



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia

DIEGO OLIVEIRA BARBOSA

**ESTUDO DA TOXICIDADE ORAL DE DOSES REPETIDAS  
POR 28 DIAS DE UM NOVO COMPLEXO DE  
VANÁDIO (IV) EM CAMUNDONGOS**

Recife  
2024

DIEGO OLIVEIRA BARBOSA

**ESTUDO DA TOXICIDADE ORAL EM DOSES REPETIDAS  
POR 28 DIAS DE UM NOVO COMPLEXO DE  
VANÁDIO (IV) EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Biomedicina da Universidade Federal de  
Pernambuco, como pré-requisito à  
obtenção do título de Bacharel em  
Biomedicina.

Orientador: Dr. Eduardo Carvalho Lira

Recife  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Barbosa, Diego Oliveira.

Estudo da toxicidade oral em doses repetidas por 28 dias de um novo complexo de Vanádio IV em camundongos / Diego Oliveira Barbosa. - Recife, 2024.

41 : il., tab.

Orientador(a): Eduardo Carvalho Lira

Coorientador(a): Eucilene Kelita de Lima Batista

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências.

1. Vanádio . 2. Hepatotoxicidade. 3. Camundongos. 4. Toxicidade Oral. 5. Antioxidante . I. Lira, Eduardo Carvalho. (Orientação). II. Batista, Eucilene Kelita de Lima. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

DIEGO OLIVEIRA BARBOSA

**ESTUDO DA TOXICIDADE ORAL EM DOSES REPETIDAS  
POR 28 DIAS DE UM NOVO COMPLEXO DE VANÁDIO (IV)  
EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Biomedicina da Universidade  
Federal de Pernambuco, como pré-  
requisito à obtenção do título de  
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 18/10/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira  
UFPE/ Depto de Fisiologia e Farmacologia

---

Dra. Lidiane Macedo Alves de Lima  
UFRPE/ Departamento de Química-DQ

---

Profa. Dra. Dayane Aparecida Gomes  
UFPE/ Depto de Fisiologia e Farmacologia

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, ao meu orientador, Professor Eduardo Carvalho Lira, e à minha coorientadora, Eucilene Kélita de Lima Batista, pelo acompanhamento e valiosas orientações ao longo deste projeto. Gostaria de estender meus agradecimentos a Madson, pela ajuda indispensável, e a todos do laboratório de neuroendocrinologia e metabolismo (LNEM), em especial a Widarlane Ângela, por sua paciência e ajuda constante, sempre esteve disponível para esclarecer todas as minhas dúvidas acadêmicas e profissionais, além de ser um exemplo inspirador como pesquisadora.

Meus pais e padrinhos merecem um agradecimento especial, por todo o apoio incondicional que me ofereceram ao longo desta jornada. Suas palavras de encorajamento e amor me deram forças para enfrentar cada desafio. A confiança que depositaram em mim, mesmo nos momentos de incerteza, foi o alicerce que me sustentou até aqui. Serei eternamente grato por todo o carinho, compreensão e dedicação que sempre demonstraram.

Gostaria também de expressar minha gratidão aos amigos que fiz ao longo dessa caminhada acadêmica. A Beathryz, Mariana, Mauricio e Drielly, agradeço imensamente por tornarem todo esse processo muito mais leve e agradável. Juntos, compartilhamos não apenas os desafios acadêmicos, mas também momentos inesquecíveis de aprendizado, apoio e companheirismo. Cada conversa, risada e horas de estudos foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Por fim, agradeço especialmente à Ranielle, por todo o incentivo e por me acompanhar em cada passo dessa jornada. Nos momentos de dificuldade, você esteve ao meu lado, me lembrando constantemente de que eu era capaz de superar qualquer obstáculo. Sua presença tornou essa caminhada muito mais leve e significativa, e por isso, sou profundamente grato.

Barbosa, Diego Oliveira. **Estudo da toxicidade oral em doses repetidas por 28 dias de um novo complexo de Vanádio IV em camundongos**. 41. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## RESUMO

As propriedades farmacoterapêuticas dos compostos de vanádio são demonstrados em diferentes estudos, sobretudo as ações antitumorais e antidiabéticas. Entretanto, o uso clínico desses compostos é limitado devido à sua elevada toxicidade, associada ao intenso estresse oxidativo. Nesse contexto, o desenvolvimento de novos compostos de vanádio com ligantes antioxidantes, como o ácido ascórbico, surge como uma estratégia promissora para potencializar suas propriedades terapêuticas e reduzir sua toxicidade. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade oral em doses repetidas por 28 dias de um novo complexo de Vanádio (IV) ligado ao ácido ascórbico em camundongos. Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas ( $30 \pm 3g$ ) e machos ( $35 \pm 3g$ ), entre 6 e 9 semanas, divididos em 4 grupos (N=5): Controle, tratado com 50mg/kg (VM50/VF50), tratado com 100mg/kg (VM100/VF100) e tratado com 150mg/kg (VM150/VF150). Durante o período experimental, a massa corporal, o consumo alimentar e hídrico, a temperatura retal e a glicemia pós-prandial foram monitoradas. Ao término do tratamento, os animais foram eutanasiados para análises bioquímicas, hematológicas e histopatológicas. O composto de vanádio (IV) utilizado não apresentou alterações comportamentais, letargia, convulsões, sangramentos, febre ou morte, assim como outros sinais de toxicidade. Contudo, observou-se redução significativa no ganho de peso corporal, consumo alimentar e hídrico, principalmente em doses mais altas, além de diminuição na massa dos órgãos reprodutivos das fêmeas. Os biomarcadores bioquímicos utilizados, como ALT, AST, ureia e creatinina, apontaram lesões hepáticas e renais. Elevações de ALT e AST acompanhadas por alterações histológicas, como inflamação e hipertrofia nuclear, indicam uma possível hepatotoxicidade. Já o aumento de ureia e creatinina, reforçado por evidências histológicas de atrofia tubular e necrose sugerem um comprometimento da função renal. Esses achados sugerem que, embora promissor, o composto de vanádio (IV) avaliado pode induzir hepatotoxicidade e nefrotoxicidade em camundongos, evidenciando a necessidade de estudos adicionais para avaliar sua segurança.

**Palavras-chave:** Vanádio. Hepatotoxicidade. Camundongos. Toxicidade oral. Antioxidante.

Barbosa, Diego Oliveira. **Estudo da toxicidade oral em doses repetidas por 28 dias de um novo complexo de Vanádio IV em camundongos.** 41. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024 ano.

## ABSTRACT

The pharmacotherapeutic properties of vanadium compounds have been demonstrated in various studies, especially their antitumor and antidiabetic actions. However, the clinical use of these compounds is limited due to their high toxicity, associated with intense oxidative stress. In this context, the development of new vanadium compounds with antioxidant ligands, such as ascorbic acid, is a promising strategy for enhancing their therapeutic properties and reducing their toxicity. The aim of this study was to evaluate the oral toxicity of a new vanadium (IV) compound linked to ascorbic acid in mice in repeated doses over 28 days. Female ( $30 \pm 3g$ ) and male ( $35 \pm 3g$ ) Swiss mice, aged between 6 and 9 weeks, were divided into 4 groups (N=5): Control, treated with 50mg/kg (VM50/VF50), treated with 100mg/kg (VM100/VF100) and treated with 150mg/kg (VM150/VF150). During the experimental period, body mass, food and water consumption, rectal temperature and postprandial glycemia were monitored. At the end of the treatment, the animals were euthanized for biochemical, hematological and histopathological analyses. The vanadium compound (IV) used showed no behavioral changes, lethargy, convulsions, bleeding, fever or death, as well as other signs of toxicity. However, there was a significant reduction in body weight gain, food and water consumption, especially at higher doses, as well as a reduction in the mass of the females' reproductive organs. The biochemical biomarkers used, such as ALT, AST, urea and creatinine, indicated liver and kidney damage. Elevations in ALT and AST accompanied by histological changes, such as inflammation and nuclear hypertrophy, indicate possible hepatotoxicity. Increased urea and creatinine levels, reinforced by histological evidence of tubular atrophy and necrosis, suggest impaired renal function. These findings suggest that, although promising, the vanadium (IV) compound evaluated may induce hepatotoxicity and nephrotoxicity in mice, highlighting the need for further studies to assess its safety.

