

RELATÓRIO FINAL

**ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS
POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS**

Estudo nº: 021-MTD-022-15

Patrocinador: **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI**

Esplanada dos Ministérios, Bloco E

Brasília, DF

SUMÁRIO

IDENTIFICAÇÃO	4
DECLARAÇÃO DE GARANTIA DA QUALIDADE	5
RESUMO E CONCLUSÃO.....	6
Datas.....	7
1. OBJETIVO DO ESTUDO	7
2. PESSOAL ENVOLVIDO E SUAS ATRIBUIÇÕES	7
3. SUBSTÂNCIA TESTE, SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA, VEÍCULO, REAGENTES E SOLVENTES	8
3.1. Caracterização da Substância Teste	8
3.4 Caracterização de Reagentes e Solventes utilizados no estudo.....	9
3.5 Preparação da Substância Teste, da Substância de Referência e do Veículo	12
3.6 Seleção das concentrações da Substância Teste e Substância de Referência.....	12
3.7 Justificativa para a seleção das doses da Substância Teste	13
4. SISTEMA TESTE	13
4.1 Justificativa para a seleção do Sistema Teste.....	13
4.2 Comitê de ética.....	13
4.3 Alojamento dos Animais.....	14
4.3.1 Biotério de Criação	14
4.3.2 Aclimação dos animais na sala de Toxicologia.....	14
4.4 Identificação dos Animais	15
4.5 Robustez, Rastreabilidade e Reprodutibilidade.....	15
5. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO.....	15
5.1 Metodologia.....	15
5.1.1. Desenho experimental	15
5.1.2. Avaliações.....	17
5.2 Grupos experimentais.....	21
5.3 Eutanásia.....	21
5.4 Análise estatística.	21
6. RESULTADOS.....	22

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

6.1. Resultados Etapa I.....	22
6.1.1. Morbidade e mortalidade	22
6.1.2. Sinais clínicos iniciais.....	22
6.1.3. Sinais clínicos gerais.....	22
6.1.4. Peso corporal	22
6.1.5. Consumo de ração	23
6.1.6. Análises hematológicas	23
6.1.7. Análises bioquímicas.....	23
6.1.8. Peso dos órgãos	23
6.1.9. Peso dos órgãos relativo ao peso corporal.....	24
6.1.10. Avaliações macroscópicas	24
6.2. Resultados Etapa II.....	24
6.2.1. Morbidade e mortalidade	24
6.2.2. Sinais clínicos iniciais.....	25
6.2.3. Sinais clínicos gerais.....	25
6.2.4. Peso corporal	25
6.2.5. Consumo de ração	25
6.2.6. Análises hematológicas	25
6.2.7. Análises bioquímicas.....	26
6.2.8. Peso dos órgãos	26
6.2.9. Peso dos órgãos relativo ao peso corporal.....	26
6.2.10. Avaliações macroscópicas	26
7. CONCLUSÃO	27
8. REGISTRO DE DADOS BRUTOS	27
9. ARQUIVAMENTO	27
10. REFERÊNCIAS.....	27
DECLARAÇÃO DO DIRETOR DE ESTUDO	29
DECLARAÇÃO DO GERENTE DA INSTALAÇÃO TESTE E DIRETOR DE ESTUDO SUBSTITUTO	30

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

IDENTIFICAÇÃO

Título do Estudo	ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS
Número do Estudo	021-MTD-022-15
Patrocinador	Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI Telefone: +55 (61) 2033-7500 Esplanada dos Ministérios, Bloco E Brasília – DF CEP 70067-900
Instalação de Teste	Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 Florianópolis – SC Brasil CEP 88056-000
Diretor Presidente	Dr. João Batista Calixto Telefone: 48 32612856 E-mail: joao.calixto@cienp.org.br Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 Florianópolis – SC Brasil CEP 88056-000
Gerente da Instalação de Teste	Dr. Jarbas Mota Siqueira Junior Telefone: 48 32612856 E-mail: jarbas.siqueira@cienp.org.br Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 Florianópolis – SC Brasil CEP 88056-000
Diretor de Estudo	Dr. Allisson Freire Bento Telefone: 48 32612856 E-mail: allisson.bento@cienp.org.br Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 Florianópolis – SC - Brasil CEP 88056-000
Diretor de Estudo Substituto	Dr^a. Juliana Siqueira Chaves Telefone: 48 32612856 E-mail: juliana.chaves@cienp.org.br Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clinicos Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 Florianópolis – SC - Brasil CEP 88056-000
Unidade da Garantia da Qualidade	Franciele Avila Silveira Telefone: 48 32612856 E-mail: franciele.silveira@cienp.org.br

DECLARAÇÃO DE GARANTIA DA QUALIDADE

Declaro que o Relatório Final foi revisado e reflete os Dados Brutos.

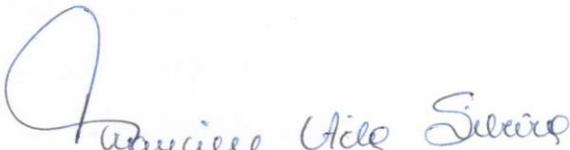
Declaro que foram realizadas auditorias, conforme descrito abaixo, não sendo observadas não conformidades que pudessem afetar a qualidade dos resultados.

Itens Auditados	Data da Auditoria	Data de relato ao DE*	Data de relato ao GIT#
Plano de Estudo	29/01/2016	29/01/2016	29/01/2016
Dados Brutos	21, 22, 28, 30/03/2016	30/03/2016	30/03/2016
Relatório Final	11/04/2016	11/04/2016	11/04/2016

*DE: Diretor de Estudo; #GIT: Gerente da Instalação de Teste

Auditoria de estudo nº 021-MTD-022-15

Florianópolis, 11 de ABRIL de 2016.



