



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

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO *IN VIVO* AO DITELURETO DE  
DIFENILA EM CAMUNDONGOS: EVIDÊNCIAS PARA  
ESTRESSE OXIDATIVO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Bruna Comparsi**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2010**

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO *IN VIVO* AO DITELURETO DE  
DIFENILA EM CAMUNDONGOS: EVIDÊNCIAS PARA  
ESTRESSE OXIDATIVO**

por

**Bruna Comparsi**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Ciências  
Biológicas: Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa  
Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica.**

**Orientador: Prof Dr João Batista Teixeira da Rocha**

**Co-orientador: Prof Dr Jeferson Luiz Franco**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2010**

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 Dissertação de Mestrado

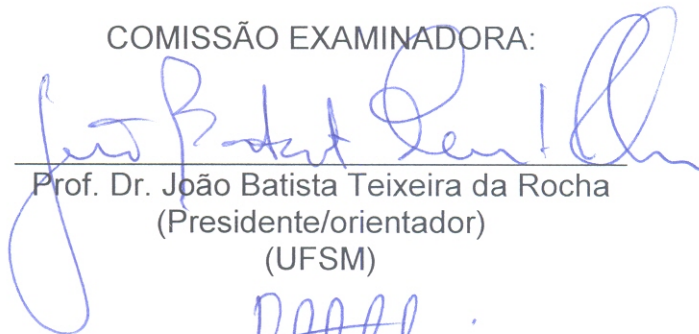
**EFEITO DA EXPOSIÇÃO *IN VIVO* AO DITELURETO DE  
DIFENILA EM CAMUNGONGOS: EVIDÊNCIAS PARA ESTRESSE  
OXIDATIVO**

Elaborada por:

**Bruna Comparsi**


Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica**

COMISSÃO EXAMINADORA:



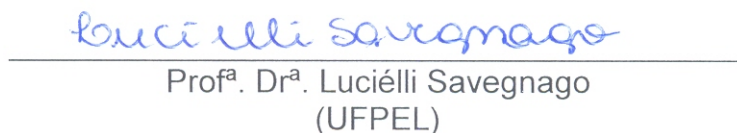
---

Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha  
(Presidente/orientador)  
(UFSM)



---

Prof. Dr. Rafael Noel Moresco  
(UFSM)



---

Prof.ª Dr.ª Luciéli Savegnago  
(UFPEL)

Santa Maria, 24 de setembro de 2010.

*"Se, a princípio, a idéia não é absurda,  
Então não há esperança para ela."  
(Albert Einstein)*

## AGRADECIMENTOS

Este é um momento especial, representa o fim de um ciclo, mais uma etapa de minha história que se encerra, são muitos os amigos e colegas a quem gostaria de agradecer o auxílio, estímulo e companheirismo.

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por sempre ter iluminado o caminho que escolhi seguir.

Ao meu pai, pelo exemplo de responsabilidade, amor e dedicação. A você, que sacrificou os seus sonhos em favor dos meus, não sei se palavras conseguiriam traduzir o que eu sinto! Muito obrigado, amo muito você!

Ao meu irmão Ricardo, pela compreensão em minha ausência, por ser esta pessoa maravilhosa, corajosa e inteligente. São muitas as coisas que gostaria de dizer a você neste momento. Mas acho que o que melhor resume isso, é o meu Obrigado. Amo você!

Aos meus avós, Elio e Maria Comparsi, sempre presentes em minha vida de forma muito especial. Obrigado pelo apoio incondicional!!!

Ao meu querido orientador, João Batista, obrigado por ter acreditado em mim, pela oportunidade de aprendizado e sinceridade. Como pesquisador, dispensa comentários, admiro-te pela sabedoria, dedicação, esforço e competência. Sou muito grata por todas as oportunidades que me proporcionaste.

Ao Jeferson, meu co-orientador, e a Thaís, pela confiança e disponibilidade, sempre prontos para ajudar. Agradeço pela amizade, paciência, ensinamentos e colaboração fundamental neste trabalho.

Obrigada Daia, durante o mestrado você foi minha grande parceira, foi ótimo ter convivido com você e construído esta nova e grande amizade. Você foi minha companheira fiel até mesmo nas “empreitadas” mais difíceis, obrigada. Espero poder retribuir a altura.

Gostaria de deixar um agradecimento bem especial, as amigas e colegas Jéssie e Carol, por todos os ensinamentos em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela paciência e generosidade principalmente nos meus primeiros meses no Lab, a ajuda de vocês foi fundamental.

Aos bolsistas de Iniciação Científica Alessandro, Douglas, Josi e Sílvio, presentes em todas as intermináveis matanças, sem a ajuda e dedicação de vocês a realização deste trabalho não seria possível.

Gostaria de agradecer a todos os colegas de laboratório: Albys, Alessandra, Claudinha, Cris Dalla Corte, Cris Mizdal, Daniel, Rodrigo, Rogério, Romaiiana, Jean Paul, Pablo, Emily, Cléia, Mariane, Diones, Leticia.

Ao pessoal dos laboratórios da Prof<sup>a</sup> Cristina, do Prof<sup>o</sup> Gilson e do Prof<sup>o</sup> Felix, sempre dispostos a ajudar.

Um agradecimento especial, ao Cristiano e toda a sua família, que sempre me acolheram com todo carinho, pela força e incentivo nos momentos difíceis da realização deste trabalho.

A Ju ao Rogério e a minha “filhadinha” Sofia, não encontrei palavras ideais para descrever minha gratidão e amizade por vocês. Ju, você sempre presente na minha vida, das horas mais difíceis as mais vibrantes. Sou muito grata pelo convite para ser Di da tua filha, espero significar para ela pelo menos um pouquinho de tudo que você significa para mim. “Tenho saudade daquele tempo, o tempo em que quase todas as tardes, nós nos encontrávamos para sentar e conversar...”

A minha maninha, Vanessa, que embora os vários quilômetros que nos separam, esteve sempre presente em minha caminhada, me escutando e dando força durante as intermináveis ligações. Nessinha, hoje faço das tuas palavras as minhas, “no final tudo sempre da certo”. Minha gratidão e saudade.

As minhas colegas de graduação Luana, Daiane e Letícia, vocês fazem muita falta no meu dia-dia.

Aos funcionários Angélica, Márcia e Rinaldo pela dedicação e competência com que realizam os seus trabalhos.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao PPGBTOX pela possibilidade de realização deste curso. Aos professores deste curso, pela dedicação e trabalho, fazendo com que o curso esteja sempre crescendo.

Ao CNPq e a CAPES pela bolsa de estudos e pelos recursos financeiros concedidos.

## RESUMO

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

### **EFEITO DA EXPOSIÇÃO *IN VIVO* AO DITELURETO DE DIFENILA EM CAMUNDONGOS: EVIDÊNCIAS PARA ESTRESSE OXIDATIVO**

AUTORA: BRUNA COMPARSI  
ORIENTADOR: JOÃO BATISTA TEIXEIRA DA ROCHA  
CO-ORIENTADOR: JEFERSON LUIZ FRANCO  
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de setembro de 2010.

Neste trabalho, investigou-se o efeito da administração de (PhTe)<sub>2</sub> (10 µmol/kg e 50 µmol/kg) em camundongos adultos, sobre o perfil comportamental e alguns parâmetros de estresse oxidativo em cérebro e fígado. Os animais receberam (PhTe)<sub>2</sub> ou óleo de canola pela via subcutânea diariamente durante 7 dias. Os resultados demonstram que após a última administração do (PhTe)<sub>2</sub>, os animais apresentaram sinais clássicos de toxicidade (redução do peso corporal), alterações comportamentais e aumento nos níveis de peroxidação lipídica no cérebro, contudo, a geração de ROS não foi modificada. A exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> (50 µmol/kg) causou inibição sanguínea da δ-ALA-D. (PhTe)<sub>2</sub> aumentou os níveis de NPSH e de PSH, em ambas as doses, no cérebro de camundongos adultos. Porém, no fígado, a exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> (50 µmol/kg) acarretou em redução nos níveis de NPSH. Demonstrou-se que o (PhTe)<sub>2</sub> modificou a atividade de enzimas antioxidantes pela redução da atividade cerebral da CAT (10 µmol/kg), SOD (10 µmol/kg e 50 µmol/kg), GR (10 µmol/kg), GPx (10 µmol/kg) e TrxR (10 µmol/kg e 50 µmol/kg). No fígado, (PhTe)<sub>2</sub> causou aumento da atividade da SOD (10 µmol/kg e 50 µmol/kg) e GR (50 µmol/kg) e reduziu a atividade da GPx (10 µmol/kg e 50 µmol/kg). Em resumo, os dados obtidos aqui sugerem que o cérebro foi mais suscetível ao estresse oxidativo induzido pelo (PhTe)<sub>2</sub> do que o fígado. Assim, um possível papel no desequilíbrio pró-oxidante/antioxidante na toxicidade do (PhTe)<sub>2</sub> foi demonstrada.

*Palavras-chave:* Ditelureto de difenila; Organotelúrio; Estresse oxidativo; Toxicidade; Enzimas antioxidantes; Camundongo.



## ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree  
Graduate Course in Toxicological Biochemistry  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **EFFECTS OF *IN VIVO* EXPOSURE TO DIPHENYL DITELLURIDE IN MICE: EVIDENCE FOR OXIDATIVE STRESS**

AUTHOR: Bruna Comparsi  
ADVISOR: JOÃO BATISTA TEIXEIRA DA ROCHA  
CO-ADVISOR: Jeferson Luiz Franco  
Place and Date of the Defense: Santa Maria, 24<sup>th</sup> set, 2010.

In this work, we investigated the effect of (PhTe)<sub>2</sub> administration (10 µmol/kg and 50 µmol/kg) to adult mice on the behavioral performance and on some parameters of oxidative stress in the brain and liver. The animals received (PhTe)<sub>2</sub> or canola oil via subcutaneous injection daily during the 7 days. Results demonstrated that after last (PhTe)<sub>2</sub> administration the animals demonstrated the appearance of classic signs of toxicity (body weight loss), behavioral alterations and increased in lipid peroxidation levels in brain, however, the ROS generation was not modified. The exposure to (PhTe)<sub>2</sub> caused inhibition of δ-ALA-D in blood samples from 50 µmol/kg. (PhTe)<sub>2</sub> induced increased in the levels of NPSH and PSH, at all doses, in brain of adult mice. Unlike, in liver, (PhTe)<sub>2</sub>-exposure (50 µmol/kg) led to decreased in NPSH. We also demonstrated that the (PhTe)<sub>2</sub> modified the activity of the antioxidant enzymes by reducing CAT (10 µmol/kg), SOD (10 µmol/kg and 50 µmol/kg), GR (10 µmol/kg), GPx (10 µmol/kg) and TrxR (10 µmol/kg and 50 µmol/kg) activity in brain. In liver, (PhTe)<sub>2</sub> increased SOD (10 µmol/kg and 50 µmol/kg) and GR (50 µmol/kg) and decreased Gpx (10 µmol/kg and 50 µmol/kg) activity. Additionally, the data obtained here suggest that brain was more susceptible to oxidative stress induced by (PhTe)<sub>2</sub> than liver. Thus, the possible role of disrupted prooxidant/antioxidant balance in (PhTe)<sub>2</sub> toxicity was demonstrated.

*Key words:* diphenyl ditelluride; Organotellurium; Oxidative stress; Toxicity; Antioxidant enzymes; Mice.

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>Figura 1.</b> <i>Tellus</i> (Deusa da Terra).....	5
<b>Figura 2.</b> Ciclo redox da glutathiona .....	9
<b>Figura 3.</b> Esquema de detoxificação de ROS realizada por enzimas antioxidantes, como a SOD, CAT e GPx.....	9

### MANUSCRITO

<b>Figura 1.</b> Estrutura química do ditelureto de difenila .....	26
<b>Figura 2.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre o peso corpóreo de camundongos adultos .....	23
<b>Figura 3.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre o perfil comportamental (campo aberto e cilindro giratório) de camundongos adultos. ....	24
<b>Figura 4.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre a peroxidação lípidica e geração de ROS em cérebro e fígado de camundongos adultos .....	25
<b>Figura 5.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre os níveis de NPSH e PSH em cérebro e fígado de camundongos adultos .....	25
<b>Figura 6.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre os níveis sanguíneos da $\delta$ -ALA-D de camundongos adultos .....	26
<b>Figura 7.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GR e GPx) em cérebro e fígado de camundongos adultos.....	30
<b>Figura 8.</b> Efeito do (PhTe) <sub>2</sub> sobre atividade da TrxR em cérebro e fígado de camundongos adultos. ....	30

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

CAT	Catalase
DTNB	5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GSH	Glutaciona
GSSG	Glutaciona oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
MDA	Malondialdeído
NPSH	Tiol não protéico
PSH	Tiol Proteico
PL	Peroxidação lipídica
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
Te	Telúrio
(PhTe) <sub>2</sub>	Ditelureto de difenila
TrxR	Tiorredoxina redutase
δ-ALA-D	Delta-aminolevulinato desidratase

## SUMÁRIO

<i>Agradecimentos</i> .....	<i>iv</i>
<i>Resumo</i> .....	<i>vii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>viii</i>
<i>Lista de Figuras</i> .....	<i>ix</i>
<i>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</i> .....	<i>x</i>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>3</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
3.1. <i>Objetivo geral.</i> .....	4
3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	4
<b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>5</b>
4.1. <i>Telúrio</i> .....	5
4.2. <i>Organocalcogênios</i> .....	5
4.3. <i>Potencial farmacológico de compostos orgânicos de telúrio</i> .....	7
4.4. <i>Propriedades toxicológicas de compostos orgânicos de telúrio</i> .....	8
4.5. <i>Estresse oxidativo</i> .....	12
4.6. <i>Peroxidação lipídica</i> .....	12
4.7. <i>Defesas antioxidantes</i> .....	12
4.7.1 <i>Tiorredoxina Redutase</i> .....	12
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	<b>31</b>
<b>8. PERSPECTIVAS</b> .....	<b>32</b>
<b>9. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O elemento telúrio (Te) foi descoberto em 1.782 e pertence ao grupo 16 da tabela periódica, denominada família dos calcogênios, assim como o selênio e o enxofre. Pode apresentar-se com diferentes números de oxidação:  $\text{Te}^{+6}$  (telurato),  $\text{Te}^{+4}$  (telurito),  $\text{Te}^0$  (telúrio elementar) e  $\text{Te}^{-2}$  (telureto) (Scansetti, 1992). É encontrado com maior frequência na forma de teluretos de ouro, bismuto, chumbo e prata.

O  $\text{Te}^0$  é utilizado no manufaturamento de semicondutores e outros componentes eletrônicos. Ele também é utilizado na produção industrial de vidro e aço, e como um aditivo anti-detonante da gasolina (Fairhill, 1969). Além disso, é empregado no processo de síntese de alguns fármacos e explosivos, na vulcanização da borracha, em lubrificantes sólidos e na petroquímica (Taylor, 1996).

O crescente uso industrial do  $\text{Te}^0$  trouxe riscos ocupacionais e ambientais para a saúde humana, aumentando a preocupação em relação aos potenciais efeitos adversos que este elemento pode causar. Os primeiros relatos a respeito da toxicidade do telúrio aconteceram após o incidente de Windscale (UK) (Stewart & Crooks, 1958). A intoxicação aguda por compostos orgânicos de telúrio, bem como por formas inorgânicas, pode causar sintomas como: dores de cabeça, sonolência, náuseas, alteração da frequência cardíaca e um odor característico de alho na respiração e na urina (Muller et al., 1989; Taylor, 1996).

A toxicidade do Te parece estar relacionada ao seu estado de oxidação, dose administrada e tipo de animal testado (Nogueira et al., 2004; Van Vleet et al., 1982). O mecanismo proposto para explicar essa toxicidade envolve a interação com resíduos tiólicos (-SH) de moléculas biologicamente ativas. Os compostos orgânicos de Te têm a capacidade de oxidar os grupamentos -SH, inativando enzimas e/ou diminuindo a concentração de moléculas sulfidrílicas não-protéicas (Blais et al., 1972; Young et al., 1981).

De fato, os compostos orgânicos de telúrio, inibem enzimas sulfidrílicas, incluindo  $\delta$ -aminolevulinato desidratase (Barbosa et al., 1998), esqualeno monooxigenase (Laden & Porter, 2001) e  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase (Borges et al., 2005). A toxicidade, hepática, cerebral e renal, *ex vivo* também já foi observada para alguns compostos orgânicos de telúrio (Maciel et al., 2000; Meotti et al., 2003; Savegnago et

al., 2006). A neurotoxicidade causada pelos compostos orgânicos de telúrio é evidenciada por várias alterações nos animais expostos, como por exemplo, alterações na memória, desmielinização e comprometimento do desenvolvimento fetal em camundongos (Laden & Porter, 2001; Goodrum, 1998, Roman et al., 2007).

A exposição ao telúrio pode causar também o desenvolvimento de neuropatias periféricas e alterações neuromusculares, bem como alterações histopatológicas em órgãos e tecidos como olhos, fígado, timo, medula óssea, coração e rim (Nyska et al., 1989). Além disso, estudos mais recentes têm constatado que a exposição ao ditelureto de difenila, que é um intermediário comum em síntese orgânica, causa teratogênese (Stangherlin et al., 2005), prejuízos no desenvolvimento de ratos jovens e camundongos (Pinton et al., 2010a; Roman et al., 2007) e induz efeitos tóxicos em plaquetas, leucócitos, eritrócitos e promielócitos (Nogueira et al., 2004; Sailer et al., 2003; Borges et al., 2004, 2007) de ratos. Da mesma forma, há evidências de que o  $(\text{PhTe})_2$  causa citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade *in vitro* (Degrandi et al., 2010).

No entanto há relatos relacionados ao potencial antioxidante de compostos orgânicos de telúrio em sistemas biológicos contra muitos agentes pró-oxidantes, como peróxido de hidrogênio, peroxinitrito, radicais hidroxil e ânion radical superóxido (Briviba et al., 1998; Gay et al., 2010; Jacob et al., 2000; Ren et al., 2001; Souza et al., 2009), uma vez que estes compostos podem mimetizar a atividade da glutathione peroxidase (Engman et al., 1994). Além disso, compostos orgânicos de telúrio são considerados promissoras drogas antitumorais e com efeito quimioprotetor, que pode estar relacionado a suas propriedades citotóxicas e suas habilidades para inibir importantes enzimas necessárias para a proliferação tumoral (Cunha et al., 2005; Degrandi et al., 2010; Engman et al., 2000a,b;). Alquinil vinil teluretos, administrados por via oral, mostraram um efeito do tipo antidepressivo no teste de suspensão da cauda realizado em camundongos (Okoronkwo et al., 2009).