**Key words:** Vanadium. Hepatotoxicity. Mice. Oral toxicity. Antioxidant.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Analogia entre fosfato e vanadato	14
<b>Figura 2</b> – Fórmulas representativas dos compostos de vanádio	16
<b>Figura 3</b> – Efeito do tratamento na massa corporal e ingestão de líquidos	23
<b>Figura 4</b> – Imagens histológicas de seções de fígado de camundongos	29
<b>Figura 5</b> – Imagens histológicas de seções renais de camundongos	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Ganho de massa corporal, ingestão de alimentos e hídrica	24
<b>Tabela 2</b> – Avaliação do no peso relativo dos órgãos	25
<b>Tabela 3</b> – Avaliação nos níveis de glicose sérica	26
<b>Tabela 4</b> – Avaliação da temperatura retal	27
<b>Tabela 5</b> – Avaliação do perfil bioquímico	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Ascórbico
Akt	Proteínas Quinase B
BBOV	Bis((5-hidroxi-4-oxo-4H-piran-2-il)metilbenzoato)oxovanadium(IV)
BEOV	Bis(etilmaltolato)oxovanádio(IV)
BMOV	Bis(maltolato)oxovanádio(IV)
BSOV	bis((5-hidroxi-4-oxo-4H-piran-2-il)metil 2-hidroxibenzoatato)oxovanádio (IV)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
PI3Ks	Fosfoinosítideo 3-quinase
PTP	Proteína Tirosina Fosfatase

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>13</b>
2.1 Visão geral sobre o Vanádio .....	13
2.2 Compostos de Vanádio utilizados em modelos animais e humanos .....	15
2.3 Toxicidade do Vanádio .....	17
2.4 Papel protetor e antioxidante do ácido ascórbico .....	18
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
3.1 Objetivo Geral .....	19
3.2 Objetivos Específicos .....	19
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
4.1 Animais.....	20
4.2 Desenho experimental.....	20
4.3 Avaliação da massa de órgãos e tecidos .....	21
4.4 Análises bioquímicas.....	21
4.5 Análise Histopatológica .....	21
4.6 Análise estatísticas.....	22
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
5.1 Efeito do composto Vanádio (IV) no ganho de massa corporal, e ingestão alimentar e hídrica.....	23
5.2 Efeito acumulativo do composto de Vanádio (IV) nos Pesos relativos dos órgãos.....	25
5.3 Efeito do composto Vanádio (IV) na temperatura retal e glicemia de camundongos.....	26
5.4 Efeito do composto Vanádio (IV) no perfil bioquímico sérico .....	27
5.5 Efeito acumulativo composto Vanádio (IV) no tecido hepático e renal.....	29
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>35</b>
<b>ANEXO A</b> .....	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O vanádio é um metal de transição com número atômico 23 na tabela periódica, podem ser encontrados no solo, água, ar, como também em alimentos como a pimenta-do-reino, endro (tipo de erva), salsa, cogumelos, espinafre, ostras, mexilhões, cereais, peixes (águas profundas) (Treviño *et al.*, 2019). O vanádio possui uma ampla utilização industrial, como na produção de vidro, tintas, baterias de fluxo redox e na produção de ligas não metálicas (Lu *et al.*, 2017; Ścibior *et al.*, 2020). Além disso, o vanádio é um importante cofator biológicos em diferentes rotas bioquímicas e moleculares, haja vista a ausência deste metal está diretamente relacionada à infertilidade, distúrbios no metabolismo ósseo, do ferro e da glicose, anemias, entre outros.

A literatura científica tem mostrado que compostos à base de vanádio apresentam atividade antiviral, antibacteriana, antiparasitária, antifúngica, antitumoral, antidiabética, antipercolesterolêmica, cardioprotetora e neuroprotetora (Ścibior *et al.*, 2020). Em vista disso, estudos realizados por Heyliger *et al.* na década de 1980, demonstraram os efeitos do vanádio no metabolismo da glicose e sua regulação, descrevendo suas propriedades antidiabéticas *in vivo* pela primeira vez (Ścibior *et al.*, 2020; Korbecki *et al.*, 2016).

O estudo pioneiro demonstrou que os compostos de vanádio podem modular positiva e diretamente o metabolismo da glicose em experimentos *in vitro* (Tolman *et al.*, em 1979). Posteriormente, em 1985, Heyliger *et al.* descreveram pela primeira vez as propriedades antidiabéticas do vanádio em modelos animais. A partir desse marco, o número de experimentos com compostos de vanádio aumentou significativamente, e outros pesquisadores também passaram a investigar o uso do vanádio no tratamento do diabetes. Diversos estudos foram conduzidos, e, em 2000, um composto de vanádio, o bis(etilmaltolato)oxovanádio (IV) (BEOV), foi testado em ensaios clínicos de fase I e II, representando um avanço significativo na investigação de suas aplicações terapêuticas (Ścibior *et al.*, 2020; Amaral *et al.*, 2023).

Embora esses resultados sejam promissores, os compostos de vanádio apresentam efeitos tóxicos associados ao seu uso, como intolerância gastrointestinal, especialmente náuseas e diarreia, além de efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos (Domingo *et al.*, 2016; Srivastava, 2000; Wilk *et al.*, 2017). A toxicidade dos compostos de vanádio está relacionada ao aumento do estresse oxidativo por acúmulo das

reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERN) e/ou redução das defesas antioxidantes celular. Neste sentido, com o aumento do dano oxidativo às membranas celulares induzido pelo metal, os efeitos deletérios a proteínas, lipídios e o próprio ácido desoxirribonucleico (DNA) promovem alterações importantes na maquinaria celular capazes de determinar a desnaturação e/ou inativação enzimática, dano ao DNA, mutagênese e apoptose celular (Fatola *et al.*, 2019).

O estresse oxidativo é uma via celular crucial para a toxicidade dos compostos de vanádio. Nesse cenário, o uso de antioxidantes coordenados a compostos de vanádio como ligantes orgânicos desponta como uma estratégia promissora para mitigar seus efeitos tóxicos, preservando ao mesmo tempo os benefícios terapêuticos do vanádio no tratamento de diversas doenças (Zwolak, 2020; García-Rodríguez *et al.*, 2016). Com base nisso, pesquisadores têm explorado o uso de quelantes de íons metálicos para formar complexos orgânicos de vanádio. Esses complexos não apenas minimizam os efeitos colaterais relacionados à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), mas também aumentam a absorção intestinal do vanádio, potencializando sua eficácia e segurança (Ścibior *et al.*, 2020). Nesse contexto, o ácido ascórbico destaca-se como uma alternativa promissora para mitigar os efeitos oxidativos associados aos compostos de vanádio, graças às suas potentes propriedades antioxidantes (Shimada *et al.*, 2015; Du *et al.*, 2012). Estudos, como o de Baran (2008), exploram sua aplicação na redução de danos causados por vanádio, demonstrando eficácia no tratamento de intoxicações agudas por vanadato e vanadil (Santos *et al.*, 2022; Zwolak, 2020).

A avaliação dos efeitos tóxicos de compostos de vanádio é fundamental para entender sua segurança e potencial terapêutico, o que contribui diretamente para o desenvolvimento de aplicações terapêuticas mais seguras e eficazes. Nesse contexto, este estudo tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos tóxicos de um novo composto de vanádio (IV) em camundongos, submetidos a doses repetidas durante um período de 28 dias.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Visão geral sobre o Vanádio

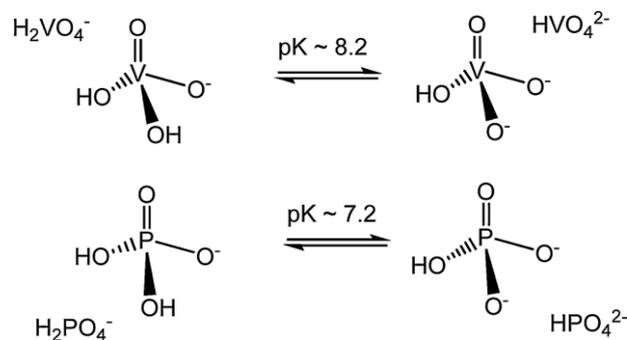
O vanádio é um oligoelemento abundante na crosta terrestre e distribuído amplamente na natureza (Treviño *et al.*, 2019; Pessoa, 2015). Foi descoberto em 1801 pelo mineralogista hispano-mexicano Andrés Manuel del Río, que o nomeou "eritrônio" devido à coloração vermelha de seus compostos. No entanto, com a descoberta do cromo, cujas características morfológicas eram semelhantes às do vanádio, acreditou-se que o eritrônio era, na verdade, cromo, e a descoberta de Del Río não foi validada e publicada. Apenas em 1831, o elemento foi redescoberto pelo médico e químico Nils Gabriel Sefström, quem o renomeou como "vanádio", em homenagem à deusa Vanadis da mitologia nórdica (Ścibior *et al.*, 2020; Treviño *et al.*, 2019).

O vanádio pode ser encontrado em alimentos como: pimenta-do-reino, salsa, cogumelos, espinafre, ostras, mexilhões, cereais e peixes. Também está presente na natureza, na água do mar, em águas subterrâneas, no solo, no ar, conseqüentemente, em organismos vivos, onde atua como constituinte endógeno de tecidos e órgãos (Roy *et al.*, 2015; Rehder, 2013; Ścibior *et al.*, 2020). A principal via de exposição do vanádio ocorre por meio da alimentação, especialmente pela ingestão de água potável. A ingestão diária de vanádio através da dieta pode variar de 10 µg a 2 mg, dependendo das condições ambientais de cada região (Roy *et al.*, 2015). O vanádio é excretado principalmente pela urina, na forma de hidrogenovanadato, e pelas fezes na forma de hidróxidos de VO<sup>2+</sup> e VO<sup>3+</sup> (Treviño *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2015).

Desde sua descoberta, é utilizado na metalurgia, especialmente na produção de ligas metálicas, sendo insubstituível na fabricação de ligas de titânio para aplicações aeroespaciais (Amaral *et al.*, 2023). Além disso, o vanádio possui diversas outras aplicações, como na produção de baterias de fluxo redox, em reveladores fotográficos, como agente secante de tintas e vernizes, redutor de pesticidas, e na produção de ligas não metálicas (Lu *et al.*, 2017; Moskalyk e Alfantazi, 2003).

O vanádio é capaz de formar diversos compostos, atuando tanto como ânion quanto como cátion (Imtiaz *et al.*, 2015). Ele existe nos estados de oxidação +2, +3, +4 e +5, com a forma pentavalente predominando nos fluidos extracelulares, enquanto a tetravalente é a mais comum no ambiente intracelular (Tracey *et al.*, 2007). Dessa

maneira, o vanádio é relevante nas ciências biomédicas e da saúde devido ao seu potencial terapêutico, sendo utilizado em tratamentos antivirais, antibacterianos, antiparasitários, antifúngicos, antitumorais, antidiabéticos, anticolesterolêmicos, além de suas propriedades cardioprotetoras e neuroprotetoras (Rehder, 2012). Isso se deve principalmente à semelhança estrutural do vanadato com os ânions fosfato (fig. 1), que possibilita ao vanádio inibir ou ativar enzimas afetadas pelo fosfato. Dessa forma, o vanádio influencia a atividade de quinases e fosfatases, apresentando efeitos na sinalização celular e no metabolismo de carboidratos, lipídios, fosfolipídios e colesterol (Pessoa et al., 2015; Tracey; Willisky, e Takeuchi, 2007).