Franciele Avila Silveira

Coordenadora da Unidade de Garantia da Qualidade

RESUMO E CONCLUSÃO

O presente estudo buscou investigar a segurança e a tolerabilidade da administração oral da Fosfoetanolamina Sintética - USP (sintetizada pelo grupo de Química da USP-São Carlos) e selecionar as doses a serem utilizadas nos estudos regulados de toxicologia de administrações repetidas em roedores. O estudo de seleção de doses foi realizado em duas etapas diferentes; primeiro para determinar a dose máxima tolerada (DMT) da Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) e a segunda, para a avaliação exploratória da toxicidade dos tratamentos repetidos por 7 dias com Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos), assim como descrito a seguir:

Etapa I: Determinação da DMT pela administração oral única da Substância Teste através do sistema de escalonamento de doses: cinco grupos experimentais (3 machos e 3 fêmeas/grupo, ratos da linhagem “*Sprague Dawley*”), sendo um grupo veículo (solução de cloreto de sódio 0,9%) e quatro grupos de tratamento com a Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg).

Etapa II: Estudo de toxicidade de doses repetidas de 7 dias: O protocolo consistiu na utilização de dois grupos experimentais (5 machos e 5 fêmeas/grupo, ratos da linhagem “*Sprague Dawley*”), sendo o grupo 1 tratado com o veículo (solução de cloreto de sódio 0,9%) e o grupo 2 com a Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg). Os animais foram tratados com a Fosfoetanolamina pela via oral, uma vez ao dia durante 7 dias. Todos os animais (Etapa I e II) foram eutanasiados 14 dias após o primeiro tratamento para análises subsequentes.

Foram realizadas diferentes observações clínicas e comportamentais, análises hematológicas, bioquímicas e macroscópicas. Na etapa I, os animais receberam até a dose limite recomendada (5.000 mg/kg), sem apresentar alterações nos parâmetros avaliados. Pelo fato da DMT não ter sido encontrada, para a etapa II (administrações repetidas 7 dias) optou-se por utilizar a dose de 1.000 mg/kg, que, em roedores, é considerada uma dose limite para estudos de administração repetida da Substância Teste. No contexto geral, na etapa II, o tratamento repetido com a dose de 1.000 mg/kg também não causou alterações significativas nos parâmetros avaliados.

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

Datas

Data do início do estudo: 29/01/2016

Data do início do ensaio: 29/01/2016

Data do término do ensaio: 09/03/2016

Data do término do estudo: 11/04/2016

1. OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo desse estudo foi obter informações sobre a segurança e tolerabilidade da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos), após a administração por via oral em ratos visando selecionar as doses a serem utilizadas em estudos subsequentes de toxicologia de doses repetidas. Para esse propósito foi conduzido um protocolo de escalonamento de doses, a fim de encontrar a dose máxima tolerada (DMT) e um segundo protocolo para a avaliação exploratória da toxicidade do tratamento com doses repetidas por 7 dias.

2. PESSOAL ENVOLVIDO E SUAS ATRIBUIÇÕES

Nome	Título
Allisson Freire Bento, PhD	Diretor de estudo
Daniela Ferraz Pereira Leite, PhD	Coordenadora de PDI
Juliana Siqueira Chaves, PhD	Apoio Técnico
Rodrigo Marcon, PhD	Apoio Técnico
Maria Lúcia Schiaffino Medeiros, MsC	Apoio Técnico
Edir Rezende	Apoio Técnico
Ana Carolina Luz Machado	Apoio Técnico

3. SUBSTÂNCIA TESTE, SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA, VEÍCULO, REAGENTES E SOLVENTES

3.1. Caracterização da Substância Teste

Nome	:	Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos)
Nome químico (IUPAC)	:	Não se aplica
Número do CAS	:	Não se aplica
Lote	:	Não informado
Data de fabricação	:	Não informado
Data de validade	:	Não informado
Pureza/ Composição	:	* ¹ Fosfoetanolamina - 32,2 %; Fosfatos inorgânicos -34,9% ; Monoetanolamina protonada- 18,2 %; Pirofosfatos Inorgânicos – 3,6 %, Fosfobisetanolamina – 3,9 %; Água – 7,2%. * ² Fosfoetanolamina - 16,9 %; Sal (de Ca ²⁺ , Zn ²⁺ ou Mg ²⁺) de Fosfoetanolamina - 45,6 %; Monoetanolamina - 37,5 %.
Fabricante	:	Instituto de Química de São Carlos - USP
Aspectos físicos	:	Cristal branco
Identificação CIEnP	:	021.2

*¹ *Composição na íntegra do composto “Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)” em percentagem de massa - Dados fornecidos pela Unicamp.*

*² *Composição da fração solúvel do composto “Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)” em percentagem de massa - Dados fornecidos pela USP.*

3.2. Caracterização da Substância de Referência

Nome	:	Não se aplica
Nome químico (IUPAC)	:	Não se aplica
Número do CAS	:	Não se aplica
Lote	:	Não se aplica
Data de validade	:	Não se aplica
Pureza	:	Não se aplica
Fabricante	:	Não se aplica
Aspectos físicos	:	Não se aplica

**Dados fornecidos pelo patrocinador.*

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

3.3 Caracterização do Veículo

Nome : Solução Isotônica de Cloreto de Sódio 0,9%
Lote : 0107/14
Data de validade : 20/03/2016
Pureza : Não informada
Fabricante : Indústria Farmacêutica BASA Ltda.