Considerando-se que o mecanismo pelo qual o  $(\text{PhTe})_2$  induz toxicidade em camundongos não se encontra totalmente elucidado, há a necessidade de novos estudos experimentais que investiguem o mecanismo de toxicidade deste composto, bem como seus efeitos sobre marcadores enzimáticos e não-enzimáticos de estresse oxidativo, que pode levar a danos ao DNA.

## 2. JUSTIFICATIVA

É conhecido que o telúrio e seus compostos são altamente tóxicos em roedores e humanos (Pinton et al., 2010a; Roman et al., 2007; Schiar et al., 2007). Embora as transformações bioquímicas, mecanismos de ação e o significado biológico da exposição a estas substâncias sejam pouco conhecidos e caracterizados, há uma crescente preocupação em relação aos potenciais efeitos adversos que este elemento pode causar (Meotti et al., 2003; Rezanka & Sigles, 2008). Desta forma, o aumento no uso industrial do telúrio, tanto das suas formas orgânicas quanto inorgânicas, trouxe riscos ocupacionais e ambientais para a saúde humana, tornando-se essencial compreender o potencial tóxico do ditelureto de difenila –  $(\text{PhTe})_2$  utilizando diferentes modelos animais.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Tendo em vista a alta toxicidade de compostos de telúrio, este trabalho visa avaliar efeitos bioquímicos e comportamentais do composto orgânico de Te, ditelureto de difenila -  $(\text{PhTe})_2$  *in vivo* em camundongos adultos.

#### 3.2. Objetivos Específicos

Considerando os aspectos já mencionados, os objetivos específicos deste trabalho compreendem:

- Observar sinais de toxicidade induzidos pelo  $(\text{PhTe})_2$  em camundongos adultos;
- Verificar se a exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  irá alterar parâmetros comportamentais, através da avaliação nos testes de campo aberto e cilindro giratório em camundongos adultos;
- Estudar, *in vivo*, os efeitos da exposição (s.c.) ao  $(\text{PhTe})_2$  através de parâmetros bioquímicos cerebrais e hepáticos, tais como: peroxidação lipídica, tióis protéicos e não-protéicos, atividade de enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutatona redutase (GR), glutatona peroxidase (GPx) e tiorredoxina redutase (TrxR);
- Investigar a toxicidade do  $(\text{PhTe})_2$  através da atividade da enzima sulfidrílica  $\delta$ -aminolevulinato desidratase sanguínea *in vivo*.



## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Telúrio



Figura 1: *Tellus* (Deusa da Terra)

O telúrio é um semi-metal pertencente ao grupo 16 da tabela Periódica, denominada família dos calcogênios, assim como o selênio e o enxofre (Scansetti, 1992). O elemento telúrio (Te) foi descoberto em 1782, mas somente posteriormente, foi isolado por Klaproth, quem lhe deu o nome, em homenagem à deusa da Terra (*Tellus* = Terra) (Chasteen et al., 2009) (Fig. 1).

Pode apresentar-se com diferentes números de oxidação:  $\text{Te}^{+6}$  (telurato),  $\text{Te}^{+4}$  (telurito),  $\text{Te}^0$  (telúrio elementar) e  $\text{Te}^{-2}$  (telureto) (Scansetti, 1992). É encontrado com maior frequência na forma de teluretos de ouro, bismuto, chumbo e prata (Zeni et al., 2003).

Nos últimos anos tem sido observado um crescente interesse na química do telúrio e de seus compostos. O telúrio elementar ( $\text{Te}^0$ ) é produzido em grande escala, e empregado como componente de muitas ligas metálicas, sendo adicionado ao chumbo para aumentar a sua resistência mecânica, durabilidade e diminuir a ação corrosiva do ácido sulfúrico nos processos industriais ( Taylor, 1996).

Os compostos de telúrio são importantes na produção industrial de vidro e aço, bem como um aditivo anti-detonante na gasolina (Fairhill, 1969). Além disso, são utilizados na produção de explosivos, na vulcanização da borracha, em lubrificantes sólidos, soluções oxidantes para polir metais e na indústria petroquímica (Fairhill, 1969; Taylor, 1996). Também o telúrio tem ação bactericida, fungicida e inseticida (Kormutakova et al., 2000; Toptchieva et al., 2003; Castro et al., 2009).

Esse semi-metal recentemente vem sendo muito empregado na manufatura de semicondutores particulados, sistemas de energia fotovoltaica e outros

componentes eletrônicos, como microchips e discos de DVD regraváveis (Green et al., 2007; Zhang & Swihart, 2007; Wang et al., 2008). Possui também uma grande aplicação na indústria farmacêutica, sendo importante na síntese de fármacos (Schiari et al., 2009; Friedman et al., 2009).

O telúrio metálico está presente na composição de organismos vegetais, particularmente em membros da Família *Alliaceae*, em que o representante mais popular é o alho (Larner, 1995). Alguns estudos já demonstram que pequenas quantidades de telúrio foram identificadas em fluidos corporais, tais como sangue e urina (Siddik & Newman, 1988; Newman et al., 1989). Contudo até o presente momento, o telúrio não apresenta função fisiológica, em mamíferos (Taylor, 1996; Rezanka & Singler, 2008).

Os efeitos do telúrio sobre organismos animais começaram a ser estudados por Gmelin em 1824. Entretanto, os primeiros relatos a respeito da toxicidade do telúrio aconteceram somente após o incidente em 1957, quando um reator na cidade de Windscale, atual Sellafield, na Inglaterra, pegou fogo e liberou grande quantidade de material radioativo, incluindo telúrio (Wakeford, 2007; Bergan et al., 2008). Casos de intoxicação ocupacional aguda são raros; entretanto, quando ocorrem, os sintomas são: dores de cabeça, sonolência, náuseas, alterações da frequência cardíaca, bem como odor característico de alho, na respiração e na urina (Blackadder & Manderson, 1975; Yarema & Curry, 2005).

Os compostos de telúrio atravessam as membranas celulares e se localizam no citoplasma das células, mais especificamente nas mitocôndrias, nos primeiros estágios de intoxicação (Mizuno, 1969; Siliprandi & Storey, 1973). 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 dos sistema urogenital, do trato gastrointestinal, dos órgãos respiratórios, do sistema retículo endotelial e dos sistema nervoso (Morgan et al., 1997). O metabolismo do telúrio nos tecidos não está esclarecido, mas é sugerido que os depósitos negros ou os cristais puntiformes contenham telúrio reduzido ou telúrio elementar (Duckett, 1972).

O primeiro composto orgânico de telúrio foi sintetizado por Friedrich Wohler em 1840. Desde sua descoberta até a metade do século XX, a química dos compostos organotelurados desenvolveu-se rapidamente. Várias destas substâncias, com diferentes características e estruturas químicas, vêm sendo

estudadas quanto as suas propriedades farmacológicas e toxicológicas (Nogueira et al., 2004; Rezanka & Sigler, 2008).

## **4.2. Organocalcogênios**

A partir da década de 30, os organocalcogênios têm sido alvo de interesse para os químicos orgânicos em virtude da descoberta de aplicações sintéticas (Petragnani et al., 1976; Comasseto, 1983) e de propriedades biológicas desses compostos (Parnham & Graf, 1991; Kanda et al., 1999), que são importantes intermediários e reagentes muito utilizados em síntese orgânica (Paulmier, 1986; Braga et al., 1996; 1997). Conseqüentemente, o risco de contaminação ocupacional por organocalcogênios tem motivado estudos toxicológicos. Outro aspecto relevante é a tentativa crescente de desenvolvimento de compostos organocalcogênios que possuam atividades biológicas e aplicações farmacológicas (Parnham & Graf, 1991; Nogueira et al., 2003b).

## **4.3. Potencial farmacológico de compostos orgânicos de Telúrio**

Em 1987, Sredni et al. descreveram pela primeira vez uma atividade farmacológica para um composto orgânico de telúrio, ao demonstrarem as propriedades imunomoduladoras do composto codificado como AS-101 (telurato de triclóro amônio-dioxoetileno-O,O') em camundongos, mediando efeitos antitumorais (Hayun et al., 2006).

Os compostos orgânicos de telúrio foram utilizados terapêuticamente em drogas que atuam no sistema imunológico, no tratamento da sífilis e da tuberculose (Kovalev, 1969). Além disso, apresentam propriedades imunomoduladoras, antiinflamatórias, podendo ainda ser empregados como drogas antitumorais e antivirais (Frei et al., 2008; Sredni-Kenigsbuch et al., 2008; Friedman et al., 2009).

Alquinil vinil teluretos, administrados por via oral, mostraram um efeito do tipo antidepressivo no teste de suspensão da cauda realizado em camundongos, sem alterar a locomoção destes animais (Okoronkwo et al., 2009).

Estudos recentes têm demonstrado que compostos organotelurados podem apresentar atividade antioxidantes por mimetizar a atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) (Ren et al., 2002; Huang et al., 2008) e ação antiproliferativa em diferentes tecidos (Deagrandi et al., 2010; Sailer et al., 2003; Sailer et al., 2004; Kalechman et al., 2004).

O potencial antioxidante dos compostos de telúrio também foi estudado em sistemas celulares *in vitro*. Wieslander et al. (1998) mostraram que, em presença de glutathione reduzida (GSH), bis(4-hydroxyphenyl) telluride, bis(4-aminophenyl) telluride and bis(2-carboxyphenyl) telluride reduziram o efeito citotóxico do hidróperóxido de tert-butila em células de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (células V79) em mais de 50% em tratamentos utilizando concentrações inferiores a 2  $\mu$ M. Além disso, essas moléculas reduziram a formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e protegeram o tecido renal contra o dano oxidativo induzido por reoxigenação após anoxia, indicando um potencial antioxidante interessante, envolvendo seus efeitos citoprotetores. Esses efeitos também foram observados em experimentos com administração sistêmica desses compostos em ratos submetidos ao modelo de isquemia e reperfusão. O mecanismo sugerido poderia estar ligado em parte, a uma atividade mimética de GPx (Wieslander et al., 1998). Neste contexto, há um grande interesse na produção de compostos organotelurados com propriedades de mimetizar esta importante enzima antioxidante visando uma potencial aplicação farmacológica (Ren et al., 2002; Dong et al., 2004).

Apesar da habilidade dos compostos de telúrio em induzirem apoptose e alterações de outras naturezas a fim de causarem morte celular, um novo alvo para a pesquisa antitumoral vem surgindo, a enzima tiorredoxina redutase (TRXr). Esta enzima, responsável por fornecer equivalentes redutores (tiorredoxina - TRX-SH) às redutases de ribonucleotídeos, têm sua expressão gênica aumentada nas células tumorais, auxiliando no crescimento celular (Grogan et al., 2000). Engman et al. (2000a,b) sintetizaram uma série de compostos análogos do telureto de difenila e observaram que alguns eram bons inibidores da tiorredoxina redutase e inibidores do crescimento de células cancerosas.

Compostos de Te, também vêm sendo estudados quanto às suas possíveis propriedades antitumorais, sendo o alvo a enzima Catepsina B. Esta enzima é uma protease que auxilia na invasão do tumor, por degradar componentes celulares

(Buck et al., 1992). Ela possui no seu sítio ativo um resíduo tiólico, cuja oxidação pelos Te(IV) leva à inativação da enzima, sugerindo uma provável ação anti-metastática destes compostos (Cunha et al., 2005).

#### 4.4. Propriedades toxicológicas de compostos orgânicos de telúrio

Embora exista um crescente uso de compostos orgânicos contendo telúrio nos campos da química e bioquímica, não existem muitos relatos sobre a toxicidade dessas substâncias até o momento. Sabe-se que, assim como o telúrio elementar e os sais inorgânicos, os compostos orgânicos de telúrio são bastante tóxicos, e a intensidade desta toxicidade depende da estrutura do composto, da dose administrada e do tipo de animal testado (Nogueira et al., 2004).

A toxicidade destes compostos parece estar relacionada principalmente a interação com resíduos tiólicos de moléculas biologicamente ativas. Os compostos orgânicos de telúrio têm a capacidade de oxidar estes grupamentos tiólicos, inativando uma enzima e/ou diminuindo a concentração de moléculas sulfidrílicas não-protéicas (Blais et al., 1972; Deuticke et al., 1992).

A oxidação da glutathiona reduzida (GSH) em glutathiona oxidada (GSSG) pode ser um dos principais fatores da toxicidade causada pelos compostos orgânicos de telúrio (Barbosa et al., 1998). A glutathiona é uma importante biomolécula necessária ao sistema antioxidante da glutathiona peroxidase. Esta enzima requer GSH para neutralizar o peróxido de hidrogênio em água, gerando GSSG, que retorna a GSH pela ação da glutathiona redutase, às custas do equivalente redutor nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) (Fig. 2).

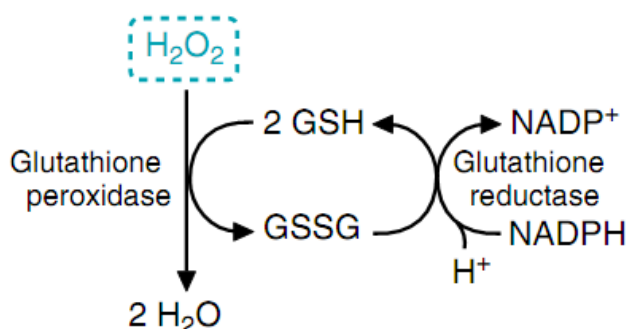


Figura 2: Ciclo redox da glutathiona.

A enzima sulfidrílica  $\delta$ -ALA-D, que catalisa condensação assimétrica de duas moléculas de ácido aminolevulínico em porfobilinogênio, é um dos alvos dos compostos orgânicos de telúrio mais estudado. Esta enzima possui no seu sítio ativo dois resíduos cisteinil, que são facilmente oxidados *in vitro* e *in vivo* por compostos de telúrio orgânicos, levando a sua inibição (Maciel et al., 2000, Meotti et al., 2003; Nogueira et al., 2003a).

A toxicidade hepática e renal *ex vivo* também já foram observadas para alguns compostos orgânicos de telúrio. Os marcadores mais comuns de hepatotoxicidade são as atividades plasmáticas da aspartato aminotransferase (AST) e da alanina aminotransferase (ALT), que se tornam aumentadas quando há dano causado pelos compostos (Meotti et al., 2003; Savegnago et al., 2006). A toxicidade renal pôde ser evidenciada pela diminuição da função renal, como diminuição da excreção de creatinina e uréia, que se tornam aumentadas no plasma (Savegnago et al., 2006). Rooseboom et al. (2002) sintetizaram a Te-fenil-L-telurocisteína, e verificaram que este composto é capaz de depletar GSH e de aumentar a atividade da lactato desidrogenase (LDH) em hepatócitos de ratos tanto quanto o paracetamol, um conhecido agente hepatotóxico.

Uma característica tóxica bastante descrita para os compostos orgânicos de telúrio é a citotoxicidade. O ditelureto de difenila é capaz de afetar sistemas de fosforilação e desfosforilação de proteínas celulares, alterando a organização e a estrutura celular (Moretto et al., 2005). Também é capaz de induzir a ativação de caspases em concentração de apenas  $1\mu\text{M}$  (Iwase et al., 2004). Sailer et al. (2004) mostraram, num trabalho comparativo, que diteluretos diarílicos são capazes de causar apoptose através de alterações no ciclo celular de células promielocíticas humanas, o que não ocorre com análogo sem telúrio.

A neurotoxicidade causada pelos compostos orgânicos de telúrio é evidenciada por várias alterações nos animais expostos, como por exemplo, alterações na memória, desmielinização, neuropatia periférica (Laden & Porter, 2001; Toews et al., 1997, Goodrum, 1998). Os compostos contendo esse semi-metal são potentes agentes neurotóxicos por inibirem a atividade da enzima esqualeno monooxigenase, uma enzima microsomal contendo flavina-adenina-dinucleotídeo que catalisa o segundo passo na biossíntese do colesterol, a conversão do esqualeno a 2,3-epoxiesqualeno (Goodrum, 1998; Laden & Porter, 2000; 2001). A sensibilidade da enzima deve-se a reação desse elemento com grupamentos

sulfrídrica e com ligações a cisteína presente na estrutura da proteína (Laden & Poryer, 2001). Dessa forma, o esqualeno acaba acumulando-se e a síntese do colesterol, que é um precursor da mielina, é inibida nas células de Schwann. A consequência desse processo é uma desmielinização ou hipomielinização (Goodrum, 1998; Gajkowska et al., 1999). Um efeito secundário é a inibição da expressão de genes que codificam as proteínas envolvidas na síntese da bainha de mielina (Toews et al., 1997).

Além deste mecanismo de neurotoxicidade, há outra enzima sulfidrílica bastante importante para a manutenção da atividade neuronal normal que é suscetível a agentes oxidantes, como os compostos orgânicos de telúrio, a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Esta enzima está presente na membrana celular e é responsável pelo transporte ativo de sódio e potássio nas células, especialmente nas do sistema nervoso central (Doucet, 1998; Jorgensen, 1986). A inibição da atividade da  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase está relacionada com o aumento da liberação de neurotransmissores excitatórios (Vyskocil, 1979). Borges et al. (2005) verificaram que o ditelureto de difenila é capaz de inibir esta enzima *in vitro* em baixas concentrações, sendo esta inibição revertida pela co-incubação com DTT, comprovando a oxidação dos grupamentos tiólicos.

Desta forma, esta molécula orgânica contendo telúrio pode também alterar o sistema glutamatérgico, diminuindo a captação vesicular *in vitro* de  $[\text{}^3\text{H}]$ glutamato, bem como diminuindo a união específica de  $[\text{}^3\text{H}]$ glutamato no receptor NMDA (N-metil D-aspartato) em preparação de membranas *in vitro* e *ex vivo* em baixas concentrações (Nogueira et al., 2001; 2002).

Os compostos de telúrio são capazes de atravessar as barreiras hematoencefálicas, placentárias e a ependimal-fluido cérebro espinhal-sangue fetal (Deuticke et al., 1992). Portanto, são muito tóxicos para mamíferos em desenvolvimento, podendo causar hidrocefalia em fetos de ratos (Stangherlin et al., 2005), bem como afetar a pele e outros órgãos, como os rins (Kron et al., 1991; Meotti et al., 2003; Borges et al., 2008).