**Figura 1** - Analogia entre fosfato e vanadato. Fonte: Pessoa *et al.* (2015).

O vanadato exerce um efeito inibidor sobre a atividade enzimática das fosfatases, alterando suas funções ao formar complexos com fosfatases ácidas e alcalinas (Crans, 2015; Lodyga-Chruscinska *et al.*, 2008; Mukherjee *et al.*, 2017). Além disso, o vanadato inibe a ativação da proteína tirosina fosfatase (PTP), impactando diretamente a atividade de quinases e estimulando diversas vias de transdução de sinal. Esse mecanismo modula enzimas como a fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K), a proteína quinase B (AKT) e a proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK), entre outras. Essas enzimas desempenham funções antidiabéticas e antilipolíticas, imitando as ações da insulina, razão pela qual são denominadas insulinomiméticas. (Liu *et al.*, 2013; Mukherjee *et al.*, 2017; Niu *et al.*, 2017). Ademais, os intermediários gerados pela oxidação do vanadato estimulam a lipogênese e a oxidação da glicose, funcionando como potencializadores da insulina, aumentando a resposta celular ao transporte de glicose até atingir uma concentração saturante de insulina (Carpéné *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2013).

## 2.2 Compostos de Vanádio utilizados em modelos animais e humanos

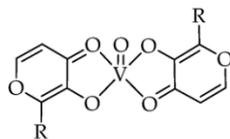
Os sais de vanádio, como o ortovanadato de sódio e outros compostos contendo vanadato e vanadila, têm demonstrado resultados promissores em diversas aplicações biológicas (Amaral *et al.*, 2023). No entanto, o uso prolongado desses compostos pode levar ao acúmulo de vanádio nos órgãos e tecidos, resultando em efeitos adversos como aumento do estresse oxidativo, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, cardiotoxicidade e neurotoxicidade (Amaral *et al.*, 2023; Ścibior *et al.*, 2020). Diversos compostos foram desenvolvidos (Fig. 2), contendo diferentes ligantes orgânicos projetadas para minimizar os efeitos tóxicos e reduzindo o aumento do estresse oxidativo (Amaral *et al.*, 2023). Entre os primeiros complexos sintetizados, destacam-se bis(maltolato)oxovanádio(IV) (BMOV) e bis(etilmaltolato)oxovanádio(IV) (BEOV) (Amaral *et al.*, 2023).

Esses complexos apresentam benefícios antidiabéticos superiores aos dos sais de vanádio, principalmente o BEOV, um composto de referência, chegando a ensaios clínicos de fase I e II (Amaral *et al.*, 2023; Ścibior *et al.*, 2020; Pessoa *et al.*, 2015). Nos ensaios de fase I, o BEOV demonstrou uma captação mais elevada e maior biodisponibilidade, em comparação ao sal inorgânico de vanádio testado (Sharfalddin, Al-Younis, *et al.*, 2022). Na fase II, ambos os compostos mostraram eficácia na redução da glicose no sangue em jejum em humanos, resultando em um aumento de sua captação (Amaral *et al.*, 2023). No entanto, apesar dos incentivos e dos resultados promissores, a pesquisa foi descontinuada devido à ocorrência de danos renais nos pacientes testados, comprometendo a viabilidade do uso desse composto (Domingo e Gómez, 2016).

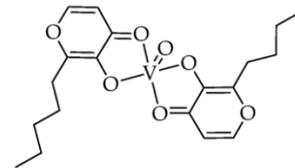
Outras estratégias foram desenvolvidas para reduzir a toxicidade e superar os efeitos adversos do BEOV. Entre essas estratégias, destacam-se complexos contendo pirona e grupos antioxidantes naturais, como o bis((5-hidroxi-4-oxo-4H-piran-2-il)metilbenzoato)oxovanádio(IV) (BBOV) e o bis((5-hidroxi-4-oxo-4H-piran-2-il)metil 2-hidroxibenzoato)oxovanádio(IV) (BSOV) (Amaral *et al.*, 2023). Esses compostos são menos tóxicos, sendo utilizados em doses até 1000 vezes menores que os sais de vanádio (Sharfalddin, Al-Younis, *et al.*, 2022). Em testes com o BBOV, observou-se uma normalização dos níveis de glicose no sangue e uma melhora na tolerância à glicose após quatro semanas de tratamento em ratos diabéticos (Amaral *et al.*, 2023). Além disso, o BSOV mostrou-se eficaz na redução significativa dos níveis

de glicose no sangue, na melhora dos danos hepáticos e renais em ratos diabéticos, além de aprimorar o metabolismo lipídico (Domingo e Gómez, 2016; Sharfalddin, Al-Younis, *et al.*, 2022).

Outro composto é o bis(alixinato)oxovanádio(IV), que inclui vanadilo e contém alixina, um componente do alho com comprovada atividade mimética de insulina *in vitro* (Sharfalddin; Al-Younis, *et al.*, 2022). A alixina demonstrou aumentar a captação de glicose em adipócitos isolados de ratos e melhorar a hiperglicemia em modelos animais diabéticos e obesos (Wei e Yang, 2012). Essa abordagem visa melhorar a absorção tecidual e o comportamento intracelular do vanádio, permitindo a redução da dose necessária para alcançar efeitos terapêuticos positivos (Sharfalddin; Al-Younis, *et al.*, 2022). A utilização desses complexos de vanádio com ligantes orgânicos representa um avanço significativo na aplicação terapêutica do vanádio (Amaral *et al.*, 2023).



- (1) BMOV, R= CH<sub>3</sub>
- (2) BEOV, R= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>
- (3) BIOV, R=C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>
- (4) BSOV, R= methyl-2-hydroxy-benzoato
- (5) BBOV R= methylbenzoato



(6) Bis(allixinato)oxovanadium(IV)

**Figura 2** - Fórmulas representativas dos compostos de vanádio mais testados. Fonte: adaptado de Amaral *et al.*, 2023.

### 2.3 Toxicidade do Vanádio

Os efeitos tóxicos de uma substância resultam de alterações nocivas, cuja gravidade depende da dose, do tempo de exposição e da suscetibilidade individual, sendo influenciados por fatores como o tipo de composto, a valência do metal e a via de administração (Clark, 2013; Ścibior *et al.*, 2020; Goc, 2006). Dessa forma, a toxicidade do vanádio tem sido atribuída ao seu uso prolongado, resultando em seu acúmulo nos tecidos, especialmente nos ossos, rins, fígado e músculos (Treviño *et al.*, 2019). Esse acúmulo pode causar danos graves e irreversíveis, como carcinogênese, neurotoxicidade, toxicidade gastrointestinal, inibição de processos enzimáticos e aumento do estresse oxidativo (Wang *et al.*, 2022). A ação pró-oxidante decompostos simples de vanádio, especialmente durante sua conversão entre os estados de oxidação V a IV, gera EROs que sobrecarregam o sistema antioxidante (Ścibior *et al.*, 2020). Isso resulta no enfraquecimento da barreira antioxidante, no aumento da peroxidação lipídica e contribui de forma significativa para o mecanismo de dano celular (Ścibior *et al.*, 2018; Ścibior e Kurus, 2019; Tracey *et al.*, 2007).

A peroxidação lipídica provoca a degeneração oxidativa dos fosfolípidios nas membranas celulares, comprometendo sua permeabilidade e fluidez, além de gerar produtos tóxicos (Zwolak, 2020). Esses danos podem afetar órgãos como fígado, rins e cérebro, além de promover a oxidação de proteínas e do DNA (Marouane *et al.*, 2011; Samira *et al.*, 2018; Usende *et al.*, 2018). O mecanismo de oxirredução, resultando no aumento do estresse oxidativo, está associado à inflamação pulmonar, neurotoxicidade e à potencialização de efeitos carcinogênicos (Fatola *et al.*, 2019; Zwolak, 2020).

Dessa forma, para combater os danos causados pelo estresse oxidativo, o sistema antioxidante endógeno atua neutralizando os radicais livres e, assim, reduz o dano celular provocado por compostos reativos (Chaudhary *et al.*, 2023; Hu *et al.*, 2020). Esse sistema envolve uma rede de enzimas e moléculas antioxidantes que inativam as EROs, geradas por vários processos bioquímicos nas células (García-Rodríguez *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2020). Além disso, os antioxidantes exercem um papel importante como agentes preventivos e coadjuvantes no tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo. Ao reforçar o sistema antioxidante, estes compostos ajudam a prevenir o dano celular (Hu *et al.*, 2020; García-Rodríguez *et al.*, 2016).

## 2.4 Papel protetor e antioxidante do ácido ascórbico

Para diminuir a produção de ERO pelo vanádio e melhorar sua absorção, tem se utilizado substâncias orgânicas como antioxidantes naturais. Esses antioxidantes reforçam o sistema antioxidante intrínseco, protegendo o organismo e inativando as moléculas reativas geradas pela oxidação do vanádio, prevenindo os danos celulares causados pelo aumento do estresse oxidativo (García-Rodríguez *et al.*, 2016).