3.4 Caracterização de Reagentes e Solventes utilizados no estudo

Nome : Kit para determinação de Triglicérides – PP
Lote : 5005
Data de validade : 30/11/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Glicose – PP
Lote : 5008
Data de validade : 30/11/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Creatinina – PP
Lote : 5005
Data de validade : 31/10/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Uréia UV - PP
Lote : 5006
Data de validade : 31/10/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Cálcio Arsenazo - PP
Lote : 5003
Data de validade : 30/09/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Gama GT – PP
Lote : 5004
Data de validade : 30/09/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de ALT - PP

Lote : 5007

Data de validade : 30/11/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Fosfatase Alcalina - PP

Lote : 5006

Data de validade : 30/11/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Fósforo UV - PP

Lote : 5004

Data de validade : 28/02/2017

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Colesterol - PP

Lote : 5004

Data de validade : 31/08/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Proteínas Totais - PP

Lote : 5004

Data de validade : 31/12/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Albumina - PP

Lote : 5005

Data de validade : 30/07/2017

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de AST - PP

Lote : 5006

Data de validade : 30/10/2016

Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Kit para determinação de Bilirrubinas - PP

Lote : 5006
Data de validade : 30/11/2016
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Soro Controle Positivo
Lote : 4001
Data de validade : 31/05/2017
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Soro Controle Negativo
Lote : 4001
Data de validade : 31/05/2017
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : Calibrador
Lote : 4001
Data de validade : 31/05/2017
Fabricante : Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Nome : V-53 Reagent Kit
Lote : 2015051301
Data de validade : 05/05/2016
Fabricante : Mindray Medical International Ltda.

Nome : Formaldeído Solução P.A.
Lote : 184428
Data de validade : 12/11/2016
Fabricante : Synth Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.

Nome : Formaldeído Solução P.A.
Lote : DCBC2332
Data de validade : 03/04/2016
Fabricante : Vetec Química Fina Ltda.

Nome : Fosfato de Sódio Bibásico Anidro
Lote : 174546
Data de validade : 12/12/2017
Fabricante : Synth Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.

Nome : Fosfato de Sódio Monobásico Anidro
Lote : 183090
Data de validade : 02/10/2018
Fabricante : Synth Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.

Nome : Álcool Etílico Absoluto P.A.
Lote : 185728
Data de validade : 09/01/2018
Fabricante : Synth Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.

Nome : Ácido Acético Glacial
Lote : DCBC6885V
Data de validade : 13/10/2020
Fabricante : Vetec Química Fina Ltda.

Nome : Sangue Controle Hemato Check 5 Diff
Lote : 1601038
Data de validade : 16/03/2016
Fabricante : Diagno Comércio e Manipulação de Produtos Químicos Ltda.

3.5 Preparação da Substância Teste, da Substância de Referência e do Veículo

A Substância Teste foi solubilizada em solução de cloreto de sódio 0,9 % (Veículo) com auxílio de agitador (vortex) e homogeneizador de hélice. No presente estudo não houve utilização de Substância de Referência.

3.6 Seleção das concentrações da Substância Teste e Substância de Referência

Na primeira etapa do estudo (etapa de escalonamento de doses) as doses da Substância Teste utilizadas foram 175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg. Na segunda etapa do estudo (etapa de tratamentos repetidos) a dose utilizada foi a de 1.000 mg/kg. As Substâncias Teste e veículo foram administradas pela via oral (gavagem).

3.7 Justificativa para a seleção das doses da Substância Teste

Na primeira etapa do estudo, a dose de partida da Substância Teste foi a de 175 mg/kg. A escolha dessa dose foi baseada em recomendações do guia OECD 425 “*Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure*”, uma vez que não haviam estudos que estimassem a letalidade e/ou toxicidade da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos). As demais doses (550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg) foram selecionadas de acordo com critérios previamente estabelecidos pelo guia acima citado, afim de encontrar a dose máxima tolerada. Para a segunda etapa do estudo (etapa de tratamentos repetidos) foi selecionada a dose de 1.000 mg/kg. Essa dose foi selecionada devido à ausência de efeitos adversos observados na primeira etapa do estudo em todos os níveis de doses. Adicionalmente, esta dose é considerada uma dose limite para estudos de administração repetida da Substância Teste (*Guidance for Industry M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals*, ICH 2010).

4. SISTEMA TESTE

Foram utilizados ratos machos e fêmeas da espécie *Rattus norvegicus* e linhagem “*Sprague Dawley*”, saudáveis, com idade entre 8 – 12 semanas, provenientes do Biotério de Criação do CIEnP, cujas matrizes foram adquiridas da empresa Charles River (USA), foram mantidos sob condições SPF “*Specific Pathogen Free*”. No início dos ensaios, os animais apresentaram variação de peso inferior a 20% em relação à média geral/sexo.

4.1 Justificativa para a seleção do Sistema Teste

Animais da espécie *Rattus norvegicus* e linhagem “*Sprague Dawley*” foram selecionados como Sistema Teste do presente estudo, por serem internacionalmente utilizados para ensaios de toxicidade (OECD 425). Além disso, são animais de fácil manejo.

4.2 Comitê de ética

Os procedimentos experimentais seguiram as normas dos Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O protocolo utilizado neste estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê

de Ética em Utilização Animal (CEUA) do CIEnP, sob o número 241/00. Os protocolos aprovados são mantidos em arquivos no CIEnP.

4.3 Alojamento dos Animais

Todas as gaiolas continham forração tipo maravalha (ASPEN – LIGNOCEL®), material para nidificação (madeira Aspen) e um pequeno bloco de madeira Aspen como enriquecimento ambiental. A maravalha utilizada para a cama foi previamente autoclavada e renovada periodicamente para manter o ambiente seco e limpo. A temperatura das salas foi ajustada para 21 ± 2 °C com faixa de umidade de 45 - 70%. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h, sendo que o início do ciclo claro começou às 6:30 da manhã, e receberam água e ração *ad libitum* por todo o período do estudo, sendo a ração da marca Nuvital CR1® (Quimtia, Colombo, Paraná, Brasil) autoclavada, e a água, filtrada, clorada e embalada na máquina *Hydropac* (Lab Products, Belcamp, Maryland, EUA). O CIEnP realiza mensalmente a avaliação de potabilidade da água fornecida aos animais.