Estudos mais recentes têm constatado que a exposição a compostos orgânicos de telúrio induz efeitos tóxicos em plaquetas, leucócitos, eritrócitos e promielócitos (Sailer et al., 2003; Borges et al., 2004, 2007) de ratos. Da mesma forma, há evidências de que alguns teluretos de diarila são potentes agentes genotóxicos quando usados em doses altas ou de forma crônica (Tiano et al., 2000).

A desordem nesses processos bioquímicos medidos por diversas enzimas acarreta várias conseqüências fisiológicas em nível de sistemas e organismos. Em relação ao conhecimento dos efeitos do ditelureto de difenila em animais, vários efeitos neurotóxicos em roedores foram relatados. Entre eles, a acentuada vacualização dos corpos celulares no cérebro, redução do peso cerebral, aumento dos níveis de glutamato na fenda sináptica (Nogueira et al., 2001), aumento do influxo de cálcio em condições despolarizantes e hiperfosforilação de proteínas do citoesqueleto no córtex cerebral pelo aumento de atividade de cinases (Moreto et al., 2005; 2007; Funchal et al., 2006).

Essa molécula orgânica contendo telúrio possui potencial teratogênico em fetos de ratos, causando hidrocefalia, edemas e alterações nas medidas corporais fetais, além de efeitos tóxicos para a mãe. Além disso, provoca altas taxas de mortalidade pré e pós-natais (Stangherlin et al., 2005). A exposição materna ao ditelureto de difenila durante o período de amamentação altera as tendências comportamentais da sua prole. A exposição a este composto também causa estresse oxidativo no córtex cerebral, hipocampo e estriado dos filhotes, por meio da inibição da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e  $\delta$ -ALA-D. Estes estudos sugerem que o ditelureto de difenila (ou algum metabólito) consegue passar para os filhotes através do leite materno (Stangherlin et al., 2006).

#### **4.5. Estresse oxidativo**

Durante o metabolismo basal das células aeróbicas normais existe uma produção constante de espécies reativas de oxigênio (ERO), acompanhada pela sua contínua inativação através da ação de antioxidantes, de forma a manter a integridade estrutural e funcional das biomoléculas. A extensão e o tipo de dano causado pelos ERO dependem da quantidade e da natureza dos mesmos, bem como das defesas antioxidantes celulares (Davies, 1991).

O desequilíbrio entre os fenômenos pró-oxidativos e as defesas antioxidantes celulares pode desencadear mudanças fisiológicas, denominadas genericamente de estresse oxidativo (Croft, 1998). Este pode estar relacionado com vários processos deletérios, tais como: mutagênese, carcinogênese, peroxidação lipídica, oxidação e fragmentação de proteínas e carboidratos (Sies, 1986).



#### 4.6. Peroxidação lipídica

Os fosfolipídios apresentam uma cabeça polar e uma cauda hidrofóbica e são os principais constituintes das membranas celulares. Geralmente, estas caudas hidrofóbicas são compostas por ácidos graxos, que podem apresentar uma ou mais dupla ligação (insaturação) (Halliwell et al., 1989; Halliwell, 2007). Os radicais livres são espécies eletrofílicas extremamente reativas que podem reagir com os componentes celulares e podem atacar uma diversidade de biomoléculas alvos. A peroxidação lipídica (PL) consiste no ataque das EROs aos lipídios insaturados das membranas biológicas. Esta interação pode levar a modificação nos lipídios de membrana que conseqüentemente levará à perda nas características das membranas biológicas, criando fendas iônicas que alteram sua permeabilidade, o que favorece o trânsito indiscriminado de metabólitos e detritos celulares, provocando a lise celular (Josephy, 1997).

#### 4.6 Defesas antioxidantes

Segundo Halliwell e Gutteridge (1990), antioxidante, seria qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas a de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação deste substrato. 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 (Sies, 1993).

Entre as principais enzimas responsáveis pela defesa antioxidante do organismo destacam-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx), que constituem a primeira defesa endógena de neutralização das ERO. Com isso, as células tentam manter baixas as quantidades do radical superóxido e de peróxidos de hidrogênio, evitando assim, a formação do radical hidroxil (Boveris & Cadenas, 1997).

A SOD, presente na quase totalidade dos organismos eucarióticos, catalisa a dismutação do radical/ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (McCord & 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, 1990) (Fig. 3).

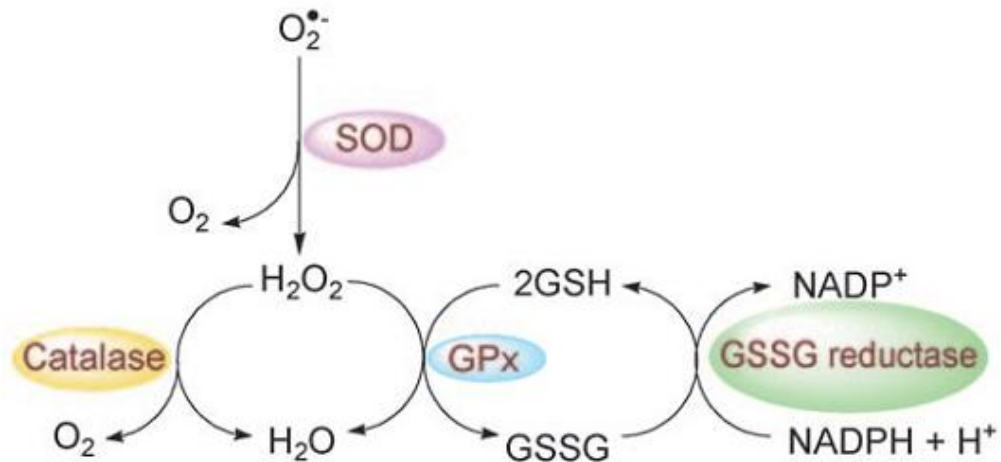


Figura 3: Esquema de detoxificação de ROS realizada por enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e glutaciona peroxidase.

Entre os antioxidantes não enzimáticos destaca-se o ácido ascórbico (vitamina C), que tem se mostrado eficiente contra as ERO (Rose, 1987). O ácido ascórbico age protegendo biomembranas contra a peroxidação, e perpetuando desta forma, a atividade do  $\alpha$ -tocoferol, um antioxidante não enzimático lipossolúvel. O ácido ascórbico é um dos antioxidantes mais importantes em tecidos de mamíferos (Banhegyi et al., 1997), sendo ele eficiente na redução da toxicidade de vários xenobióticos (Chakraborty et al., 1978; Chatterjee & Rudra Pal, 1975).

#### 4.7.1. Tiorredoxina Redutase

O sistema da tiorredoxina é composto pela enzima tiorredoxina redutase, tiorredoxina (Trx) e NADPH. Este sistema desempenha importantes funções na regulação do metabolismo redox e de inúmeros processos celulares, tais como a síntese de DNA, proliferação celular e processos apoptóticos. Este sistema está largamente distribuído em diferentes tecidos e órgãos em mamíferos (Rozell et al., 1985) e seu funcionamento é crítico para resposta celular a estresse, reparo de proteínas e proteção contra o dano oxidativo (Arner & Holmgren, 2000; Lillig & Holmgren, 2007). Além disso, trabalhos recentes (Carvalho et al., 2008; Du et al., 2009) indicam que a inibição da TrxR pode levar a efeitos deletérios nas células, levando a citotoxicidade e morte celular. De importância particular, a TrxR possui em suas subunidades grupos tiólicos e um grupo selenol/selenolato, o que a torna alvo em potencial a agentes que possuem a capacidade de oxidar tióis ou selenóis.

## 5. RESULTADOS

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito, intitulado “Ditelureto de difenila inibe a atividade da tiorreoxina redutase cerebral em camungongos adultos e causa estresse oxidativo”, o qual se encontra subdivido em introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e referências, seguido das legendas e figuras. O manuscrito está em fase final de redação.

# MANUSCRITO

- Em fase final de redação-

## **DITELURETO DE DIFENILA INIBE A ATIVIDADE DA TIOREOXINA REDUTASE CEREBRAL EM CAMUNDONGOS ADULTOS E CAUSA ESTRESSE OXIDATIVO**

**DIPHENYL DITELLURIDE INHIBITS CEREBRAL THIOREDOXIN REDUCATASE  
ACTIVITY IN ADULT MICE AND CAUSES OXIDATIVE STRESS**

Diphenyl ditelluride inhibits cerebral thioredoxin reductase activity in  
adult mice and causes oxidative stress

<sup>3</sup>Bruna Comparsi, <sup>3</sup>Daiane F. Meinerz; <sup>1,3</sup>Jeferson L. Franco; <sup>1,3</sup>Thaís Posser;;  
<sup>3</sup>Alessandro de Souza Prestes; <sup>3</sup>Sílvio Terra Stefanello; <sup>2</sup>Danúbia B. dos Santos;  
<sup>3</sup>Caroline Wagner; <sup>2</sup>Marcelo Farina; <sup>2</sup>Alcir L. Dafre; <sup>3</sup>João B. T. Rocha

<sup>1</sup>*Campus São Gabriel, Universidade Federal do Pampa, CEP 97300-000, São Gabriel, RS, Brazil.*

<sup>2</sup>*Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil*

<sup>3</sup>*Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brazil.*

\*Correspondence should be sent to:

João Batista Teixeira da Rocha

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: [jbtrocha@yahoo.com.br](mailto:jbtrocha@yahoo.com.br)

## Abstract

In this work, we investigated the effect of (PhTe)<sub>2</sub> administration (10 µmol/kg and 50 µmol/kg) to mice on the behavioral performance and on some parameters of oxidative stress in the brain and liver of adult mice. Adult mice received (PhTe)<sub>2</sub> or canola oil subcutaneously daily for 7 days. Results demonstrated that (PhTe)<sub>2</sub> induced classic signs of toxicity (body weight loss), behavioral alterations and increased in lipid peroxidation in brain. Fifty µmol/kg (PhTe)<sub>2</sub> inhibited blood δ-ALA-D, a redox sensitive enzyme. (PhTe)<sub>2</sub> caused an increase in cerebral non-protein thiol (NPSH) and protein thiol (PSH) groups. In liver, 50 µmol/kg (PhTe)<sub>2</sub> decreased NPSH but did not change protein thiol groups. (PhTe)<sub>2</sub> decreased cerebral antioxidant enzymes (CAT, SOD, GR, GPx and TrxR). In liver, (PhTe)<sub>2</sub> increase SOD and GR and decreased GPx activity. Data obtained here suggest that brain were more susceptible to oxidative stress induced by (PhTe)<sub>2</sub> than liver. Thus, the possible role of disrupted prooxidant/antioxidant balance in (PhTe)<sub>2</sub> toxicity was demonstrated. These results highlighted a possible molecular mechanism involved in the toxicity, particularly in the neurotoxicity associated with (PhTe)<sub>2</sub> exposure in adult mice.

Keywords: Diphenyl ditelluride; Organotellurium compounds; Oxidative stress; Toxicity; Antioxidant enzymes.

## Introduction

Despite the growing use of organotellurium compounds in the chemical and biochemical fields, there has been little concern about their toxicity. In fact, these compounds have been pointed out as promising and useful alternatives for numerous synthetic operations in organic synthesis (Petraghani, 1994; Zeni et al., 2003, 2006). Consequently, it is important to advance our understanding about their toxicological properties.

Previous studies have indicated that organotellurium compounds are potentially toxic and lethal to rodents at low doses (Meotti et al., 2003; Savegnago et al., 2006). Indeed, tellurides can cause cytotoxicity (Sailer et al., 2003, 2004; Iwase et al., 2004; Rooseboom et al., 2002), hepatotoxicity (Meotti et al., 2003), alterations in cerebral glutamatergic system (Nogueira et al., 2001, 2002), and teratogenic effects (Stangherlin et al., 2005). In addition, organotellurium compounds can inhibit cysteinyl-containing enzymes, such as  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase (Borges et al., 2005),  $\delta$ -ALA-D (Maciel et al., 2000; Nogueira et al., 2003a,c; Barbosa et al., 1998) and squalene monooxygenase (Laden and Porter, 2001).

Of particular importance, literature data have indicated that  $\delta$ -ALA-D is a potential marker of oxidative stress (Gonçalves et al., 2009a,b) and have indicated that the toxicity of organotellurides can be related to their interaction with thiol groups of important biomolecules (Nogueira et al., 2004). Furthermore, in vitro, organotellurium compounds can inhibit the activity of important antioxidant selenoproteins, such as thioredoxin reductase (Engman et al., 2000), which can help in explain the capacity of the tellurium to induce the formation of reactive oxygen species (Chen et al., 2001; Sandoval et al., 2010).

The thioredoxin (Trx) system, composed of thioredoxin reductase (TrxR), Trx, and NADPH, plays an important role in regulating redox metabolism and other cellular processes, such as DNA synthesis, cell proliferation, and apoptosis. This system is widely distributed in different mammalian organs and tissues (Rozell et al. 1985) and is critical for the cellular stress response, protein repair, and protection against oxidative damage (Arner and Holmgren, 2000; Lillig and Holmgren, 2007). TrxR has a broad range of functions; specifically, TrxR exhibits broad substrate specificity, reducing many low molecular compounds, including hydrogen peroxide, lipid hydroperoxides, ascorbate, lipoic acid, ubiquinone and Trx (Li et al., 2008). Of

particular importance, it has been reported that inhibition of mammalian TrxR can cause deleterious cellular effects, leading to cytotoxicity and cell death (Carvalho et al., 2008; Du et al., 2009). As pointed out above, organotellurium compounds can inhibit TrxR in vitro. However, there are no data about the potential inhibition of this enzyme after in vivo exposure to diphenyl ditelluride. Despite the potential involvement of disruption of the redox system in diphenyl ditelluride toxicity, reports on diphenyl ditelluride interactions with the Trx system and glutathione reductase are limited. Thus, in order to better characterize the toxicological properties and other biological activities of diphenyl ditelluride, the present study investigated the effects of (PhTe)<sub>2</sub> administration to adult mice on the behavioral performance, TBARS formation, generation of reactive oxygen species (ROS), and possible modulation of enzymatic and non enzymatic defense in response to (PhTe)<sub>2</sub> in different tissues. Particularly, we were interested to determine whether the selenoenzyme TrxR could be a in vivo molecular target for (PhTe)<sub>2</sub>.



## Materials and Methods

### *Chemicals*

The chemical structure of diphenyl ditelluride is shown in Fig. 1. This tested compound was synthesized by the method previously described (Petragani, 1994). It was dissolved in canola oil for *in vivo* assays. All other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers.

### *Animals*

Swiss adult male mice weighing 25-35g from our own breeding colony (Animal House-holding, UFSM, Brazil) were used for the experiments. The animals were kept in separate animal cages, in a temperature controlled room (22–25 °C) on a 12-h light/dark cycle with food and water available ad libitum. The animals were used in accordance to guidelines of the Committee on Care and use of Experimental Animal Resources of the Federal University of Santa Maria, Brazil.

### *In vivo exposure*

Mice were divided in three groups with five animals each. (1) control group (treated with Canola oil, 10 ml/kg, subcutaneously), (2) 10 µmol/kg of diphenyl ditelluride group, s.c., and (3) 50 µmol/kg diphenyl ditelluride group, s.c. (doses were based on an previous LD<sub>50</sub> study (Meotti et al., 2003), 1/50 and 1/10 of LD<sub>50</sub> respectively). The animals were treated daily for 7 days and non mortality was observed. In the 8<sup>th</sup> day, after the behavioral tests (open field and rotarod), the animals were sacrificed by decapitation and brain and liver were removed, weighted and prepared for biochemical analysis. The blood was collected for measurement δ- ALA-D activity.

### *Tissue preparation*

Brain and liver were removed, weighed, homogenized in Tris–HCl 50 mM buffer, pH 7.4 and centrifuged at 4000 ×g for 10 min at 4 °C. The low speed supernatant fraction obtained (S1) was maintained in ice-cold for the assays.

### *Behavioral tests*

After (PhTe)<sub>2</sub> treatment for 7 days, mice from each group (5 per group) were selected for the behavioral/functional tests that evaluate the animals locomotor activity and coordination (open-field and rotarod tasks). Initially, mice were subjected to the open-field test as previously described (Farina et al., 2005), with minor modifications. Open-field tests were performed in a separated room with no interference noise or human activity. The locomotor activity was assessed during the treatment in sessions of 2 min using an open-field box measuring 56 (long) x 42 (wide) x 40 cm (high) with the floor divided into 12 squares. The number of squares crossed with the four paws was used as a measure of locomotor activity. After the open-field test, mice were subjected to the rotarod task which was based on the study of Duhan and Miya (1957), with minor modifications. In short, the homemade apparatus consisted of a bar with a diameter of 2.5 cm subdivided into four compartments by disks of, 25 cm with diameters. The bar rotated at a constant speed of 17 rpm and the durations (s) that the mice remained on the apparatus were recorded. Each mice was subjected to three trials and the mean of their values for remaining on the apparatus was used in the statistical analysis as actual value.

### *Enzyme assays*

The glutathione reductase (GR) activity was determined according to Carlberg and Mannervik (1985). Glutathione peroxidase (GPx) activity was measured indirectly by monitoring the consumption of NADPH at 340 nm according to Wendel (1981). Catalase (CAT) activity was measured according to Aebi (1984). Superoxide dismutase (SOD) activity was based on the decrease in cytochrome c reduction (Misra and Fridovich, 1977). The activity of blood  $\delta$ -ALA-D was assayed according to the method of Berlin and Schaller (1974) by measuring the rate of product (porphobilinogen) formation. Thioredoxin reductase (TrxR) activity was measured by the method described by Arner et al. (1999), with minimal modifications.

### *Thiol status*

The non-protein thiols (NPSH) was measured based on Ellman (1959) with minor modifications (Franco et al., 2006). Protein thiols (PSH) were measured colorimetrically using Ellman's reagent. After colorimetric reaction, absorbance was measured at 412 nm. GSH and PSH were estimated using the molar extinction

coefficient of  $13,600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . A sample blank without Ellman's reagent was run simultaneously.

#### *Lipid peroxidation assay*

The end products of the lipid peroxidation were determined in tissue samples by the method of Ohkawa et al. (1979) as thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) with minor modifications. The amount of TBARS produced was measured at 532 nm, using MDA as an external standard.

#### *Estimation of reactive oxygen species (ROS) production*

The generation of reactive oxygen species was determined spectrofluorimetrically, using the membrane permeable fluorescent dye  $\text{H}_2\text{-DCFDA}$  ( $1 \mu\text{M}$ ; LeBel et al., 1992; Garcia-Ruiz et al., 1997).

#### *Protein quantification*

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

#### *Statistical analysis*

Data from experiments were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test when appropriate. All differences with  $P < 0.05$  were considered significant.