Nesse contexto, o ácido ascórbico (AA) é amplamente reconhecido por sua capacidade antioxidante, atuando como um agente redutor que doa elétrons para estabilizar radicais livres (Njus *et al.*, 2020). Devido ao seu baixo potencial eletrônico e à estabilidade de ressonância, o AA pode neutralizar radicais como superóxido, hidroxila, alcoxila e peroxila, ajudando a manter o equilíbrio redox intracelular e a reduzir danos oxidativos causados pelo estresse oxidativo (Santos *et al.*, 2022; Njus *et al.*, 2020). Desse modo, considerando o potencial oxidativo do vanádio, diversos estudos têm investigado a capacidade do ácido ascórbico em mitigar os efeitos nocivos desse metal, com o intuito de avaliar sua eficácia no tratamento de intoxicações agudas por vanadato e vanadil desde a década de 1980 (Zwolak, 2020).

Dessa forma, em experimentos com camundongos, o uso de AA mostrou aumentar a excreção urinária de vanádio. Bem como, na pesquisa publicada por Wang *et al.* (2016) na qual indicaram que o AA pode melhorar parcialmente o estado antioxidante e a qualidade dos ovos em galinhas expostas à intoxicação por metavanadato de amônio (Wang *et al.*, 2016; Zwolak, 2020). Do mesmo modo, amplamente reconhecida por suas propriedades antioxidantes, a taurina atua como um escudo protetor para as células. Suas propriedades físico-químicas permitem estabilizar biomembranas e eliminar espécies reativas de oxigênio, dessa maneira, desempenhando um papel fundamental na proteção celular contra danos oxidativos e na redução dos produtos da peroxidação lipídica (Jong *et al.*, 2021).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Investigar a toxicidade oral em doses repetidas por 28 dias de um novo complexo de Vanádio IV em camundongos

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o ganho ponderal, ingestão hídrica e alimentar;
- Determinar marcadores bioquímicos e plasmáticos da função hepática e renal;
- Avaliar massa de órgãos;
- Analisar as alterações histopatológicas do fígado e rim.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Animais

Foram utilizados 40 camundongos, 20 fêmeas ( $30 \pm 3g$ ) e 20 machos ( $35 \pm 3g$ ) da linhagem Swiss, entre 6 e 9 semanas de vida, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em sala climatizada com temperatura controlada e ciclo claro-escuro de 12 horas, com acesso livre a água e alimentados com ração industrializada própria para roedores da marca Labina<sup>®</sup> normocalórica e normoproteica enriquecida com vitaminas e minerais. Todos os procedimentos experimentais envolvendo animais de biotério foram realizados de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE (CEUA), com o número 0052/2021.

### 4.2 Desenho experimental

Os animais foram divididos em 4 grupos (N=5), Controle macho e fêmea (CM/CF), tratados com 50mg/kg (VM50/VF50), tratado com 100mg/kg (VM100/VF100) e tratado com 150mg/kg (VM150/VF150) do composto. O composto de Vanádio (IV) foi produzido pelo departamento de química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, patente Nº BR 10 2023 013001 1. A administração do composto foi feita a partir da sua diluição em salina a 0,9% e administrado via oral utilizando o método de gavagem. Durante o período de 28 dias de experimento a cada 7 dias, a glicemia foi aferida através de glicosímetro digital (método da glico-oxidase, On Call Plus<sup>®</sup>) e a temperatura retal com o auxílio do termômetro clínico digital (TS-101 PM). No 29º dia de experimento os animais foram anestesiados com uma mistura de cetamina e xilazina na proporção de 7:3 para coleta de órgãos, tecidos e sangue.

### 4.3 Avaliação da massa de órgãos e tecidos

No 29º dia após a eutanásia, o fígado, rim, coração, útero, pulmão e cérebro dos animais foram coletados e em seguida pesados em balança analítica (Shimadzu®). Esses dados foram corrigidos pelo comprimento da tíbia e expressos em mg/mm.

### 4.4 Análises bioquímicas

O sangue foi coletado pelo plexo retro orbital e punção cardíaca para a análise dos parâmetros bioquímicos séricos. O sangue colhido foi centrifugado em 2.800rpm, a temperatura ambiente e sem anticoagulante por 20 minutos. O soro obtido foi transferido com auxílio de micropipeta automática para microtubos (Eppendorfs®) e aliquotados para quantificação dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), ureia e creatinina. Os kits Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil) foram utilizados para as análises bioquímicas, de acordo com os protocolos do fabricante. As alíquotas não utilizadas no mesmo dia para quantificação dos parâmetros bioquímicos séricos foram armazenadas em freezer (- 20°C) e descongeladas uma única vez.

### 4.5 Análise Histopatológica

As amostras de fígado e rim foram utilizadas para avaliação da histopatologia. Os tecidos foram preservados em formalina a 10%, em seguida desidratados em álcool 70, 80, 90 e 100% e incluídos em parafina de baixo ponto de fusão. Na finalização do processo de inclusão, as amostras foram cortadas em micrótomo (Leica®) e montadas as lâminas. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE) para avaliação histológica por microscopia de luz, com o auxílio do microscópio Eclipse Ni-U Nikon®.

#### 4.6 Análise estatísticas

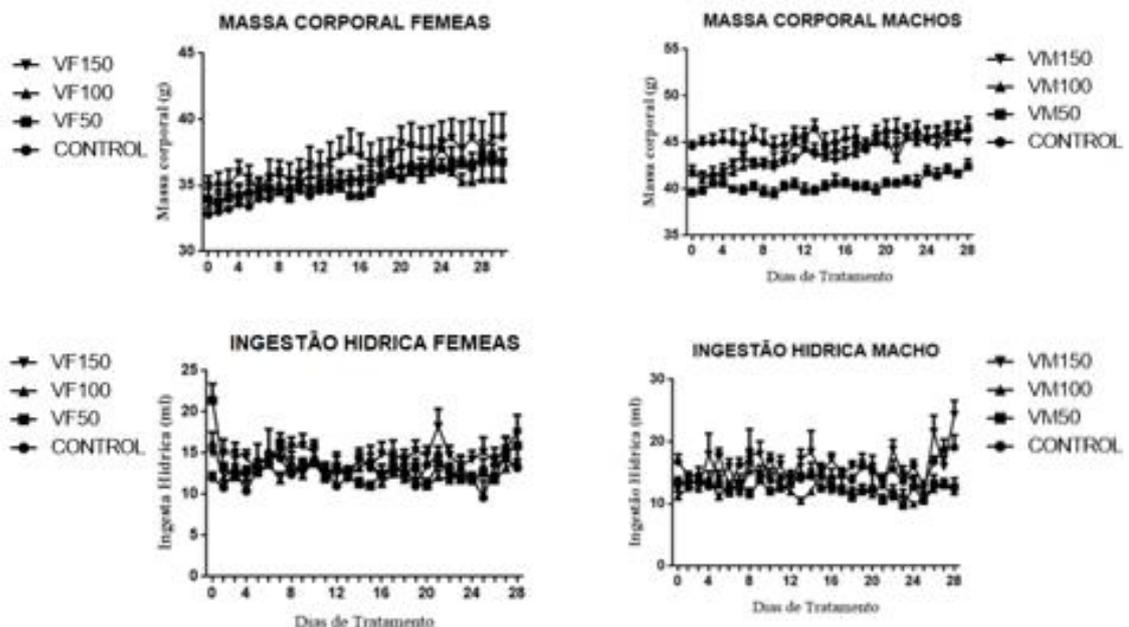
Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão ( $M \pm EP$ ). A normalidade dos dados foi avaliada pelo método de Shapiro-Wilk. Os resultados foram comparados através da análise de variância de uma via (*one way ANOVA*) e para o pós teste foi utilizado o teste de Tukey. O nível de significância foi considerado maior ou igual a 95% ( $p < 0,05$ ). Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software GraphPad Prism 6<sup>®</sup>.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Efeito do composto Vanádio (IV) no ganho de massa corporal, e ingestão alimentar e hídrica.

Durante todo o período experimental, os camundongos foram monitorados de forma rigorosa e não apresentaram nenhum sinal de toxicidade, como cianose, desidratação, piloereção, sangramentos ou febre. Além disso, não foram observados efeitos adversos específicos nos sistemas digestivo, urinário, respiratório ou motor. A aparência externa e a condição geral dos animais permaneceram inalteradas durante o tratamento.

Na avaliação diária da massa corporal e da ingestão hídrica, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo controle (Figura 3). No entanto, registrou-se uma redução significativa na ingestão alimentar, na ingestão hídrica e na massa corporal dos animais do grupo tratado, conforme os valores totais apresentados na Tabela 1. No grupo de machos, a diminuição da ingestão alimentar foi mais acentuada no grupo VM150 (17,5%,  $p \leq 0,05$ ), assim como a ingestão hídrica (8,5%,  $p \leq 0,05$ ). Em relação ao ganho de massa corporal, a maior redução foi observada no grupo VM50 (10,7%,  $p \leq 0,05$ ). Entre as fêmeas, a diminuição foi maior no grupo VF150, que apresentou uma diminuição na ingestão alimentar (11,6%,  $p \leq 0,05$ ), na ingestão hídrica (8,3%,  $p \leq 0,05$ ) e na massa corporal (2,6%,  $p \leq 0,05$ ). (Tabela 1)



**Figura 3.** Efeito do tratamento com o composto Vanádio (IV) na massa corporal e ingestão de líquidos em camundongos.

**Tabela 1.** Ganho de massa corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica total em camundongos, fêmeas e machos acumulados durante os 28 dias.