4.3.1 Biotério de Criação

Os animais foram acondicionados no Biotério de Criação do CIEnP em caixas conectadas em racks microisoladoras fabricadas pela empresa Lab Products, medindo (LxCxA): 45x31x19 cm (até 5 animais por gaiola).

4.3.2 Aclimação dos animais na sala de Toxicologia

Os animais foram acondicionados em caixas conectadas em racks microisoladoras fabricadas pela empresa Lab Products, medindo (LxCxA): 45x31x19 cm, com até 5 animais por gaiola. A sala para estudos de toxicologia do CIEnP possui as mesmas condições ambientais do biotério de criação dos animais, sendo que os animais foram ambientados nessa sala por 7 dias antes do início dos tratamentos.

4.4 Identificação dos Animais

Cada gaiola foi identificada com uma etiqueta padrão e cada animal foi identificado individualmente através da marcação na cauda conforme o POP-E.10/versão atual – Identificação de Gaiolas e Animais para Estudos.

4.5 Robustez, Rastreabilidade e Reprodutibilidade

Com o intuito de eliminar possíveis desvios que possam interferir na confiabilidade, rastreabilidade e na reprodutibilidade dos resultados do estudo, foram empregados os critérios propostos pelo Guia da OECD 425. Para isso, os seguintes procedimentos foram aplicados, desde o planejamento experimental até a realização dos experimentos: 1) O número de animais em cada grupo experimental seguiu as recomendações do guia; 2) Os animais foram distribuídos aleatoriamente (randomicamente) nos diferentes grupos experimentais; 3) Nenhum dado foi excluído ou incluído nos resultados para efeito de cálculo das médias e análise estatística.

5. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

5.1 Metodologia

5.1.1. Desenho experimental

O protocolo experimental para a condução do estudo de seleção de doses foi realizado em duas etapas diferentes. A primeira buscou determinar a dose máxima tolerada (DMT) através de um diagrama de escalonamento de doses, e na segunda, após a seleção de uma única dose, foi realizada a administração repetida por 7 dias assim como descrito a seguir e apresentado na figura 1.

Etapa I: *Determinação da dose máxima tolerada (DMT) pela administração única da Substância Teste através do sistema de escalonamento de doses* – Nessa etapa do estudo foram utilizados cinco grupos experimentais (3 machos e 3 fêmeas/grupo), sendo um grupo controle (veículo) e quatro grupos de tratamento com a Substância Teste em diferentes doses. Os animais do primeiro grupo (grupo 1) receberam a formulação contendo a

Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (175 mg/kg) em uma única administração, via oral. Os animais foram observados por um período de 48 horas para detectar possíveis sinais de toxicidade, assim como descrito no POP-D.17/versão atual – Dose máxima tolerada e seleção de doses. A partir da dose inicial, dois cenários experimentais foram considerados. Cenário I: Caso fossem observados sinais de toxicidade nos animais do grupo 1, uma dose menor seria administrada a um novo grupo de animais. Cenário II: Caso não fossem observados sinais de toxicidade no grupo 1, uma dose maior seria administrada ao novo grupo de animais. No caso do presente estudo, como não foi observado nenhum efeito tóxico visível na dose inicial, as doses dos grupos subsequentes foram: 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg, que foram selecionadas com base no guia da OECD 425. O esquema de escalonamento de doses utilizado no estudo está detalhado na figura 2.

Etapa II: *Estudo de toxicidade de doses repetidas por 7 dias* – Essa etapa do estudo avaliou a tolerabilidade da Substância Teste, na dose de 1.000 mg/Kg, através da administração repetida por um período de 7 dias, uma vez ao dia, por via oral. O protocolo consistiu na utilização de dois grupos experimentais (5 machos e 5 fêmeas/grupo), sendo o grupo 1 tratado com veículo (solução de cloreto de sódio 0,9%) e o grupo 2, tratado com a Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg).

Todos os animais (Etapa I e II) foram eutanasiados 14 dias após o primeiro tratamento para as análises subsequentes.

Observação: O volume usual de administração da Substância Teste preconizado pelos guias OECD 425 e 407 é de 0,1 mL/100 g de peso corporal. No entanto, para se obter a dosagem pretendida, tais guias permitem elevar esse volume em até 2 mL/100 g de peso corporal para soluções aquosas. Devido à dificuldade na solubilidade da Substância Teste para as administrações das doses de 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg, foram preparadas soluções de 175 mg/mL e 500 mg/mL, respectivamente, considerando à administração de 1 mL/100 g de peso corporal, com a finalidade de alcançar a dosagem pretendida. Para os tratamentos com a dose 1.000 mg/kg, uma solução de 500 mg/mL foi preparada e administrada aos animais em um volume de 0,2 mL/100 g de peso corporal, com o mesmo propósito exposto acima. Os animais do grupo veículo receberam o maior volume administrado aos animais

tratados com a Substância Teste. Esses procedimentos estão de acordo com as recomendações dos guias OECD 407 e OECD 425.

5.1.2. Avaliações

Durante a realização do estudo diferentes avaliações e análises foram realizadas conforme descrito a seguir:

Observações clínicas e comportamentais:

Avaliação inicial: apenas para atestar o estado de saúde dos animais, foram avaliados os sinais clínicos detalhados, antes do início do tratamento, levando em consideração uma escala de escore de 0 a 4 sobre os seguintes parâmetros: frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, atividade geral, força de agarrar, lacrimejamento e salivação, piloereção, aparência geral, atividade geral, pinçamento da cauda, reflexo de endireitamento, ataxia, avaliação ocular, defecção/micção e respiração/frequência cardíaca.

