could alter to oxidative profile and induce developmental toxicity in mice.

2. Materials and methods

2.1. Materials

1-Butyrtellurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT) (Fig. 1) was synthesized and characterized according to Dabdoub et al. (2001). Analyses of the ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra showed analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structure. The chemical purity of BTMT (99.9%) was determined by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC). All other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers.

2.2. Animals

Female Swiss mice (25 - 35 g) from our own breeding colony were used. Animals were maintained in an air-conditioned room at 22 ± 2 °C with a relative humidity of $55 \pm 5\%$ under a controlled 12 h light/dark cycle, with free access to water and food (CR1 Nuvilab, Nuvilab Ltda., Curitiba, PR, Brazil). All procedures were approved by the Local Ethics Committee (CEP. 048/PGA/08) and animals were used according to the guidelines of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, Brazil.

2.3. Maternal toxicity and teratogenicity

Virgin female mice in the proestrous and estrous phases of the cycle were mated overnight with male mice previously determined to be fertile (2:1). Gestation day (GD) 0 was considered when *vaginal plug* (solidification of sperm in the vagina) was detected. Mice recognized as pregnant were separated from male and housed individually in standard polypropylene plastic cages (41 x 34 x 18 cm). Dams were divided into two groups of eight animals each. Dams were exposed to a single oral dose of 32.8 mg/kg of BTMT or vehicle (canola oil, 10ml/kg) by on gavage GD 8, one of the days of the organogenesis critical period. This gestational time point is known to encompass major organogenesis in rodents (World, Health Organization, 2001). The dosage regimen was chosen based on a pilot study designed to test BTMT acute toxicity. To pilot study was considered the LD₅₀ of BTMT in rats, administered by oral route of 21.32 mg/kg (Savegnago et al, 2006). In our pilot study demonstrated that a single oral dose of 32.8 mg/kg BTMT did not cause general toxicity in female mice.

The maternal body weight, feed intake and water ingestion were recorded daily.

Dams were killed in a CO₂ chamber on day 18 of gestation, the ovaries and uteri were removed by cesarean section.

The maternal brain, liver, and placenta were quickly removed to determine the organ absolute and relative weights. Portions of maternal tissues (liver, kidney and placenta) were fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned at 4 µm and stained by haematoxylin and eosin (H&E) technique for histological analysis in optical microscopy.

The number of implantation sites and resorptions as well as dead and live fetuses were recorded. The litter weight, placental litter weight as well as the placental and viability index were calculated. Fetuses were weighed and examined under magnification for gross external malformation. The viability of the fetuses was determined by the presence of spontaneous breathing or responses to tactile stimulation. Findings were classified as anomalies, according to currently used nomenclature (Chahoud et al., 1999). Then, three fetuses from each litter were preserved in 70% ethanol and stained with Alizarin Red S (Staples and Schnell, 1964) for the assessment of fetal internal skeletal anomalies. The degree of fetal bone development was evaluated by counting the ossification centers in some fetal bones (skull bone, phalanges of the fore limbs, metacarpus, metatarsus, sternebra, ribs and caudal vertebrae).

The maternal (liver, brain and placenta) and fetal (liver and brain) organs were immediately homogenized in cold 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4). The homogenate was centrifuged at 1,000 x g for 10 min and low-speed supernatants (S₁) were separated and used for biochemical assays.

2.4. Biochemical assays

2.4.1. δ-aminolevulinic dehydratase (δ-ALA-D) activity

δ-ALA-D, a sulfhydryl- and Zn²⁺-containing enzyme, is highly sensitive to pro-oxidants and heavy metals (Farina et al., 2003; Nogueira et al., 2003) δ-ALA-D activity was assayed

according to the method of Sassa (1982) by measuring the rate of the product (porphobilinogen) formation except when 45 mM sodium phosphate buffer and 2.2 mM δ -ALA were used. An aliquot of 200 μ l of S_1 tissue was incubated at 37°C (brain, 3h; liver, 1h and placenta, 2h). The reaction product was determined using modified Erlich's reagent at 555 nm. The enzymatic activity was expressed as nmol PBG/mg protein/hour.

2.4.2. Glutathione S-transferase (GST) activity

GST is an enzymatic antioxidant defense that protects against ROS-induced injurious and is a phase II detoxification enzyme which catalyzes the conjugation of cytotoxic agents to glutathione producing less reactive chemical species. GST activity was assayed through the conjugation of glutathione with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) at 340 nm as described by Habig et al. (1974). An aliquot of 100 μ l of S_1 was added in 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 7.4, with CDNB, as substrate, and 50 mM GSH. The enzymatic activity was expressed in nmol/ min/ mg protein.

2.4.3 Catalase (CAT) activity

CAT is an enzymatic antioxidant defense that is involved in protecting against the injurious effects of ROS. CAT activity was assayed spectrophotometrically by the method of Aebi (1984), which involves monitoring the disappearance of H_2O_2 in the S_1 presence at 240 nm. Enzymatic reaction was initiated by adding an aliquot of 40 μ l of S_1 and the substrate (H_2O_2) to a concentration of 0.3 mM in a medium containing 50 mM phosphate buffer, pH 7.0. The enzymatic activity was expressed in mg protein (1 U decomposes 1 μ mol of H_2O_2 per minute at pH 7 at 25°C).

2.4.4 Ascorbic Acid (AA) determination

AA is a non-enzymatic antioxidant defense that is involved in protecting against the injurious effects of ROS. AA level determination was performed as described by Jacques-Silva et al. (2001) with some modifications. Briefly, S_1 was precipitated in 10 % trichloroacetic acid solution (S_2). An aliquot of S_2 (300 μ l) at a final volume of 575 μ l of the solution was incubated for 3 h at 38°C then 500 μ l H_2SO_4 65% (v/v) was added to the medium. The reaction product was determined using a color reagent containing 4.5 mg/ml dinitrophenyl hydrazine and $CuSO_4$ (0.075 mg/ml) at 520 nm. The content of AA is related to tissue amount (μ g AA/ g protein).

2.4.5. Lipid peroxidation levels

Thiobarbituric acid-reactive species (TBARS) were determined according to Ohkawa et al. (1979), in which malondialdehyde (MDA), an end-product of fatty acid peroxidation, reacts with thiobarbituric acid (TBA) to form a colored complex. The amount of TBARS produced was measured at 532 nm in spectrophotometer. Results were reported as nmol MDA /mg protein.

2.5. Protein Quantification

Protein concentration was measured by the method of Bradford (1976), using bovine serum albumin as the standard.

2.6. Statistical analysis

The litter was used as the experimental unit. Statistical significance was assessed by analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's test for paired comparisons between

groups, when appropriate. Biochemical end points were analyzed by one way analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's multiple range test when appropriate. Statistical analysis of incidence data (percentage of examined fetuses and percentage of evaluated litters with skeletal anomalies) was used to Chi-square test. A value of $p < 0.05$ was considered to be significant.

3. Results

3.1. Maternal toxicity and teratogenicity

The effect of BTMT on maternal findings for pregnant dams are depicted in Table 1. No maternal death, no signs of sickness or abnormal behavior occurred. None of the females aborted or delivered prematurely. Maternal food and fluid intake, the weight gain, corrected body weight and corrected body weight gain in animals exposed to BTMT were similar to the control group (Table 1). The gravid uterus weight was found to be reduced in dams exposed to BTMT (Table 1). There was no significant alteration in the organ weights of dams exposed to BTMT as shown in table 1.

The histological analysis of hepatic tissue in dams exposed to BTMT showed hepatocyte strings and sinusoid capillaries surround the centrilobular vein of normal morphology similar to the control group (Figs. 2 A-D). Similarly, no morphological changes in the renal tubules and glomerulus were observed in the dams exposed to BTMT (Figs. 2 E-H).

In general, placentas from the dams exposed to BTMT showed normal cellular architecture when compared to the control group (Figs. 2 I-J).

The effects of BTMT on various developmental parameters are shown in Table 2. The average numbers of implants were not affected by BTMT exposure. Significant effects on the

average number of late and total embryonic resorptions and prenatal loss were observed in BTMT exposed group (Table 2).

Additionally, the number of live fetuses and the viability index were significantly decreased in BTMT group (Table 2). Other parameters such as number of implantation sites, dead fetuses, early resorption, fetal and placental weights and the placental index were not altered by BTMT exposure (Table 2). Fetuses of exposed dams did not present externally visible abnormalities.

As shown in Table 3, none of the fetuses from BTMT exposed group presented major skeletal malformations. Developmental toxicity demonstrated by the increase in the prevalence of bipartite supraoccipital (63.6%) of skull was found only in BTMT exposed group. However, incomplete ossification of the frontal and thoracic vertebrae, bipartite zygomaticum, bilateral and unilateral supernumerary short ribs were considered spontaneous malformations because they were found in both exposed and control groups (Table 3).

3.2. Biochemical end points

Exposure to BTMT did not alter parameters of oxidative damage in liver and brain of both dams and fetuses. These end points were also unaltered in the placenta of exposed dams (Table 4).

4. Discussion

The ultimate objective of the present study was to examine whether a single exposure to BTMT could induce developmental toxicity in mice. In the present study, a single exposure at the dose of BTMT affected some fetal endpoints in the complete absence of maternal

toxicity in mice. Moreover, biochemical end points of oxidative damage were not modified in dams and fetuses BTMT-exposed group.

Administration of BTMT on GD 8 did not cause maternal mortality or signs of toxicity manifested by changes in body weight, organs weight, body weight gain, food and water consumption. By contrast, the low weight of gravid uterus in BTMT group was attributed to a reduction in the number of viable fetuses (because of a high number of resorptions). These findings further suggest that any observed fetal effects resulted from the toxicity of BTMT and not from its maternal intolerance since correlations exist between maternal and developmental toxicity (Makoto and Harazono, 2001).

During the period of organogenesis, effects of drugs may manifest as abortions, malformations or retarded development (Sullivan, 1993). The BTMT exposure to pregnant mice in GD 8 had no effect on fertility in terms of uterine implants, fetal death or fetal growth retardation in fetuses of mice. However, an increase in embryonic resorptions and prenatal losses, a decrease in the number of live fetuses and in viability index suggest an impact on intrauterine growth and/or survival in mice. Therefore, alterations in these parameters could pose a considerable threat to successful pregnancy. According to Ford (1982), the presence of resorption sites correlates to post-implantation loss and indicates a failure in the process of embryonic development.

On the other hand, in this study the assessments of external morphology of fetuses after caesarean rates did not indicate any external visible alteration (gross malformation), with an exception of a fetal skeletal malformation, demonstrated by an increase in bipartite supraoccipital of skull in BTMT-exposed group. Chahoud and Paumgarten (2009) have reported that some skeletal alterations are believed to be transient changes of minor impact on survival or health. Thus, little effects were observed in reproductive performance at the end of pregnancy. Additionally, no intrauterine effects were detected in fetal growth and placental

morphology. The possibility of placental alterations associated with a decrease in its functional role (Levario-Carrillo et al., 2004) were not considered here because the placentas of dams exposed to BTMT were not immature.

The induction of developmental toxicity not associated with maternal toxicity suggests that changes or abnormalities in the fetuses may only be related to treatment (Marques et al., 2010). In the experimental protocol presented in this study, the little adverse effects on embryo/fetal development were not associated to maternal toxicity, indicating that an impairment in the reproductive process might be related to BTMT exposure. Therefore, exposure to BTMT induced low toxicity in the uterine environment in mice, and it was embryolethal without being teratogenic.

In general, in early pregnancy failure there is an increase in markers of oxidative stress and a probable decrease in maternal antioxidant status. In this context, maternal alterations might have a direct reflection on embryonic and fetal redox status (Allen, 1991). An increase in ROS generation will most likely affect the entire antioxidant defense mechanism (Allen, 1991). In this way, teratogenicity of drugs such as thalidomide and alcohol has been shown to involve ROS-mediated oxidative damage (Zaken et al., 2000), indicating that the human fetus can be irreversibly damaged by oxidative stress. Conversely, BTMT did not alter biochemical end points of oxidative damage in tissues of dams and fetuses. The results clearly demonstrated that neither the levels of lipid peroxidation and AA nor the activity of GST and CAT were altered by BTMT exposure. It is known that one of the mechanisms of toxicity of tellurium compounds is that they have the ability to generate oxidants (Chen et al., 2001). Previous studies reported that the toxicity of organic compounds of tellurium is mediated in part by the ability to react with thiol groups of important biological molecules (Nogueira et al., 2004; Luchese et al., 2007) by inhibiting enzymes containing thiol-like δ ALA-D (Meotti et al., 2003). The activity of δ -ALA-D was also determined in this study. Even using a route

that favors the bioavailability, this biomarker has not changed at the dose tested and in none of the maternal and fetal tissues studied. In fact, in our study BTMT did not affect biochemical parameters, which could reveal mechanisms of toxicity, however, can not be considered toxic to the embryo-fetal development in mice at a dose of 32.8 mg/kg. The histopathological findings are strictly in accordance with the biochemical ones, since the exposure to BTMT did not alter biochemical end points in both kidneys and liver, particularly vulnerable to toxic agents (Grance et al., 2008).

Different from the results presented here, previous studies from our research group demonstrated that ditelluride was toxic to rodent fetuses (Stangherlin et al., 2005; Roman et al., 2007). It is important to highlight that the structure of BTMT is very different from the ditelluride. It is known that ditellurides are more reactive than tellurides because of the weak Te–Te bond when compared to the Te–carbon bond (Petraghani, 1994), and this probably is the main reason to many different effects found *in vivo* for BTMT when compared to ditelluride, once the biotransformation process seems to be important to the actions of these compounds *in vivo*.

In conclusion, a single oral exposure of a relatively high dose of BTMT on GD 8 affected some fetal endpoints in the complete absence of maternal toxicity in mice. Moreover, biochemical end points of oxidative damage were not modified in dams and fetuses BTMT-exposed group. Further detailed toxicological studies of the susceptible days and the change of susceptibility with time in animals exposed to BTMT are needed.

Declarations**Conflict of interest**

The Author(s) declare(s) that they have no conflicts of interest to disclose.

Acknowledgments

This study was supported in part by the FINEP research grant “Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net)” # 01.06.0842-00 and by grants from the Brazilian National Research Council CNPq and CAPES. The financial support from FAPERGS/CNPq (PRONEX) research grant # 10/0005-1 is also gratefully acknowledged.