	Parâmetros	Controle	VM50	VM100	VM150
<b>Machos</b>	<b>Totais</b>				
	Ganho de massa	1315,20 ± 30,70	1173,20 ± 15,43 <sup>a</sup>	1269,80 ± 18,45 <sup>ab</sup>	1268,40 ± 16,90 <sup>ab</sup>
	Ingestão Hídrica	424,20 ± 9,77	396,50 ± 36,40 <sup>a</sup>	388,50 ± 8,15 <sup>a</sup>	387,75 ± 3,42 <sup>abc</sup>
	Ingestão Alimentar	179,60 ± 6,64	148,40 ± 3,41 <sup>a</sup>	147,25 ± 3,97 <sup>a</sup>	148,20 ± 8,90 <sup>a</sup>
<b>Fêmeas</b>	<b>Totais</b>				
	Ganho de massa	1037,50 ± 13,74	1029,38 ± 12,07 <sup>a</sup>	1018,40 ± 10,51 <sup>ab</sup>	1010,50 ± 15,55 <sup>abc</sup>
	Ingestão Hídrica	386,20 ± 16,83	363,00 ± 23,51 <sup>a</sup>	359,25 ± 6,02 <sup>a</sup>	353,75 ± 9,75 <sup>a</sup>
	Ingestão Alimentar	168,25 ± 5,20	155,20 ± 3,41 <sup>a</sup>	152,67 ± 3,71 <sup>a</sup>	148,25 ± 5,14 <sup>abc</sup>

Os valores expressos como  $M \pm EP$  com  $p < 0,05$  ( $n = 5$ ), utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). Valores com letras sobrescritas diferentes são estatisticamente significativos em  $p < 0,05$  onde (a) vs Controle, (b) vs V50, (c) vs V100.

## 5.2 Efeito acumulativo do composto de Vanádio (IV) nos Pesos relativos dos órgãos.

Após o tratamento de 28 dias, os animais foram submetidos à necropsia, que não revelou alterações macroscópicas visíveis em comparação ao grupo controle. Nos camundongos machos não houve modificações significativas no peso relativo dos órgãos e tecidos. No entanto, nas fêmeas, foi observado uma diminuição significativa na massa dos órgãos reprodutivos (38%  $p \leq 0,05$ ) no grupo VF150. (Tabela 2)

**Tabela 2.** Avaliação do composto Vanádio IV ( $[V^{IV}O(TAU)(ASC)]$ ) no peso relativo dos órgãos (mm/mg) em diferentes grupos de camundongos machos e fêmeas após 28 dias.

	Órgãos avaliados	Controle	VM50	VM100	VM150
Machos	Fígado	121,9 ± 3,0	124,5 ± 8,0	120,5 ± 5,0	128,2 ± 2,3
	Rim	40,2 ± 1,3	34,1 ± 2,1	33,1 ± 1,0	34,2 ± 1,6
	Coração	11,1 ± 0,2	9,3 ± 0,6	9,7 ± 0,3	10,5 ± 0,5
	Testículo	18,4 ± 1,5	16,1 ± 2,0	16,4 ± 3,7	21,6 ± 0,9
	Cérebro	25,0 ± 0,3	23,9 ± 0,8	24,4 ± 0,9	25,4 ± 0,5
	Pulmão	14,3 ± 0,5	12,8 ± 1,1	12,6 ± 0,5	13,0 ± 0,8
	Órgãos avaliados	Controle	VF50	VF100	VF150
Fêmeas	Fígado	101,2 ± 5,5	107,8 ± 3,6	107,9 ± 8,1	110,5 ± 6,9
	Rim	28,8 ± 0,8	27,3 ± 1,1	27,0 ± 1,3	23,9 ± 1,2
	Coração	10,9 ± 1,0	9,8 ± 0,3	9,2 ± 0,5	9,9 ± 0,7
	Ovários e Útero	27,4 ± 2,4	28,2 ± 2,4	31,1 ± 3,6	16,9 ± 2,5 <sup>abc</sup>
	Cérebro	27,1 ± 0,7	22,6 ± 2,1	26,0 ± 1,0	26,0 ± 0,9
	Pulmão	14,5 ± 1,3	13,8 ± 0,6	14,0 ± 1,4	11,9 ± 0,8

Os valores expressos como  $M \pm EP$  da média com  $p < 0,05$  ( $n = 5$ ), utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). Valores com letras sobrescritas diferentes são estatisticamente significativos, onde (a) vs Controle, (b) vs V50, (c) vs V100.

### 5.3 Efeito do composto Vanádio (IV) na temperatura retal e glicemia de camundongos.

Os níveis médios de glicose plasmática dos camundongos tratados não apresentaram variações ao longo 28 dias, (Tabela 3). Da mesma forma, os dados de temperatura retal também não mostraram distinções relevantes entre os grupos tratados e controle. (Tabela 4)

**Tabela 3.** Avaliação do composto Vanádio (IV) nos níveis de glicose sérica em diferentes grupos de camundongos machos e fêmeas após 28 dias.

	<b>Dias de Avaliação</b>	<b>Controle</b>	<b>VM50</b>	<b>VM100</b>	<b>VM150</b>
<b>Machos</b>	Dia 0	166,8 ± 7,6	154,6 ± 9,5	150,6 ± 8,9	156,0 ± 10,3
	Dia 7	159,4 ± 4,5	156,0 ± 9,6	153,8 ± 14,1	153,2 ± 11,9
	Dia 14	162,2 ± 3,0	123,8 ± 8,7	143,6 ± 10,5	148,4 ± 4,1
	Dia 21	160,0 ± 0,6	149,0 ± 12,4	159,8 ± 2,3	146,4 ± 2,9
	Dia 28	162,8 ± 2,9	162,6 ± 2,5	166,6 ± 2,4	152,8 ± 12,2
	<b>Dias de Avaliação</b>	<b>Controle</b>	<b>VF50</b>	<b>VF100</b>	<b>VF150</b>
<b>Fêmeas</b>	Dia 0	121,40 ± 5,29	118,80 ± 4,54	129,6 ± 7,6	136,6 ± 8,5
	Dia 7	120,40 ± 4,58	126,20 ± 12,06	112,0 ± 6,2	128,6 ± 5,4
	Dia 14	112,20 ± 3,60	122,80 ± 14,06	130,2 ± 12,3	131,6 ± 7,2
	Dia 21	114,80 ± 4,76	122,20 ± 6,07	124,8 ± 11,2	135,6 ± 7,7
	Dia 28	106,20 ± 5,36	117,80 ± 12,16	96,8 ± 30,3	96,8 ± 26,2

Os valores expressos como  $M \pm EP$  da média com  $p < 0,05$  ( $n = 5$ ), utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). Não foram encontradas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em comparação com o controle.

**Tabela 4.** Avaliação do composto Vanádio (IV) na temperatura retal em diferentes grupos de camundongos machos e fêmeas após 28 dias.

		<b>Dias de Avaliação</b>	<b>Controle</b>	<b>VM50</b>	<b>VM100</b>	<b>VM150</b>
<b>Machos</b>		Dia 0	36,96 ± 0,4	36,88 ± 0,3	36,80 ± 0,3	36,40 ± 0,4
		Dia 7	36,00 ± 0,4	36,00 ± 0,4	36,24 ± 0,4	36,36 ± 0,4
		Dia 14	36,52 ± 0,3	36,50 ± 0,2	36,48 ± 0,4	36,64 ± 0,3
		Dia 21	36,24 ± 0,5	37,26 ± 0,4	36,26 ± 0,3	37,34 ± 0,4
		Dia 28	37,20 ± 0,3	36,82 ± 0,3	36,18 ± 0,3	37,30 ± 0,4
		<b>Dias de Avaliação</b>	<b>Controle</b>	<b>VF50</b>	<b>VF100</b>	<b>VF150</b>
<b>Fêmeas</b>		Dia 0	36,7 ± 0,2	37,1 ± 0,2	37,1 ± 0,4	36,8 ± 0,2
		Dia 7	36,3 ± 0,4	36,9 ± 0,2	37,4 ± 0,1	36,6 ± 0,6
		Dia 14	36,6 ± 0,2	36,8 ± 0,0	37,2 ± 0,4	36,6 ± 0,3
		Dia 21	37,0 ± 0,2	37,1 ± 0,2	37,9 ± 0,3	36,6 ± 0,2
		Dia 28	37,5 ± 0,3	37,1 ± 0,2	37,5 ± 0,3	37,2 ± 0,2

Os valores expressos como  $M \pm EP$  da média com  $p < 0,05$  ( $n = 5$ ), utilizando a análise de variância de uma via (one way ANOVA). Não foram encontradas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em comparação com o controle.

#### 5.4 Efeito do composto Vanádio (IV) no perfil bioquímico sérico

Os dados da Tabela 5 indicam que, ao final do estudo de toxicidade oral por doses repetidas de 28 dias, houve um aumento significativo nos níveis séricos de AST (~37%  $p \leq 0,05$ ) nos machos, independentemente da dose avaliada, quando comparado ao grupo controle. Observou-se também um aumento nos níveis de ureia nos grupos tratados com VM100 (30%  $p \leq 0,05$ ) e VM150 (50%  $p \leq 0,05$ ). Em relação aos níveis de ALT, apenas o grupo VM150 apresentou elevação (32%  $p \leq 0,05$ ), em comparação ao controle. Adicionalmente, foi observada uma elevação dose-dependente nos níveis de creatinina ( $p \leq 0,05$ ).