- Diárias: Após o início do tratamento, os sinais clínicos gerais foram observados a cada hora até a quarta hora após a administração da Substância Teste ou do veículo, e posteriormente uma vez ao dia, e incluíram avaliações sobre o comportamento geral do animal, observações na região caudal, abdominal e extremidades. Além disso, os animais foram observados quanto a morbidade e mortalidade duas vezes ao dia durante todo o protocolo experimental. Os procedimentos para a realização dessas análises estão descritos no POP-E.03/versão atual – Avaliações clínicas.
- Semanais: Foi realizada a avaliação semanal do peso corporal dos animais e consumo total de ração por gaiola e sexo.

Necropsia: Para ambas etapas (I e II), foi realizado o procedimento de necropsia. As análises durante a necropsia incluíram o exame da superfície exterior do corpo, dos orifícios e das cavidades craniana, torácica e abdominal, bem como do respectivo conteúdo. Nessa análise da superfície corporal foi realizada uma avaliação detalhada com anotações sobre a presença de lesões ou deformidades, descrevendo seu tamanho, cor, textura, forma, severidade, bem como peso e volume, quando apropriado. A necropsia incluiu a coleta,

pesagem e preservação dos órgãos principais segundo o guia OECD 407 (glândulas adrenais, baço, cérebro, coração, rim, timo, fígado, testículos, epidídimo e ovário).

Análises hematológicas e bioquímicas: Ao término de cada etapa, o sangue foi coletado por punção venosa como parte do procedimento de necropsia, e foram quantificadas células totais (WBC), hemácias (RBC), hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (MCV), concentração de hemoglobina globular média (MCHC), média da hemoglobina corpuscular (MCH), contagem de plaquetas (PLT), percentual de neutrófilos, linfócitos e monócitos com auxílio de um analisador hematológico. Tais análises foram realizadas de acordo com o procedimento interno descrito no POP-D.03/versão atual – Preparo de amostras para análises hematológicas e bioquímicas, e POP-C.49/versão atual – Analisador hematológico BC-5300vet. Além disso, o soro foi separado e utilizado para quantificação de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), gamaglutamil transferase (GGT), bilirrubina total, ureia, creatinina, cálcio, fósforo, proteínas totais, albumina, glicose, colesterol total, triglicerídeos, sódio, potássio, cloreto, com auxílio de um analisador bioquímico. Tais análises foram realizadas de acordo com o procedimento interno descrito no POP-D.03/versão atual – Preparo de amostras para análises hematológicas e bioquímicas, e POP-C.11/versão atual - Analisador Bioquímico BS-120.

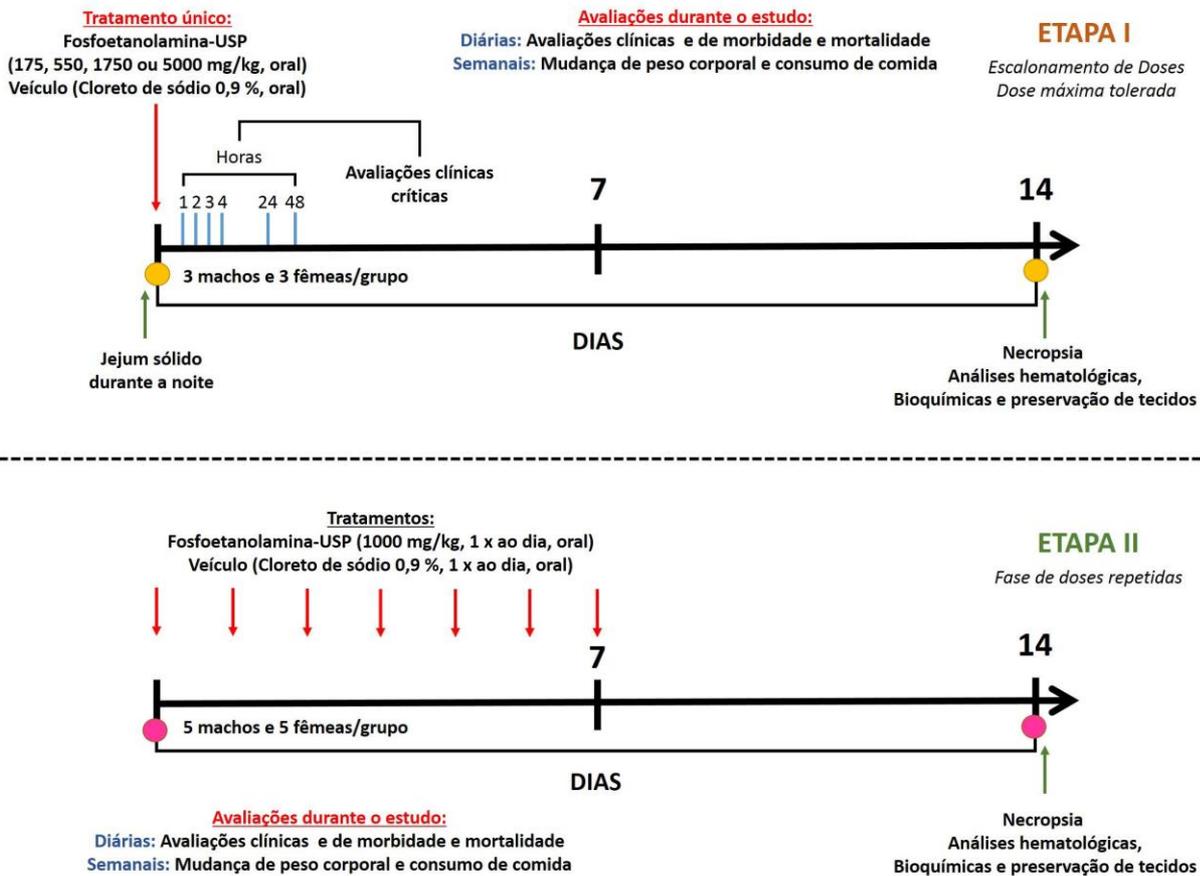


Figura 1. Desenho experimental das duas etapas do estudo. Na etapa I os animais (3 machos e 3 fêmeas) foram tratados uma única vez com uma das doses selecionadas. Os animais de cada grupo permaneceram em observação por um período de 48 horas até que a próxima dose pudesse ser selecionada com base nos sinais clínicos observados. Na etapa 2 (5 machos e 5 fêmeas/grupo) os animais foram tratados com apenas uma dose da Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) ou veículo durante 7 dias. Os animais de ambas as etapas tiveram sinais clínicos avaliados, peso corporal e consumo de comida quantificados, e ao final de 14 dias foram eutanasiados para coleta de órgãos, análises hematológicas e bioquímicas.