References

- Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984;105:121-126.
- Allen RG. Oxygen-reactive species and antioxidant response during development. The metabolic paradox of cellular differentiation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991;196:117-129.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-254.
- Briviba K, Tamler R, Klotz LO, Engman L, Cotgreave IA, Sies H. Protection against organotellurium compounds against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration reactions. *Biochem Pharmacol* 1998;55:817-823.
- Chahoud I, Buschmann J, Clark R, Druga A, Falke H, Faqi A, Hansen E, Heinrich-Hirsch B, Hellwig J, Lingk W, Arkinson M, Paumgarten FJR, Pfeil R, Platzek T, Scialli AR, Seed J, Stahlmann R, Ulbrich B, Wu X, Yasuda M, Younes M, Solecki R. Classification terms in developmental toxicology: need for harmonization. *Reprod Toxicol* 1999;13:77-82.
- Chahoud I, Paumgarten FJR. Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: Relevance for risk assessment. *Environ Res* 2009;109:922-929.
- Chen F, Vallyathan V, Castranova V, Shi X. Cell apoptosis induced carcinogenic metals. *Mol Cell Biochem* 2001;221:183-188.
- Cunha LOR, Urano ME, Chagas JR, Almeida PC, Bincoletto C, Tersariol ILS, Comasseto JV. Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. *Bioorg Med Chem Lett* 2005;15:755-760.
- Cunha LOR, Gouvea IE, Juliano L. A glimpse on biological activities of tellurium compounds. *An Acad Bras Cienc* 2009;81:393-407

- Dabdoub MJ, Dabdoub VB, Pereira MA. Hydrochalcogenation of phenylthioacetylenes. Synthesis of mixed (Z)-trisubstituted 1,2 bis(organylchalcogeno)-1-alkenes. *Tetrahedron Lett* 2001;42:1595-1597.
- Engman L, Kandra T, Gallegos A, Williams R, Powis G. Water-soluble organotellurium compounds inhibit thioredoxin reductase and the growth of human cancer cells. *Anticancer Drug Des* 2000;15:323-330.
- Farina M, Brandão R, Lara FS, Soares FAA, Souza DO, Rocha JBT. Mechanisms of the inhibitory effects of selenium and mercury on the activity of D-aminolevulinate dehydratase from mouse liver, kidney and brain. *Toxicol Lett* 2003;139:55-66.
- Ford SP. Control of uterine and ovarian blood flow throughout the estrous cycle and pregnancy of ewes, sows and cows. *J Anim Sci* 1982;55:32-42.
- Grance SEM, Teixeira MA, Leite RS, Guimarães EB, Siqueira JM, Filii WFO, Vasconcelos SBS, Vieira MC. *Baccharis trimera*: Effect on hematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. *J Ethnopharmacol* 2008;117:28-33.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974;249:7130-7139.
- Jacques-Silva MC, Nogueira CW, Broch LC, Flores EMM, Rocha JBT. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. *Pharmacol Toxicol* 2001;88:119-125.
- Kalechman Y, Gafter U, Weinstein T, Chagnac A, Freidkin I, Tobar A, Albeck M, Sredni B. Inhibition of interleukin-10 by the immunomodulator AS101 reduces mesangial cell proliferation in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis: association with dephosphorylation of STAT3. *J Biol Chem* 2004;279:24724-24732.
- Kanski J, Drake J, Aksenova M, Engman L, Butterfield DA. Antioxidant activity of the organotellurium compound 3-[4-(N,Ndimethylamino) benzenetellurenyl]

- propanesulfonic acid against oxidative stress in synaptosomal membrane systems and neuronal cultures. *Brain Res* 2001;911:12-21.
- Makoto E, Harazono A. Toxic effects of butyltin trichloride during early pregnancy in rats. *Toxicol Lett* 2001;125:99-106.
- Matsumoto M, Poncipe C, Ema M. Review of developmental toxicity of nitrophenolic herbicide dinoseb, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol. *Reprod Toxicol* 2008;25:327-334.
- Meotti FC, Borges VC, Zeni JBT, Nogueira CW. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen for rats and mice. *Toxicol Lett* 2003;143:9-16.
- Levario-Carrillo M, Olave MA, Corral DC, Alderete JG, Gagiotti S, Bevilacqua E. Placental morphology of rats prenatally exposed to methyl parathion. *Exp Toxic Pathol* 2004;55:489-496.
- Luchese C, Zeni G, Rocha JBT, Nogueira CW, Santos FW. Cadmium inhibits δ -aminolevulinic acid dehydratase from rat lung in vitro: Interaction with chelating and antioxidant agents. *Chem Biol Interact* 2007;165:127-137.
- Marques NFQ, Marques APBM, Iwano AL, Golin M, Carvalho RR, Paumgarten FJR, Dalsenter PR. Delayed ossification in Wistar rats induced by *Morinda citrifolia* L. exposure during pregnancy. *J Ethnopharmacol* 2010;128:85-91.
- Nogueira CW, Borges VC, Zeni G, Rocha JBT. Organochalcogens effects on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity from human erythrocytic cells in vitro. *Toxicology* 2003;191:169-178.
- Nogueira CW, Zeni G, Rocha JBT. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem Rev* 2004;104:6255-6285.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.

- Paisio CE, Agostini E, González PS, Bertuzzi ML. Lethal and teratogenic effects of phenol on *Bufo arenarum* embryos. *J Hazard Mater* 2009;167:64-68.
- Penz J, Gemelli T, Carvalho CAS, Guerra RB, Oliboni L, Salvador M, Dani C, Araújo AS, Funchal C. Effect of 3-butyl-1-phenyl-2-(phenyltelluro)oct-en-1-one on oxidative stress in cerebral cortex of rats. *Food Chem Toxicol* 2009;47:745-751.
- Persike DS, Cunha RLOR, Juliano L, Silva IR, Rosim FE, Vignoli T, Dona F, Cavalheiro EA, Fernandes MJS. Protective effect of the organotelluroxetane RF-07 in pilocarpine-induced status epilepticus. *Neurobiol Dis* 2008;31:120-126.
- Petragnani N. Tellurium in Organic Synthesis: Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. New York: Academic Press; 1994.
- Roman SS, Nava A, Favero AM, Weis SN, Zeni G, Rocha JBT, Nogueira CW. Diphenyl ditelluride effect on embryo/fetal development in mice: Interspecies differences. *Toxicology* 2007;231:243-249.
- Sailer BL, Liles N, Dickerson S, Sumners S, Chasteen TG. Organotellurium compound toxicity in a promyelocytic cell line compared to non-tellurium-containing organic analog. *Toxicol in Vitro* 2004;18:475-482.
- Sassa S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. *Enzyme* 1982;28:133-145.
- Savegnago L, Borges VC, Alves D, Jesse CR, Rocha JBT, Nogueira CW. Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene. *Life Sci* 2006;79:1546-1552.
- Souza ACG, Luchese C, Neto JSS, Nogueira CW. Antioxidant effect of a novel class of telluroacetilene compounds: Studies in vitro and in vivo. *Life Sci* 2009;84:351-357.
- Sredni B, Xu RH, Albeck M, Gafter U, Gal R, Shani A, Tichler T, Shapira J, Bruderman I, Catane R, Kaufman B, Whisnant JK, Mettinger KL, Kalechman Y. The protective role of

- the immunomodulator AS101 against chemotherapy-induced alopecia studies on human and animal models. *Int J Cancer* 1996;65:97-103.
- Sredni B, Caspi RR, Klein A, Kalechman Y, Danziger Y, Bem Ya'akov M, Tamari T, Shalit F, Albeck M. A new immunomodulating compound (AS 101) with potential therapeutic application. *Nature (Lond.)* 1987;330:173.
- Stangherlin EC, Favero AM, Zeni G, Rocha JBT, Nogueira CW. Teratogenic vulnerability of Wistar rats to diphenyl ditelluride. *Toxicology* 2005;207:231-239.
- Stangherlin EC, Rocha JBT, Nogueira CW. Diphenyl ditelluride impairs short-term memory and alters neurochemical parameters in young rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;91:430-435.
- Staples RE, Schnell VL. Refinements in rapid clearing technique in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technol* 1964;39:61-63.
- Sullivan FM. Impact of the environment on reproduction from conception to parturition. *Environ Health Perspect* 1993;101:13-18.
- Wells PG, Bhuller Y, Chen CS, Jeng W, Kasapinovic S, Kennedy JC, Kim PM, Laposa RR, McCallum GP, Nicol CJ, Parman T, Wiley MJ, Wong AW. Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;207:354-366.
- WHO (World Health Organization). Principles for evaluating health risks to reproduction associated with exposure to chemicals. *Environ Health Criteria* 2001;225.
- Zaken V, Kohen R, Ornoy A. The development of antioxidant defense mechanism in young rat embryos in vivo and in vitro. *Early Pregnancy* 2000;4:110-123.

Tables

Table 1. Maternal effects of pregnant mice exposed to BTMT on GD 8.

Parameters	Control	Experimental
No. of treated dams	7	6
No. of death dams	0	0
No. of aborted dams	0	0
Food consumption (g/kg/day)	6.01 ± 1.05	5.87 ± 1.31
Water consumption (g/kg day)	9.96 ± 0.97	9.29 ± 0.91
Maternal weight (g)		
GD 0	32.46 ± 3.33	36.71 ± 3.45
GD 8 (treatment day)	34.25 ± 3.33	38.85 ± 4.02
GD 12	38.06 ± 2.60	41.13 ± 3.67
GD 18	51.95 ± 7.36	56.0 ± 5.38
Maternal weight gain (g)		
GD 8 - 12	5.26 ± 4.46	4.05 ± 4.05
GD 0 - 18	21.16 ± 5.13	19.78 ± 8.62
Corrected body weight gain (g) ^a	4.01 ± 1.96	4.41 ± 2.33
Corrected body weight (g) ^b	38.85 ± 2.63	42.26 ± 3.87
Ovary (g)	0.013 ± 0.007	0.014 ± 0.004
Gravid uterus weight (g)	16.22 ± 4.13	10.94 ± 3.59*
Organ weight on GD 18 (g)		
Liver (absolute) ^c	2.72 ± 0.40	2.91 ± 0.23
(relative) ^d	6.82 ± 0.70	7.05 ± 0.55
Brain (absolute)	0.39 ± 0.02	0.42 ± 0.03
(relative)	1.01 ± 0.07	1.0 ± 0.09

Data are expressed as mean ± SEM

* Significantly different from the control group at $p < 0.05$.

^a Corrected body weight gain = maternal body weight gain on GD 0–18 minus gravid uterus weight.

^b Corrected body weight = final body weight minus gravid uterus weight.

^c Organ weight (g)

^d Organ weight (g)/body weight corrected

Table 2. Reproductive parameters from dams exposed to BTMT on GD 8.

Parameters	Control	Experimental
No. of pregnant mice	7	6
No. of implantations sites/pregnant dam	12.66 ± 1.96	11.16 ± 2.63
Resorption		
No. of total resorption/pregnant dam	1.16 ± 1.32	3.83 ± 2.13*
No. of early resorption/pregnant dam	0.83 ± 0.98	2.0 ± 2.30
No. of late resorption/pregnant dam	0.33 ± 0.51	1.50 ± 1.04*
No. of live fetuses/pregnant dam	10.66 ± 2.25	6.80 ± 1.92*
No. of dead fetuses/pregnant dam	0	0.14 ± 0.37
Prenatal loss ^a	10.11 ± 9.75	35.95 ± 14.70*
Viability index ^b	89.88 ± 9.76	62.89 ± 12.99*
Fetal body weight (g)	1.10 ± 0.14	1.03 ± 0.11
Placental weight (g)	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.01
Placental index ^c	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.02

Data are expressed as mean±SEM

^a Prenatal loss (per implantation sites/litter) is presented as percent of non-live implantation sites per litter.

^b Viability index (Number of live fetuses/number of fetuses)×100.

^c Placental index (Weight placental/weight fetuses)

Table 3. Incidences of skeletal anomalies in fetuses of dams exposed to BTMT on GD 8.

Parameters	Control	Experimental
Total fetuses (litter) examined Skeletal alterations ^a	12 (7)	11 (6)
Skull		
Frontal		
Incomplete ossification	0 (0)	18 (33)
Parietal		
Incomplete ossification	25 (43)	0 (0)
Interparietal		
Incomplete ossification	33 (43)	18 (33)
Supraoccipital		
Incomplete ossification	42 (57)	36 (67)
Bipartite	8 (14)	64* (83)
Zygomaticum		
Bipartido	25 (28)	45 (50)
Cervical vertebrae		
Incomplete ossification	17 (14)	0 (0)
Thoracic vertebrae		
Incomplete ossification	0 (0)	10 (17)
Sternebrae		
Incomplete ossification	50 (71)	64 (83)
Misshapened	0 (0)	27 (33)
Bipartite	25 (43)	10 (17)
Absent	17 (28)	10 (17)
Ribs		
Incomplete ossification	17 (28)	36 (33)
Short supernumerary ^b		
Bilateral	8 (14)	10 (17)
Unilateral	0 (0)	9.09 (16.6)
Forepaw		
Inc. oss. of metacarpal bones	25 (42.8)	27.2 (50)
Digits incompletely ossified	25 (43)	36 (67)
Hindpaw		
Inc. oss. of metacarpal bones	25 (43)	36 (50)
Digits incompletely ossified	17 (28)	45 (67)
Caudal bones		
Incomplete ossification	33 (43)	18 (33)

Incpl. oss. = bone incompletely ossified.

^aData are presented as percent of examined fetuses and, between parentheses, as percent of evaluated litters.

* $p < 0.05$ when compared to the control group by the Chi-square test.

Table 4. Effect of BTMT on biochemical parameters in liver and brain of dams and fetuses, and placenta of dams on GD 8.

Parameters Groups/	ALA-D ^a		TBARS ^b		Ascorbic acid ^c		GST ^d		CAT ^e		
	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	
Liver	Dam	36.7 ± 12.0	32.4 ± 13.2	30.7 ± 6.7	28.3 ± 4.8	298.6 ± 74.5	329.4 ± 65.2	301.4 ± 59.6	297.2 ± 102.1	53.8 ± 18.5	51.7 ± 27.5
	Fetus	29.5 ± 10.0	30.9 ± 9.8	43.9 ± 15.5	44.8 ± 12.1	317.5 ± 56.8	335.2 ± 96.7	134.7 ± 23.5	124.5 ± 35.1	29.2 ± 10.7	23.8 ± 11.7
Brain	Dam	3.7 ± 1.0	4.9 ± 1.9	33.2 ± 9.0	28.6 ± 9.3	417.9 ± 62.6	404.5 ± 56.9	326.2 ± 142.0	387.4 ± 219.0	32.8 ± 15.5	36.5 ± 15.8
	Fetus	6.1 ± 2.4	5.9 ± 2.2	41.6 ± 18.5	50.5 ± 16.6	511.7 ± 109.2	478.9 ± 97.6	201.4 ± 104.1	189.1 ± 82.0	46.0 ± 24.3	47.7 ± 23.3
Placenta		12.5 ± 3.6	14.0 ± 5.5	33.5 ± 7.6	36.0 ± 5.0	254.5 ± 65.3	248.1 ± 45.9	84.2 ± 48.7	87.6 ± 80.7	13.2 ± 9.7	23.4 ± 15.2

Data are expressed as mean±SEM. of 6 - 7 animals per group (one-way ANOVA/Duncan) and expressed as ^a(nmol PBG/mg protein/h); ^b(nmol MDA/mg protein); ^c(µg ascorbic acid/g tissue); ^d(nmol/min mg protein); ^e(U/mg protein).

Figures**Figure 1**

Figure 1. Chemical structure of 1-butyllurenyl-2-methyl thioheptene (BTMT).

Figure 2

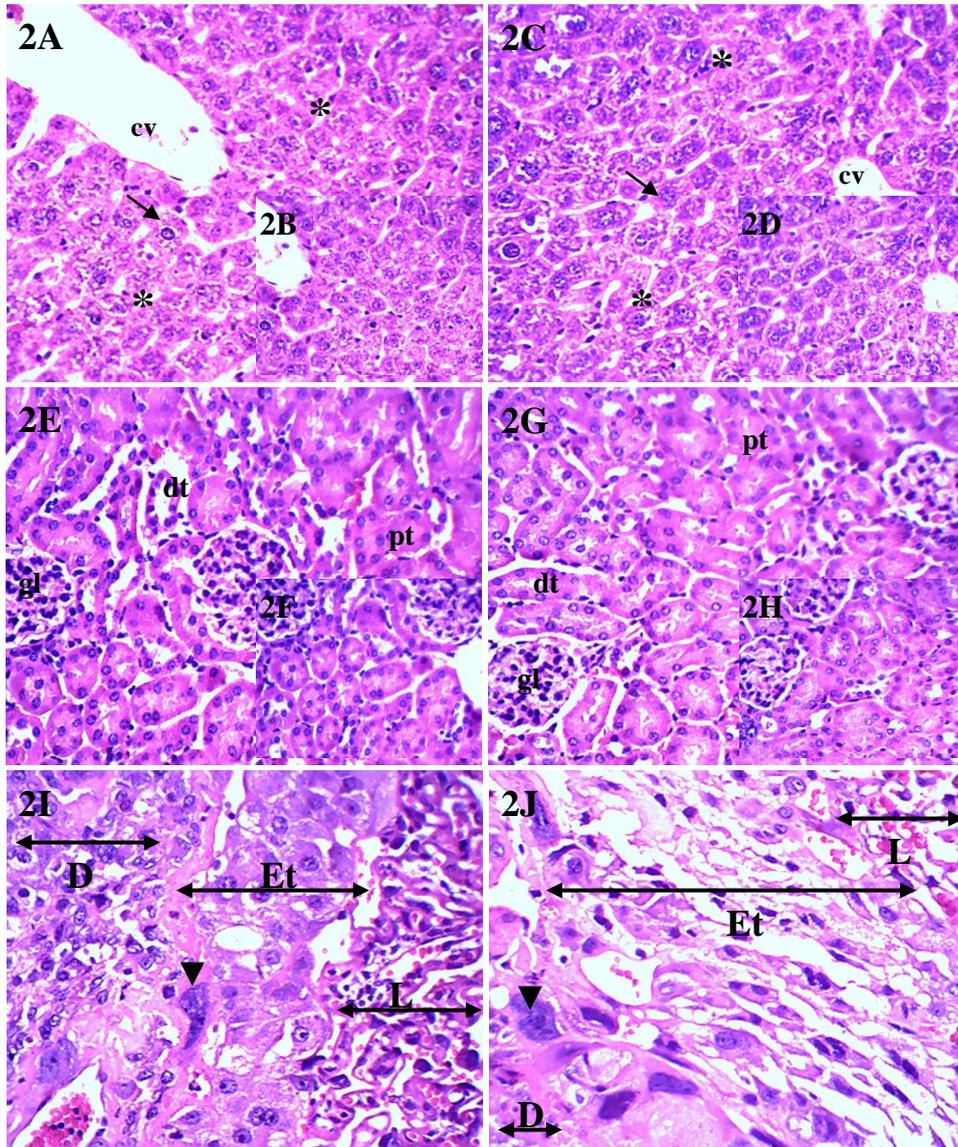


Figure 2. Photomicrography of the maternal organ segments with a detail on the right of (A,B) liver of control animal and (C,D) exposed to BTMT; (E,F) kidney of control animal and (G,H) BTMT exposed-animal; (I) placenta of control animal and (J) exposure to BTMT. Centrilobular veins (cv); Hepatocyte strings (arrow); Sinusoid capillaries (*); Glomerulus (gl); Distal (dt) and proximal (pt) tubules; Decidua (d); Trophoblast giant cells (arrowhead); spongiotrophoblast (Et); Labyrinth (L). H&E. x250 and x400, respectively.