## Results

### *Overt Signs of Diphenyl Ditelluride Toxicity*

Exposure to (PhTe)<sub>2</sub> caused garlic-like odor, partial paralysis of hind legs, tremors, hair and body weight loss. In fact, 50 µmol/kg (PhTe)<sub>2</sub> caused a marked reduction on body weight gain that was apparent at 24 h after administration and persisted until the end of the treatment (Fig 2).

### *Open-field and Rotarod test*

(PhTe)<sub>2</sub> caused a significant impairment in motor performance in the open-field (Fig 3 A) and in the rotarod apparatus (Fig. 3B).

### *Lipid peroxidation and Reactive oxygen species*

(PhTe)<sub>2</sub> at concentrations of 10 µmol/kg and 50 µmol/kg was able to increase cerebral TBARS formation (Fig. 4A); however, no alteration was detected in the liver of treated mice (Fig. 4B). In contrast to lipid peroxidation, cerebral and hepatic ROS generation was not modified by the treatment with (PhTe)<sub>2</sub> (Fig. 4C; 4D).

### *Thiol status*

Cerebral non protein thiol (NPSH) (Fig. 5A) and protein thiol (PSH) (Fig. 5C) groups were significantly higher in the brain of (PhTe)<sub>2</sub>-exposed mice than in control animals. In contrast, 50 µmol/kg (PhTe)<sub>2</sub> caused a significant decrease in hepatic NPSH (Fig. 5B) content and (PhTe)<sub>2</sub> did not change hepatic PSH (Fig. 5D).

### *Blood δ-Aminolevulinate dehydratase (δ-ALA-D) activity*

δ-Aminolevulinate dehydratase from total blood of mice was inhibited by 37% at the dose of 50 µmol/kg of (PhTe)<sub>2</sub> (Fig. 6).

### *Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase (CAT) activity*

Exposure to (PhTe)<sub>2</sub> caused significant decreased in SOD activity in brain (Fig. 7A), whereas it caused an increase in hepatic SOD activity (Fig 7B).

(PhTe)<sub>2</sub> caused a significant inhibition of cerebral catalase activity at the dose of 10 µmol/kg (fig.7C), but this inhibition was not observed for the dose of 50 µmol/kg (Fig 7C). Hepatic CAT was not modified by (PhTe)<sub>2</sub> (Fig 7D).

#### *Glutathione Reductase (GR) and Glutathione Peroxidase (Gpx) activity*

(PhTe)<sub>2</sub> exposure decreased cerebral GR and Gpx activity at the dose of 10 µmol/kg and did not change enzyme activities at 50 µmol/kg (Fig 7E and G, respectively). In contrast, 50 µmol/kg (PhTe)<sub>2</sub> increased hepatic GR activity (Fig. 7F). Hepatic Gpx activity was decreased after exposure to (PhTe)<sub>2</sub> (Fig 7H).

#### *Thioredoxin Reductase Activity*

Cerebral TrxR activity was dose dependently inhibited by (PhTe)<sub>2</sub> treatment (Fig 8A); however, this was not observed in liver (Fig 8B).

## Discussion

(PhTe)<sub>2</sub> treatment provoked neurotoxicity as determined by changes in neurochemical parameters and by behavioral alterations in mice. In fact, (PhTe)<sub>2</sub> promoted a significant reduction in body weight, that has been previously correlated with the toxicity of (PhTe)<sub>2</sub> by Stangherlin et al. (2006). The partial paralysis of hind limbs and tremors, which could be related to neuronal damage, accompanied by behavioral alterations were also observed in mice exposed to (PhTe)<sub>2</sub>. In addition (PhTe)<sub>2</sub> treatment changed hepatic biochemical parameters. These results indicate a general toxicity promoted by (PhTe)<sub>2</sub> intoxication.

Behavioral tests, such as the open-field task, permit the evaluation of primary motor activity. Previous studies have shown that exposure to tellurium compounds can lead to general motor impairments in experimental animals mainly by their demyelinating properties (Rawlins and Smith, 1971; Rodgers et al., 1997; Said et al., 1981). The present study indicated a general impairment in exploratory activity and in motor coordination after exposure to (PhTe)<sub>2</sub>, indicating a general neurobehavioral toxicity of diphenyl ditelluride in mice.

(PhTe)<sub>2</sub> caused a marked increase in cerebral TBARS formation and reduction in the activity of the antioxidant enzymes CAT, SOD, GR, GPx and TrxR, suggesting a possible involvement of cerebral injury (particularly a disruption of the antioxidant system) in the motor alteration caused by (PhTe)<sub>2</sub>. In fact, previous results from our research group demonstrated an ansiolytic-like behavior induced by (PhTe)<sub>2</sub> exposure to young rats indicating that the brain is an important target for the action of this compound (Stangherlin et al., 2006).

Trx is the major ubiquitous disulfide reductase responsible for maintaining proteins in their reduced state (Holmgren, 1985). The thiol-disulfide exchange reactions are rapid and reversible, which are suited to control protein function via the redox state of structural or catalytic SH groups. This mechanism of thiol redox control is of physiological importance in many crucial processes such as enzyme activity and transcription factor modulation (Bjornstedt et al., 1997). Here, we have observed for the first time that (PhTe)<sub>2</sub> inhibited cerebral TrxR, which can be related to the high neurotoxicity of this compound. Consistent with this, literature have indicated that organotellurium compounds can inhibit TrxR and can caused in vitro cytotoxicity (Engman et al., 2000; Engman et al., 2003).

On other hand, Freitas e cols (2010) has demonstrated that diphenyl diselenide and 4,4'-bistrifluoromethyl-diphenyl diselenide, 4,4'-bismethoxy-diphenyl diselenide, 4,4'-biscarboxy-diphenyl diselenide, 4,4'-bischloro-diphenyl diselenide, 2,4,6,2',4',6'-hexamethyl-diphenyl diselenide (analogs) are good substrated for mammalian TrxR. Selenium has a similar electronic configuration to tellurium and, consequently, it shares some chemical properties with tellurium.

The exposure to  $(\text{PhTe})_2$  induced an increase in thiol content in brain of mice. This increase could be explained by the adaptive response of cerebral tissue to the redox disruption caused by  $(\text{PhTe})_2$ . In addition, our results are in accordance with Stangherlin et al. (2009), which have also demonstrated an increase in the levels of non protein thiol groups in the cerebral structures of young rats after exposure to  $(\text{PhTe})_2$  via maternal milk. In contrast to brain,  $(\text{PhTe})_2$  caused a decrease in hepatic non protein thiol. Literature have consistently indicated that organic compounds of Te can oxidize SH groups from proteins and from low molecular weight thios, inactivating enzymes and / or decreasing the concentration of non-protein sulfhydryl molecules (Blais et al., 1972; Nogueira et al. 2004). These results indicated that the response to  $(\text{PhTe})_2$  exposure in brain is different to response in liver exposition.

In addition to changes in thiol content,  $(\text{PhTe})_2$  caused inhibition of  $\delta$ -ALA-D activity in blood of mice. This inhibition is probably a consequence of thiol oxidation induced by exposure to  $(\text{PhTe})_2$ . In line with this, in vitro studies have demonstrated that sulfhydryl-containing enzymes are molecular targets for  $(\text{PhTe})_2$  (Borges et al. 2005).

The data obtained here suggest that brain were more susceptible to oxidative stress induced by  $(\text{PhTe})_2$  than liver. At this point it should be emphasized that CNS has an extraordinary high metabolic rate, as it consumes about 20% of oxygen inspired at rest, while accounting for only 2% of the body weight (Kann and Kovács, 2007). In this context, the brain is very susceptible to oxidative stress due to its high oxygen consumption, its high iron and lipid contents, especially polyunsaturated fatty acids, and the low activity of antioxidant defenses, a fact that makes this tissue more vulnerable to increased levels of reactive species (Halliwell and Gutteridge, 1985, 2007; Floyd, 1999). In fact, oxidative stress has been implicated in the pathophysiology of common neurodegenerative disorders, such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease, as well as in epileptic seizures and demyelination (Bogdanov et al., 2001; Behl and Moosmann, 2002; Berg and Youdim, 2006). Thus,

we can suppose that the oxidative stress elicited by (PhTe)<sub>2</sub> can be involved in its neurotoxicity in adult mice.

## References

AEBI H (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105:121–126.

ARNÉR ES, HOLMGREN A (2000) Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem* 267:6102–6109.

ARNER ES, ZHONG L, HOLMGREN A (1999) Preparation and assay of mammalian thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods Enzymol* 300:226-39.

BARBOSA NBV, ROCHA JBT, ZENI G, EMANUELLI T, BEQUE MC, BRAGA AL (1998) Effect of organic forms of Selenium on delta-aminolevulinic acid dehydratase from liver, kidney and brain of adult rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 149:243–253.

BEHL C, MOOSMANN B (2002) Oxidative nerve cell death in Alzheimer's disease and stroke: antioxidants as neuroprotective compounds. *Biol. Chem.* 383:521–536.

BERG D, YODIM, MB (2006) Role of iron in neurodegenerative disorders. *Top. Magn. Reson. Imag.* 17:5–17.

BERLIN A, SCHALLER KH (1974) European Standardized Method for the determination of d-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 389-390.

BJORNSTEDT M, KUMAR S, BJORKHEM L, SPYROU G, HOLMGREN A (1997) Selenium and the thioredoxin and glutaredoxin systems. *Biomed. Environ. Sci.* 10: 271–279.

BLAIS FX, ONISCHUK RT, DE MEIO RH (1972) Hemolysis by tellurite: I: The tellurite test for Hemolysis. *J.AOA* 73:45-51.

BOGDANOV MB, ANDREASSEN OA, DEDEOGLU A, FERRANTE RJ, BEAL MF (2001) Increased oxidative damage to DNA in a transgenic mouse of Huntington's disease. *J. Neurochem.* 79:1246–1249

BORGES VC, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2005) Effect of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen on cerebral Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase activity in rats. *Toxicology* 215:191–197.

BRADFORD MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.



CALBERG I, MANNERVIK B (1985) Glutathione reductase. *Methods in Enzymology* 113:484–490

CARVALHO C.M., CHEW E.H., HASHEMY S.I., LU J., HOLMGREN A. (2008) Inhibition of the human thioredoxin system. A molecular mechanism of mercury toxicity. *J Biol Chem* 283: 11913 -11923.

CHEN F, VALLYATHAN V, CASTRANOVA V, SHI X (2001) Cell apoptosis induced carcinogenic metals. *Molecular and Cellular Biochemistry* 221:183–188.

DU Y, WU Y, CAO X, CUI W, ZHANG H, TIAN W, JI M, HOLMGREN A, ZHONG L (2009) Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by black tea and its constituents: Implications for anticancer actions. *Biochimie* 91:434 - 444.

DUHAN NW, MIYA TS (1957) A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Am. Pharm. Assoc.* 46:208–209.

ELLMAN GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82:70-77

ENGMAN L, AL-MAHARIK N, MCNAUGHTON M, BIRMINGHAM A, POWIS G (2003) Thioredoxin reductase and cancer cell growth inhibition by organotellurium antioxidants. *Anticancer Drugs* 14(2):153-61.

ENGMAN L, KANDA T, GALLEGOS A, WILLIAMS R, POWIS G (2000) Water-soluble organotellurium compounds inhibit thioredoxin reductase and the growth of human cancer cells. *Anti-Cancer Drug Design* 15:323–330.

FARINA M, CERESER V, PORTELA LV, MENDEZ A, PORCIUNCULA LO, FORNAGUERA J, GONC-ALVES CA, WOFCHUK ST, ROCHA JBT, SOUZA DO (2005) Methylmercury increases S100B content in rat cerebrospinal fluid. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 19:249–253.

FLOYD RA (1999) Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 222:236–245.

FRANCO JL, RIVELLA DB, TREVISAN R, DINSLAKEN DF, MARQUES MR, BAINY AC, DAFRE AL (2006) Antioxidant status and stress proteins in the gills of the brown mussel *Perna perna* exposed to zinc. *Chem. Biol. Interact.* 160:232–240.

FREITAS AS, PRESTES AS, WAGNER C, SUDATI JH, ALVES D, OLIVEIRA LP, KADE JL, ROCHA JBT (2010) Reduction of diphenyl diselenide and analogs by Mammalian thioredoxin reductase is independent of their glutathione peroxidase-like activity: a possible novel pathway for their antioxidant activity. *Molecules* 28;15(11):7699-714.

GARBERG P, ENGMAN L, TOLMACHEV V, LUNDQVIST H, GERDES RG, COTGREAVE IA (1999) Binding of tellurium to hepatocellular selenoproteins during incubation with inorganic tellurite: consequences for the activity of selenium-

dependent glutathione peroxidase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 31, 291–301.

GARCIA-RUIZ C., COLELL A., MARI M., MORALES A. AND FERNANDEZ-CHECA J. C. (1997) Direct effect of ceramide on the mitochondrial electron transport chain leads to generation of reactive oxygen species. Role of mitochondrial glutathione. *J. Biol. Chem.* 272:11369-11377.

GONCALVES TL, BENVEGNO DM, BONFANTI G, FREDIANI AV, ROCHA JBT (2009a) Delta-ALA-D activity is a reliable marker for oxidative stress in bone marrow transplant patients. *BMC CANCER* 9:138-143.

GONCALVES TL, BENVEGNO DM, BONFANTI G, FREDIANI AV, ROCHA JBT (2009b) Delta-Aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress during melphalan and cyclophosphamide-BCNU-etoposide (CBV) conditioning regimens in autologous bone marrow transplantation patients. *Pharmacological research* (59) 4:279-284.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1985) Oxygen radicals and the nervous system. *Trend Neurosci.* 8: 22–26.

HOLMGREN A (1985) Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem* 54: 237– 271.

IWASE K, TATSUISHI T, NISHIMURA Y, YAMAGUCHI J, OYAMA Y, MIYOSHI N, WADA M (2004) Cytometric analysis of adverse action of diphenyl ditelluride on rat thymocytes: cell shrinkage as a cytotoxic parameter. *Environmental Toxicology* 19:614–619.

LADEN BP, PORTER TD (2001) Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds: evidence of interaction with vicinal sulfhydryls. *Journal of Lipid Research* 42:235–240.

LEBEL C P, ISCHIROPOULOS H, BONDY S C (1992) Evaluation of the probe 20,70-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* 5:227-231.

LI D, WUB K, HOWIE AF, BECKETT GF, WANG W, BAO Y (2008) Synergy between broccoli sprout extract and selenium in the upregulation of thioredoxin reductase in human hepatocytes. *Food Chem* 110:193 - 198.

LILLIG C.H. and HOLMGREN A. (2007) Thioredoxin and related molecules: from biology to health and disease. *Antioxid Redox Signal* 9: 25 - 47.

MACIEL EN, BOLZAN RC, BRAGA AL, ROCHA JBT (2000) Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect delta-aminolevulinate dehydratase from liver, kidney and brain of mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 14:310–319.

MEOTTI FC, BORGES VC, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2003) Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for a rats and mice. *Toxicol. Lett.* 143:9–13.

MISRA HP, FRIDOVICH I (1972) The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry* 247:3170–3175

NOGUEIRA CW, BORGES VC, ZENI G, ROCHA JBT (2003a) Organochalcogens effects on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase activity from human erythrocytic cells in vitro. *Toxicology* 191:169–178.

NOGUEIRA CW, ROTTA LN, PERRY ML, SOUZA DO, ROCHA JBT (2001) Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect the rat glutamatergic system in vitro and in vivo. *Brain Research* 906:157–163.

NOGUEIRA CW, ROTTA LN, ZENI G, SOUZA DO, ROCHA JBT (2002) Exposure to selenium changes glutamate uptake and release by rat brain synaptosomes. *Neurochemical Research* 27:283–288.

NOGUEIRA CW, SOARES FA, NASCIMENTO PC, MULLER D, ROCHA JBT (2003b) 2,3 dimercaptopropane-1-sulfonic acid and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid increase mercury- and cadmium-induced inhibition of  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase. *Toxicology* 84:85–95.

NOGUEIRA CW, ZENI G, ROCHA JBT (2004) Organoselenium and organo-tellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chemical Reviews* 104:6255–6285.

OHKAWA H, OHISHI N, YAGI K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95:351–358.

PETRAGNANI N (1994) Preparation of the principal classes of organic tellurium compounds. In: *Tellurium in Organic Synthesis*. Academic Press, London, 9–88.

RAWLINS FA, SMITH ME (1971) Myelin synthesis in vitro: a comparative study of central and peripheral nervous tissue. *J. Neurochem.* 18:1861–1870.

RODGERS TJ, CAO BJ, DALVI A, HOLMES A (1997) Animals models of anxiety: an ethological perspective, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30:289–304.

ROOSEBOOM M, VERMEULEN NPE, DURGUT F, COMMANDEUR JNM (2002) Comparative study on the bioactivation mechanisms and cytotoxicity of Te-Phenyl-L-tellurocysteine, Se-Phenyl-L-selenocysteine and S-Phenyl-L-cysteine. *Chemical Research in Toxicology* 15:1610–1618.

ROZELL B, HANSSON H A, LUTHMAN M, HOLMGREN A (1985) Immunohistochemical localization of thioredoxin and thioredoxin reductase in adult rats. *Eur J Cell Biol* 38:79 - 86.

SAID G, DUCKETT S, SAURON B (1981) Proliferation of Schwann cells in tellurium-induced demyelination in young rats. A radioautographic and teased nerve fiber study, *Acta Neuropathol. (Berl.)* 155:173–179.

SAILER BL, LILES N, DICKERSON S, CHASTEEN TG (2003) Cytometric determination of novel organotellurium compound toxicity in a promyelocytic (HL-60) cell line. *Archives of Toxicology* 77:30–36.

SAILER BL, LILES N, DICKERSON S, SUMNERS S, CHASTEEN TG (2004) Organotellurium compound toxicity in a promyelocytic cell line compared to non-tellurium- containing organic analog. *Toxicol in vitro* 18:475-482.

SANDOVAL JM, LEVEQUE P, GALLEZ B, VASQUEZ CC, CALDERON PB (2010) Tellurite-induced oxidative stress leads to cell death of murine hepatocarcinoma cells. *Biometals* (23) 4: 623-632.

SAVEGNAGO L, BORGES VC, ALVES D, JESSE C, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2006) Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1- uthyltelurenyl-2-methylthioheptene. *Life Sciences* 79:1546–1552.

STANGHERLIN E C, ROCHA J B, NOGUEIRA CW (2009) Diphenyl ditelluride impairs short term memory and alters neurochemical parameters in young rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 91:430–435.