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

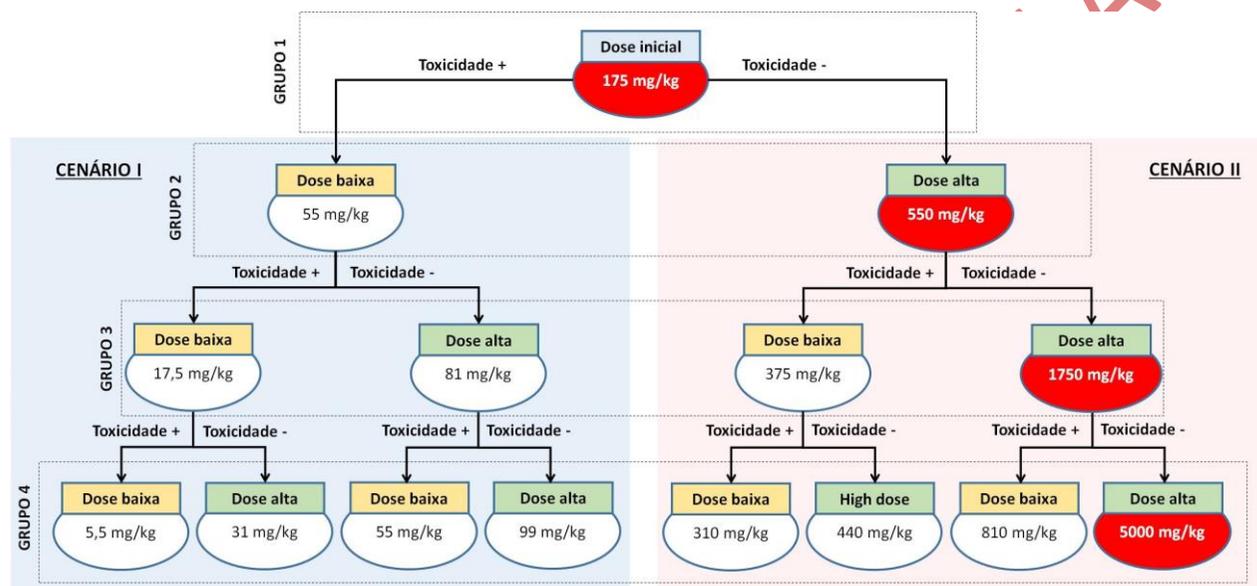


Figura 2. Representação esquemática das doses selecionadas para a etapa I do estudo. A dose inicial foi de 175 mg/kg, onde dois diferentes cenários foram propostos. No cenário I, a dose inicial (grupo 1) apresenta efeitos toxicológicos observáveis (toxicidade +), sendo necessária a redução da dose a ser administrada ao próximo grupo de animais (grupo 2). No cenário II, a dose inicial (grupo 1) não apresenta sinais de toxicidade observáveis (toxicidade -), sendo necessário o aumento da dose a ser administrada ao próximo grupo de animais (grupo 2). Devido ausência de efeitos adversos não observáveis, as doses selecionadas foram de 175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg (marcadas em vermelho). Tal esquema foi baseado no Guia 425 da OECD.

5.2 Grupos experimentais

Os grupos experimentais foram divididos em grupos de tratamento da etapa I e da etapa II do estudo, assim como descrito na tabela 1. A via de administração da Substância Teste foi a oral.

Tabela 1. Grupos experimentais

Grupos experimentais	Tratamento	Periodicidade	Dose	Via de administração	Animal por Grupo
ETAPA I					
Controle Veículo	Solução de Cloreto de Sódio 0,9%	Administração única	-	Oral/Gavagem	3 machos/ 3 fêmeas
Substância Teste (DOSE 1)	Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)	Administração única	175 mg/kg	Oral/Gavagem	3 machos/ 3 fêmeas
Substância Teste (DOSE 2)	Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)	Administração única	550 mg/kg	Oral/Gavagem	3 machos/ 3 fêmeas
Substância Teste (DOSE 3)	Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)	Administração única	1.750 mg/kg	Oral/Gavagem	3 machos/ 3 fêmeas
Substância Teste (DOSE 4)	Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)	Administração única	5.000 mg/kg	Oral/Gavagem	3 machos/ 3 fêmeas
ETAPA II					
Controle Veículo	Solução de Cloreto de Sódio 0,9%	1 x ao dia/7 dias	-	Oral/Gavagem	5 machos/ 5 fêmeas
Substância Teste	Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos)	1 x ao dia/7 dias	1.000 mg/kg	Oral/Gavagem	5 machos/ 5 fêmeas

5.3 Eutanásia

Ao final do protocolo citado acima, os animais foram eutanasiados em Câmara de CO₂, conforme o POP E.11/versão atual – Eutanásia de Animais.

5.4 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão da média. Na etapa II, as diferenças estatísticas entre dois grupos foram avaliadas utilizando o teste *t* de *Student* não pareado. Os valores de *p* menores que 0,05 foram considerados como indicativos de

significância. Foi utilizado o software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) para as análises estatísticas. Os dados referentes a etapa I do estudo não foram analisados estatisticamente devido ao pequeno número de animais por grupo experimental (n=3/sexo).