4.3 Manuscrito 2

Toxicidade desenvolvimental e materna do 2-feniletinil-butil telúrio em camundongos

MATERNAL AND DEVELOPMENTAL TOXICITY OF 2-PHENYLETHYNYL-BUTYL
TELLURIUM IN MICE

Silvane Souza Roman; Assis Ecker; Ethel Antunes Wilhelm;
Cristina Wayne Nogueira

Submetido a Reproductive Toxicology

Maternal and Developmental Toxicity of 2-Phenylethynyl-butyl tellurium in Mice

Silvane Souza Roman^{a,b}; Assis Ecker^b; Ethel Antunes Wilhelm^a;
Cristina Wayne Nogueira^a

^aDepartamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, RS, CEP 97105-900, Santa Maria, Brazil

^bDepartamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, RS, CEP 99700-000 Erechim, Brazil

Correspondence should be sent to:

Cristina Wayne Nogueira

Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

Phone: 55-55 3220-8140

FAX: 55-55-3220-8978

E-mail: criswn@quimica.ufsm.br (Nogueira CW)

Abstract

Organotellurium compounds have been reported as dual compounds acting as pharmacological and toxic agents. The present study investigated the potential maternal and developmental toxicity of 2-phenylethynyl-butyl tellurium (PEB) in mice. Pregnant adult mice were exposed to a single oral dose of PEB (10 mg/kg) or vehicle at 4, 8 or 14 days of gestation (GD). Following euthanasia (GD18), reproductive outcomes and teratogenesis were assessed. No sign of sickness or abnormal behavior was observed in PEB exposed mice. The body weight gain and corrected body weight gain of PEB exposed groups at different periods of pregnancy were similar to those of the control group. Exposure to PEB did not affect intrauterine growth or embryonic development, but increased prenatal loss at GD14 and developmental variations at GD4 and GD8. In conclusion, a single acute oral exposure of 10 mg/kg of PEB, at GD14 affect the reproductive success in the absence of maternal toxicity in mice.

Keywords: toxicity; tellurium; telluroacetylene; developmental; maternal; mice.

1. Introduction

In recent years, reproductive and developmental toxicity has increasingly become recognized as an important part of overall toxicology. The possibility of chemicals entering biological systems during the critical periods of embryonic and fetal development, which span the implantation, organogenesis and fetal periods, is of great concern with regard to possible reproductive and developmental toxicity [1]. Thus, exposure of the embryo to a chemical could alter the development of discrete cell populations (target cells) and result in morphological, biochemical or physiological changes occurring after birth [2, 3].

Tellurium has been described as an element that crosses the placental barrier [4] then the transfer and compartmentalization of the chemical from mother to fetus through the placenta is an important factor by free drug characteristics and placental properties [5, 6]. In this context, organotellurium compounds could be able to transmigrate through the placenta. On the one hand, a single subcutaneous injection of diphenyl ditelluride caused fetus abnormality in rats [7] and affected some fetal endpoints in mice [8]. Diphenyl ditelluride was also reported to cause neurobehavioral alterations [9] and neurotoxicity to rodents [10]. On the other hand, organotellurium compounds have been reported as pharmacological agents [11, 12, 13]. Some researchers have reported that organotellurides are proficient antitumoral drugs and their chemoprotective effects are related to their cytotoxicity [14, 15].

Vinyl tellurides have been described as pharmacological agents showing antidepressant-like [16] and antioxidant properties [17]. Furthermore, telluroacetylenes are also antioxidant agents in brains of mice [18].

Considering the dual effects of organotellurium compounds, this study investigated the maternal and developmental toxicity of a single oral dose of 2-phenylethynyl-butyl tellurium (PEB), a telluroacetylene compound, at specific days of gestation in mice.

2. Materials and methods

2.1. Materials

2-Phenylethynyl-butyl tellurium (PEB) (Figure 1) was prepared according to the literature method [19]. Analyses of the ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra showed that PEB synthesized exhibited analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structures. The chemical purity of PEB (99.9%) was determined by Gas Chromatography (GC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). All other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers. PEB solution was freshly made to carry out the experiments.

<Figure 1>

2.2. Animals

Female adult Swiss mice (25 - 35 g) from our own breeding colony were used. Animals were maintained on a 12-h light/dark cycle, in an air-conditioned room (22-24 °C), with free access to water and food (CR1 Nuvilab, Nuvilab Ltda., Curitiba, PR, Brazil). All procedures were approved by the Local Ethics Committee (CEP. 048/PGA/08). Animals were used according to the guidelines of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim, Brazil.

2.3. Dose and maternal toxicity

The dose of 10 mg/kg of PEB was chosen based on a preliminary study. In this study, female mice were orally exposed to a single dose (10 or 20 mg/kg) of PEB. After 72 h, the

dose of 20 mg/kg of PEB caused mortality in 50 % of animals. By contrast, exposure to PEB at the dose of 10 mg/kg did not cause any sign of general toxicity or death.

Thirty-six virgin female mice in the proestrous and estrous phases of the cycle were mated overnight with male mice previously determined to be fertile (2:1). Gestation day (GD) 0 was considered when *vaginal plug* (solidification of sperm in the vagina was detected). Dams recognized as pregnant were separated from male and housed individually in standard polypropylene plastic cages (41x34x18cm). Dams were divided into control and exposed-PEB groups. Each group were subdivided according to gestational period studied (GD4, GD8 and GD14). Dams were exposed to a single oral dose (p.o) of PEB (10 mg/kg) or vehicle (10 ml/kg, canola oil). For the purposes of these studies, the GD18 period was divided into three periods according to the developmental stages in mice: the first period was from GD1-GD4 considered to correspond to pre implantation period, the second period was from GD5-GD13, the organogenetic period, which is considerable the period more susceptible to the embryotoxicity and the third period was from GD14-GD18 [20]. After the PEB administration, animals were daily examined for obvious signs of toxicity. The food consumption, water ingestion and maternal body weight were verified daily up to GD18. Due to ethical reasons, the number of animals was minimized.

At GD 18, dams of different groups were killed by CO₂ chamber and the ovaries and uteri were removed by cesarean section. Maternal spleen, brain, liver, kidney and placenta were removed and weighed wet. Portions of maternal tissues were fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned at 4 µm and stained by hematoxylin and eosin technique for histological analysis in optical microscopy.

2.4. Reproductive toxicity

The uterine horns were removed by cesarean section and the number of implantation sites as well as resorptions, dead and live fetuses were recorded. Fetuses and their respective placenta were weighed. These data were used in the calculation of litter weight, placental litter weight as well as the placental and viability index. Pre- and postimplantation loss was calculated. Fetuses were examined under magnification for gross external malformation. The viability of fetuses was determined by the presence of spontaneous breathing or responses to tactile stimulation. Findings were classified as anomalies, according to currently used nomenclature [21]. Fetal internal skeletal anomalies were examined after collecting each litter. Three live fetuses from each litter were preserved in 70% ethanol and stained with Alizarin Red S by the technique described by Staples and Schnell [22]. The degree of fetal bone development was evaluated by counting the ossification centers in some fetal bones (skull bone, vertebrae, phalanges of the fore limbs, metacarpus, metatarsus, sternebrae, ribs and caudal vertebrae).

2.5. Statistical analysis

The litter was used as the experimental unit. Statistical significance was assessed by analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's test for paired comparisons between groups, when appropriate. Statistical analysis of incidence data (percentage of examined fetuses and percentage of evaluated litters with skeletal anomalies) was used to Fisher's Exact test for 2×2 tables. A value of $p < 0.05$ was considered to be significant.

3. Results

3.1. Maternal toxicity

Maternal findings for pregnant dam orally exposed to PEB at the dose of 10 mg/kg at GD4, GD8 and GD14 are presented in Table 1. No sign of sickness or abnormal behavior was observed in pregnant dam. None of the females aborted, delivered prematurely or died during the experiment. Maternal food and fluid intake was increased in dams exposed to PEB at GD4 and GD8, but not at GD14, when compared to the control group. The body weight gain and corrected body weight gain in animals exposed to PEB in different periods of pregnancy were similar to those of the control group (Table 1).

Absolute and relative maternal organ weights (liver, kidneys, brain and spleen) were similar between exposed groups and control group (Table 1). There was neither macroscopic alteration nor histological change in the maternal tissues of exposed groups (data not shown).

<Table 1>

3.2 Reproductive toxicity

Fetuses of exposed dams at GD4, GD8 or GD14 did not show externally visible abnormalities. The number of prenatal loss was significantly increased in dams exposed to PEB at GD14. The number of implantation sites, the number of live and dead fetuses, the placental weight and the placental index were similar in exposed and control groups (Table 2). There was no effect of PEB exposure on the weight of fetus, the number of resorptions and postimplantation loss (Table 2).

As shown in Table 3, the incidence of fetal skeleton alterations per litter was slightly altered by PEB exposure at GD4 and GD8, but not at GD14.

Exposure to PEB at GD4 increased the prevalence of incomplete ossification in the frontal and interparietal bones, misslined sternebrae, digits and calcanhar incompletely ossified of the hindpaw of fetuses when compared to those of the control group. Poor

ossification in the caudal bones was observed in fetuses from dams exposed to PEB at GD4 and GD8 (Table 3). Furthermore, skeletal alterations were sporadically found in the fetuses of mice exposed to PEB GD4-GD14, such as incomplete ossification of the parietal, interparietal, supraoccipital, sternebrae and caudal bones, bipartite supraoccipital and sternebrae, misslined sternebrae, digits incompletely ossified of the hindpaw and forepaw (Table 3). Skeletal alterations similar to those above described were found in the control group; therefore, they were considered spontaneous alterations.

<Table 2>

<Table 3>

4. Discussion

The present study investigated the potential maternal and developmental hazards of a single oral dose of 10 mg/kg of PEB to mice administered at GD 4, 8 or 14. The results indicated that PEB exposure at different developmental stages did not induce significant maternal and developmental toxicity.

To evaluate prenatal toxicity induced by a chemical agent, many factors must be considered, such as the period of pregnancy, the time of exposure and the dose administered, among others [23]. The gestation period is one of stages more sensitive of reproductive cycle and results in important responses. Today, it is known that in this period, most of the agents through placenta easily and thus, it can be considered that maternal exposure to external agents, can result in significant effects on embryo-fetal organism [20, 24]. In this sense, signs of maternal toxicity usually observed in developmental toxicity studies are a decrease in the weight gain, a decrease in food and water consumption, clinical signs, organ toxicity and mortality [25, 26, 27, 28]. Considering the parameters of toxicity and histopathological data, our results showed that exposure to PEB at GD4, GD8 or GD14 was not toxic to the dams. A slight increase in water and food consumption during exposure to PEB at GD4 and GD8 was

only observed during the beginning of the experiment, but this increase was temporary and decreased at the end of the exposure, which may represent the animal's attempt to balance their metabolic needs.

A failure in the embryo implantation can be related to the maternal exposure to chemical agents that can interfere with this event by different mechanisms that include morphological alterations in the embryo which interfere with the implantation or promote embryolethality [29]. However, little effects were observed in maternal performance at the end of pregnancy. In fact, there was no significant increase in the number of implantation sites, total resorptions as well as dead and live fetuses, indicating that PEB did not affect embryonic/fetal survival when administered at GD4, GD8 or GD14. In contrast, the presence of resorption indicates a failure in embryonic development. Although we found an increase in early resorptions which appeared in this protocol experimental before PEB exposure, the prenatal loss in PEB-exposed group at GD14 should be considered a failure in embryonic development caused by PEB. This argument is supported by the fact that the prenatal loss index, the correlation between the number of resorbed and dead embryos with those implanted in the uterus, evidently, the number of fetuses whose development was interrupted [29]. Therefore, it is possible to assume that PEB to induce intrauterine imbalance in mice.

In this study, it was evidenced that PEB, a telluroacetylene compound, produced discrete skeletal alterations in the embryonic development in specific days of gestation in the absence of maternal toxicity. Evidence of slight alterations were found in fetal skeletal in exposed groups at GD4 and GD8, therefore, these alterations could be considered variations because they not adverse survival. Variations are changes that occur within the normal population under investigation and are unlikely to adversely affect survival or health [21]. Furthermore, the incidence of variations in this study was seen per litter, and in this case, the incidence of litters with these alterations should be considered. Some authors counter

argument the idea that an increase in the occurrence of variations, even not being an adverse effect, means that the chemical agent has the potential to perturb skeleton development [30]. According to Manson and Kang [28], agents capable of causing malformations are considered teratogenic, whereas agents causing variations are considered embryotoxic.

Therefore, we assume that skeletal alterations found in our study are only variations in the absence of fetal growth retardation. In addition, Chahoud and Paumgartten [30] have reported that some skeleton observations as delayed ossification are believed to be transient changes of minor impact on survival or health. In agreement with Fritz and Hess [31], a reduced rate of ossification at a given time of development which is never less within the normal range, may be indicative of a nonspecific retardation of fetal maturation. In the present study, the fetal body weight was similar to the control group, implying that the PEB exposure at GD4, GD8 or GD14 did not affect intrauterine growth. In fact, the fetal body weight is an additional parameter to evaluate fetal development delay [32].

Taken together these results, the alterations found after PEB exposure at GD4 and GD8 could be classified as variations and not as malformations or intrauterine growth retardation. Moreover, if the damage caused by a teratogen is very severe, the pregnancy may end in a spontaneous abortion or fetal death [33]. A variation, therefore, should be considered in risk assessment, unless evidence exists that it does not have a detrimental effect on survival or health after birth.

5. Conclusion

The present study showed that a single acute oral exposure of 10 mg/kg of PEB, at GD 14 induce to failure in embryonic development in the absence of maternal toxicity in mice. To better understand the developmental effects of PEB, additional studies should be carried out to investigate the occurrence of malformations and the possible effects of this compound on survival health after birth.

Declarations**Conflict of interest**

The Author(s) declare(s) that they have no conflicts of interest to disclose.

Funding

This study was supported in part by the FINEP research grant “Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net)” # 01.06.0842-00 and by grants from the Brazilian National Research Council CNPq and CAPES. The financial support from UFSM and FAPERGS is also gratefully acknowledged.