Entre as fêmeas, o grupo tratado com VF150 apresentou um aumento (43%  $p \leq 0,05$ ) nos níveis de ALT em relação ao controle. Quanto aos níveis de AST, todos os grupos tratados mostraram elevações, destacando-se os grupos VF100 (~61%,  $p \leq 0,05$ ) e VF150 (~51 %,  $p \leq 0,05$ ). Além disso, houve um aumento nos níveis de ureia em todos os grupos tratados, sendo mais acentuado nos grupos VF100 (~82,5%  $p \leq 0,05$ ) e VF150 (~65,5%  $p \leq 0,05$ ), quando comparados ao controle. Não houve alteração nos níveis de creatina no grupo das fêmeas. (Tabela 5)

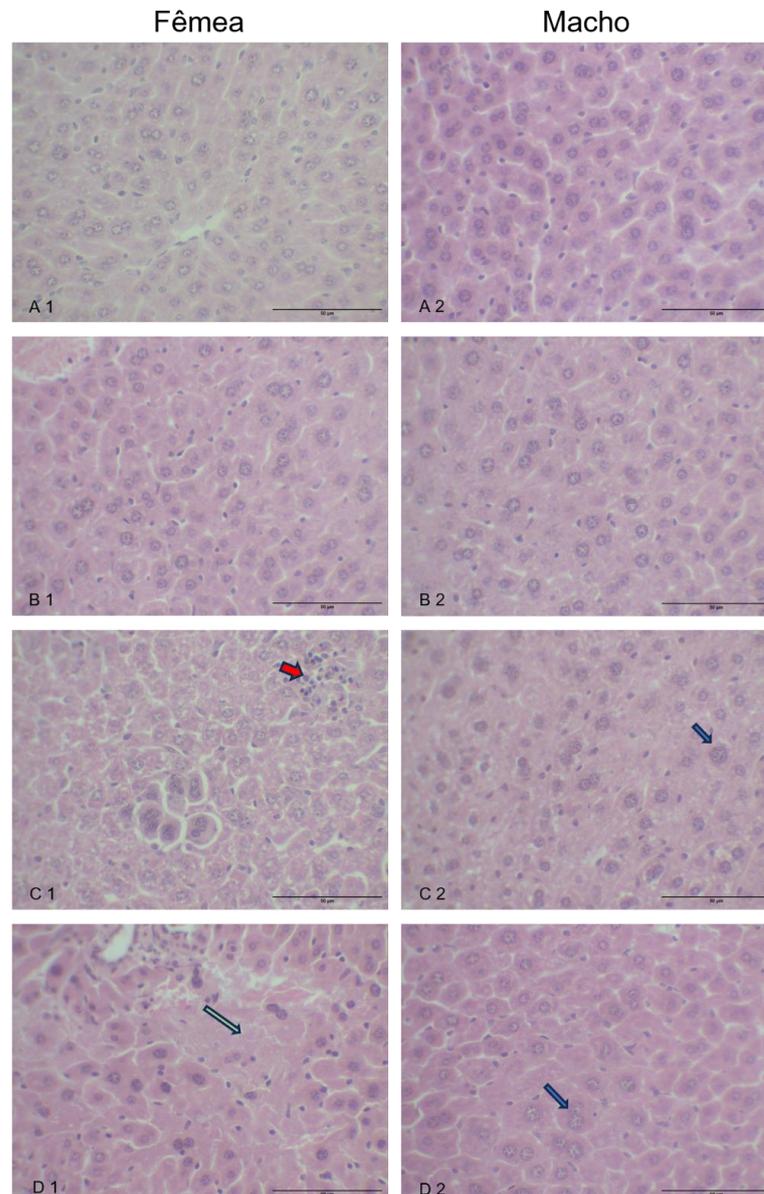
**Tabela 5.** Avaliação do Vanádio IV ( $[V^{IV}O(TAU)(ASC)]$ ) no perfil bioquímico em diferentes grupos de camundongos machos e fêmeas após 28 dias.

	<b>Parâmetros</b>	<b>Controle</b>	<b>VM50</b>	<b>VM100</b>	<b>VM150</b>
<b>Machos</b>	<b>Bioquímicos</b>				
	AST (U/L)	33,20 ± 1,52	42,02 ± 0,87 <sup>a</sup>	44,56 ± 0,15 <sup>a</sup>	44,18 ± 1,20 <sup>a</sup>
	ALT (U/L)	21,86 ± 0,70	23,46 ± 1,50	23,00 ± 0,34	28,90 ± 0,88 <sup>a</sup>
	Ureia (mg/dl)	31,03 ± 0,49	40,73 ± 0,98 <sup>a</sup>	47,96 ± 0,34 <sup>ab</sup>	47,24 ± 0,79 <sup>a</sup>
	Creatinina (mg/dl)	0,13 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,12 <sup>abc</sup>
<b>Fêmeas</b>	<b>Parâmetros</b>				
	<b>Bioquímicos</b>				
	AST (U/L)	32,12 ± 1,85	48,74 ± 2,04 <sup>a</sup>	51,88 ± 1,80 <sup>a</sup>	44,64 ± 1,48 <sup>a</sup>
	ALT (U/L)	20,30 ± 0,64	20,83 ± 1,05	21,84 ± 1,57	29,11 ± 1,64 <sup>a</sup>
	Ureia (mg/dl)	29,62 ± 0,22	42,43 ± 2,81 <sup>a</sup>	54,08 ± 0,83 <sup>ab</sup>	49,02 ± 1,65 <sup>ab</sup>
	Creatinina (mg/dl)	0,23 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,30 ± 0,05

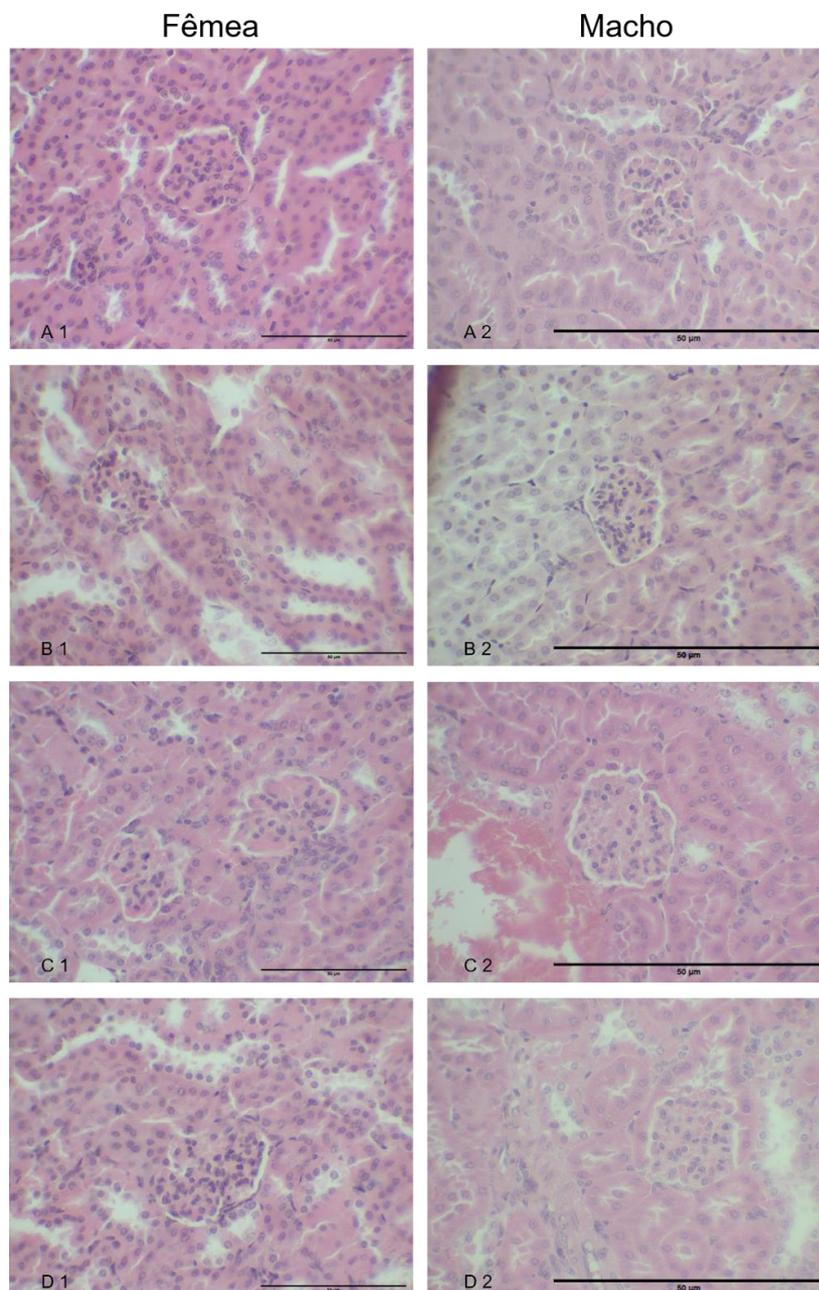
Os valores expressos como  $M \pm EP$  da média com  $p < 0,05$  ( $n = 5$ ), utilizando a análise de variância de uma via (one way ANOVA). Valores com letras sobrescritas diferentes são estatisticamente significativos em  $p < 0,05$  onde (a) vs Controle, (b) vs V50, (c) vs V100.

### 5.5 Efeito acumulativo composto Vanádio (IV) no tecido hepático e renal

Alterações no fígado e nos rins dos camundongos tratados foram observadas por meio de análise histológica com hematoxilina e eosina (H&E). Os achados histopatológicos das seções de fígado, apresentados na Figura 4, mostraram que todos os animais do grupo tratado exibiram infiltrados inflamatórios de células mononucleares e aumento no tamanho dos hepatócitos. Além disso, os animais dos grupos VF100/VM100 e VF150/VM150 apresentaram necrose do tecido hepático e hipertrofia nuclear. A avaliação do tecido renal, ilustrada na Figura 5, revelou que todos os camundongos tratados desenvolveram atrofia tubular, perda da morfologia do túbulo distal, infiltrados de células mononucleares e necrose renal.



**Figura 4.** Imagens histológicas de seções de fígado de camundongos machos e fêmeas. As figuras mostram o grupo controle (A1, A2), que apresenta aspectos histológicos normais do tecido hepático. O grupo VF50 e VM50 (B1, B2) exibiu infiltrados inflamatórios, sendo que apenas o grupo VM50 apresentou aumento significativo no tamanho dos hepatócitos. O grupo VF100 e VM100 (C1, C2) revelou infiltrados inflamatórios de células mononucleares (seta vermelha) e hipertrofia nuclear (seta azul). No grupo VF150 e VM150 (D1, D2), observou-se necrose do tecido hepático (seta verde) e hipertrofia nuclear (seta azul). (H&E, 40x) Barra de escala utilizada.