STANGHERLIN EC, FAVERO AM, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA C.W (2005) Teratogenic vulnerability of Wistar rats to diphenyl ditelluride. *Toxicology* 20:561–568.

STANGHERLIN EU, FAVERO AM, WEIS SN, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2006) Assessment of reproductive toxicity in male rats following acute and sub-chronic exposures to diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride. *Food Chem Toxicol* 44:662–9.

WENDEL A (1981) Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology* 77:325–333.

ZENI G, BRAGA A L, STEFANI H A (2003) Palladium-catalyzed coupling of sp(2)-hybridized tellurides. *Accounts Chem Res.* 10:731-738.

ZENI G, LUDTKE D, PANATIERI RB, BRAGA AL (2006) Vinylic tellurides: from preparation to their applicability in organic synthesis. *Chem. Rev.*106:1032–1076.

## Legends:

**Figure 1:** The chemical structure of diphenyl ditelluride.

**Figure 2:** Effect of (PhTe)<sub>2</sub> on the body weight gain of adult mice. Data are reported as percented  $\pm$  S.E.M. of 5 animals per group. (\*) Denotes  $p < 0.05$  as compared to the control groups (one-way ANOVA/Duncan); (●) control, (■) 10  $\mu$ mol (PhTe)<sub>2</sub> and (▲) 50  $\mu$ mol (PhTe)<sub>2</sub> groups.

**Figure 3:** Effects of Diphenyl Ditellurite on locomotor profile of adult mice. (A) Open field test. Number of crossings in 2 min. Values of number of crossings are presented as means $\pm$ S.E.M.,  $n = 5$  per group. (B) Rotarod test. In the rotarod test, each mice was subjected to three trials and the mean of their values for remaining on the apparatus was used in statistical analysis. The time of remaining on the apparatus is expressed as seconds (means $\pm$ S.E.M.),  $n = 5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group and # represents significant differences from (PhTe)<sub>2</sub> 10  $\mu$ mol groups.

**Figure 4:** Effects of Diphenyl Ditellurite on lipid peroxidation (4A; 4B) and reactive oxygen species (4C; 4D) in brain and liver of adult mice. Data are reported as mean $\pm$ S.E.M.,  $n = 5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group.

**Figure 5:** Effects of Diphenyl Ditellurite on NPSH and PSH levels in brain (A; C) and liver (B; D) of mice. Data are reported as mean $\pm$ S.E.M.,  $n = 5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group.

**Figure 6:** Effects of Diphenyl Ditellurite on  $\delta$ -ALA-D levels in blood of mice. Data are reported as mean $\pm$ S.E.M.,  $n = 5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group and # represents significant differences from (PhTe)<sub>2</sub> 10 $\mu$ M groups.

**Figure 7:** Effects of Diphenyl Ditellurite on the activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (7A; 7B), catalase (7C; 7D), glutathione reductase (7E; 7F), and glutathione peroxidase (7G; 7H) in brain and liver of adult mice. Data are reported as mean±S.E.M.,  $n=5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group and # represents significant differences from (PhTe)<sub>2</sub> 10μM groups.

**Figure 8:** Effects of Diphenyl Ditellurite on TrxR activity in brain (A) and liver (B) of mice. Data are reported as mean±S.E.M.,  $n=5$  per group. One way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests. \* represents significant differences from control group and # represents significant differences from (PhTe)<sub>2</sub> 10μM groups.