References

- [1] Ema M, Naya M, Yoshida K, Nagaosa R. Reproductive and developmental toxicity of degradation products of refrigerants in experimental animals. Review. *Reprod Toxicol* 2010;29:1-9.
- [2] Kalter H. The natural elimination of sporadically malformed mouse embryos. *Teratology* 1980;22:201-05.
- [3] Skalko RG. Reproductive and Developmental Toxicity of the Components of Gasoline. *Environ Health Perspect Suppl* 1993;101:143-49.
- [4] Duckett S, Ellem KAO. Localization of tellurium in fetal tissues, particularly brain. *Exp Neurol* 1971;32:49-57.
- [5] Donnelly L, Campling G. Functions of the placenta. *Anaesth Intensive Care Med* 2008;9:124-27.
- [6] Mirkin BL. Maternal and fetal distribution of drugs in pregnancy. *Clin Pharmacol Ther* 1973;14:643-47.
- [7] Stangherlin EC, Favero AM, Zeni G, Rocha JBT, Nogueira CW. Teratogenic vulnerability of Wistar rats to diphenyl ditelluride. *Toxicology* 2005;207:231-39.
- [8] Roman SS, Nava A, Favero AM, Weis SN, Zeni G, Rocha JBT, Nogueira CW. Diphenyl ditelluride effect on embryo/fetal development in mice: Interspecies differences. *Toxicology* 2007;231:243-49.
- [9] Stangherlin EC, Favero AM, Zeni G, Rocha J.B.T, Nogueira CW. Exposure of mothers to diphenyl ditelluride during the suckling period changes behavioral tendencies in their offspring. *Brain Res Bull* 2006;69:311-17.
- [10] Stangherlin EC, Rocha JBT, Nogueira CW. Diphenyl ditelluride impairs short-term memory and alters neurochemical parameters in young rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;91:430-35.
- [11] Mao SZ, Dong ZY, Liu JQ, Li XQ, Liu XM, Luo GM, Shen JC. Semisynthetic tellurosubtilisin with glutathione peroxidase activity. *J Am Chem Soc* 2005;127:11588-89.
- [12] Jacob C, Arteel GE, Kanda T, Engman L, Sies H. Water soluble organotellurium compounds: catalytic protection against peroxy nitrite and release of zinc from metallothionein. *Chem Res Toxicol*. 2000;13:3-9.
- [13] Ávila DS, Gubert P, Palma A, Colle D, Alves D, Nogueira CW, Rocha JBT, Soares FAA. An organotellurium compound with antioxidant activity against excitotoxic agents without neurotoxic effects in brain of rats. *Brain Res Bull* 2008;76:114-23.
- [14] Engman L, Kandra T, Gallegos A, Williams R, Powis G. Water-soluble organotellurium compounds inhibit thioredoxin reductase and the growth of human cancer cells. *Anticancer Drug Des* 2000;15:323-30.

- [15] Cunha LOR, Urano ME, Chagas JR, Almeida PC, Bincoletto C, Tersariol ILS, Comasseto JV. Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. *Bioorg Med Chem Lett* 2005;15:755-60.
- [16] Okoronkwo AE, Godoi B, Schumacher RF, Neto JSS, Luchese C, Prigol M, Nogueira CW, Zeni G. Csp3-tellurium copper cross-coupling: synthesis of alkynyl tellurides a novel class of antidepressive-like compounds. *Tetrahedron Lett* 2009;50:909-15.
- [17] Savegnago L, Borges VC, Alves D, Jesse CR, Rocha JBT, Nogueira CW. Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1-buthyltelurenyl-2-methylthioheptene. *Life Sci* 2006;79:1546-52.
- [18] Souza ACG, Luchese C, Neto JSS, Nogueira CW. Antioxidant effect of a novel class of telluroacetilene compounds: Studies in vitro and in vivo. *Life Sci* 2009;84:351-57.
- [19] Comasseto JV, Menezes PH, Stefani HA, Zeni G, Braga AL. Addition of hydrogen halides to acetylenic selenides. Synthesis of 1-halo-1-selenoalkenes. *Tetrahedron* 1996;52:9687-702.
- [20] Lemônica IP, Damasceno DC, Di-Stasi LC. Study of the embryotoxic effects of an extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Braz J Med Biol Res* 1996;29:223-27.
- [21] Chahoud I, Buschmann J, Clark R, Druga A, Falke H, Faqi A, Hansen E, Heinrich-Hirsch B, Hellwig J, Lingk W, Arkinson M, Paumgarten FJR, Pfeil R, Platzek T, Scialli AR, Seed J, Stahlmann R, Ulbrich B, Wu X, Yasuda M, Younes M, Solecki R. Classification terms in developmental toxicology: need for harmonization. *Reprod Toxicol* 1999;13:77-82.
- [22] Staples RE, Schnell VL. Refinements in rapid clearing technique in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technol* 1964;39:61-3.
- [23] Almeida FCG, Lemonica IP. The toxic effects of *Coleus barbatus* B. on the different periods of pregnancy in rats. *J Ethnopharmacol* 2000;73:53-60.
- [24] Beyer BK, Kim JH. Maternal toxicity and its impact on study design and data Interpretation. *Reprod Toxicol* 2009;28:139-40.
- [25] Khera KS. Maternal toxicity: a possible factor in fetal malformations in mice. *Teratology* 1984;29:411-16.
- [26] Khera KS. Maternal toxicity of drugs and metabolic disorders: a possible etiologic factor in the intrauterine death and congenital malformations: a critique on human data. *Crit Rev Toxicol* 1987;17:345-75.
- [27] Grance SRM, Teixeira MA, Leite RS, Guimarães EB, Siqueira JM, Filii WFO, Vasconcelos SBS, Vieira MC. *Baccharis trimera*: Effect on hematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. *J Ethnopharmacol* 2008;117:28-33.

- [28] Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Hayes AW, editor. Principles and methods of toxicology, New York: Raven Press; 1994, p. 989-1037.
- [29] Cummings AM. Toxicological mechanisms of implantation failure. *Fundamental App Toxicol* 1990;15:571-79.
- [30] Chahoud I, Paumgarten FJR. Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: Relevance for risk assessment. *Environ Res* 2009;109:922-29.
- [31] Fritz H, Hess R. Ossification of the rat and mouse skeleton in the perinatal period. *Teratology* 2005;3:331-37.
- [32] Aliverti V, Bonanomi L, Giavini E, Leone VG, Mariani L. The extent of fetal ossification as an index of delayed development in teratogenic studies on the rat. *Teratology* 1979;20:237-42.
- [33] Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: How much are we endangering the embryo and fetus? *Reprod Toxicol* 2009;28:1-10.

Tables

Table 1. Maternal toxicity of pregnant mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy

Parameters	Control	PEB (10 mg/Kg)		
		GD4	GD8	GD14
No. of treated dams	7	11	9	9
No. of death dams	0	0	0	0
No. of aborted dams	0	0	0	0
Food consumption (g/kg)				
GD 0 - 8	53.58 ± 27.78	74.15 ± 16.76 ^{*a}	81.50 ± 13.04 ^{*a}	46.51 ± 11.28
GD 8 - 12	23.40 ± 6.04	23.76 ± 6.24	22.99 ± 3.89	25.38 ± 5.76
GD 12 - 18	42.64 ± 16.45	33.95 ± 9.43	36.31 ± 3.32	41.50 ± 7.61
GD 0 - 18	142.65 ± 64.26	102.36 ± 10.25	136.94 ± 16.31	163.83 ± 63.71
Water consumption (g/kg)				
GD 0 - 8	68.73 ± 19.72	92.32 ± 16.76 ^{*a}	92.73 ± 15.37 ^{*a}	59.24 ± 32.0
GD 8 - 12	33.25 ± 13.62	27.75 ± 7.46	30.49 ± 5.05	41.48 ± 16.41
GD 12 - 18	68.52 ± 22.58	53.13 ± 13.40	67.67 ± 17.73	74.09 ± 15.0
GD 0 - 18	129.10 ± 22.61	137.60 ± 16.77	115.90 ± 14.20	135.81 ± 29.26
Maternal weight (g)				
GD 0	25.13 ± 2.72	26.69 ± 1.80	26.41 ± 4.39	25.59 ± 3.88
GD 18	44.24 ± 4.80	43.46 ± 5.43	43.99 ± 4.30	43.53 ± 9.38
Maternal weight gain (g)				
GD 0 - 8	2.85 ± 0.88	2.03 ± 1.21	2.37 ± 1.17	2.57 ± 1.35
GD 8 - 12	4.47 ± 1.19	4.95 ± 2.12	3.91 ± 1.42	3.99 ± 1.73
GD 12 - 18	11.76 ± 3.18	10.10 ± 4.02	12.24 ± 1.97	10.55 ± 4.54
GD 0 - 18	19.10 ± 2.99	16.77 ± 5.80	17.81 ± 2.37	17.94 ± 6.14
GD 0 - 18 (minus uterus weight)	7.16 ± 1.73	7.01 ± 4.71	6.26 ± 1.48	4.89 ± 3.21
Corrected body weight (g) ^b	32.30 ± 2.27	33.70 ± 3.10	31.29 ± 5.31	31.06 ± 2.36
Ovary (g)	0.03 ± 0.006	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.003	0.03 ± 0.03
Gravid uterus weight (g)	11.93 ± 3.60	9.75 ± 5.44	12.58 ± 2.26	13.04 ± 7.43
Organ weight on GD 18 (g)				
Liver (absolute) ^c	2.39 ± 0.21	2.35 ± 0.29	2.34 ± 0.22	2.15 ± 0.34
(relative) ^d	7.44 ± 0.89	6.98 ± 0.65	7.94 ± 2.68	7.27 ± 1.27
Brain	0.36 ± 0.02	0.30 ± 0.11	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.06
(relative)	1.13 ± 0.13	0.91 ± 0.33	1.22 ± 0.47	1.25 ± 0.26
Kidney	0.43 ± 0.09	0.44 ± 0.06	0.41 ± 0.05	0.39 ± 0.07
(relative)	1.33 ± 0.24	1.31 ± 0.11	1.44 ± 0.55	1.30 ± 0.15
Spleen	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.03
(relative)	0.38 ± 0.09	0.42 ± 0.10	0.39 ± 0.12	0.40 ± 0.10

Data are expressed as mean ± SEM

* Significantly different from the control group at $p < 0.05$.

^a Significantly different from the GD 14 group at $p < 0.05$.

^b Corrected body weight = final body weight minus gravid uterus weight

^c Organ weight (g)

^d Organ weight (g)/body weight

Table 2- Reproductive and developmental toxicity in pregnant mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy

Parameters	Control	PEB (10 mg/Kg)		
		GD4	GD8	GD14
No. of pregnant mice	7	11	9	9
No. of implantations sites/pregnant dam	8.57 ± 2.93	7.54 ± 4.54	9.58 ± 1.58	8.88 ± 4.75
No. of resorption/pregnant dam				
Early resorption	0.85 ± 1.46	1.0 ± 1.18	1.23 ± 2.05	1.22 ± 1.09
Late resorption	0	0	0.16 ± 0.40	0
Total resorption	0.85 ± 1.46	1.0 ± 1.18	1.29 ± 1.75	1.22 ± 1.09
No. of live fetuses/pregnant dam	7.71 ± 2.42	6.90 ± 4.20	8.80 ± 1.32	7.44 ± 4.61
No. of dead fetuses/pregnant dam	0	0	0.11 ± 0.33	0.22 ± 0.44
Prenatal loss ^a	1.09 ± 2.90	5.44 ± 8.61	1.37 ± 1.75	17.64 ± 24.99*
Postimplantation loss	7.88 ± 13.35	13.38 ± 18.55	6.22 ± 18.67	22.44 ± 22.80
Viability index ^b	93.21 ± 13.68	88.73 ± 13.45	93.43 ± 2.51	88.84 ± 17.05
Fetal body weight (g)	1.22 ± 0.24	1.09 ± 0.37	1.12 ± 0.14	1.41 ± 0.29
Placental weight (g)	0.11 ± 0.06	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.02
Placental index ^c	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.05	0.09 ± 0.008	0.08 ± 0.01

Data are expressed as mean±SEM

* $p < 0.05$ when compared to the control and GD 8 groups

^aPrenatal loss (per implantation sites/litter) is presented as percent of non-live implantation sites per litter.

^bViability index (Number of live fetuses/number of fetuses)×100.

^cPlacental index (Weight placental/weight fetuses)

Table 3. Skeletal anomalies in fetuses of mice exposed to a single oral dose of PEB at days 4, 8 or 14 of pregnancy

Parameters	Control	PEB (10 mg/Kg)		
		GD4	GD8	GD14
Total fetuses (litter) examined	12 (6)	12 (6)	19(9)	18 (9)
Skeletal alterations ^a				
Skull				
Frontal				
Incomplete ossification	17 (17)	25 (50)*	0 (0)	6 (11)
Parietal				
Incomplete ossification	17 (33)	25 (50)	16 (11)	6 (11)
Interparietal				
Incomplete ossification	42 (50)	58 (83)*	16 (11)	11 (22)
Supraoccipital				
Incomplete ossification	33 (50)	17 (17)	42 (55)	33 (56)
Bipartite	17 (17)	17 (33)	5 (11)	11 (22)
Squamosal	33 (33)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Absent	0 (0)	17 (33)	0 (0)	0 (0)
Zygomaticum				0 (0)
Incomplete ossification	17 (17)	8 (17)	0 (0)	
Maxilla				0 (0)
Incomplete ossification	17 (17)	8 (17)	0 (0)	0 (0)
Cervical vertebrae				0 (0)
Incomplete ossification	8 (33)	8 (17)	7 (28)	0 (0)
Sternebrae				
Incomplete ossification	25 (50)	0 (0)	47 (89)	0 (0)
Misslined	0 (0)	17* (33)*	5 (11)	11 (11)
Bipartite	17 (17)	17 (33)	17 (21)	5 (11)
Absent	17 (17)	25 (50)	5 (11)	11 (22)
Forepaw				
Inc. Oss. of metacarpal bones	0 (0)	17 (33)	0 (0)	11 (22)
Digits incompletely ossified	17 (17)	17 (33)	7 (5)	11 (22)
Hindpaw				
Inc. Oss. of metacarpal bones	0 (0)	0 (0)	21 (33)	5 (11)
Digits incompletely ossified	17 (17)	25 (50)*	21 (33)	17 (33)
Oss. calcanhar	0 (0)	17* (33)*	0 (0)	0 (0)
Caudal bones				
Incomplete ossification	17 (17)	25 (50)*	25 (47)*	11 (22)

Incl. oss. = bone incompletely ossified

^aData are presented as percent of examined fetuses and, between parentheses, as percent of evaluated litters.

* $p < 0.05$ when compared to the control group by the Chi-square test.

Figures

Figure 1

Figure 1. Chemical structure of 2-Phenylethynyl-butyl tellurium (PEB).

5. DISCUSSÃO

A utilização e os estudos de compostos orgânicos de telúrio pela comunidade científica vem aumentando constantemente. Estes compostos são alternativas promissoras e vantajosas para numerosas operações sintéticas (Petraghani e Comasseto, 1991; Petraghani, 1994; Zeni et al., 2006). Embora exista um crescente uso de compostos orgânicos contendo telúrio nos campos da química e bioquímica, não existem muitos relatos na literatura sobre ensaios de toxicidade reprodutiva para que possam contribuir com os estudos de toxicidade, na escolha de compostos orgânicos de telúrio para testes farmacológicos.

Já está estabelecido que compostos de telúrio atravessam as barreiras hematoencefálicas, placentárias e a endoneural-fluido cérebro espinhal-sangue fetal (Deuticke et al., 1992). Baseado nisso, este trabalho propôs verificar o efeito toxicológico de compostos orgânicos de telúrio, com ênfase sobre o desenvolvimento embrionário e fetal em camundongos.

No primeiro trabalho (**artigo 1**) foi estudado os possíveis efeitos teratogênicos do ditelureto de difenila (PhTe)₂ quando administrado via subcutânea (s.c.), em dias específicos do desenvolvimento durante a gestação em camundongos Swiss. A partir dos dados obtidos experimentalmente foi visto que o ditelureto de difenila (PhTe)₂, um composto orgânico de telúrio amplamente estudado em nosso laboratório, induziu a efeitos adversos em mães e fetos de camundongos, porém essa toxicidade foi menos acentuada se comparada aos efeitos teratogênicos em fetos e a toxicidade materna do (PhTe)₂ causados em ratos (Stangherlin et al., 2005). De fato, neste estudo foi estabelecido que uma única injeção subcutânea de 0,12 mg/kg (PhTe)₂ (1/3 DL₅₀) reduziu o tamanho e o peso fetal e induziu a várias anormalidades morfológicas em fetos de ratos, quando administrada no 10º e 17º dia de gestação, constatando portanto, o período fetal do desenvolvimento pré-natal exclusivamente sensível à exposição de telúrio orgânico (Stangherlin et al., 2005). Em camundongos, a DL₅₀ (via s.c) foi maior que 200 mg/kg, enquanto que em ratos, foi de 0,36 mg/kg. Baseado nisso, os dados de desenvolvimento obtidos no **artigo 1** utilizando a dose de 60 mg/kg de (PhTe)₂ (500 vezes a dose utilizada em ratos) reforçam que os camundongos foram mais resistentes à toxicidade do (PhTe)₂ quando comparados aos ratos pelo fato de afetar apenas alguns parâmetros maternos e fetais no início e no final da gestação e na ausência da toxicidade materna, não sendo portanto um efeito secundário mediado maternalmente causado pelo (PhTe)₂. Quanto à teratogênese, considera-se que os camundongos são menos suscetíveis à teratogenicidade do (PhTe)₂ que os ratos em termos de malformação grave. Isto é porque o (PhTe)₂ causou malformações fetais

grosseiras em ratos, mas não em camundongos, mesmo em dose embriofetal e quando administrado em estágios de desenvolvimento comparáveis.