6. RESULTADOS

6.1. Resultados Etapa I

6.1.1. Morbidade e mortalidade

Os tratamentos com a Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg) não resultaram em nenhum sinal indicativo de toxicidade durante todo o período de observação dos animais. Além disso, nenhum animal foi encontrado morto durante todo o período experimental. Esses parâmetros foram avaliados duas vezes ao dia até o 14º dia após a administração única do veículo ou das diferentes doses da Substância Teste.

6.1.2. Sinais clínicos iniciais

Essas avaliações foram realizadas previamente ao início dos tratamentos para certificação do estado de saúde dos animais para todos os grupos experimentais. Os dados referentes a essas avaliações estão descritos na tabela 2 e 3 (Apêndice 1).

6.1.3. Sinais clínicos gerais

A administração oral da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg), não resultou em qualquer alteração observável nas avaliações diárias de sinais clínicos gerais. Os resultados obtidos dessas avaliações estão descritos nas tabelas 4 e 5 (Apêndice 1).

6.1.4. Peso corporal

O peso corporal foi mensurado uma vez antes do início dos tratamentos (basal) e posteriormente uma vez por semana. Não foi observada nenhuma mudança de peso corporal relacionada à administração da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-

São Carlos) (175 mg/kg, 550 mg/kg, 1.750 mg/kg e 5.000 mg/kg). A média e o desvio padrão da média dos pesos corporais de cada grupo experimental estão apresentados nas tabelas 6 e 7. O peso corporal terminal (mensurado no dia da eutanásia), de cada animal individual está descrito nas tabelas 8 e 9 (Apêndice 2).

6.1.5. Consumo de ração

O consumo de ração foi quantificado até o término do período de observação de 14 dias. A soma da ração consumida ao longo de 14 dias após o tratamento único com as diferentes doses da Substância Teste não resultou em diferenças no consumo de ração entre os grupos experimentais. Os resultados referentes a essas análises estão descritos nas tabelas 10 e 11 (Apêndice 3).

6.1.6. Análises hematológicas

De forma geral, os resultados dos parâmetros hematológicos analisados não apresentaram alterações relacionadas aos tratamentos com a Substância Teste. No entanto, os resultados referentes a quantificação de monócitos (W-MCR) para machos e fêmeas apresentaram grande variação, e devido ao pequeno número de animais analisados (n=3/sexo), os dados são inconclusivos. Os resultados dessas análises estão descritos nas tabelas 12 e 13 (Apêndice 4).

6.1.7. Análises bioquímicas

De forma geral, os resultados das análises bioquímicas realizadas não demonstraram alterações relacionadas aos tratamentos com a Substância Teste. Os dados referentes a esses resultados estão apresentados nas tabelas 14 e 15 (Apêndice 5).

6.1.8. Peso dos órgãos

Após o procedimento de necropsia, o peso (g) dos órgãos principais (glândulas adrenais, baço, cérebro, coração, rim, timo, fígado, testículos, epidídimo e ovário) foi mensurado para cada animal em todos os grupos experimentais. Os resultados obtidos demonstraram que não foram observadas mudanças relacionadas ao tratamento com a

Substância Teste. Apenas o coração de um animal da dose de 1.750 mg/kg e o timo de um animal da dose de 5.000 mg/kg da Substância Teste apresentaram volume superior aos demais analisados. Os dados referentes as análises de peso dos órgãos estão descritos nas tabelas 16 e 17 (Apêndice 6).

6.1.9. Peso dos órgãos relativo ao peso corporal

Foi determinada a relação dos pesos dos órgãos/peso corporal terminal (no dia da necropsia) para cada animal. Todos os dados referentes as análises de peso dos órgãos relativos ao peso corporal (%) estão descritos nas tabelas 18 e 19 (Apêndice 6).

6.1.10. Avaliações macroscópicas

As avaliações macroscópicas realizadas durante o procedimento de necropsia não revelaram alterações significativas que pareçam estar relacionadas ao tratamento com a Substância Teste nas diferentes doses testadas. Apenas o timo de um animal da dose de 5.000 mg/kg e o coração de um animal da dose de 1.750 mg/kg da Substância Teste apresentou tamanho maior, quando comparado aos animais dos demais grupos experimentais. O pequeno número experimental (n=3/sexo) não permite fazer maiores implicações a essas análises. Os resultados referentes a essas análises estão apresentados nas tabelas 20 e 21 (Apêndice 7).

6.2. Resultados Etapa II

6.2.1. Morbidade e mortalidade

O tratamento repetido durante 7 dias com a Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg) não resultou em nenhum sinal indicativo de toxicidade durante todo o período de observação dos animais. Além disso, nenhum animal foi encontrado morto durante todo o período experimental. Esses parâmetros foram avaliados duas vezes ao dia até o 14º dia após o tratamento.

6.2.2. Sinais clínicos iniciais

Essas avaliações foram realizadas previamente ao início dos tratamentos para certificação do estado de saúde dos animais para todos os grupos experimentais. Os dados referentes a essas avaliações estão descritos nas tabelas 22 e 23 (Apêndice 8).

6.2.3. Sinais clínicos gerais

A administração oral da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg), durante 7 dias, não resultou em qualquer alteração observável nas avaliações diárias de sinais clínicos gerais. Os resultados obtidos dessas avaliações estão descritos nas tabelas 24 e 25 (Apêndice 8).

6.2.4. Peso corporal

O peso corporal foi mensurado uma vez antes desde o início dos tratamentos (basal) e posteriormente uma vez por semana. Não foi observada nenhuma mudança de peso corporal relacionada à administração da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética - USP (1.000 mg/kg), durante 7 dias. Os resultados referentes a essas análises estão apresentados nas tabelas 26 e 27 e também na figura 2 A e B (Apêndice 9). Além disso, o peso corporal dos animais foi mensurado no dia da eutanásia, anteriormente a este procedimento. Os dados referentes a essas análises estão descritos nas tabelas 28 e 29 (Apêndice 9).