Figure 1

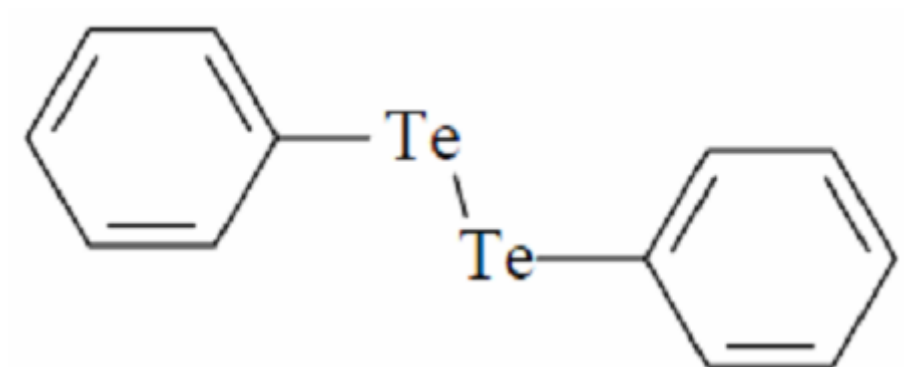


Figure 2

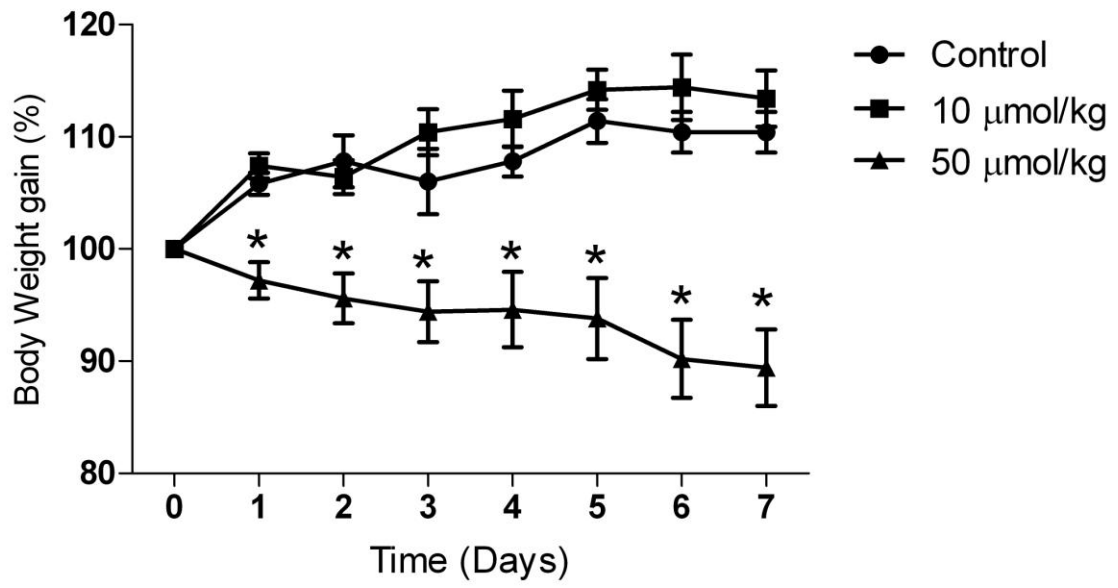




Figure 3

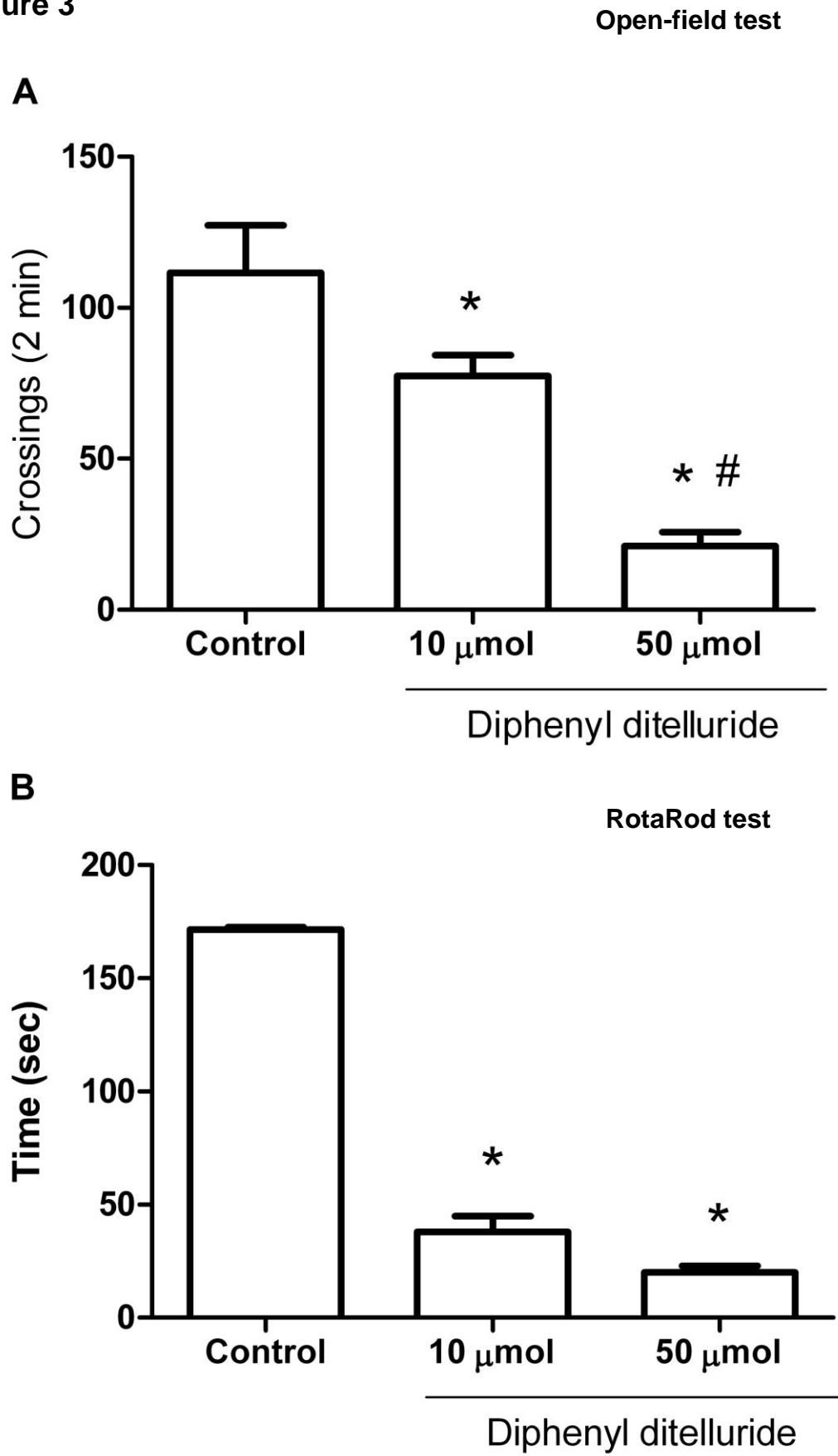


Figure 4

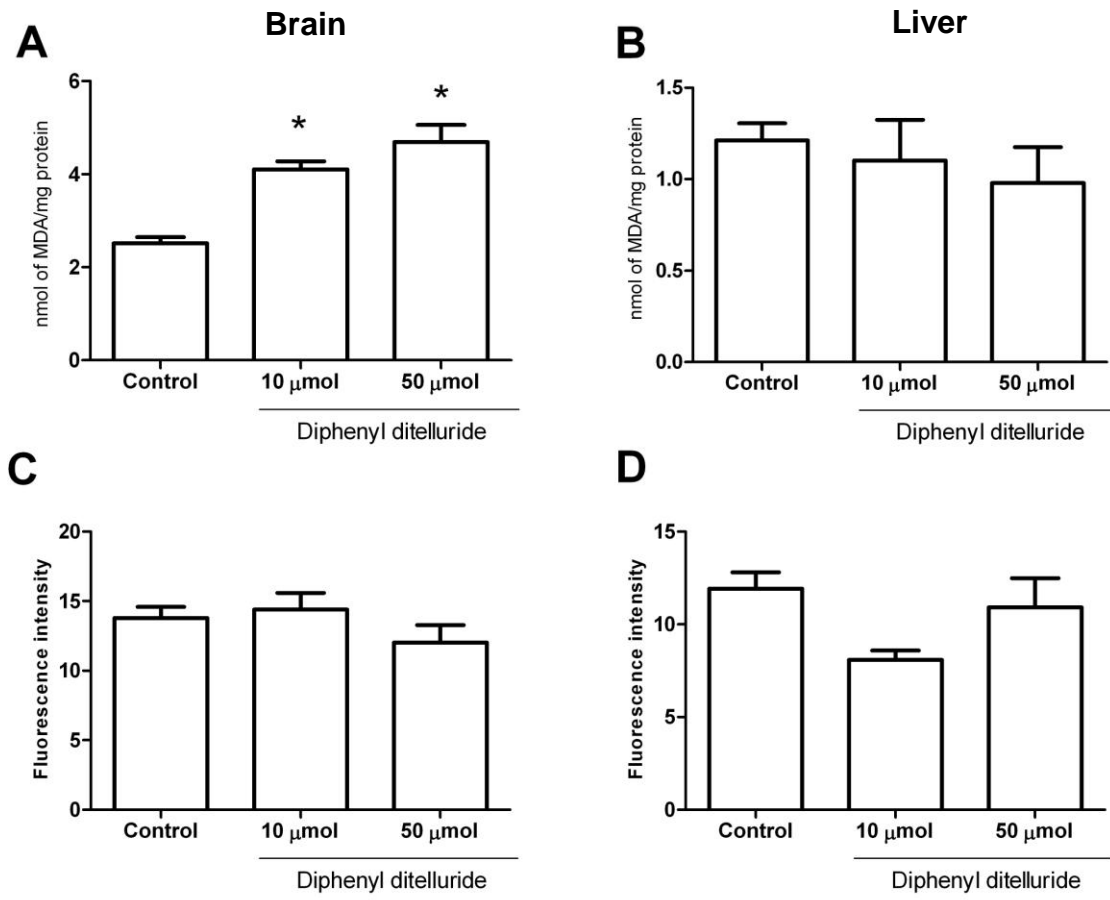


Figure 5

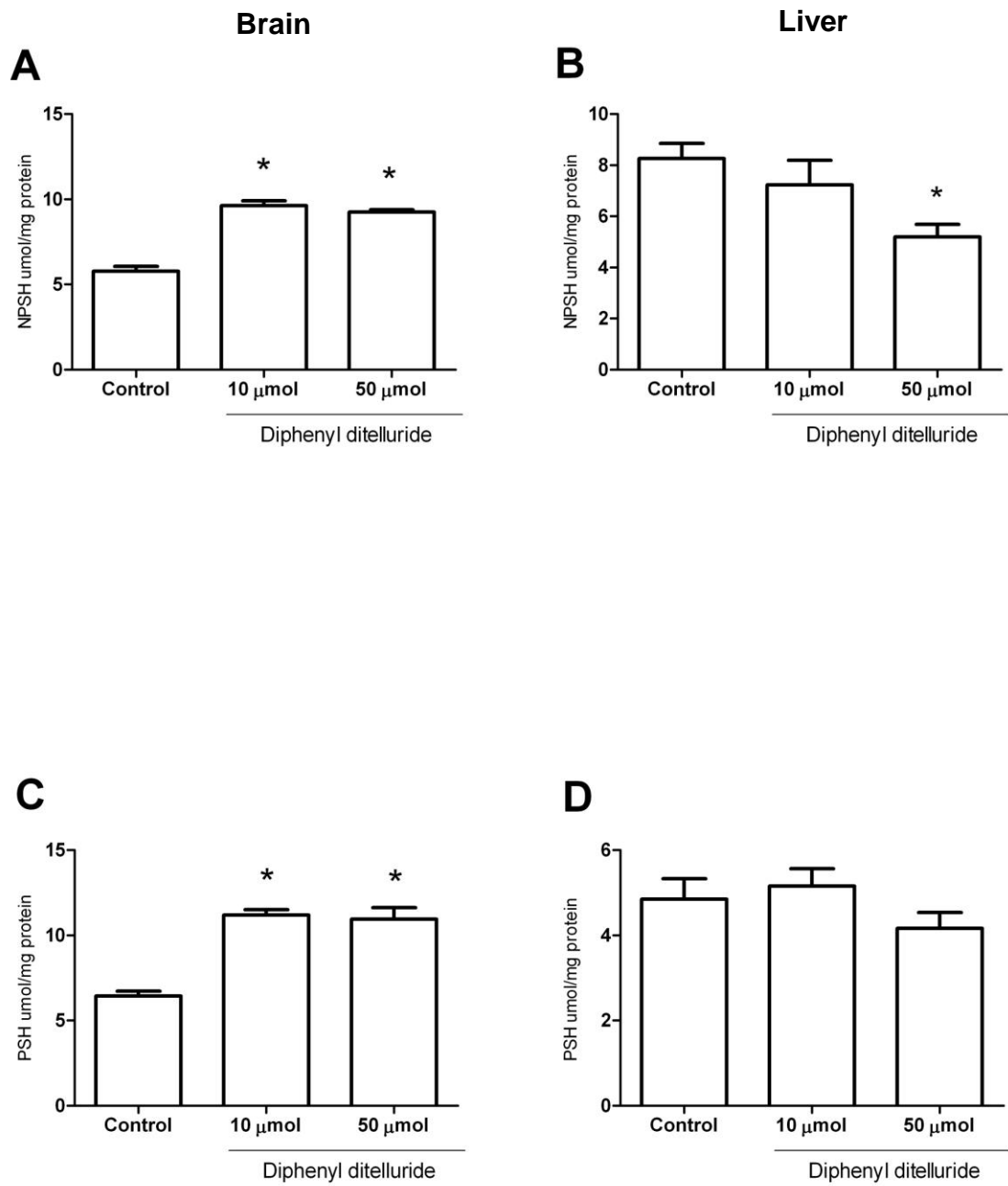


Figure 6

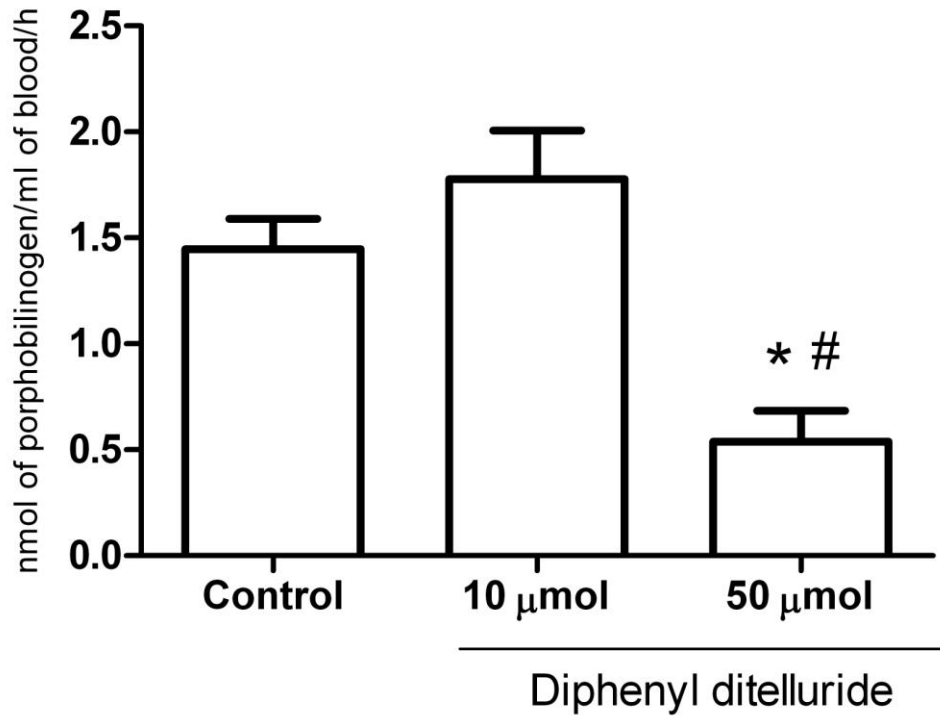


Figure 7

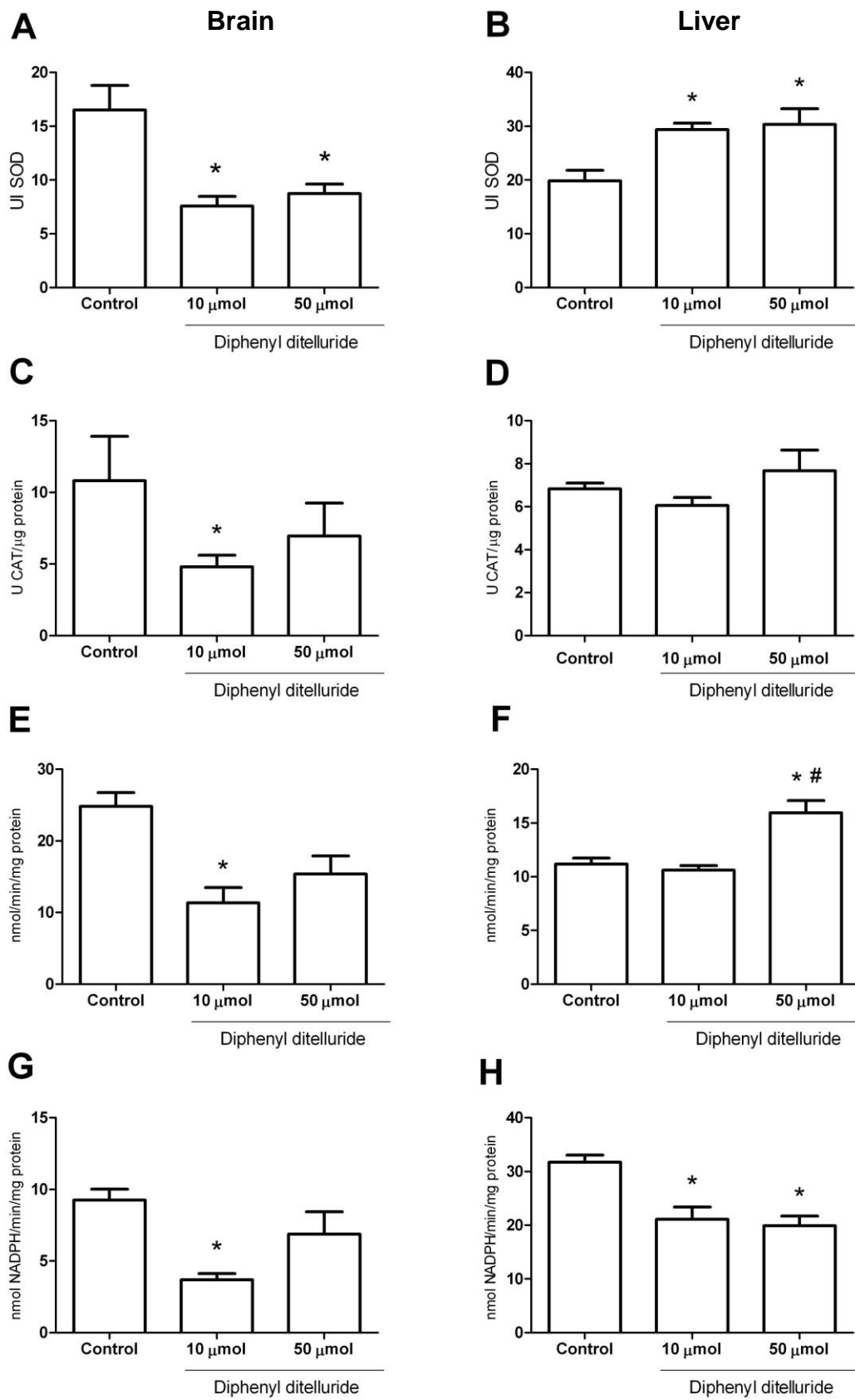
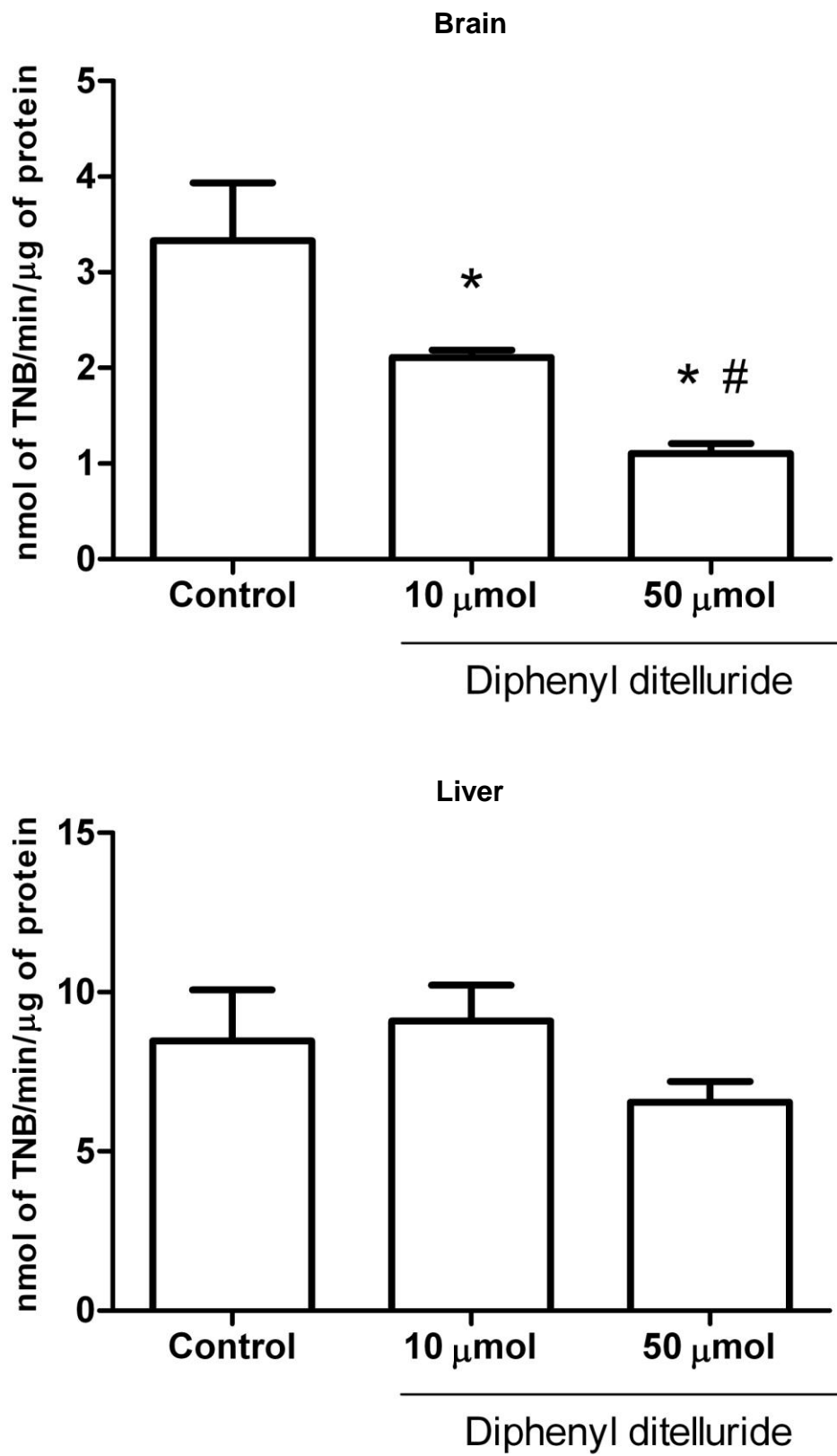


Figure 8



## 6. DISCUSSÃO

Avaliações toxicológicas para compostos orgânicos de telúrio são baseadas na toxicidade relativa usando organismos como, ratos (Morgan et al., 1995; Nogueira et al., 2001) e camundongos (Maciel et al., 2000; Roman et al., 2007), avaliação do efeito da dose em tecidos (Barbosa et al., 1998; Jortner, 2000) ou inibição do crescimento celular em cultura (Sailer et al., 1999). Nosso grupo de estudos tem obtido evidências de que o ditelureto de difenila é neurotóxico em camundongos (Moretto et al., 2003; Pinton et al., 2010 a; Roman et al., 2007) e teratogênico em fetos de ratos (Stangherlin et al., 2005). Entretanto, alterações bioquímicas e sinais clínicos da exposição a este composto não estão bem claros. Apesar do aparente envolvimento no desequilíbrio do sistema redox na toxicidade do ditelureto de difenila e da capacidade que compostos de telúrio possuem em interagir com grupos tiólicos, relatos da interação do ditelureto de difenila com o sistema Trx e a atividade da glutathione redutase são limitados. Considerando que a exposição humana a compostos orgânicos de Te esta aumentando devido ao seu importante papel na síntese orgânica, o que pode provocar riscos ocupacionais e ambientais para a saúde humana (Zeni et al., 2006), investigou-se o perfil comportamental, peroxidação lipídica, geração de espécies reativas ao oxigênio, modulação de defesas enzimáticas e não enzimáticas em resposta a exposição ao  $(\text{PhTe})_2$ . Neste contexto, investigou-se se a selenoenzima TxrR poderia estar envolvida no mecanismo de toxicidade do  $(\text{PhTe})_2$ .

Este estudo demonstrou que o  $(\text{PhTe})_2$  é neurotóxico para camundongos adultos, assim como descrito previamente por Maciel e cols (2000).  $(\text{PhTe})_2$  alterou parâmetros neuroquímicos, perfil comportamental, promoveu marcada redução no peso corpóreo, bem como, paralisia dos membros inferiores e tremores. Além disso, o tratamento com  $(\text{PhTe})_2$  alterou parâmetros bioquímicos hepáticos (NPSH, SOD, GR e GPx). Desta forma, nossos resultados indicam toxicidade geral dos animais expostos.

Considerando que a ação do sistema nervoso e alterações em seu funcionamento causado por xenobióticos pode ser estimada através do desempenho dos animais em vários testes comportamentais (Genn et al., 2003; Graeff et al., 1998; Lalonde et al., 2003) e que a exposição a compostos de Te pode levar a deficiência motora geral em cobaias, principalmente por suas propriedades

desmielinizantes (Rawlins & Smith, 1971; Rodgers et al., 1997; Said et al., 1981), avaliou-se possíveis alterações na atividade exploratória e desempenho motor dos animais expostos ao (PhTe)<sub>2</sub>. Para este fim, utilizamos a locomoção na arena de campo aberto e o desempenho apresentado no teste de cilindro giratório. Os resultados de ambos os testes indicaram que o (PhTe)<sub>2</sub> causa toxicidade neurocomportamental em camundongos adultos.

Nas análises bioquímicas, o (PhTe)<sub>2</sub> foi capaz de alterar a produção de TBARS cerebral, um marcador bioquímico de dano de biomembranas. Estes dados estão de acordo com estudos prévios, onde a exposição sub-crônica ao (PhTe)<sub>2</sub>, via leite materno, causou estresse oxidativos em estruturas cerebrais de ratos jovens (Stangherlin et al., 2006). Entretanto, ambas as doses de (PhTe)<sub>2</sub> testadas aqui, não provocaram alterações nos níveis de TBARS no fígado dos animais tratados, concordando com os resultados de Ávila et al (2007), onde o dietil-2-fenil-2-telurofenil vinilfosfonato não alterou a produção hepática e renal de TBARS. Por outro lado, a administração repetida de (PhTe)<sub>2</sub> aumentou os níveis hepáticos e renais em ratos (Borges et al., 2007).

Um mecanismo proposto para a toxicidade de compostos de Te, esta relacionado a geração de radicais livres como produto de sua interação com tióis (Turner et al., 2001; Tantaleán et al., 2003). Nossos resultados, não demonstraram alterações na formação de ROS cerebral e hepática (quantificados pela oxidação da diclorofluoresceína). Há poucos relatos na literatura relacionados à formação de ROS e compostos de Te, Savegnago et al. (2006) ao demonstrar propriedades farmacológicas e toxicológicas do **1-buthyltelurenyl-2-methylthioheptene** relatou redução na formação de ROS na presença deste composto orgânico de Te.

A exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> induziu um aumento no conteúdo tiólico cerebral. Este aumento pode estar relacionado a uma resposta adaptativa do tecido cerebral aos efeitos pró-oxidantes do (PhTe)<sub>2</sub>. Isto pode em parte, refletir a participação deste sistema de defesa antioxidante no mecanismo pelo qual o (PhTe)<sub>2</sub> causa danos toxicológicos no cérebro de camundongos. Desta forma, nossos resultados estão de acordo com Stangherlin et al. (2009), que também demonstrou aumento nos níveis de tióis não protéicos em estruturas cerebrais de ratos jovens expostos ao (PhTe)<sub>2</sub> via leite materno.

Ao contrário do cérebro, no fígado a exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> (50 µmol/kg) ocasionou diminuição nos níveis de tióis não protéicos, o que está de acordo com



dados da literatura que demonstram a redução de tióis após a exposição a compostos de Te e com a capacidade dos mesmos de oxidar os grupamentos SH, inativando enzimas e/ou diminuindo a concentração de moléculas sulfridrilicas não protéicas (Blais et al., 1972, Young et al., 1981). O (PhTe)<sub>2</sub> demonstrou também ser capaz de oxidar resíduos tiólicos em eritrócitos humanos e cérebro de ratos (Hassan et al., 2008; Schiar et al., 2009). Estes resultados sugerem que a resposta a exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> no cérebro é diferente da resposta no fígado.

A capacidade do ditelureto de difenila em perturbar a homeostase dos grupamentos tiólicos em proteínas é capaz de afetar uma série de enzimas importantes, uma vez que o mecanismo de oxidação de resíduos cisteinil é importante no controle e regulação da atividade enzimática em diversos processos celulares. Desta forma, a exposição ao (PhTe)<sub>2</sub> nas maiores doses usadas ocasionou inibição da atividade sanguínea da  $\delta$ -ALA-D em camundongos. Esta inibição está provavelmente relacionada à oxidação de grupos SH induzida pela exposição ao (PhTe)<sub>2</sub>. Muitas enzimas que contêm grupamentos sulfridrilicos em sua estrutura, como a  $\delta$ -ALA-D, são sensíveis a agentes oxidantes (Borges et al., 2005).

É importante ressaltar que o acúmulo de ALA tem sido relatado em tecidos de animais e pacientes nos quais a atividade da  $\delta$ -ALA-D está inibida (Juknat et al., 1995). Esta inativação impede a continuação da cascata de síntese de grupamentos heme, importantes na síntese de hemoglobina, citocromos e da enzima catalase. Além disso, esta inibição leva ao acúmulo do substrato da  $\delta$ -ALA-D, o ácido aminolevulínico, que tem ação pró-oxidante (Bechara et al., 1993; Emanuelli et al., 2001). Barbosa et al. (1998) observaram a inibição desta enzima *in vitro* em sobrenadante de fígado pelo ditelureto de difenila com IC<sub>50</sub> (concentração inibitória 50%) de aproximadamente 10 $\mu$ M, menor do que a IC<sub>50</sub> do seu análogo, o disseleneto de difenila, nas mesmas condições. Além disso, o ditelureto de difenila também é capaz de inibir *in vitro* a  $\delta$ -ALA-D de eritrócitos humanos a partir da concentração de 4  $\mu$ M (Nogueira et al., 2003a).

Maciel et al. (2000) demonstraram a inibição da  $\delta$ -ALA-D em fígado, cérebro e rim em camundongos após administração aguda (1 dia) de ditelureto de difenila na dose de 500  $\mu$ mol/Kg, bem como inibição de 39% da atividade desta enzima em eritrócitos de camundongos após três dias de administração única de ditelureto de difenila na dose de 150 $\mu$ mol/Kg (Meotti et al., 2003)

Demonstrou-se também aqui que o  $(\text{PhTe})_2$  modificou a atividade de enzimas antioxidantes pela redução da atividade da CAT, SOD, GR, GPx e TrxR em tecido cerebral. Enzimas antioxidantes são consideradas a defesa primária que previne as macromoléculas biológicas do dano oxidativo. O cérebro possui maior atividade das enzimas SOD e GPx de que outros órgãos (Benzi & Moretti, 1995). Este fato, associado à menor atividade da catalase faz com que o cérebro seja o órgão mais vulnerável ao  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Além disso, exposição aguda a oxidantes geralmente pode aumentar a atividade de enzimas antioxidantes como resultados de uma resposta adaptativa, o que conseqüentemente reduz o dano (Hilbert & Mohsenin, 1996).

Por outro lado, após uma exposição prolongada, os efeitos tóxicos prevalecem sobre os mecanismos adaptativos dos tecidos do corpo, como indicado pela redução nos níveis destas enzimas (Hulea et al., 1995). Neste estudo, o protocolo experimental foi realizado em uma semana de exposição, que é um tempo intermediário, classificado então, como protocolo sub-crônico. Diante disto, presumimos que o protocolo experimental utilizado neste estudo pode causar alterações enzimáticas observadas tanto na fase aguda quanto na fase crônica de exposição. Além disso, nossos resultados estão de acordo com estudos prévios que demonstram que compostos de Te causam depleção da atividade das enzimas antioxidantes CAT e GPx em cérebro de camundongos (Kaur et al., 2003).