Além de ter sido constatado que este composto orgânico de telúrio induz a efeitos adversos no desenvolvimento embrio-fetal em camundongos, foi visto que a espécie animal é um fator relevante na diferença de toxicidade durante a gestação (**artigo 1**), já comprovado em estudos com compostos organocalcogênicos em ratos e camundongos não prenhes (Meotti et al., 2003). Neste trabalho o $(\text{PhTe})_2$ foi o organocalcogênio mais letal quando administrado pela via s.c (Meotti et al., 2003). Baseado nisso e nas condições de exposição realizada no estudo anterior em ratos (Stangherlin et al., 2005), foi selecionada a rota de administração s.c (**artigo 1**). Além do mais, a principal via de exposição ocupacional ao $(\text{PhTe})_2$ pode ser por meio de absorção cutânea, haja visto que um manejo inadequado dos compostos sólidos em laboratórios de síntese orgânica, pode levar à absorção dérmica de telúrio em humanos.

De fato, os resultados do **artigo 1** apontam diferenças entre espécies quanto ao tipo e severidade da toxicidade induzida por drogas. Diferenças de espécies na toxicidade estão muitas vezes relacionadas à diferença no metabolismo e disposição do composto (Hucker, 1970; Caldwell, 1981; 1982). Se o tempo de exposição é mais crítico para a teratogenicidade do que para embriofetividade na embriotoxicidade do $(\text{PhTe})_2$, é possível que em camundongos a concentração da exposição embrionária para este composto declina drasticamente, de modo que pode ser insuficiente para causar malformação fetal na dose baixa e pode causar morte embrionária para mascarar a teratogenicidade em doses altas. Esta ideia baseia-se no fato de que a dose embriofetiva do $(\text{PhTe})_2$ em camundongos foi extremamente alta quando comparada em ratos, sugerindo a rápida eliminação do composto em camundongos. Porém, se consideramos os achados farmacocinéticos do disseleneto de difenila $(\text{PhSe})_2$, um análogo estrutural do $(\text{PhTe})_2$, essa pressuposição é questionável, pois foi visto que os níveis plasmáticos do $(\text{PhSe})_2$ dissolvido no óleo de canola e, administrado pela via oral, são similares em ratos e camundongos atingindo um pico máximo de 30 minutos após a administração e a rápida queda nos níveis do composto, já que se observou que o $(\text{PhSe})_2$ apresenta-se circulante até 8 horas após sua administração (Prigol et al., 2009). A lipofilicidade desses compostos explicaria a rápida absorção e disponibilidade na corrente sanguínea, e também que os efeitos toxicológicos do $(\text{PhSe})_2$ são dependentes da via de administração, veículo da solução e espécie animal (Prigol et al., 2009).

Mais trabalhos vem sendo desenvolvidos com outras moléculas a fim de demonstrar a diferença de suscetibilidade a teratogenicidade entre ratos e camundongos. Foi visto que ratos

e camundongos são suscetíveis à embriotoxicidade do índio nas mesmas fases de desenvolvimento intra uterino, ou seja, no início do período organogênético. Entretanto, os camundongos são menos suscetíveis à teratogenicidade do índio do que os ratos em termos de malformação grave (Nakajima et al., 2000). Deve-se considerar que diversas alterações fisiológicas que ocorrem na gestante interferem diretamente na farmacocinética das drogas, podendo levar a um aumento na concentração plasmática e efeitos tóxicos desses químicos (Sa Del Fiol et al., 2000).

Dados do nosso laboratório têm demonstrado que, além de teratogênico, o $(\text{PhTe})_2$ em baixas doses induz a alterações neuro-comportamentais em filhotes de ratas Wistar, indiretamente expostos durante o período lactacional (Stangherlin et al., 2006b). Mais tarde foi verificado que a exposição ao $(\text{PhTe})_2$ via leite materno causou uma série de alterações no status oxidativo cerebral dos filhotes e que as estruturas cerebrais mais afetadas foram o hipocampo e o estriado (Stangherlin et al., 2009), sendo provavelmente um dos principais mecanismos envolvidos nas mudanças comportamentais em filhotes de ratas observadas no estudo de Stangherlin et al. (2006a). Sendo assim, as observações desses estudos sugerem que o $(\text{PhTe})_2$ (ou metabólito dele) passa para os fetos (**artigo 1**) e filhotes através do leite materno (Stangherlin et al., 2006b; 2009), provavelmente por esse composto ter uma natureza lipídica.

Os resultados obtidos no **artigo 1** com o $(\text{PhTe})_2$, nos motivou a estudar outros compostos orgânicos de telúrio com perspectivas promissoras, porém com poucos estudos toxicológicos. Como exemplo, pode-se destacar o efeito antioxidante de teluretos e diteluretos orgânicos, os efeitos imunomodulatórios e a diversidade de usos correlacionados a este efeito de uma telurana inorgânica denominada AS-101. Ademais, as aplicações de teluranas orgânicas (organoteluranas) como inibidoras de proteases e as aplicações em modelos de doenças compõem a mais recente contribuição ao cenário dos efeitos e aplicações biológicas do telúrio e seus compostos (Cunha et al., 2009).

Com base em todos os aspectos acima mencionados, o estudo dos efeitos biológicos das diferentes classes de compostos organotelúrio ainda são um ramo aberto de investigação. Desta maneira o **manuscrito 1 e o manuscrito 2**, tratam de compostos estudados em nosso laboratório que apresentaram atividade antioxidante *in vitro* e baixo efeito toxicológico em experimentos *in vivo* e *ex vivo* em roedores (Savegnago et al., 2006; Souza et al., 2009). Nesses **manuscritos** além da análise dos mesmos parâmetros de toxicidade previstos no **artigo 1**, foram avaliados outros parâmetros, tais como bioquímicos e histológicos a fim de

complementar os resultados obtidos com a toxicidade materna e fetal. Para a determinação das doses relatadas nos **manuscritos** foram realizados testes de toxicidade aguda (avaliados em relação à sua toxicidade sistêmica em animais) com doses iniciais baseadas em experimentos anteriores em nosso grupo de pesquisa e com perspectivas farmacológicas. Ressalta-se que para os testes toxicológicos em camundongos prenhes foram identificadas as faixas relativamente alta de doses. De acordo com Miranda et al. (2006), um nível de dose tóxico para o organismo materno, aumenta as chances de trabalhar em faixas de dose capazes de produzir algum tipo de efeito sobre o desenvolvimento embrio-fetal.

Nos resultados preliminares para a escolha das doses utilizada no **manuscrito 1 e 2** foi visto que doses muito próximas por nós utilizadas foram consideradas tóxicas para as mães e embriofetal para a maioria dos fetos, e que os fetos sobreviventes a toxicidade materna não apresentavam teratogenicidade.

A exposição a um agente químico durante a gestação pode ter diferentes efeitos no desenvolvimento pré-natal dependendo da dose administrada, da duração da exposição e do período gestacional, sendo o período da organogênese o mais sensível à ação de agentes externos por ser a fase de formação dos órgãos e tecidos (Sadler, 2005). Conforme mostra os resultados do **manuscrito 1**, uma única exposição a uma dose relativamente alta de 32,8 mg/kg de BTMT em um dos dias do período da organogênese (8º ddg), correspondente ao período mais susceptível a teratogenicidade em camundongos, afetou alguns parâmetros fetais na ausência de toxicidade materna, mas sem alterar os parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo nas mães e fetos, demonstrando ser um composto orgânico de telúrio menos tóxico que os diteluretos.

Em geral, os dados apresentados no **manuscrito 1** confirmam a baixa toxicidade do BTMT nas mães e no desenvolvimento embrionário. Entretanto, a exposição ao BTMT induziu a baixa toxicidade no ambiente uterino em camundongos, e foi embriofetal sem ser teratogênico. Sabe-se que a correlação entre a presença de reabsorções e perdas pós-implantação são indicativos de falhas no processo do desenvolvimento embrionário (Ford, 1982), visto no **manuscrito 1**. Portanto, as alterações nestes parâmetros podem constituir uma ameaça considerável para a gravidez bem sucedida. Esses resultados sugerem que os efeitos embrionário observados, por menores que tenham sido, resultaram da toxicidade do composto e não de intolerância materna, pois existe correlação entre toxicidade materna e toxicidade desenvolvimental (Chahoud et al., 1999). Efeitos embriofetotóxicos, quando na presença de toxicidade materna, são de menor significado, fato que dificulta enormemente a avaliação e o

gerenciamento de risco (Murray et al., 1978), o qual foi desconsiderado em nossos resultados, pois não encontramos indicativos de quaisquer sinais clínicos de toxicidade, tais como: controle do peso corporal, do consumo diário de ração e de água, modificações da deambulação, piloereção, ocorrência de diarreia e morte do animal, além do peso de órgãos materno (Khera, 1984). Entretanto, não observamos diferenças em relação ao peso relativo dos órgãos materno (fígado, rins, baço e placenta), o que confirma que as alterações do peso destes órgãos apenas acompanharam as alterações do peso materno.

Além do mais, os resultados apresentados no **manuscrito 1** confirmam a baixa toxicidade desenvolvimental do BTMT na dose de 32,8 mg/kg, verificado pela baixa incidência de anormalidades esqueléticas nos fetos expostos durante o 8º dia de gestação. Haja vista que em ratos, a administração do (PhTe)₂ no 10º dia de gestação foi teratogênico por induzir hidrocefalia e edemas que foram incompatíveis com a vida (Stangherlin et al., 2005). O estágio do desenvolvimento por volta do 8º dia de gestação em camundongos é considerado por corresponder ao redor do 10º dia de gestação em ratos (Damasceno et al., 2008).

É importante notar que a estrutura é muito diferente da estrutura de diteluretos e teluretos já estudadas e relatadas na literatura. Sabe-se que diteluretos são mais reativos que teluretos por causa da fraca ligação Te-Te quando comparado com a ligação Te-carbono (Petraghani, 1994), e isto provavelmente é a principal razão para muitos efeitos diferentes encontrados *in vivo* para o BTMT quando comparado com o (PhTe)₂, uma vez que o processo de biotransformação parece ser importante para as ações desses compostos *in vivo*. Dentre as diversas classes de compostos orgânicos de telúrio, os teluretos vinílicos apresentam baixa toxicidade pela potente atividade antioxidante e promissores para avaliações farmacológicas. O dietil-2-fenil-2-telurofenil vinilfosfonato além de baixa toxicidade, possui atividade antioxidante quando administrado sub-agudamente e por vias de rápida absorção em camundongos (Àvila et al., 2006; 2007; 2008). Assim como, o BTMT, por apresentar baixa toxicidade *ex vivo* e *in vivo* e atividade antioxidante em baixas doses, sem alterar a atividade da δ- ALA-D *in vitro*. Contudo, somente em doses mais elevadas (a partir de 24,6 mg/kg), é que foram letais em ratos, alterando os parâmetros bioquímicos analisados nos animais sobreviventes (Savegnago et al., 2006).

Neste estudo o valor da DL₅₀ do BTMT foi de 21,32 mg/kg para ratos, enquanto que no **manuscrito 1** foi utilizado uma dose alta de 32,8 mg/kg em camundongos e conforme já discutido poucos foram os efeitos sobre a toxicidade reprodutiva e na ausência de toxicidade

materna, mostrando uma baixa toxicidade deste composto orgânico de telúrio quando comparado aos efeitos tóxicos do (PhTe)₂, descrito no **artigo 1**. O BTMT compartilha alguma característica estrutural do dietil-2-fenil-2-telurofenil vinilfosfonato, por ser também um telureto vinílico, podendo este fato ser o primeiro passo para futuras investigações sobre a toxicidade destes compostos (Zeni et al., 2006). Podemos constatar ainda, que os resultados do **manuscrito 1** corroboram com os resultados reportados por Borges et al. (2008) quanto a baixa toxicidade dos teluretos vinílicos *in vivo*, com o valor da DL₅₀ aproximadamente 30 vezes maior quando comparado ao (PhTe)₂ e potente atividade antioxidante em baixas concentrações em ratos. Porém, ressalta-se que para a realização deste trabalho foram utilizados animais não prenhes, o que deve ser considerado.

O estresse oxidativo materno tem uma influência significativa sobre os resultados adversos do nascimento através de oxigênio transplacentário e transporte de nutrientes ou indiretamente, através das respostas hemodinâmicas materna (Kannan et al., 2007). As enzimas antioxidantes, como a CAT e GST, trabalham direta ou indiretamente para a eliminação das ERO (Somogyi et al., 2007). Conforme visto no **manuscrito 1**, não houve aumento de estresse oxidativo materno ou fetal por não ter sido encontradas alterações nos níveis de peroxidação lipídica e AA como na atividade da GST e CAT. Alguns autores demonstraram que a exposição materna à xenobióticos durante o a organogênese, induz a toxicidade materna e teratogenicidade associado ao aumento de ERO no fígado e na placenta materna (Zhang et al., 2007; Zhao et al., 2008). Sabe-se que um dos mecanismos de toxicidade dos compostos orgânicos de telúrio é a capacidade que eles têm de gerar agentes oxidantes (Chen et al., 2001). Estudos prévios reportaram que a toxicidade dos compostos orgânicos de telúrio é mediado, em parte pela habilidade de reagir com grupos tióis de importantes moléculas biológicas (Nogueira et al., 2004; Luchese et al., 2007) inibindo enzimas contendo tiol como a δ-ALA-D (Meoti et al., 2003). A atividade da δ-ALA-D foi também determinada neste protocolo. Mesmo utilizando dose alta, e na via que favorece a biodisponibilidade, este biomarcador novamente não foi alterado na dose testada e em nenhum dos tecidos materno e fetal avaliados, indicando uma possível vantagem do BTMT comparado aos outros compostos orgânicos de telúrio. De fato, em nosso estudo o BTMT não afetou os parâmetros bioquímicos, que poderiam evidenciar mecanismos de toxicidade, no entanto, não pode ser considerado tóxico para o desenvolvimento embrio-fetal em camundongos na dose de 32,8 mg/kg. Nem mesmo foram vistas alterações histológicas, inclusive no tecido hepático materno, visto que os compostos de telúrio são metabolizados no

fígado (Amdur, 1947; Tani et al., 1981). No entanto, os efeitos observados no presente estudo, embora estatisticamente significativo, não são muito drásticos e o uso de apenas uma dose e um período da gestação específico limita o alcance e a aplicabilidade geral dos resultados. Porém, são importantes para verificar os efeitos toxicológicos para futuras aplicações biológicas desses compostos.

Baseado nisso, no **artigo 1** foi visto que a natureza e a intensidade dos efeitos induzidos pelo $(\text{PhTe})_2$ depende fortemente do estágio de desenvolvimento no qual o organismo é exposto. Também o número de perdas pós-implantação parece depender fortemente do período de exposição, tendo sido estabelecido o início da organogênese, i.e. o período compreendido entre os dias 4º e 14º de gestação, como o intervalo de maior vulnerabilidade aos efeitos embrietais do $(\text{PhTe})_2$, constatando que o efeito teratogênico deste composto parece ser, preferencialmente, induzido na fase mais adiantada do processo do desenvolvimento embrio-fetal. Diferentemente, a exposição ao BTMT interfere logo após o período da implantação pelo efeito embrietal observado. Neste contexto, estudos adicionais, ampliando o número de compostos orgânicos de telúrio na avaliação da susceptibilidade embrio-fetal em diferentes fases do desenvolvimento devem ser conduzidos em nosso laboratório.