**Figura 5.** Imagens histológicas de seções renais de camundongos machos e fêmeas. As figuras mostram os grupos controle de fêmeas e machos (A1, A2), que apresentam aspectos histológicos normais do tecido renal. No grupo tratado VF50 e VM50 (B1, B2), foi observada atrofia tubular, perda da morfologia do túbulo distal e apoptose na mácula densa tubular distal. O grupo VF100 e VM100 (C1, C2) apresentou diminuição do glomérulo renal e discreta necrose renal. Além disso, o grupo VM100 exibiu infiltrados de células mononucleares, achado que também foi observado no grupo VF150 e VM150 (D1, D2). (H&E, 40x) Barra de escala utilizada

## 6. DISCUSSÃO

A exposição ao composto Vanádio (IV) não resultou em sinais evidentes de toxicidade geral, uma vez que as condições físicas dos camundongos permaneceram inalteradas. No entanto, tanto os machos quanto as fêmeas tratadas apresentaram uma redução significativa no ganho total de massa corporal, acompanhada por diminuição no consumo de alimentos e água. De acordo com a literatura, alterações nesses parâmetros são um dos primeiros sinais de toxicidade de uma substância teste, constituindo, portanto, um importante indicador para a avaliação objetiva da toxicidade em animais (Abdalla *et al.*, 2018). Nesse contexto, a diminuição da massa corporal, da ingestão alimentar e hídrica sugere possíveis alterações metabólicas relacionadas à exposição ao composto, especialmente nas doses mais elevadas. Ademais, as alterações observadas nas enzimas séricas, hepáticas e renais, associadas às alterações histopatológicas, reforçam essa hipótese.

A avaliação do peso dos órgãos complementa a análise da massa corporal, servindo como um indicativo de danos causados pela ingestão de substâncias tóxicas. Isso ocorre devido a interações desfavoráveis entre certos compostos e órgãos vitais, o que pode levar à destruição e inflamação celular, refletindo-se na alteração do peso relativo dos órgãos (Schmidt *et al.*, 2007). Neste estudo, observou-se uma redução significativa na massa dos órgãos reprodutivos das fêmeas expostas à dose mais elevada do composto. Esta alteração foi relatada em outros estudos com compostos de vanádio, como o de Wilk *et al.* (2017), que sugeriu que o vanádio pode reduzir o conteúdo de glicogênio nos ovários e no tecido uterino, além de diminuir o conteúdo proteico e a atividade da fosfatase ácida no útero (Barbosa *et al.*, 2023; Wilk *et al.*, 2017). Estes achados sugerem um potencial efeito adverso do composto na função reprodutiva feminina, o que merece investigação adicional.

Para identificar os possíveis efeitos tóxicos do composto de vanádio (IV), foram analisados diversos biomarcadores bioquímicos, especialmente as transaminases, mas também, ureia e creatinina. A crescente importância dos biomarcadores na pesquisa biomédica é amplamente reconhecida, pois eles atuam como indicadores precisos de processos biológicos, fornecendo dados objetivos sobre o estado fisiológico, a presença de doenças e as respostas a intervenções terapêuticas (Ahmad *et al.*, 2023). Nesse contexto, os marcadores de lesão hepática e renal, que são indicadores de disfunções metabólicas, desempenham um papel crucial, já que esses

órgãos são comumente afetados pela toxicidade induzida por medicamentos, incluindo metalofármacos (Oga *et al.*, 2008; Ozer *et al.*, 2008). As enzimas hepáticas, como ALT e AST, são essenciais para a detecção de hepatotoxicidade, já que seus níveis no sangue podem aumentar mais de três vezes em condições de lesão tóxica (Abdalla *et al.*, 2018). De forma similar, os níveis séricos de ureia e creatinina são biomarcadores cruciais da função renal, aumentando quando há comprometimento da filtração glomerular, o que possibilita a avaliação de danos tóxicos às células tubulares (Ezeja *et al.*, 2014).

Dessa maneira, esses marcadores bioquímicos permitem uma análise abrangente dos efeitos tóxicos potenciais do composto, auxiliando na identificação de danos a órgãos vitais. Neste estudo, observou-se um aumento nos níveis de ALT e AST nos grupos tratados, sugerindo lesão hepática. Esse achado foi corroborado por alterações histológicas, como a presença de infiltrados inflamatórios, aumento do tamanho dos hepatócitos e hipertrofia nuclear. Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores, como o de Koubaa *et al.* (2021), que também relataram toxicidade hepática em modelos de mamíferos expostos a compostos de vanádio.

Além disso, o aumento dos níveis de ureia e creatinina nos camundongos tratados, especialmente nos machos que receberam as doses mais altas, sugerem comprometimento da função renal. As análises histológicas reforçam esses achados, revelando atrofia tubular, perda de morfologia do túbulo distal e indicativos de necrose e apoptose, consistentes com danos renais induzidos pelo composto. Tais resultados corroboram estudos como o de Liu *et al.* (2012), que associaram dietas ricas em vanádio a toxicidade renal em mamíferos.

Esses achados indicam que, assim como outros compostos de vanádio, o composto testado pode causar danos hepáticos e renais significativos. Esses resultados ressaltam a importância de realizar investigações mais aprofundadas para compreender melhor seus efeitos a longo prazo e garantir sua segurança.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que a exposição do composto de vanádio (IV) nas doses de 100 e 150mg/kg podem ocasionar hepato e nefrotoxicidade em camundongos. Além disso, que o uso de ligantes como a taurina e o ácido ascórbico não foram eficientes na redução nos efeitos tóxicos encontrados. Esses resultados reforçam a necessidade de desenvolver novas estratégias terapêuticas que possam mitigar os danos induzidos por esse metal, considerando também os potenciais benefícios do vanádio no tratamento de diversas doenças.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, Yasir Osman Ali et al. Acute and 28-day sub-acute intravenous toxicity studies of 1'-S-1'-acetoxychavicol acetate in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 356, p. 204-213, 2018.
- AHMAD, Anas; IMRAN, Mohammad; AHSAN, Haseeb. Biomarkers as biomedical bioindicators: approaches and techniques for the detection, analysis, and validation of novel Biomarkers of diseases. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 6, p. 1630, 2023.
- AMARAL, Luísa MPF et al. Vanadium compounds with antidiabetic potential. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 21, p. 15675, 2023.
- BALIOU, Stella et al. Protective role of taurine against oxidative stress. **Molecular medicine reports**, v. 24, n. 2, p. 605, 2021.
- BARAN, Enrique José. Vanadium detoxification: chemical and biochemical aspects. **Chemistry & Biodiversity**, 5(8), 1475–1484, 2008.
- BARBOSA, Mariana de M. et al. In Vitro, Oral Acute, and Repeated 28-Day Oral Dose Toxicity of a Mixed-Valence Polyoxovanadate Cluster. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 9, p. 1232, 2023.
- BHUIYAN, Md Shenuarin; FUKUNAGA, Kohji. Cardioprotection by vanadium compounds targeting Akt-mediated signaling. **Journal of pharmacological sciences**, v. 110, n. 1, p. 1-13, 2009.
- CARPÉNÉ, Christian et al. Insulin-mimetic compound hexakis (benzylammonium) decavanadate is antilipolytic in human fat cells. **World Journal of Diabetes**, v. 8, n. 4, p. 143, 2017.
- CHAUDHARY, Priya et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. **Frontiers in chemistry**, v. 11, p. 1158198, 2023.
- CLARK, Michelle A. et al. **Farmacologia ilustrada-5**. Artmed Editora, 2013.
- PESSOA, João Costa et al. Vanadium and proteins: Uptake, transport, structure, activity and function. **Coordination chemistry reviews**, v. 301, p. 49-86, 2015.
- CRANS, Debbie C. Antidiabetic, chemical, and physical properties of organic vanadates as presumed transition-state inhibitors for phosphatases. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 80, n. 24, p. 11899-11915, 2015.
- DOMINGO, José L.; GÓMEZ, Mercedes. Vanadium compounds for the treatment of human diabetes mellitus: A scientific curiosity? A review of thirty years of research. **Food and Chemical Toxicology**, v. 95, p. 137-141, 2016.
- EZEJA, Maxwell I.; ANAGA, Aruh O.; ASUZU, Isaac U. Acute and sub-chronic toxicity profile of methanol leaf extract of *Gouania longipetala* in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 3, p. 1155-1164, 2014.

FATOLA, Olanrewaju I. et al. Trends in vanadium neurotoxicity. **Brain research bulletin**, v. 145, p. 75-80, 2019.

FERGUSON, Michael A.; WAIKAR, Sushrut S. Established and emerging markers of kidney function. **Clinical chemistry**, v. 58, n. 4, p. 680-689, 2012.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, María del Carmen; HERNÁNDEZ-CORTÉS, Lourdes Montserrat; ALTAMIRANO-LOZANO, Mario Agustín. In Vivo Effects of Vanadium Pentoxide and Antioxidants (Ascorbic Acid and Alpha-Tocopherol) on Apoptotic, Cytotoxic, and Genotoxic Damage in Peripheral Blood of Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 1, p. 6797851, 2016.

GOC, Anna. Biological activity of vanadium compounds. **Central European Journal of Biology**, v. 1, p. 314-332, 2006.

HAJAM, Younis Ahmad et al. Oxidative stress in human pathology and aging: molecular mechanisms and perspectives. **Cells**, v. 11, n. 3, p. 552, 2022.