Além disso, este trabalho demonstrou, pela primeira vez, que o  $(\text{PhTe})_2$  é capaz de inibir a atividade da enzima TrxR em camundongos tratados com diferentes doses de  $(\text{PhTe})_2$ . A alta afinidade de compostos de Te a grupos tióis (Nogueira et al., 2004) (como os presentes na cisteína), presentes nos sítios ativos de inúmeras enzimas, provavelmente é responsável pela inibição observada na atividade da TrxR. De acordo com dados da literatura, compostos de Te são capazes de inibir a TrxR e causar citotoxicidade *in vitro* (Engman et al., 1997; Engman et al., 2000a,b; Engman et al., 2003). Por outro lado, segundo estudos prévios do nosso grupo, o disseleneto de difenila e alguns de seus análogos são bons substratos para a enzima TrxR de mamíferos (Freitas et al., 2010). Considerando, para isto, que o selênio possui configuração eletrônica similar ao telúrio e que, conseqüentemente estes podem compartilhar propriedades químicas.

Por outro lado, quando avalia-se a atividade destas enzimas no tecido hepático, pode-se perceber que ocorreu inibição somente na atividade da GPx. Embora, tenha ocorrido aumento da atividade da SOD e GR após exposição ao

(PhTe)<sub>2</sub>. Resultados similares para a atividade da SOD foram demonstrados em bactérias expostas a compostos de Te (Borsetti et al., 2005; Tremaroli et al., 2007).

Os dados obtidos aqui, sugerem que o cérebro foi mais suscetível ao estresse oxidativo causado pelo (PhTe)<sub>2</sub> do que o fígado. Em relação a isso, é interessante salientar que o sistema nervoso central possui uma alta taxa metabólica, pois consome cerca de 20% do oxigênio inspirado em repouso, embora represente só 2% da massa corporal (Kann & Kovács, 2007). Neste contexto, o cérebro é muito mais suscetível ao estresse oxidativo devido ao seu alto consumo de oxigênio, seu alto teor de ferro e conteúdo lipídico, especialmente ácidos graxos poliinsaturados, e a baixa atividade de defesas antioxidantes, fato este, que torna este tecido mais vulnerável ao aumento de espécies reativas (Halliwell & Gutteridge, 1985, 2007; Floyd, 1999). Além disso, compostos organotelurados são capazes de reduzir a transmissão glutamatérgica (Nogueira et al., 2001; Avila et al., 2008). Assim, atribuímos parte dos danos comportamentais causados pelo (PhTe)<sub>2</sub> a inibição das enzimas antioxidantes cerebrais e aumento da peroxidação lipídica.

De forma geral, este estudo demonstrou que o (PhTe)<sub>2</sub> causa significativas alterações comportamentais, associado ao aumento no estresse oxidativo e inibição de enzimas antioxidantes, como a TrxR. Diante disso, estabelecemos maior sensibilidade do tecido cerebral frente aos danos causados pelo (PhTe)<sub>2</sub>. A paralisia parcial dos membros inferiores e tremores possivelmente estão associados com a deficiência motora refletida pelo aumento no estresse oxidativo e alterações nos níveis das defesas celulares. Nossos resultados, apontam um possível mecanismo molecular envolvido na toxicidade causada pelo (PhTe)<sub>2</sub> em camundongos adultos. Além disto, demonstramos aqui pela primeira vez, que o ditelureto de difenila tem como alvo molecular enzimas importantes no metabolismo antioxidante, isto é, TrxR, GR e GPx.

## 7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados nesta dissertação pode-se concluir que:

- A exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  provoca significativa redução na massa corporal dos animais expostos a dose de  $50 \mu\text{mol/kg}$ ;
- Os camundongos adultos expostos ao  $(\text{PhTe})_2$  apresentaram diversos sinais gerais de toxicidade, como: perda de peso e pelos corporais, tremores e paralisia parcial dos membros inferiores;
- Prejuízos no comportamento sensório-motor dos animais expostos ao  $(\text{PhTe})_2$  também foram observados, devido as alterações verificadas no desempenho destes animais nos testes de campo aberto e cilindro giratório;
- A administração subcutânea de  $(\text{PhTe})_2$  foi capaz de aumentar a peroxidação lipídica cerebral nos animais expostos, entretanto, não houve alteração nos parâmetros de estresse oxidativo avaliados pelos níveis de EROs;
- A exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  causa alterações nos níveis de NPSH e PSH cerebrais e altera os níveis de NPSH em tecido hepático de camundongos;
- A administração subcutânea de  $50 \mu\text{mol/kg}$  de  $(\text{PhTe})_2$  em camundongos inibiu a  $\delta$ -ALA-D sanguínea;
- A exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  modificou a atividade de enzimas antioxidantes pela redução da atividade cerebral da catalase ( $10 \mu\text{mol/kg}$ ), superóxido dismutase ( $10 \mu\text{mol/kg}$  e  $50 \mu\text{mol/kg}$ ), glutatona redutase ( $10 \mu\text{mol/kg}$ ) e glutatona peroxidase ( $10 \mu\text{mol/kg}$ ) em camundongos;
- $(\text{PhTe})_2$ , em ambas as doses, é capaz de inibir a atividade da enzima TrxR cerebral em camundongos;

- $(\text{PhTe})_2$  promoveu alterações em parâmetros bioquímicos hepáticos, como: NPSH, SOD, GR e GPx ;
  
- O tecido cerebral de camundongos adultos é mais suscetível ao estresse oxidativo causado pela exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  nas doses de 10  $\mu\text{mol/kg}$  e 50  $\mu\text{mol/kg}$  que o tecido hepático;
  
- $(\text{PhTe})_2$  provocou neurotoxicidade, demonstrada por alterações nos parâmetros neuroquímicos e no perfil comportamental de camundongos.

## 8. PERSPECTIVAS

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, as perspectivas para trabalhos posteriores são:

- Realizar a detecção imuno-histoquímica de morte celular por apoptose e alterações sinápticas em cérebro de camundongos expostos ao  $(\text{PhTe})_2$ ;
- Investigar o possível efeito genotóxico do  $(\text{PhTe})_2$  em camundongos adultos; uma vez que o mesmo apresentou genotoxicidade *in vitro* (Degrandi et al., 2010);
- Realizar a análise molecular da expressão gênica de enzimas antioxidantes;
- Analisar o efeito do  $(\text{PhTe})_2$  frente a diferentes parâmetros de disfunção mitocondrial;
- Determinar o envolvimento de enzimas antioxidantes na defesa contra os danos oxidativos gerados pela exposição ao  $(\text{PhTe})_2$ , para isso, utilizar inibidores como por exemplo, CDNB, BCNU e aminotriazol;
- Avaliar o efeito da exposição ao  $(\text{PhTe})_2$  sobre o modelo experimental em *Drosophila melanogaster*;

## 5. REFERÊNCIAS

- ARNÉR ES, HOLMGREN A (2000) Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem* 267:6102– 6109.
- AVILA DS, GUBERT P, PALMA A, COLLE D, ALVEZ D, NOGUEIRA CW, ROCHA JB, SOARES FA (2008) Na organotellurium compound with antioxidant activity against excitotoxic agents without neurotoxic effects in brain of rats. *Brain Res Bull* 76:114-123.
- BANHEGYI G, BRAUN L, CSALA M, PUSKAS F, MANDL J (1997) Ascorbate metabolism and its regulation in animals. *Free radical biology and medicine* 23(5):793-803
- BARBOSA NBV, ROCHA JBT, ZENI G, EMANUELLI T, BEQUE MC, BRAGA AL (1998) Effect of organic forms of Selenium on delta-aminolevulinic acid dehydratase from liver, kidney and brain of adult rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 149:243-253.
- BECHARA EJH, MEDEIROS MHG, MONTEIRO HP, HERMES-LIMA M, PEREIRA B, DEMASI M, COSTA CA, ADBALLA DSP, ONUKI J, WENDEL CMA, MASCI PD (1993) A free radical hypothesis of lead poisoning and in Born porphyrias associated with 5-aminolevulinic acid overload. *Quimica Nova* 16 .
- BEHL C, MOOSMANN B (2002) Oxidative nerve cell death in Alzheimer's disease and stroke: antioxidants as neuroprotective compounds. *Biol. Chem.* 383:521–536.
- BENZI G, MORETTI A (1995) Age- and peroxidative stress-related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and glutathione system. *Free Radic Bio Med* 19:77–101
- BERG D, YODIM, MB (2006) Role of iron in neurodegenerative disorders. *Top. Magn. Reson. Imag.* 17:5–17.
- BERGAN T, DOWDALL M, SELNAES OG (2008) On the occurrence of radioactive fallout over Norway as a result of the Windscale accident, October 1957 *Journal of Environmental Radioactivity* 99(1)50-61.
- BLACKADDER ES & MANDERSON WG (1975) Occupational absorption of tellurium: a report of two cases *British Journal of Industrial Medicine* 32:59-61.
- BLAIS FX, ONISCHUK RT, DE MEIO RH (1972) Hemolysis by tellurite: I: The tellurite test for Hemolysis. *J.AOA* 73:45-51.
- BORGES VC, NOGUEIRA CW, ZENI G, ROCHA JBT (2004) Organochalcogens affect the glutamatergic neurotransmission in human platelets. *Neurochem. Res* 29:1505-1509.
- BORGES VC, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2005) Effect of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen on cerebral Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase activity in rats. *Toxicology* 215:191-197.
- BORGES VC, ROCHA JBT, SAVEGNAGO L, NOGUEIRA CW (2007) Repeated administration of diphenyl ditelluride induces hematological disorders in rats *Food and Chemical Toxicology* 45(8):1453-1458.
- BORGES VC, SAVEGNAGO L, PINTON S, JESSE CR, ALVES D, NOGUEIRA CW (2008) Vinyllic telluride derivatives as promising pharmacological compounds with low toxicity. *J Appl Toxicol* 28:839-848.

BORSETTI F, TREMAROLI V, MICHELACCI F, BORGHESE R, WINTERSTEIN C, DALDAL F, ZANNONI D (2005) Tellurite effects on *Rhodobacter capsulatus* cell viability and superoxide dismutase activity under oxidative stress conditions. *Res. Microbiol.*156:807–813.

BOVERIS A, CADENAS E (1997) 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 105:1-25.

BRAGA A L, ZENI G, ANDRADE LH, SILVEIRA CC (1997) Stereoconservative formation and reactivity of  $\alpha$ -chalcogen-functionalized vinylithium compounds from bromo-vinyllic chalcogens. *Synlett* 5:595-596.

BRAGA AL, SILVEIRA CC, ZENI G, SEVERO WA, STEFANI H (1996) Synthesis of selenocetals from enol ethers. *J Chem Res* 206-207.

BRIVIBA K, TAMLER R, KLOTZ LO, ENGMAN L, COTGREAVE IA, SIES H (1998) Protection against organotellurium compounds against peroxynitrite mediated oxidation and nitration reactions. *Biochemical Pharmacology* 55:817–823.

BUCK MR, KARUSTIS DG, DAY NA, HONN KV, SLOANE BF (1992) *Biochem J* 282:273-292.

CARVALHO CM, CHEW EH, HASHEMY SI, LU J, HOLMGREN A (2008) Inhibition of the human thioredoxin system. A molecular mechanism of mercury toxicity. *J Biol Chem* 283: 11913 -11923.

CASTRO ME, MOLINA RC, DÍAS WA, PRADENAS GA, VÁSQUEZ CC (2009) Expression of *aeromonas caviae* ST pyruvate dehydrogenase complex components mediate tellurite resistance in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun* 380(1):148-152.

CHAKRABORTY D, BHATTACHARYYA A, MAJUMDAR K, CHATTERJEE K, CHATTERJEE S, SEN A, CHATTERJEE GC (1978) Studies on l-ascorbic-acid metabolism in rats under chronic toxicity due to organophosphorus insecticides - effects of supplementation of l-ascorbic-acid in high doses *Journal of nutrition* 108(6):973-980

CHASTEEN TG, FUENTES DE, TATALEÁN JC, VÁSQUEZ CC (2009) Tellurite: History, oxidative stress and molecular mechanisms of resistance. *FEMS Microbiol Rev* 1-13.

CHATTERJEE GC & RUDRA PAL D (1975) Metabolism of L-ascorbic acid in rats under in vivo administration of mercury: effects of L-ascorbic acid supplementation. *Int J Vit Nutr Res* 45:284-292.

COMASSETO J V (1983) Vinyllic selenides. *J. Organomet Chem* 253:131-181.

CROFT KD (1998) The chemistry and biological effects of flavonoides and phenolic acids. *Towards Prolongation of the Healthy Life Span* 854:435-443.

CUNHA LOR, URANO ME, CHAGAS JR, ALMEIDA PC, BINCOLETTO C, TERSARIOL ILS, COMASSETO JV (2005) Tellurium- based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human Cathepsin B. *Bioorg Med Chem.Lett* 15:755-760.

DAVIES KJA (1991) Oxidative damage and repair: Chemical, biological and medical aspects. Oxford: Pergamon p.910.



DEGRANDI TH, DE OLIVEIRA IM, D'ALMEIDA GS, GARCIA CR, VILLELA IV, GUECHEVA TN, ROSA RM, HENRIQUES JA (2010) Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of diphenyl ditelluride in several biological models *Mutagenesis* 25(3):257-269.

DEUTICKE B, LUTKEMEIER RK, POSE B (1992) Tellurite- induced damage of the erythrocyte membrane. Manifestations and mechanisms. *Biochem Biophys Acta* 1109:97-107.

DONG ZY, LIU JQ, MAO SZ, HUANG X, YANG B, REN XJ, LUO GM, SHEN JC (2004) Aryl thiol substrate 3-carboxy-4-nitrobenzenethiol strongly stimulating thiol peroxidase activity of glutathione peroxidase mimic 2, 2'-ditellurobis(2-deoxy-beta-cyclodextrin) *Journal of the American Chemical Society* 126 (50):16395-16404.

DOUCET A (1998) Function and control of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in single nephron segments of the mammalian kidney. *Kidney Internat* 34:749-760.

DU Y, WU Y, CAO X, CUI W, ZHANG H, TIAN W, JI M, HOLMGREN A, ZHONG L (2009) Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by black tea and its constituents: Implications for anticancer actions. *Biochimie* 91:434-444.

DUCKETT S (1972) Teratogenesis caused by tellurium. *Ann N Y Acad Sci* 192:220-226.

EMANUELLI T, PAGEL FW, ALVES LB, REGNER A, SOUZA DO (2001) Inhibition of adenylate cyclase activity by 5- aminolevulinic acid in rat and human brain. *Neurochem Int* 38:213-218.

ENGMAN L, AL- MAHARIC N, MCNAUGHTON M, BIRMINGHAM A, POWIS G (2000a) Thioredoxin Reductase and cancer cell growth inhibition by organotellurium compounds that could be selectively incorporated into tumor cells. *Bioorg Medic Chem* 11:5091-5100.

ENGMAN L, AL-MAHARIK N, MCNAUGHTON M, BIRMINGHAM A, POWIS G (2003) Thioredoxin reductase and cancer cell growth inhibition by organotellurium antioxidants. *Anticancer Drugs* 14(2):153-61.

ENGMAN L, COTGREAVE I, ANGULO M, TAYLOR CW, PAINE-MURRIETA GD, POWIS G (1997) Diaryl chalcogenides as selective inhibitors of thioredoxin reductase and potential antitumor agents *Anticancer research* 17(6):4599-4605

ENGMAN L, KANDA T, GALLEGOS A, WILLIAMS R, POWIS G (2000b) Water-soluble organotellurium compounds inhibit thioredoxin reductase and the growth of human cancer cells. *Anti-Cancer Drug Design* 15:323–330.

ENGMAN L, STERN D, PELCMAN M (1994) Thiol peroxidase-activity of diorganyl tellurides. *Journal of Organic Chemistry*, 59:1973–1979.

FAIRHILL L T (1969) Tellurium. In: industrial toxicology. Hafner Publishing Co, New York.

FARBER JL, KYLE ME, COLEMANN JB (1990) Biology of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest* 62:670-678.

FLOYD RA (1999) Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 222:236–245.

FREI GM, KREMER M, HANSCHMANN KM , KRAUSE S, ALBECK M, SREDNI B, SCHNIERLE BS (2008) Antitumour effects in mycosis fungoides of the immunomodulatory, tellurium-based compound, AS101 *British Journal of Dermatology* 158(3):578-586.

FREITAS AS, PRESTES AS, WAGNER C, SUDATI JH, ALVES D, OLIVEIRA LP, KADE JL, ROCHA JBT (2010) Reduction of diphenyl diselenide and analogs by Mammalian thioredoxin reductase is independent of their glutathione peroxidase-like activity: a possible novel pathway for their antioxidant activity. *Molecules* 28;15(11):7699-714.

FRIEDMAN M, BAYER I, LETKO I, DUVDEVANI R, ZAVARO-LEVY O, RON B, ALBECK M, SREDNI B (2009) Topical treatment for human papillomavirus associated genital warts in humans with the novel tellurium immunomodulator AS101: assessment of its safety and efficacy. *Br J Dermatol* 160:403-408.

FUNCHAL C, MORETTO MB, VIVIAN L, ZENI G, ROCHA JBT, PESSOA-PUREUR R (2006) Diphenyl ditelluride- and methylmercury-induced hyperphosphorilation of the high molecular weight neurofilament subunit is prevented by organoselenium compounds in cerebral cortex of young rats *Toxicology* 222(1-2):143-153.

GAJKOWSKA B, SMIALEK M, OSTROWSKI RP, PIOTROWSKI P, FRONTEZAK-BANIEWIEZ M (1999) The experimental squalene encephaloneuropathy in the rat. *Exp Toxicol Pathol* 51: 75-80.

GAY BM, LUCHESE C, NOGUEIRA CW, WENDLER P, MACEDO A, DOS SANTOS AA (2010) Antioxidant effect of functionalized alkyl-organotellurides: a study in vitro. *J Enzyme Inhib Med Chem* 25(4):467-75.

GENN RF, TUCCI SA, THOMAS A, EDWARDS JE, FILE SE (2003) Age-associated sex differences in response to food deprivation in two animal tests of anxiety, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27:155–161.

GOODRUM JF (1998) Role of organotellurium species in tellurium neuropathy. *Neurochem Res* 10:1313-1319.

GRAEFF GF, NETTO FC, ZANGROSSI H (1998) The elevated T-maze as an experimental model of anxiety, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23:237–246.

GREEN M, HARWOOD H, BARROWMAN C, RAHMAN P, EGGEMAN A, FESTRY F (2007) A facile route to CdTe nanoparticles and their use in bio-labelling. *J Mater Chem* 17:1989-1994.

GROGAN TM, FENOGLIO-PIRESER C, ZEHEB R, BELAMMY W, FRUTIGER Y, VELA E, ESTERMEMAN G, MACDONALD J, RICHTER L, GALEGOS A, POWIS G (2000) Thioredoxin, a putative oncogene product, is overexpressed in gastric carcinoma and associated with increased proliferation and increased cell survival. *Human Pathol* 31:475-481.