Frente a isso buscou-se por meio do **manuscrito 2** verificar os efeitos do PEB nos parâmetros reprodutivos de camundongos em períodos específicos da gestação, na dose de 10 mg/kg. O PEB, já mostrou efeito antioxidante em baixas concentrações, tanto em cérebro de ratos *in vitro* quanto em cérebro de camundongos *in vivo* (Souza et al., 2009). Os dados obtidos no **manuscrito 2** mostraram ausência de toxicidade materna, porém indícios de falhas no sucesso reprodutivo no 14º dia de gestação, mas sem causar retardo de crescimento intra uterino em camundongos nos diferentes períodos da gestação. Entre os animais controles e os expostos ao PEB nos diferentes dias da gestação, não foram encontradas quaisquer alterações de toxicidade materna, indicando que o composto não parece ser tóxico para as mães, considerando-se os sinais clínicos observados. Em adição, não foram observadas alterações macroscópicas e/ou histopatológicas nos tecidos maternos, o que representa ausência de alteração na função celular.

O que podemos observar é que em apenas um dos parâmetros de toxicidade previsto em nosso protocolo foi significativo, que foi o aumento nas perdas pré-natais do grupo exposto ao PEB, no 14º dia de gestação. Sabe-se que a proporção de reabsorções correlaciona o número de reabsorções observadas e o número de implantes viáveis e, portanto, quanto

maior a proporção de reabsorções maior, evidentemente, o número de fetos cujo desenvolvimento foi interrompido (Kalter, 2003). Embora as perdas pré-natal encontradas em nosso trabalho foram correlacionadas com o aumento das reabsorções precoce, que são encontradas anteriores a exposição ao composto, não podemos descartar a possibilidade de o PEB influenciar no sucesso reprodutivo, induzindo a falha no processo reprodutivo ou embriofetalidade.

Os dados do **manuscrito 2** sugerem que o PEB pode ser capaz de interromper a gestação em camundongos, quando administrado após a fase da implantação dos embriões no útero, que ocorre até o quarto dia da prenhez (Silva et al., 2002). Desta forma, no **manuscrito 2** foi visto alterações quanto à manutenção da gestação e sobrevivência embrionária ou fetal durante a vida intrauterina. Os demais parâmetros de toxicidade fetal quanto ao número de implantes, fetos vivos, viabilidade fetal em todos os grupos expostos ao PEB não foram alterados, porém evidenciaram-se alterações no esqueleto fetal nos grupos expostos no 4º e 8º dias de gestação, mas que são consideradas variações e reversíveis, por terem sido encontradas também nos fetos dos animais controles, portanto, não afetou adversamente a sobrevivência dos fetos. De acordo com a literatura, as anormalidades estruturais podem ser variações ou malformações (Chahoud et al., 1999). Este autor classifica os desvios do normal encontrado no esqueleto como segue: as variações individuais de normal, retardo de desenvolvimento do esqueleto (efeitos de atraso) e malformações. O termo variação é usado para indicar uma divergência no desenvolvimento estrutural usual, podendo não afetar adversamente a saúde ou a sobrevivência. De acordo com Manson e Kang (1989), todo o agente causador de variações pode ser considerado embriotóxico. Podemos perceber que existem algumas divergências na literatura quando se trata de variações no esqueleto fetal. Segundo Chahoud and Paumgarten (2009), as variações devem ser consideradas na avaliação de risco causada por um agente, a menos que existam evidências de que ele não tenha efeitos negativos sobre a sobrevivência ou a saúde dos filhotes após o nascimento.

Em consideração a literatura e baseado nos resultados do **manuscrito 2**, podemos sugerir que o PEB, na dose e parâmetros avaliados não causou toxicidade materna e influencia no sucesso reprodutivo no 14º dia de gestação, no entanto, estudos comportamentais são necessários, a fim de certificar que as variações encontradas no esqueleto fetal não afeta a saúde ou sobrevivência da ninhada pós-natal. Assim, investigações adicionais são necessárias para determinar se as alterações acima mencionadas são de fato manifestações de toxicidade desenvolvimental do PEB.

A literatura é abrangente quando se trata de efeitos tóxicos de xenobióticos durante a gestação, pois, é uma das fases mais sensíveis do ciclo reprodutivo e que resulta em repostas importantes. Hoje, sabe-se que, nesse período, a maioria dos agentes atravessa facilmente a placenta e, dessa maneira, pode-se considerar que a exposição materna a agentes externos, entre esses os agentes químicos, pode resultar em efeitos importantes sobre um organismo passivo, alvo secundário desses agentes, que é o organismo embrio-fetal (Damasceno et al., 2008). Telúrio tem sido descrito como um elemento que atravessa a barreira placentária (Duckett e Ellem, 1971). É evidente que os químicos com um peso molecular (menor que 600 kd) pode facilmente atravessar a placenta (Mirkin, 1973). Considerando as características químicas do $(\text{PhTe})_2$, do BTHT e do PEB tais como solubilidade lipídica e peso molecular (409; 328; 285, respectivamente), infere-se que estes compostos orgânicos de telúrio podem induzir a efeitos adversos desenvolvimental por atravessar a barreira placentária, o qual foi mais pronunciado pelo $(\text{PhTe})_2$, mas que não pode ser ignorado a discreta embriotoxicidade evidenciada pelos BTHT e PEB.

A lipofilicidade desses compostos explicaria a absorção e disponibilidade na corrente sanguínea, e que os efeitos toxicológicos desses compostos são dependentes da via de administração, estrutura química dos compostos, dose, espécie animal e período da gestação, portanto, tornando difícil a comparação dos efeitos observados no **artigo** com os resultados dos **manuscritos 1 e 2**, mas que não impossibilitam ou descartam a continuidade e a importância de pesquisas adicionais sobre as propriedades farmacológicas e toxicológicas destes compostos. Podemos considerar ainda que alterações fisiológicas que ocorrem na gestante modificam o efeito de uma droga no organismo, por aumentar o volume sanguíneo e filtração glomerular, assim como a atividade hepática podem diminuir muito a concentração plasmática de algumas drogas (Preston, 2004).

Em conjunto, esses resultados demonstram que fatores farmacocinéticos devem estar envolvidos na diferença de toxicidade entre ratos e camundongos, assim como entre diteluretos e monoteluretos, portanto, estudos deverão ser conduzidos a fim de verificar o metabolismo dos compostos orgânicos de telúrio no compartimento materno e fetal.

6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados nesta tese mostraram diferenças na toxicidade materna e no desenvolvimento intrauterino em camundongos expostos aos compostos orgânicos de telúrio e entre os resultados observados estão:

- A exposição materna ao ditelureto de difenila (PhTe)₂ na dose de 60 mg/kg via s.c. foi embriofetal no 4º e 14º dia de gestação na ausência de toxicidade materna, apontando para uma certa seletividade dos efeitos adversos sobre o desenvolvimento embrio-fetal, mas diferente daquele observado em ratos que foi tóxico para as mães e teratogênico para os fetos, com dose extremamente inferior ao de camundongos.
- A administração única de 1-butiltelúrio-2-metil tiohepteno (BTMT) na dose aguda de 32,8 mg/kg, via oral, no 8º dia de gestação, um dos dias do período da organogênese, foi embriofetal na ausência da toxicidade materna em camundongos. Esses achados indicam a embriofetalidade causada pelo BTMT.
- A administração de 2-feniletinil-butil telúrio (PEB) na dose aguda de 10 mg/kg em diferentes dias específicos da gestação em camundongos, não apresentou toxicidade materna, mas afetou o sucesso reprodutivo.

Os dados desta tese apontam que os teluretos são compostos promissores para maiores estudos farmacológicos e toxicológicos para elucidar os efeitos tóxicos desenvolvimental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABONDANZA, T. S.; OLIVEIRA, C. R.; BARBOSA, C. M. V.; PEREIRA, F. E. G.; CUNHA, L. R. O. R.; CAIRES, A. C. F.; COMASSETO, J. V.; QUEIROZ, M. L. S.; VALADARES, M. C. C. R.; BINCOLETTO, C. Bcl-2 expression and apoptosis induction in human HL60 leukaemic cells treated with a novel organotellurium (IV) compound RT-04. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2540–2545, 2008.
- AGNEW, W. F.; CURRY, E. Period of teratogenic vulnerability of rat embryo to induction of hydrocephalus by tellurium. **Experientia**, v. 28, p. 1444-1445, 1972.
- AGNEW, W. F.; FAUVRE, F. M.; PUDENZ, P. H. Tellurium hydrocephalus: Distribution of tellurium-127m between maternal, fetal and neonatal tissues of the rat. **Experimental Neurology**, v. 21, p. 120-131, 1968.
- AMDUR, M. L. Tellurium: accidental exposure and treatment with BAL in oil. **Occupational Medicine**, v. 3, p. 386-391, 1947.
- AUDUS, K. L. Controlling drug delivery across the placenta. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 3, p. 161-165, 1999.
- ÁVILA, D. S. GUBERT, P.; PALMA, A.; COLLE, D. ALVES, D. NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T.; SOARES, F. A. A. S.. An organotellurium compound with antioxidant activity against excitotoxic agents without neurotoxic effects in brain of rats. **Brain Research Bulletin**, v. 76, p. 114–123, 2008.
- ÁVILA, D. S.; BEQUE, M. C.; FOLMER, V.; BRAGA, A. L.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W.; SOARES, F. A. A.; ROCHA, J. B. T. Diethyl 2-phenyl-2-tellurophenyl vinylphosphonate: an organotellurium compound with low toxicity. **Toxicology**, v. 224, p. 100–107, 2006.
- ÁVILA, D. S.; GUBERT, P.; DALLA CORTE, C. L.; ALVES, D.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T.; SOARES, F. A. A. A biochemical and toxicological study with diethyl-2-phenyl-2-tellurophenyl vinylphosphonate in a sub-chronic intraperitoneal treatment in mice, **Life Sciences**, v. 80, p. 1865–1872, 2007.
- BANHEGYI, G; BRAUN, G.; CSALA, M.; PUSKÁS, F.; MAND, J. Ascorbate metabolism and its regulation in animals. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, p. 793-803, 1997.
- BARBOSA, N. B.; ROCHA, J. B.; ZENI, G.; EMANUELLI, T.; BEQUE, M. C.; BRAGA, A. L. Effect of organic forms of selenium on delta-aminolevulinatase from liver, kidney, and brain of adult rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 149, p. 243-253, 1998.
- BARZILAI, A.; YAMAMOTO, K. DNA damage responses to oxidative stress. **DNA Repair (Amsterdam)**, v. 3, n. 8-9, p. 1109-1115, 2004.

- BERNARDI, M. M. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal. In: SPINOSA H. S. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 691-699, 2002.
- BEYER, B. K.; KIM, J. H. Maternal toxicity and its impact on study design and data Interpretation ILSI/HESI Workshop on Maternal Toxicity. **Reproductive Toxicology**, v. 28, p. 139-140, 2009.
- BLAIS, F. X.; ONISCHUK, R. T.; DEMEIO, R. H. Hemolysis by tellurite. I. The tellurite test for hemolysis. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v. 72, n. 2, p. 207-210, 1972.
- BORGES, V. C.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. Organochalcogens affect the glutamatergic neurotransmission in human platelets. **Neurochemical Reserach**, v. 29, p. 1505-1509, 2004.
- BORGES, V. C., ROCHA, J. B., NOGUEIRA, C. W. Effect of diphenyl diselenide, dipheyl ditelluride and ebselen on cerebral Na⁺,K⁺-ATPase activity in rats. **Toxicology**, v. 215, p. 191-197, 2005.
- BORGES, V. C.; ROCHA, J. B. T.; SAVEGNAGO, L.; NOGUEIRA, C. W. Repeated administration of diphenyl ditelluride induces hematological disorders in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1453-458, 2007.
- BORGES, V. C.; SAVEGNAGO, L.; PINTON, S.; JESSE, C. T.; ALVES, D.; NOGUEIRA, C. W. Vinylic telluride derivatives as promising pharmacological compounds with low toxicity. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, p. 839-848, 2008.
- BOVERIS, A.; CADENAS, E. Cellular sources and steady-state levels of reactive oxygen species. In: CLERCH, L.; MASSARO, D. Oxygen, gene expression and cellular function. Marcel Decker: New York, 1997. v. 105, p. 1-25.
- BRENT, R. L. Congenital malformation case reports: the editor's and reviewer's dilemma. **American Journal of Medical Genetics**, v. 47, n. 6, p. 872-874, 1993.
- BRENT, R. L. Definition of a teratogen and the relationship of teratogenicity to carcinogenicity. **Teratology**, v. 34, n. 3, p. 359-360, 1986.
- BRENT, R. L. Environmental causes of human congenital malformations: the pediatrician's role in dealing with these complex clinical problems caused by a multiplicity of environmental and genetic factors. In: BRENT, R. L.; WEITZMAN, M., eds. Pediatric supplement: vulnerability, sensitivity and resiliency of infants, children and adolescents to environmental agents. **Pediatrics**, v. 113, p. 957-68. 2004.
- BRENT, R. L. How does the physician avoid prescribing drugs and medical procedures that have reproductive and developmental risks? Medical legal issues in perinatal medicine. **Clinics in Perinatology**, v. 34, p. 233-262, 2007.
- BRENT, R. L. Saving lives and changing family histories: appropriate counseling of pregnant women and men and women of reproductive age, concerning the risk of diagnostic

- radiation exposures during and before pregnancy. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 200, p. 4-24, 2009.
- BRENT, R. L.; BECKMAN, D. A. Environmental Teratogens. **The Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 66, n. 2, p. 123-163, 1990.
- BRENT, R. The cause and prevention of human birth defects: what have we learned in the past 50 years? **Congenital Anomalies**, v. 41, p. 3-21, 2001.
- BRIVIBA, K.; TAMLER, R.; KLOTZ, L. O.; ENGMAN, L. COTFREAVE, I. A.; SIES, H. Protection against organotellurium compounds against peroxyxynitrite-mediated oxidation and nitration reactions. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, p. 817-823, 1998.
- BRUNONI, D. Epidemiologia e Etiologia das Anomalias Fetais. In: GUARIENTO, A.; MAMEDE, J. A. V. *Medicina Materno-Fetal*, v.2. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 1157-1168.
- CALDWELL, J. Conjugation reactions in foreign-compound metabolism-definition, consequences, and species variations. **Drug Metabolism Reviews**, v. 13 n. 5, p. 745-777, 1982.
- CALDWELL, J. The current status of attempts to predict species differences in drug-metabolism. **Drug Metabolism Reviews**, v. 12, n. 2, p. 221-237, 1981.
- CARLTON, W. W.; KELLY, W. A. Tellurium toxicosis in Pekin ducks. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 2, p. 203-214, 1967.
- CARTER, A. M. Evolution of Factors Affecting Placental Oxygen Transfer. **Placenta 30, Supplement A, Trophoblast Research**, v. 23, p. 19-25, 2009.
- CHAHOUD, I.; BUSCHMANN, J.; CLARK, R.; DRUGA, A.; FALKE, H.; FAQI, A.; HANSEN, E.; HEINRICH-HIRSCH, B.; HELLWIG, J.; LINGK, W.; ARKINSON, M.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; PFEIL, R.; PLATZEK, T.; SCIALLI, A. R.; SEED, J.; STAHLMANN, R.; ULBRICH, B.; WU, X.; YASUDA, M.; YOUNES, M.; SOLECKI, R. Classification terms in developmental toxicology: need for harmonization. **Reproductive Toxicology**, v. 13, p. 77-82, 1999.
- CHAHOUD, I.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: Relevance for risk assessment. **Environmental Research**, v. 109, p. 922-929, 2009.
- CHEN, F.; VALLYATHAN, V.; CASTRANOVA, V.; SHI, X. Cell apoptosis induced carcinogenic metals. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 221, p. 183-188, 2001.
- CHERNOFF, N.; ROGERS, J. M.; ALLES, A. J.; ZUCKER, R. M.; ELSTEIN, K. H.; MASSARO, E. J.; SULIK, K. K. Cell cycle alterations and cell death in cyclophosphamide teratogenesis. **Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis**, v. 9, n. 4, p. 199-209, 1989.