HEYLIGER, Clayton E.; TAHILIANI, Arun G.; MCNEILL, John H. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. **Science**, v. 227, n. 4693, p. 1474-1477, 1985.

HU, Xiaoqing et al. Oxidative stress and antioxidant capacity: development and prospects. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 27, p. 11405-11419, 2020.

HUANG, Jen-How et al. Vanadium: Global (bio) geochemistry. *Chemical Geology*, v. 417, p. 68-89, 2015.

IMTIAZ, Muhammad et al. Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. **Environment international**, v. 80, p. 79-88, 2015.

JAKUSCH, Tamás; KISS, Tamás. In vitro study of the antidiabetic behavior of vanadium compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 351, p. 118-126, 2017.

JONG, Chian Ju; SANDAL, Priyanka; SCHAFFER, Stephen W. The role of taurine in mitochondria health: more than just an antioxidant. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4913, 2021.

KAWANO, Takayuki et al. Neuroprotective effect of sodium orthovanadate on delayed neuronal death after transient forebrain ischemia in gerbil hippocampus. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 21, n. 11, p. 1268-1280, 2001.

KOPP, S. J. et al. Effects of oral vanadyl treatment on diabetes-induced alterations in the heart GLUT-4 transporter. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 29, n. 9, p. 2355-2362, 1997.

KOUBAA, Fatma Ghorbel et al. Anti-oxidant and hepatoprotective effects of *Salvia officinalis* essential oil against vanadium-induced oxidative stress and histological changes in the rat liver. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 11001-11015, 2021.

LIU, Jing-Cheng et al. Bis (acetylacetonato)-oxovanadium (iv), bis (maltolato)-oxovanadium (iv) and sodium metavanadate induce antilipolytic effects by regulating hormone-sensitive lipase and perilipin via activation of Akt. **Metallomics**, v. 5, n. 7, p. 813-820, 2013.

LIU, Juan et al. Dietary high vanadium causes oxidative damage-induced renal and hepatic toxicity in broilers. **Biological Trace Element Research**, v. 145, p. 189-200, 2012.

LODYGA-CHRUSCINSKA, Elzbieta et al. Potentiometric, spectroscopic, electrochemical and DFT characterization of oxovanadium (IV) complexes formed by citrate and tartrates in aqueous solution at high ligand to metal molar ratios: the effects of the trigonal bipyramidal distortion in bis-chelated species and biological implications. **Dalton Transactions**, n. 36, p. 4903-4916, 2008.

LU, Wenjing; LI, Xianfeng; ZHANG, Huamin. The next generation vanadium flow batteries with high power density—a perspective. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 20, n. 1, p. 23-35, 2018.

MAROUANE, Wafa et al. The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. **Lipids in health and disease**, v. 10, p. 1-8, 2011.

MENZIE, Janet et al. Taurine and central nervous system disorders. **Amino acids**, v. 46, p. 31-46, 2014.

MOSKALYK, R. R.; ALFANTAZI, A. M. Processing of vanadium: a review. **Minerals engineering**, v. 16, n. 9, p. 793-805, 2003.

MUKHERJEE, Sandip et al. A small insulinomimetic molecule also improves insulin sensitivity in diabetic mice. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0169809, 2017.

NIU, Xia; YANG, Jichun; YANG, Xiaoda. Synthesis and anti-diabetic activity of new N, N-dimethylphenylenediamine-derivatized nitrilotriacetic acid vanadyl complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 177, p. 291-299, 2017.

NJUS, David et al. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 159, p. 37-43, 2020.

OECD (2008), Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 4, OECD Publishing, Paris.

OGA, Seizi; CAMARGO, Márcia Maria de Almeida; BATISTUZZO, José Antonio de Oliveira. Fundamentos de toxicologia. In: **Fundamentos de toxicologia**. 2008. p. 677-677.

OZER, Josef et al. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. **Toxicology**, v. 245, n. 3, p. 194-205, 2008.

PARK, Seon-Joo et al. The anti-obesity effect of natural vanadium-containing Jeju ground water. **Biological trace element research**, v. 151, p. 294-300, 2013.

PESSOA, Joao Costa; ETCHEVERRY, Susana; GAMBINO, Dinorah. Vanadium compounds in medicine. **Coordination chemistry reviews**, v. 301, p. 24-48, 2015.

REHDER, Dieter. Vanadium. Its role for humans. **Interrelations between essential metal ions and human diseases**, p. 139-169, 2013.

ROY, Souvik et al. Synthesis, characterization, antioxidant status, and toxicity study of vanadium–rutin complex in Balb/c mice. **Biological Trace Element Research**, v. 166, p. 183-200, 2015.

SAMIRA, Missaoui et al. Hepatotoxicity of vanadyl sulfate in nondiabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 96, n. 11, p. 1076-1083, 2018.

SANTOS, Kelton LB et al. Essential features for antioxidant capacity of ascorbic acid (vitamin C). **Journal of molecular modeling**, v. 28, p. 1-8, 2022.

SCHAFFER, Stephen W. et al. Physiological roles of taurine in heart and muscle. **Journal of biomedical science**, v. 17, p. 1-8, 2010.

SCHMIDT, Barbara M. et al. Toxicological evaluation of a chicory root extract. **Food and chemical toxicology**, v. 45, n. 7, p. 1131-1139, 2007.

ŚCIBIOR, Agnieszka; KURUS, Joanna. Vanadium and oxidative stress markers-in vivo model: a review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 29, p. 5456-5500, 2019.

ŚCIBIOR, Agnieszka et al. Evaluation of lipid peroxidation and the level of some elements in rat erythrocytes during separate and combined vanadium and magnesium administration. **Chemico-biological interactions**, v. 293, p. 1-10, 2018.

ŚCIBIOR, Agnieszka et al. Vanadium: Risks and possible benefits in the light of a comprehensive overview of its pharmacotoxicological mechanisms and multi-applications with a summary of further research trends. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 61, p. 126508, 2020.

SHARFALDDIN, Abeer A. et al. Therapeutic properties of vanadium complexes. **Inorganics**, v. 10, n. 12, p. 244, 2022.

SRIVASTAVA, Ashok K. Anti-diabetic and toxic effects of vanadium compounds. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 206, p. 177-182, 2000.

SUMAN, Sigridur G.; GRETARSDOTTIR, Johanna M. Chemical and clinical aspects of metal-containing antidotes for poisoning by cyanide. *Met Ions Life Sci*, v. 19, n. 1, 2019.

TOLMAN, Edward L. et al. Effects of vanadium on glucose metabolism in vitro. **Life Sciences**, v. 25, n. 13, p. 1159-1164, 1979.

TRACEY, Alan S.; WILLSKY, Gail R.; TAKEUCHI, Esther S. **Vanadium: chemistry, biochemistry, pharmacology and practical applications**. CRC press, 2007.

TREVIÑO, Samuel et al. Vanadium in biological action: chemical, pharmacological aspects, and metabolic implications in diabetes mellitus. **Biological trace element research**, v. 188, p. 68-98, 2019.

TREVIÑO, Samuel et al. Metforminium decavanadate as a potential metallopharmaceutical drug for the treatment of diabetes mellitus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 1, p. 6058705, 2016.

USENDE, Ifukibot L. et al. Oxidative stress changes observed in selected organs of African giant rats (*Cricetomys gambianus*) exposed to sodium metavanadate. **International journal of veterinary science and medicine**, v. 6, n. 1, p. 80-89, 2018.

WANG, J. P. et al. Effect of dietary vanadium and vitamin C on egg quality and antioxidant status in laying hens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 3, p. 440-447, 2016.

WANG, Li et al. New sight into interaction between endoplasmic reticulum stress and autophagy induced by vanadium in duck renal tubule epithelial cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 362, p. 109981, 2022.

WEI, Yong-Biao; YANG, Xiao-Da. Synthesis, characterization and anti-diabetic therapeutic potential of a new benzyl acid-derivatized kojic acid vanadyl complex. **Biometals**, v. 25, p. 1261-1268, 2012.

WILK, Aleksandra; SZYPULSKA-KOZIARSKA, Dagmara; WISZNIEWSKA, Barbara. The toxicity of vanadium on gastrointestinal, urinary and reproductive system, and its influence on fertility and fetuses malformations. **Advances in Hygiene and Experimental Medicine**, v. 71, p. 850-859, 2017.

ZHOU, Peng-Zhen et al. Relationship between glucocorticoids and insulin resistance in healthy individuals. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 22, p. 1887, 2016.

ZWOLAK, Iwona. Protective Effects of Dietary Antioxidants against Vanadium-Induced Toxicity: A Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, n. 1, p. 1490316, 2020.

## ANEXO A

Cópia do parecer de aprovação do Comitê de Ética no uso de animais (CEUA)  
UFPE



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências  
Av. Prof. Moraes Almeida  
54070-440 / Recife - PE - Brasil  
Fone: (51) 3445-1144  
www.ufpe.br

Recife, 20 de dezembro de 2021

Ofício nº 92/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
Para: Prof. Eduardo Carvalho Lira  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia  
processo nº0052/2021

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do complexo de vanádio com ligante podante fosfatado (VO-PO) na resistência à insulina induzida por dexametasona em camundongos", de registrado com o nº0052/2021 sob a responsabilidade da Prof. Eduardo Carvalho Lira Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/11/2020

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	30/01/2022 a 31/08/2025
Espécie/Inagem/raça	Mus musculus, linhagem Swiss albino (camundongos)
Nº de animais	94 animais
Peso/idade	idade - 35 a 40 dias peso: 35 ± 5 g
Sexo	Machos (20) e fêmeas (74)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia UFPE

Atenciosamente



Prof. Sebastião R. F. Silva  
Presidente CEUA/UFPE  
SI/PE 2345001