HALLIWELL B & GUTTERIDGE JMC (1985) Oxygen radicals and the nervous system. *Trend Neurosci.* 8: 22–26.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1989) *Free radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, New York.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Met Enzimol* 186:1-5.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (2007) Measurement of reactive species. In: Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (Eds.), *Free Radicals in Biology and Medicine*, fourth ed. Oxford University Press, Oxford, 268–340

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

HILBERT J, MOHSENIN V (1996) Adaptation of lung antioxidants to cigarette smoking in humans. *Chest* 110:916-920

HULEA SA, OLINESCU R, NITA S, CROCINAN D, KUMMEROW A (1995) Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stress: a case control study. *J Environ Pathol Tox Oncol* 14:173-180

IWASE K, TATSUSHI T, NISHIMURA Y, YAMAGUCHI J, OYAMA Y, MIYOSHI N, WADA M (2004) Cytometric analysis of adverse action of diphenyl ditelluride on rat thymocytes: cell shrinkage as a cytotoxic parameter. *Env Toxicol* 19:614-619.

JACOB C, ARTEEL GE, KANDA T, ENGMAN L, SIES H (2000) Water soluble organotellurium compounds: catalytic protection against peroxyxynitrite and release of zinc from metallothionein. *Chemical Research in Toxicology* 13:3-9.

JORGENSEN PL (1986) Structure, function and regulation of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in the kidney. *Kidney Internat* 29:10-20.

JORTNER BS (2000) Mechanisms of toxic injury in the peripheral nervous system: neuropathologic considerations. *Toxicol. Pathol.* 28:54-69.

JOSEPHY PD (1997) Glutamate receptors in cortical plasticity: molecular and cellular biology. *Molecular Toxicology*. Oxford University Press, New York.

KALECHMAN Y, GAFTER U, WEINSTEIN T, CHAGNAC A, FREIDKIN I, TOBAR A, ALBECK M, SREDNI B (2004) Inhibition of interleukin-10 by the immunomodulator AS101 reduces mesangial cell proliferation in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis - Association with dephosphorylation of STAT3 *Journal of Biological Chemistry* 279(23):24724-24732.

KANDA T, ENGMAN L, COTGREAVE I A, POWIS G (1999) Novel water-soluble diorganyl tellurides with thiol peroxidase and antioxidant activity. *J Org Chem* 64:8161-8169.

KANN O, KOVÁCS R (2007) Mitochondria and neuronal activity. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 292:641-657

KAUR P, YOUSUF S, ANSARI MA, AHMAD AS, ISLAM F (2003) Dose- and duration-dependent alterations by tellurium on lipid levels: differential effects in cerebrum, cerebellum, and brain stem of mice. *Biol Trace Elem Res* 94:259-271.

KORMUTAKOVA R, KLUCAR L, TURNA J (2000) DNA sequence analysis of the tellurite-resistance determinant from clinical strain of *Escherichia coli* and identification of essential genes. *BioMetals* 13:135-139.

KOVALEV GK (1969) Determination of drug sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* by means of potassium tellurite. *Antibiotiki* 14:323-325.

KRON T, HANSEN C, WERNER E (1991) Renal excretion of tellurium after peroral administration of tellurium in different forms to healthy human volunteers. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 5:239-244.

LADEN BP, PORTER TD (2001) Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds: evidence of interaction with vicinal sulfhydryls. *Journal of Lipid Research* 42:235–240.

LALONDE R, QIAN S, STRAZIELLE C (2003) Transgenic mice expressing the PSI-A346E mutation: effects on spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination, *Behav. Brain Res.* 138:71–79.

LANDEN BP, TANG Y, PORTER TD (2000) Cloning, heterologous expression, and enzymological characterization of human squalene monooxygenase. *Arch Biochem Biophys* 374:381-388.

LARNER AJ (1995) Biological effects of tellurium: a review. *Trace Elem Electrolytes* 12:26-31.

LILLIG C.H. & HOLMGREN A (2007) Thioredoxin and related molecules: from biology to health and disease. *Antioxid Redox Signal* 9: 25 - 47.

MACIEL EN, BOLZAN RC, BRAGA AL, ROCHA JB (2000) Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride differentially affect delta-aminolevulinic acid dehydratase from liver, kidney, and brain of mice. *J Biochem Mol Toxicol* 14:310-319.

McCORD JM, FRIDOVICH I (1969) Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte superoxide dismutase (hemocyanin). *J Biol Chem* 244:6049-6055.

MEOTTI FC, BORGES VC, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2003) Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for rats and mice. *Toxicol Lett* 143:9-16.

MIZUNO R (1969) Electron microscopic study on the cerebral cortex of rabbits intoxicated with tellurium. *Yokohama Med J* 20:101-121.

MORETTO MB, BOFF B, FRANCO J, POSSER T, ROESSLER TM, SOUZA DO, NOGUEIRA CW, WOFCHUK S, ROCHA JB (2007) Ca<sup>2+</sup> influx in rat brain: effect of diorganochalcogenides compounds. *Toxicol. Sci.*, 99:566–571.

MORETTO MB, FUNCHAL C, ZENI G, ROCHA JB, PESSOA-PUREUR (2005) Organoselenium compounds prevent hyperphosphorylation of cytoskeletal proteins induced by the neurotoxic agent diphenyl ditelluride in cerebral cortex of young rats. *Toxicology* 210:213-222.

MORETTO MB, FUNCHAL C, ZENI G, ROCHA JBT, PESSOA-PUREUR R (2005) Organoselenium compounds prevent hyperphosphorylation of cytoskeletal protein induced by the neurotoxic agent diphenyl ditelluride in cerebral cortex of young rats. *Toxicology* 210:213-222.

MORETTO MB, ROSSATO JI, NOGUEIRA CW, ZENI G, ROCHA JBT (2003) Ebselen and diorganochalcogenides inhibition of <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup> influx into brain synaptosomes is voltage-dependent. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17: 154–160.

MORGAN D, SHINES CJ, JETER SP, WILSON RE, ELWELL MP, PRICE HC, MOSKOWITZ PD (1995) Acute pulmonary toxicity of copper gallium diselenide, copper indium diselenide, and cadmium telluride intratracheally instilled into rats. *Environ. Res.* 71: 16–24.

MORGAN DL, SHINES CL, JETER SP, BLAZKA ME, ELWELL MR, WILSON RE, WARD SM, PRICE HC, MOSKOWITZ PD (1997) Comparative pulmonary absorption, distribution,

and toxicity of copper gallium diselenide, copper indium diselenide, and cadmium telluride in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 147:399-410.

MULLER R, ZSCHIESCHE W, STEFFEN HM, SCHALLER KH (1989) Tellurium-intoxication 67 (22):1152-1155 .

NEWMAN RA, OSBORN S, SIDDIK ZH (1989) Determination of tellurium in biological fluids by means of electrothermal vapourization-inductively coupled to plasma mass spectrometry (ETV-ICP-MS). *Clin Chim Acta* 179:191-196.

NOGUEIRA CW, BORGES VC, ZENI G, ROCHA JBT (2003a) Organochalcogens effects on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase activity from human erythrocytic cells in vitro. *Toxicology* 191:169-178.

NOGUEIRA CW, QUINHONES EB, JUNG EAC, ZENI G, ROCHA JBT (2003b) Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. *Inflamm Res* 52:56-63.

NOGUEIRA CW, ROTTA LN, PERRY ML, SOUZA DO, ROCHA JB (2001) Diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride affect the rat glutamatergic system in vitro and in vivo. *Brain Res* 906:157-163.

NOGUEIRA CW, ROTTA LN, ZENI G, SOUZA DO, ROCHA JBT (2002) Exposure to ebselen changes glutamate uptake and release by rat brain synaptosomes. *Neurochemical Research* 27:283-288.

NOGUEIRA CW, SOARES FA, NASCIMENTO PC, MULLER D, ROCHA JBT (2003c) 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonic acid and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid increase mercury and cadmium induced inhibition of  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase. *Toxicology* 84:85-95.

NOGUEIRA CW, ZENI G, ROCHA JBT (2004) Organoselenium and organo-tellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chemical Reviews* 104:6255-6285.

NYSKA A, WANER T, PIRAK M, ALBECK M, SREDNI B (1989) Toxicity study in rats of a tellurium based immunomodulating drug, AS-101: a potential drug for AIDS and cancer patients. *Arch Toxicol* 63:386-393.

OKORONKWO AE, GODOI B, SHUMACHER RF, NETO JSS, LUCHESE C, PRIGOL M, NOGUEIRA CW, ZENI G (2009) Csp<sup>3</sup>-tellurium copper cross-coupling: synthesis of alkynyl tellurides a novel class of antidepressive-like compounds. *Tetrahedron Lett.* 50, 909-915.

PARNHAM MJ & GRAF E (1991) Pharmacology of synthetic organic selenium compounds. *Prog Drug Res* 36:10-47.

PAULMIER C (1986) Selenium reagents and intermediates. In: *Organic Synthesis*. Oxford: Pergamon.

PETRAGNANI N (1994) Preparation of the principal classes of organic tellurium compounds. In: *Tellurium in Organic Synthesis*. Academic Press, London, 9-88.

PETRAGNANI N, RODRIGUES R, COMASSETO JV (1976) *Organomet Chem* 114-281.

RAWLINS FA & SMITH ME (1971) Myelin synthesis in vitro: a comparative study of central and peripheral nervous tissue, *J. Neurochem.* 18:1861-1870.

REN X, XUE Y, ZHANG K, LIU J, LUO G, ZHENG J, MU Y, SHEN J (2001) A novel dicyclodextrinyl ditelluride compound with antioxidant activity. *FEBS Letters* 507:377-380.

- REN XJ, XUE Y, LIU JQ, ZHANG K, ZHENG J, LUO G, GUO CH, MU Y, SHEN JC (2002) A novel cyclodextrin-derived tellurium compound with glutathione peroxidase activity *Chembiochem* 3(4):356-363.
- REZANKA T & SIGLER K (2008) Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry* 69:585-606.
- RODGERS TJ, CAO BJ, DALVI A, HOLMES A (1997) Animals models of anxiety: an ethological perspective, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30:289–304.
- ROMAN SS, NAVA A, FAVERO AM, WEIS SN, ZENI G, ROCHA JB, NOGUEIRA C W (2007) Diphenyl ditelluride effect on embryo/fetal development in mice: interspecies differences. *Toxicology* 231:243-249.
- ROOSEBOOM M, VERMEULEN NPE, DURGUT F, COMMANDEUR JNM (2002) Comparative study on the bioactivation mechanisms and cytotoxicity of Te- Phenyl-L-tellurocysteine, Se-Phenyl-L-selenocysteine and S-Phenyl-L- cysteine. *Chem Res Toxicol* 15:1610-1618.
- ROSE RC (1987) Solubility properties of reduced and oxidized ascorbate as determinants of membrane permeation. *Biochem Biophys Acta* 924:254-256.
- ROZELL B, HANSSON H A, LUTHMAN M, HOLMGREN A (1985) Immunohistochemical localization of thioredoxin and thioredoxin reductase in adult rats. *Eur J Cell Biol* 38:79 - 86.
- SAID G, DUCKETT S, SAURON B (1981) Proliferation of Schwann cells in tellurium-induced demyelination in young rats. A radioautographic and teased nerve fiber study, *Acta Neuropathol. (Berl.)* 155:173–179.
- SAILER BL, LILES N, DICKERSON S, CHASTEEN TG (2003) Cytometric determination of novel organotellurium compound toxicity in a promyelocytic (HL-60) cell line. *Archives of Toxicology* 77:30–36.
- SAILER BL, LILES N, DICKERSON S, SUMNERS S, CHASTEEN TG (2004) Organotellurium compound toxicity in a promyelocytic cell line compared to non-tellurium-containing organic analog. *Toxicol in vitro* 18:475-482.
- SAILER BL, PROW T, DICKERSON S, WATSON J, LILES N, PATEL SJ, VAN FLEET-STALDER V, CHASTEEN TG (1999) Bacterial cytotoxicity and induction of apoptosis in promyelocytic (line HL-60) cells by novel organotellurium compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 2926–2933.
- SAVEGNAGO L, BORGES VC, ALVES D, JESSE C, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2006) Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1- uthyltelurenyl-2-methylthioheptene. *Life Sciences* 79:1546–1552.
- SCANSETTI G (1992) Exposure to metals that have recently come into use. *Science Total Environ* 120:85-91.
- SCHIAR VP, DOS SANTOS DB, PAIXÃO MW, NOGUEIRA CW, ROCHA JB, ZENI G (2009) Human erythrocyte hemolysis induced by selenium and tellurium compounds increased by GSH or glucose: a possible involvement of reactive oxygen species. *Chem. Biol. Interact.* 177:28-33.
- SCHIAR VPP, DOS SANTOS DB, LUDTKE DS, VARGAS F, PAIXAO MW , NOGUEIRA CW, ZENI G , ROCHA JBT (2007) Screening of potentially toxic chalcogens in erythrocytes *Toxicology in vitro* 21(1):139-145.

- SIDDIK ZH & NEWMAN R A (1988) Use of platinum as a modifier in the sensitive detection of tellurium in biological samples. *Anal Biochem* 172:190-196.
- SIES H (1986) Biochemistry of oxidative stress. *Angew Chem Int Ed Engl* 25:1058-1071.
- SIES H (1993) Strategies of antioxidants defenses. *Eur J Biochem* 215:213-219.
- SILIPRANDI D, SOTREY DT (1973) Interaction of tellurite with the respiratory chain in rat liver mitochondria. *Febs Lett* 29:101-104.
- SOUZA ACG, LUCHESE C, SANTOS NETO JS, NOGUEIRA CW (2009). Antioxidant effect of a novel class of telluroacetilene compounds: Studies in vitro and in vivo. *Life Sciences* 84 (11-12), 351-357.
- SREDNI-KENIGSBUCH D, SHOHAT M, SHOHAT B, BEN-AMITAI D , CHAN CC , DAVID M (2008) The novel tellurium immunomodulator AS101 inhibits interleukin-10 production and p38 MAPK expression in atopic dermatitis *Journal of Dermatological SCIENCE* 50(3) 232-235.
- STANGHERLIN E C, ROCHA J B, NOGUEIRA CW (2009) Diphenyl ditelluride impairs short term memory and alters neurochemical parameters in young rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 91:430–435.
- STANGHERLIN EC, FAVERO AM, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA C.W (2005) Teratogenic vulnerability of Wistar rats to diphenyl ditelluride. *Toxicology* 20:561–568.
- STANGHERLIN EU, FAVERO AM, WEIS SN, ZENI G, ROCHA JBT, NOGUEIRA CW (2006) Assessment of reproductive toxicity in male rats following acute and sub-chronic exposures to diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride. *Food Chem Toxicol* 44:662–9.
- STEWART NG, CROOKS RN (1958) Long-range travel of the radioactive cloud from the accident at Windscale. *Nature* 182: 627-628.
- TANTALEÁN JC, ARAYA MA, SAAVEDRA CP, FUENTES DE, PERÉZ JM, CALDERÓN IL, YOUNDERIAN P, VÁSQUEZ CC (2003) The *Geobacillus stearothermophilus* V *isc* gene, encoding cysteine desulfurase, confers resistance to potassium tellurite in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* 185:5831–5837
- TAYLOR A (1996) Biochemistry of tellurium. *Biol Trace Elem Res* 55:231-239.
- TIANO L, FEDELI D, SANTRONI AM, VILLARINI M, ENGMAN L, FALCIONI G (2000) Effect of three diaryl tellurides, and an organoselenium compound in trout erythrocytes exposed to oxidative stress in vitro. *Mutat Res* 464:269-277.
- TOEWS AD, ROE EB, GOODRUM JF, BOULDIN TW, WEAVER J, GOINES ND, MORELL P (1997) Tellurium causes dose-dependent coordinate down-regulation of myelin gene expression. *Brain Res Mol Brain Res* 49:113-119.
- TOPTCHIEVA A, SISSON G, BRYDEN LJ, TAYLOR DE, HOFFMAN PS (2003) An inducible tellurite-resistance operon in *Proteus mirabilis*. *Microbiology* 149:1285-1295.
- TREMAROLI V, FEDI S, ZANNONI D (2007) Evidence for a tellurite-dependent generation of reactive oxygen species and absence of a tellurite-mediated adaptive response to oxidative stress in cells of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. *Arch. Microbiol.* 187:127–135.
- TURNER RJ, AHARONOWIWITZ Y, WEINER JH, TAYLOR DE (2001) Glutathione is a target of tellurite toxicity and is protected by tellurite resistance determinants in *Escherichia coli*. *Can J Microbiol* 47:33–40

VAN VLEET JF (1982) Amounts of twelve elements required to induce selenium-vitamin E deficiency in ducklings. *Am J Vet Res* 43:851-857.

VYSKOCIL F (1979) The regulatory role of membrane Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in non-quantal release of transmitter at the neuromuscular junction. *Prog Brain Res* 49:183-189.

WAKEFORD R (2007) The Windscale reactor accident-50 years on *Journal of radiological protection* 27(3)211-215.

WANG C, MA Q, SU X (2008) Synthesis of CdTe nanocrystals with mercaptosuccinic acid as stabilizer. *J Nanosci Nanotechnol* 8:4408-4414.

WIESLANDER E, ENGMAN L, SVENSJO E, ERLANSSON M, JOHANSSON U, LINDEN M, ANDERSSON CM, BRATTSAND R (1998) Antioxidative properties of organotellurium compounds in cell system. *Biochemical Pharmacology* 55:573–584.

YAREMA MC & CURRY SC (2005) Acute tellurium toxicity from ingestion of metal-oxidizing solutions. *Pediatrics* 116:319-321.

YOUNG VR, NAHAPETIAU A, JONGHORBONI M (1981) Selenium bioavailability with reference to human nutrition. *American J. Clin. Nutrition* 35:1076-1088.

ZENI G, BRAGA AL, STEFANI HÁ (2003) Palladium-catalyzed coupling of sp<sup>2</sup>-hybridized tellurides. *Accounts Chem Res.* 10:731-738.

ZENI G, LUDTKE D, PANATIERI RB, BRAGA AL (2006) Vinylic tellurides: from preparation to their applicability in organic synthesis. *Chem. Rev.*106:1032–1076.

ZHANG H, SWIHART MT (2007) Synthesis of tellurium dioxide nanoparticles by spray pyrolysis. *Chem Mater* 19:1290-1301.