- CHERVENAK, F. A., MCCULLOUGH, L. B., BRENT, R. L. The perils of the imperfect expectation of the perfect baby. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 203, p. 1-5, 2010.
- CHIAVEGATTO, S.; BERNARDI, M. M. Uma contribuição acerca de estudos sobre teratologia comportamental. **Biotemas**, v. 5, n. 1, p. 55-63, 1992.
- COMASSETO, J. V. Selenium and Tellurium Chemistry: Historical Background. **Journal of Brazilian Chemical Society**, vol. 00, n. 00, p. 1-5, 2010.
- COMASSETO, J. V.; LING, L. W.; PETRAGNANI, N.; STEFANI, H. A. Vinylic selenides and tellurides-preparation, reactivity and synthetic applications. **Synthesis**, v. 4, p. 373-403, 1997.
- CRINNION, W. J. Maternal Levels of Xenobiotics that Affect Fetal Development and Childhood Health. **Alternative Medicine Review**, v. 14, n. 3, p. 212-222, 2009.
- CUNHA, R. L. O. R.; GOUVEA, I. E.; JULIANO, L. A glimpse on biological activities of tellurium compounds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n.3, p. 393-407, 2009.
- CUNHA, R. L. O. R.; URANO, M. E.; CHAGAS, J. R.; ALMEIDA, P. C.; BINCOLETTO, C.; TERSARIOLB, I. L. S.; COMASSETO, J. V. Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 755-760, 2005.
- DAMASCENO, D. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; VOLPATO, G. TADEU.; CONSONNI, M; RUDGE, M. V. C.; KEMPINAS, W. G. Anomalias Congênitas: Estudos Experimentais. Belo Horizonte: Coopmed, 2008. 102 p.
- DAVIES, K.J.A. Oxidative damage and repair: Chemical, biological and medical aspects. Oxford: Pergamon, 1991. 910p.
- DE SANTIS, M.; STRAFACE, G.; CARDUCCI, B.; CAVALIERE, A. F.; DE SANTIS, L.; LUCCHESI, A.; MEROLA, A. M.; CARUSO, A. Risk of drug-induced congenital defects. Review. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 117, p. 10-19, 2004.
- DEUTICKE, B.; LÜTKEMEIER, P.; POSE, B. Tellurite-induced damage of the erythrocyte membrane. Manifestations and mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1109, n. 1, p. 97-107, 1992.
- DONNELLY, L.; CAMPLING, G. Functions of the placenta. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**, v. 9, n. 3, p. 124-127, 2008.
- DUCKETT, S. Teratogenesis caused by tellurium. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 192, p. 220-226, 1972.
- DUCKETT, S.; ELLEM, K. A. O. The location of tellurium in fetal tissues, particularly the brain. **Experimental Neurology**, v. 32, p. 49-57, 1971.

- DUCKETT, S.; SCOTT, T. The target period during fetal life for the production of tellurium hydrocephalus. **Experientia**, v. 27, p. 1064-1065, 1971.
- DUCKETT, S.; WHITE, R. Cerebral lipofuscinosis induced with tellurium: electron dispersive x-ray spectrophotometry analysis. **Brain Research**, v. 73, p. 205-214, 1974.
- EHLERS, K.; SÜRJE, H.; MERKER, H. J. Valproic acid-induced spina bifida: a mouse model. **Teratology**, v. 45, p. 145-154, 1992.
- ENGMAN, L.; KANDRA, T.; GALLEGOS, A.; WILLIAMS, R.; POWIS, G. Water-soluble organotellurium compounds inhibit thioredoxin reductase and the growth of human cancer cells. **Anticancer Drug Design**, v. 15, p. 323-330, 2000.
- ENGMAN, L.; VESSMAN, K.; EKSTROM, M.; BERGLUND, M.; ANDERSSON, C. M. Organotellurium compounds as efficient retarders of lipid peroxidation in methanol. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, p. 441-452, 1995.
- FAIRHILL, L. T. Tellurium. In: *Industrial Toxicology*. Hafner Publishing Co, New York & London, 1969. 120 p.
- FARBER, J. L.; KYLE, M. E.; COLEMAN, J. B. Biology of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. **Laboratory Investigation**, v. 62, p. 670-678, 1990.
- FAVERO, A. M.; WEIS, S. N.; STANGHERLIN, E. C.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Sub-chronic exposure of adult male rats to diphenyl ditelluride did not affect the development of their progeny. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 859-862, 2007.
- FISCHER, W. A second note on the term "chalcogen". **Journal of Chemical Education**, v. 78, n. 10, p. 1333, 2001.
- FORD, W. C. L. The effect of deoxy-6-fluoroglucose on the fertility of male rats and mice. **Contraception**, v. 25, p. 535-45, 1982.
- FOSTER, W.; MYLLYNEN, P.; WINN, L. M.; ORNOY, A.; MILLER, R. K. Reactive Oxygen Species, Diabetes and Toxicity in the Placenta - A Workshop Report Placenta 29, **Trophoblast Research**, v. 22, p. 105-107, Supplement A, 2008.
- FREI, G. M.; KREMER, M.; HANSCHMANN, K. M.; KRAUSE, S.; ALBECK, M.; SREDNI, B.; SCHNIERLE, B. S. Antitumour effects in mycosis fungoides of the immunomodulatory, tellurium-based compound, AS101. *British Journal of Dermatology*, v. 158, n. 3, p. 578-586, 2008.
- FRÍAS, J. L.; GILBERT-BARNESS, E. Human Teratogens: Current Controversies. **Advances in Pediatrics**, v. 55, p. 171-211, 2008.
- FRIAS, J. L.; CAREY, J. C. Mild errors of morphogenesis. **Advanced Pediatrics**, v. 43, p. 27-75, 1996.
- FRIEDMAN, M.; BAYER, I.; LETKO, I.; DUVDEVANI, R.; ZAVARO-LEVY, O.; RON, B.; ALBECK, M.; SREDNI, B. Topical treatment for human papillomavirus-

associated genital warts in humans with the novel tellurium immunomodulator AS101: assessment of its safety and efficacy. **British Journal of Dermatology**, v. 160, n. 2, p. 403-408, 2009.

GARLAND, J. L.; ALAZRAKI, M. P.; ATKINSON, C. F.; FINGER, B. W. Evaluating the feasibility of biological waste processing for long term space missions. **Acta Horticulturae**, v. 469, p. 71-78, 1998.

GAY, B.M.; LUCHESE, C.; NOGUEIRA, C. W.; WENDLER, P.; MACEDO, A.; DOS SANTOS, A. A. Antioxidant effect of functionalized alkyl-organotellurides: a study in vitro. **Journal of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry**, v. 25, n. 4, p. 467-475, 2010.

GIANNI, P. GIANNI P, JAN KJ, DOUGLAS MJ, STUART PM, TARNOPOLSKY MA. Oxidative stress and the mitochondrial theory of aging in human skeletal muscle. **Experimental Gerontology**, v. 39, p. 1391-1400, 2004.

GILBERT, S. F. Developmental biology. 7th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.; p. 694-696, 2003.

GREEN, M.; HARWOOD, H.; BARROWMAN, C.; RAHMAN, P.; EGGEMAN, A, FESTRY, F.; DOBSON, P.; NG, T. A facile route to CdTe nanoparticles and their use in bio-labelling. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, p. 1989-1994, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine, 3rd ed. Oxford University Press Oxford, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 1-5, 1990.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant? **Free Radical Research Communications**, v. 9, p. 1-32, 1990.

HANSEN, W. F.; YANKOWITZ, J. Pharmacologic therapy for medical disorders during pregnancy. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 45, n. 1, p. 136-152, 2002.

HASSAN, W.; IBRAHIM, M.; NOGUEIRA, C. W.; BRAGA, A. L.; DEOBALD, A. M.; MOHAMMADZAI, I. U.; ROCHA, J. B. Influence of pH on the reactivity of diphenyl ditelluride with thiols and anti-oxidant potential in rat brain. **Chemico-Biological Interaction**, v. 15, n. 180, p. 47-53, 2009.

HAYUN, M.; NAOR, Y. WEIL, M.; ALBECK, M.; PELED, A.; DON, J.; HARAN-GHERA, N.; SREDNI, B. The immunomodulator AS101 induces growth arrest and apoptosis in multiple myeloma: association with the Akt/survivin pathway. **Biochemical Pharmacology**, v. 72, p. 1423-1431, 2006.

HAYUN, M.; SAIDA, H.; ALBECK, M.; PELED, A.; HARAN-GHERA, N.; SREDNI, B. Induction therapy in a multiple myeloma mouse model using a combination of AS101 and melphalan, and the activity of AS101 in a tumor microenvironment model. **Experimental Hematology**, v. 37, p. 593-603, 2009.

- HENDRIX, N.; BERGHELLA, V. Non-Placental Causes of Intrauterine Growth Restriction. **Seminars in Perinatology**, v. 32, p. 161-165, 2008.
- HOOD, R. D.; ROGERS, J. Maternal toxicity: Overview and background. In: ILSI/HESI Workshop on Maternal Toxicity. **Reproductive Toxicology**, v. 28, 2009. p. 139-140.
- HUCKER, H. B. Species differences in drug metabolism. **Annual Review of Pharmacology**, v. 10, p. 99–118, 1970.
- JACOB, C.; ARTEEL, G. E.; KANDA, T.; ENGMAN, L.; SIES, H. Water soluble organotellurium compounds: catalytic protection against peroxynitrite and release of zinc from metallothionein. **Chemical Research in Toxicology**, v. 13, p. 3–9, 2000.
- JOHNS, J.; JAUNIAUX, E.; BURTON, G. Factors affecting the early embryonic environment. **Reviews in Gynaecological and Perinatal Practice**, v. 6, p. 199–210, 2006.
- KALTER, H. Teratology in the 20th century. Environment causes of congenital malformations in humans and how they were established. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 131-282, 2003.
- KANNAN, S. R.; MISRA, D. P.; DVONCH, J. T.; KRISHNAKUMAR, A. Exposures to airborne particulate matter and adverse perinatal outcomes: a biologically plausible mechanistic framework for exploring potential. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 6, p. 1591-1602, 2007.
- KASAPINOVIC, S.; MCCALLUM, G. P.; WILEY, M. J.; WELLS, P. G. The peroxynitrite pathway in development: Phenytoin and benzo[a]pyrene embryopathies in inducible nitric oxide synthase (iNOS) knockout mice. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, p. 1703-1711, 2004.
- KELSEY, F. O. Regulatory aspects of teratology: Role of the Food and Drug Administration. **Teratology**, v. 25, p. 193-199, 1982.
- KHERA, K. S. Maternal toxicity: a possible factor in fetal malformations in mice. **Teratology**, v. 29, p. 411-416, 1984.
- KILTY, C.; DOYLE, S.; HASSETT, B.; MANNING, F. Glutathione S-transferases as biomarkers of organ damage: applications of rodent and canine GST enzyme immunoassays. **Chemico-Biological Interactions**, v. 111–112, p. 123–135, 1998.
- KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reaction and methods for their quantitation. **Toxicologic Pathology**, v. 30, p. 620-650, 2002.
- LADEN, B.; PORTER, T. Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds. Evidence of interaction with vicinal sulfhydryls. **The Journal of Lipid Research**, v. 42, p. 235-240, 2001.

- LAPORTE, J. R.; TOGNONI, G.; ROZENFELD, S. Epidemiologia do medicamento. São Paulo/Rio de Janeiro: Hucitec/Abrasco, 1989.
- LARNER, A. J. How does garlic exert its hypocholesterolaemic action? The tellurium hypothesis. **Medical Hypothesis**, v. 44, p. 295-297, 1995.
- LEMÔNICA, I. P. Teratogênese experimental e sua aplicação em humanos. In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHÜLER-FACCINI, L. Manual de Teratogênese. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, p.19-39, 2001.
- LENZ, W. A short history of thalidomide embryopathy. **Teratology**, v. 38, 203-215, 1988
- LIMA-VERDE, I. B.; BRUNO, J. B.; MATOS, M. H. T.; RODRIGUES, A. P. R.; FIGUEIREDO, J. R.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F. Implicações do estresse oxidativo no ovário e no embrião mamífero. **Medicina Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 81-88, 2007.
- LO, W. Y.; FRIEDMAN, J. M. Teratogenicity of recently introduced medications in human pregnancy. **Obstetrics & Gynecology**, v. 100, p. 465-73, 2002.
- LUCHESE, C.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W.; SANTOS, F. W. Cadmium inhibits δ -aminolevulinate dehydratase from rat lung in vitro: Interaction with chelating and antioxidant agents. **Chemico-Biological Interactions**, v. 165, p. 127-137, 2007.
- MACIEL, E. N.; BOLZAN, R. C.; BRAGA, A. L.; ROCHA, J. B. T. Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect delta-aminolevulinate dehydratase from liver, kidney and brain of mice. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 14, p. 310-319, 2000.
- MANSON, J. M.; KANG, Y. J. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Hayes, A. W. (Eds.) Principles and methods of toxicology, Raven Press, New York, p. 311-359, 1989.
- MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, p. 6049-6055, 1969.
- MEOTTI, F. C.; BORGES, V. C.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen for rats and mice. **Toxicology Letters**, v. 143, p. 9-16, 2003.
- MIRANDA, E. S.; MIEKELEY, N.; DE-CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Developmental toxicity of meglumine antimoniate and transplacental transfer of antimony in the rat. **Reproductive Toxicology**, v. 21, p. 292-300, 2006.
- MIRKIN, B. L. Maternal and fetal distribution of drugs in pregnancy. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 14, p. 643-647, 1973.
- MIZUNO, R. Electron microscopic study on the cerebral cortex of rabbits intoxicated with tellurium. **The Yokohama Medical Journal**, v. 20, p. 101-121, 1969.

- MORETTO, M. B.; ROSSATO, J. I.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. Ebselen and diorganochalcogenides inhibition of 45Ca^{2+} influx into brain synaptosomes is voltage-dependent. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 17, p. 154-160, 2003.
- MÜLLER, R.; ZSCHIESCHE, W.; STEFFEN, H. M.; SCHALLER, K. H. Tellurium intoxication. **Wien Klin Wochenschr**, v. 67, p. 1152-1155, 1989.
- MURRAY, F. J.; JOHN, J. A.; BALMER, M. F.; SCHWETZ, B. A. Teratogenic evaluation of styrene gives to rats and rabbits by inhalation or by gavage. **Toxicology**, v. 11, p. 335-243, 1978.
- MYLLYNEN, P.; PASANEN, M.; PELKONEN, O. Human placenta: a human organ for developmental toxicology research and biomonitoring. **Placenta**, v. 26, p. 361- 371, 2005.
- NAKAJIMA, M.; TAKAHASHI, H.; SASAKI, M.; KOBAYASHI, Y.; OHNO, Y. USAMI, M. Comparative Developmental Toxicity Study of Indium in Rats and Mice. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, v. 20, p. 219–227, 2000.
- NAU, H.; HAUCK, R. S.; EHLERS, K. Valproic acid induced neural tube defects in mouse and human: aspects of chirality, alternative drug mechanism, pharmacokinetics and possible mechanism. **Pharmacology & Toxicology**, v. 69, p. 310-321, 1991.
- NEUBERT, D. Risk assesment of prenatally induced adwers health effects. Berlin: Spring Verlag, p.565, 1992.
- NEWMAN, C. G. H. The thalidomide syndrome: risks of exposure and spectrum of malformations. **Clinics in Perinatology**, v. 13, p. 555-573, 1986.
- NOGUEIRA, C. W.; QUINHONES, E. B.; JUNG, E. A. C.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. **Inflammation Research**, v. 52, p. 56-63, 2003a.
- NOGUEIRA, C. W.; BORGES, V. C.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organochalcogens effects on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity from human erythrocytic cells in vitro. **Toxicology**, v. 191, p. 169-178, 2003b.
- NOGUEIRA, C. W.; ROTTA, L. N.; PERRY, M. L.; SOUZA, D. O.; ROCHA J. B. T. Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect the rat glutamatergic system in vitro and in vivo. **Brain Research**, v. 906, p. 157-163, 2001.
- NOGUEIRA, C. W.; ROTTA, L. N.; ZENI, G.; SOUZA, D. O.; ROCHA, J. B. Exposure to ebselen changes glutamate uptake and release by rat brain synaptosomes. **Neurochemical Research**, v. 27, p. 283-288, 2002.
- NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 6255-6286, 2004.

- O'RAHILLY, R.; MULLER, F. *Embriologia e Teratologia Humanas*. 3. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2005. 468 p.
- OGRA, Y.; KOBAYASHI, R.; ISHIWATA, K.; SUZUKI, K. T. Comparison of distribution and metabolism between tellurium and selenium in rats. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1507–1513, 2008.
- OHSHIMA, H.; SAWA, T.; AKAIKE, T. 8-Nitroguanine, a product of nitrate DNA damage caused by reactive nitrogen species: formation, occurrence, and implications in inflammation and carcinogenesis. **Antioxidants Redox Signaling**, v. 8, p. 1033-1045, 2006.
- OKORONKWO, A. E.; GODOI, B.; SHUMACHER, R. F.; NETO, J. S. S.; LUCHESE, C.; PRIGOL, M.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Csp3-tellurium copper cross-coupling: synthesis of alkynyl tellurides a novel class of antidepressive-like compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 909-915, 2009.
- OPITZ, J. M. Development: clinical and evolutionary considerations. **American Journal of Medical Genetics**, v. 143, p. 2853–61, 2007.
- OPITZ, J. M. The developmental field concept in clinical genetics. **Journal Pediatrics**, v. 101, n. 5, p. 805-809, 1982.
- ORNOY, A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. **Reproductive toxicology**, v. 24, n. 1, p. 31-41, 2007.
- ORNOY, A. Valproic acid in pregnancy: How much are we endangering the embryo and fetus? Review. **Reproductive Toxicology**, v. 28, p. 1–10, 2009.
- ORNOY, A.; KIMYAGAROV, D.; YAFFE, P.; RAZ, I.; COHEN, R. Role of reactive oxygen species in diabetes-induced embryo toxicity: studies on pre-implantation mouse embryos cultured in serum from diabetic pregnantwoman. **Israel Journal of Medical Sciences**, v. 32, p. 1066–73, 1996.
- ORNOY, A.; ZAKEN, V.; KOHEN, R. Role of reactive oxygen species (ROS) in the diabetes-induced anomalies in rat embryos in vitro: reduction in antioxidant enzymes and LMWA may be the causative factor for increased anomalies. **Teratology**, v. 60, p. 376–386, 1999.
- PENTSCHEW, A.; EBNER, F.; KOVATCH, R. In: *Proceedings of Fourth International Congress of Neuropathology*. H. Jacobs, Ed. 3:300. George Thieme Verlag. Stuttgart, Germany, 1962.
- PENZ, J.; GEMELLI, T.; CARVALHO, C. A. S.; GUERRA, R. B.; OLIBONI, L.; SALVADOR, M.; DANI, C.; ARAÚJO, A. S.; FUNCHAL, C.. Effect of 3-butyl-1-phenyl-2-(phenyltelluro)oct-en-1-one on oxidative stress in cerebral cortex of rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 745–751, 2009.
- PEREZ-D'GREGORIO, R. E.; MILLER, R. K. Teratogenicity of tellurium dioxide: prenatal assessment. **Teratology**, v. 37, p. 307-316, 1988.

- PERSIKE, D. S.; CUNHA, R. L. O.; JULIANO, L.; SILVA, I. R.; ROSIM, F. E.; VIGNOLI, T.; DONA, F.; CAVALHEIRO, E. A.; FERNANDES, M. J. S. Protective effect of the organotelluroxetane RF-07 in pilocarpine-induced status epilepticus. **Neurobiology of Disease**, v. 31, p. 120–126, 2008.
- PETRAGNANI, N. In: *Comprehensive Organometallic Chemistry II: a review of the Literature 1982-1994*, vol. 11 (Eds.: E. W. Abel, F. G. A. Stone, G. Wilkinson), Pergamon, Oxford, UK, 1995. 571 p.
- PETRAGNANI, N. *Tellurium in Organic Synthesis*, Academic Press: London, 1994.
- PETRAGNANI, N.; COMASSETTO, J. V. Tellurium Reagents in Organic Synthesis. Recent Advances. Part 2. **Synthesis**, v. 11, p. 897-919, 1991.
- PINTON, S. LUCHESE, C.; STANGHERLIN, E. C.; NOGUEIRA, C. W. Acute exposure to diphenyl ditelluride causes oxidative damage in rat lungs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2010. Article in press.
- PINTON, S.; LUCHESE, C.; NOGUEIRA C. W. Comparison of the Antioxidant Properties and the Toxicity of p,p'-Dichlorodiphenyl Ditelluride with the Parent Compound, Diphenyl Ditelluride. **Biological Trace Element Research**, v. 139, 204-216, 2010.
- PRESTON, S. L. The importance of appropriate antimicrobial dosing: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 38, n. 9, p. 14-18, 2004.
- PRIGOL, M.; SCHUMACHER, R. F.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Convulsant effect of diphenyl diselenide in rats and mice and its relationship to plasma levels. **Toxicology Letters**, v. 189, p. 35–39, 2009.
- PROLIFKA, J. E.; FRIEDMAN, J. M. Medical genetics: Clinical teratology in the age of genomics. **Canadian Medical Association Journal**, v. 167, p. 265–73, 2002.
- REGNAULT, T. R. H.; GALAN, H. L.; PARKER, T. A.; ANTHONYF, R. V. Placental Development in Normal and Compromised Pregnancies - A Review, **Placenta**, v. 23, Suppl A, p. 119-129, 2002.
- REN, X.; XUE, Y.; ZHANG, K.; LIU, J.; LUO, G.; ZHENG, J.; MU, Y.; SHEN, J. A novel dicyclodextrinyl ditelluride compound with antioxidant activity. **FEBS Letters**, v. 507, p. 377–380, 2001.
- ROGERS, M. J.; KAVLOCK, R. J. Casaret and Doull's toxicology: the basic science of poisons. In: Klaassen, C.D. (Ed.), *Developmental Toxicology*. McGraw-Hill, New York, p. 351-386, 2003 (Chapter 10).
- ROMAN, S. S.; NAVA, A, FAVERO, A. M.; WEIS, S. N.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Diphenyl ditelluride effect on embryo/fetal development in mice: Interspecies differences. **Toxicology**, v. 231, p. 243-249, 2007.
- SÁ DEL FIOL, F.; ROCHA, M. F. T.; GROppo, F. C. Evaluation in an animal model and in vitro of the combination clavulanic acid and cephalosporins against beta-lactamase

- producing and nonproducing *Staphylococcus aureus* strains. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 4, n. 1, p. 36-42, 2000.
- SADLER, T. W. Langman Embriologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 347 p.
- SALDANHA, P. H. A tragédia da talidomida e o advento da teratologia experimental. **Revista Brasileira de Genética**, v. 17, p. 449-464, 1994.
- SANTOS, D. B.; SCHIAR, V. P. P.; PAIXÃO, M. W.; MEINERZ, D. F.; NOGUEIRA, C. W.; ASCHNER, M.; ROCHA J. B. T.; BARBOSA, N. B. V. Hemolytic and genotoxic evaluation of organochalcogens in human blood cells in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 23, p. 1195–1204, 2009.
- SAVEGNAGO, L.; BORGES, V. C.; ALVES, D.; JESSE, C. R.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1-butyltellurenyl-2-methyl thioheptene. **Life Sciences**, v. 79, p. 1546-1552, 2006.
- SCANSETTI, G. Exposure to metals that have recently come into use. **Science of the Total Environment**, v. 120, p. 85-91, 1992.
- SCHIAR, V. P. P.; SANTOS, D. B.; PAIXÃO, M. W.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T.; ZENI, G. Human erythrocyte hemolysis induced by selenium and tellurium compounds increased by GSH or glucose: A possible involvement of reactive oxygen species. **Chemico-Biological Interactions**, v. 177, p. 28–33, 2009.
- SCHULER-FACCINI, L.; SCHVARTZMAN, L.; CECCHIN, C. R. Teratogênese Humana e o SIAT. In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHÜLER-FACCINI, L. (Orgs.). Manual de Teratogênese, Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, p. 19-39, 2001.
- SCHUMACHER, G. H. Teratology in cultural documents and today. **Annals of Anatomy**, v. 186, p. 539-546, 2004.
- SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie e Angewandte Chemie International Edition**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.
- SIES, H. Role of reactive oxygen species in biological processes. **Wien Klin Wochenschr**, v. 69, n. 21-23, p. 965-968, 1991.
- SIES, H. Strategies of antioxidants defenses. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.
- SILVA, M. A.; KOZICKI, L. E.; DALSENTER, P. R. Gossypol toxicity in pregnant and nursing rats – *Rattus rattus norvegicus*. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 87-98, 2002.
- SMITHELLS, R. W.; NEWMAN, C. G. H. Recognition of thalidomide defects. **Journal of Medical Genetics**, v. 29, p. 716-723, 1992.
- SOHAL, R. S. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, p. 37-44, 2002.

- SOLDER, E.; ROHR, I.; KREMSER, C.; HUTZLER, P.; DEBBAGE, P. L. Imaging of placental transport mechanisms: A review. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. 114–120, 2009.
- SOMOGYI, A.; ROSTA, K.; PUSZTAIL, P.; TULASSAY, Z.; NAGYL, G. Antioxidant measurements. **Physiological Measurement**, v. 28, p. 41–55, 2007.
- SOPRANO, D. R.; SOPRANO, K. J. Retinoids as teratogens. **Annual Review of Nutrition**, v. 15, p. 111-132, 1995.
- SOUZA, A. C. G.; LUCHESE, C.; NETO, J. S. S.; NOGUEIRA, C. W. Antioxidant effect of a novel class of telluroacetilene compounds: Studies in vitro and in vivo. **Life Sciences**, v. 84, p. 351-357, 2009.
- SREDNI-KENIGSBUCH, D.; SHOHAT, M.; SHOHAT, B.; BEN-AMITAI, D.; CHAN C. C.; DAVID, M. The novel tellurium immunomodulator AS101 inhibits interleukin-10 production and p38 MAPK expression in atopic dermatitis. **Journal of Dermatological Science**, v. 50, n. 3, p. 232-235, 2008.
- SREDNI, B.; GEFFEN-ARICHA, R.; DUAN, W.; ALBECK, M.; SHALIT, F.; LANDER, H. M.; KINOR, N.; SAGI, O.; ALBECK, A.; YOSEF, S.; BRODSKY, M.; SREDNI-KENIGSBUCH, D.; SONINO, T.; LONGO, D. L.; MATTSON, M. P.; YADID, G. Multifunctional tellurium molecule protects and restores dopaminergic neurons in Parkinson's disease models. **Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 21, p. 1870-1883, 2007.
- STANGHERLIN, E. C.; FAVERO, A. M.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA C. W. Teratogenic vulnerability of Wistar rats to diphenyl ditelluride. **Toxicology**, v. 207, n. 2, p. 231-239, 2005.
- STANGHERLIN, E. C.; FAVERO, A. M.; WEIS, S. N.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Assessment of reproductive toxicity in male rats following acute and sub-chronic exposures to diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 662–669, 2006a.
- STANGHERLIN, E. C.; FAVERO, A. M.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Exposure of mothers to diphenyl ditelluride during the suckling period changes behavioral tendencies in their offspring. **Brain Research Bulletin**, v. 69, p. 311–317, 2006b.
- STANGHERLIN, E. C.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W. Diphenyl ditelluride impairs short-term memory and alters neurochemical parameters in young rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 91, p. 430–435, 2009.
- TANI, T.; KATO, N.; HORIO, F.; YOSHIDA, A. Characteristic properties of isolated soy protein in the metabolic changes due to dietary polychlorinated biphenyls. **Nutrition Research**, v.1, p.83–92, 1981.
- TAYLOR, A. Biochemistry of tellurium. **Biological Trace Element Research**, v. 55, p. 231-239, 1996.

- VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO-Jr, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 31, p. 31-44, 1998.
- WELLS, P. G.; BHULLER, Y.; CHEN, C. S.; JENG, W.; KASAPINOVIC, S.; KENNEDY, J. C.; KIM, P. M.; LAPOSA, R. R.; MCCALLUM, G. P.; NICOL, C. J.; PARMAN, T.; WILEY, M. J.; WONG, A. W. Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 207, p. 354-366, 2005.
- WELLS, P. G.; MCCALLUM, G. P.; CHEN, C. S.; HENDERSON, J. T.; LEE, C. J. J.; PERSTIN, J.; PRESTON, T. J.; WILEY, M. J.; WONG, A. W. Review. Oxidative Stress in Developmental Origins of Disease: Teratogenesis, Neurodevelopmental Deficits, and Cancer. **Toxicological Sciences**, v. 108, n. 1, p. 4-18, 2009.
- WILSON, J. G. Current status of teratology. General principles and mechanisms derived from animal studies. In: WILSON, J. G.; FRASER, F. C., editors, Handbook of teratology, v. 1, p. 47-74, 1977.
- YAREMA, M. C.; CURRY, S. C. Acute tellurium toxicity from ingestion of metal-oxidizing solutions. **Pediatrics**, v. 116, p. 319-321, 2005.
- ZAKEN, V.; KOHEN, R.; ORNOY, A. The development of antioxidant defense mechanism in young rat embryos in vivo and in vitro. **Early Pregnancy Biol. Med**, v. 4, p. 110-23, 2000.
- ZENI, G.; BRAGA, A. L.; STEFANI, H. A. Palladium-catalyzed coupling of sp²-hybridized tellurides. **Accounts of Chemical Research**, v. 10, p. 731-738, 2003.
- ZENI, G.; LUDTKE, D. S.; PANATIERI, R. B.; BRAGA, A. L. Vinylic tellurides: from preparation to their applicability in organic synthesis. **Chemical Review**, v. 106, p. 1032-1076, 2006.
- ZHANG, C.; LI, XY.; ZHAO, L.; WANG, H.; XU, DX. Lipopolysaccharide (LPS) upregulates the expression of heme oxygenase-1 in mouse placenta. **Placenta**, v. 28, p. 951-957, 2007.
- ZHANG, H.; SWIHART, M. T. Synthesis of Tellurium Dioxide Nanoparticles by Spray Pyrolysis. **Chemistry of Materials**, v. 19, p. 1290-1301, 2007.
- ZHAO, L.; CHEN, Y-H.; WANG, H.; JI, Y-L.; NING, H.; WANG, S-F.; ZHANG, C.; LU, J-W.; DUAN, Z-H.; XU, DE-X. Reactive Oxygen Species Contribute to Lipopolysaccharide-Induced Teratogenesis in Mice. **Toxicological Sciences**, v. 103, p. 149-157, 2008.

8. APÊNDICE

A- Demais trabalhos desenvolvidos durante o curso de doutorado

Weis, S.N.; Roman, S.S.; Nogueira, C.W. Toxicity of 303-ditrifluormethyldiphenyl diselenide administered during intra-uterine development of rats. Food and Chemical Toxicology. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 46, 3640–3645, 2008.

Wilhelm, E.A.; Jesse, C.R.; Roman, S.S.; Nogueira, C.W.; Savegnago, L. Hepatoprotective effect of 3-alkynyl selenophene on acute liver injury induced by D-galactosamine and lipopolysaccharide. **Experimental and Molecular Pathology**, vol. 87, 20–26, 2009.

Brandão, R.; Santos, F.W.; Oliveira, R.; Roman, S.S.; Nogueira, C.W. Involvement of non-enzymatic antioxidant defenses in the protective effect of diphenyl diselenide on testicular damage induced by cadmium in mice. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 23, 324–333, 2009.

Ibrahim, M.; Luchese, C.; Pinton S.; Roman, S.S.; Hassan, W.; Nogueira C.W.; Rocha, J.B.T. Involvement of catalase in the protective effect of binaphthyl diselenide against renal damage induced by glycerol. **Experimental and Toxicologic Pathology**. 2010, **Artigo in press**.

Pinton, S.; Luchese, C.; Stangherlin, E.C.; Roman, S.S.; Nogueira, C.W. Diphenyl Ditelluride Induces Neurotoxicity and Impairment of Developmental Behavioral in Rat Pups. **Journal of Brazilian Chemical Society**. vol. 00, 1-8, 2010.

Wilhelm, E.A.; Jesse C.R.; Roman S.S.; Bortolatto C.F.; Nogueira C.W. Anticonvulsant effect of (E)-2-benzylidene-4-phenyl-1,3-diselenole in a pilocarpine model in mice. **Life Sciences**. vol. 87, 620-627, 2010.