6.2.5. Consumo de ração

O consumo de ração foi quantificado até o término dos tratamentos. Não foram observadas diferenças no consumo de ração relacionadas aos tratamentos com a Substância Teste. A soma da ração consumida ao longo de 14 dias para cada grupo experimental está apresentada nas tabelas 30 e 31 (Apêndice 10).

6.2.6. Análises hematológicas

Os resultados dos parâmetros hematológicos analisados, de maneira geral, não apresentaram alterações relacionadas ao tratamento repetido com a Substância Teste, com exceção da contagem de células totais (WBC) em ratos machos, que apresentou redução

significativa nos animais tratados com a Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg). Os resultados dessas análises estão descritos nas tabelas 32 e 33 (Apêndice 11).

6.2.7. Análises bioquímicas

De forma geral, os resultados das análises bioquímicas realizadas não demonstraram grandes alterações que pareçam estar relacionadas ao tratamento repetido com a Substância Teste. Entretanto, foi observada redução significativa nos níveis de glicose e triglicerídeos nos ratos fêmeas tratadas com Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos) (1.000 mg/kg). Os dados referentes a esses resultados estão apresentados nas tabelas 34 e 35 (Apêndice 12).

6.2.8. Peso dos órgãos

Após o procedimento de necropsia, o peso (g) dos órgãos principais (glândulas adrenais, baço, cérebro, coração, rim, timo, fígado, testículos, epidídimo e ovário) foi mensurado para cada animal em todos os grupos experimentais. Os resultados obtidos demonstraram que não houve alterações relacionadas ao tratamento repetido com a Substância Teste. Os dados referentes as análises de peso dos órgãos principais estão descritos nas tabelas 36 e 37 (Apêndice 13).

6.2.9. Peso dos órgãos relativo ao peso corporal

Foi determinada a relação pesos dos órgãos/peso corporal terminal (no dia da necropsia) para cada animal. Todos os dados referentes as análises de peso dos órgãos relativos ao peso corporal (%) estão descritos nas tabelas 38 e 39 (Apêndice 13).

6.2.10. Avaliações macroscópicas

As avaliações macroscópicas realizadas durante o procedimento de necropsia não revelaram alterações significativas relacionadas ao tratamento durante 7 dias com a Substância Teste (1.000 mg/kg). Foram observadas manchas amarelas nos rins de um

único animal tratado com Substância Teste. Os resultados referentes a essas análises estão apresentados nas tabelas 40 e 41 (Apêndice 14).

7. CONCLUSÃO

O conjunto de resultados obtidos na primeira etapa do estudo de segurança não permitiu estimar a dose máxima tolerada (DMT) da Substância Teste Fosfoetanolamina Sintética (USP-São Carlos), uma vez que não foi observado nenhum sinal de toxicidade nos animais em relação aos diversos parâmetros avaliados em nenhuma das doses testadas. Na segunda etapa do estudo, o tratamento repetido dos animais com a Substância Teste na dose de 1.000 mg/kg pelo período de 7 dias também não resultou em sinais de toxicidade dentro dos parâmetros avaliados. As alterações encontradas referentes ao número de células totais de ratos machos e dos níveis de glicose e triglicerídeos dos ratos fêmeas tratados com a Substância Teste (1.000 mg/kg) deverão ser confirmados em estudos de toxicidade de doses repetidas com maior tempo de duração.

8. REGISTRO DE DADOS BRUTOS

Todos os dados brutos e observações relacionadas ao estudo foram registrados em formulário adequado onde ficarão arquivados por 5 anos.

9. ARQUIVAMENTO

Uma cópia original do Plano de Estudo, Dados Brutos e Relatório Final foram arquivados no CIEnP, onde serão mantidos por 5 anos. A Substância Teste foi armazenada, em local apropriado, no CIEnP e será mantida até a expiração de sua validade.

10. REFERÊNCIAS

OECD, Nº 425: Guideline for the testing of chemicals, Section 4: Health Effects. Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, Test no 425, pp. 1-27. 2008.

OECD, Nº 407: Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, Section 4: Health Effects, pp 1-13. 2008.

Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals M3(R2). International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Current Step 4 version, 2009.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

DECLARAÇÃO DO DIRETOR DE ESTUDO

Eu, abaixo assinado, declaro que este estudo foi realizado sob a minha supervisão, conforme os procedimentos nele descritos. Os resultados apresentados referem-se a Substância Teste utilizada.

Allisson Freire Bento

Dr. Allisson Freire Bento
Diretor do Estudo

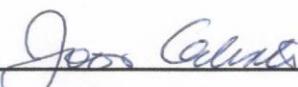
11/04/16

Data

DECLARAÇÃO DO GERENTE DA INSTALAÇÃO TESTE E DIRETOR DE ESTUDO SUBSTITUTO

Nós, abaixo assinados, declaramos que este estudo representa o registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos.

Este documento não deve ser reproduzido parcialmente.

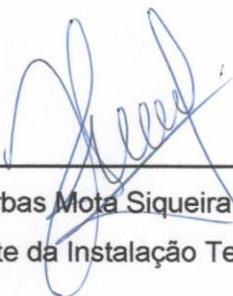


Dr. João Batista Calixto

Diretor Presidente

11/04/16

Data



Dr. Jarbas Mota Siqueira Junior

Gerente da Instalação Teste

11/04/2016

Data



Juliana Siqueira Chaves

Diretor de Estudo Substituto

11/04/16

Data

APÊNDICE 1

Tabela 2. Análise dos sinais clínicos iniciais dos ratos machos por grupo experimental antes do início dos tratamentos.

SINAIS CLÍNICOS DETALHADOS - MACHOS								
GRUPO	FRÊMITO VOCAL	IRRITABILIDADE	RESPOSTA AO TOQUE	FORÇA AGARRAR	LACRIMEJAMENTO E SALIVAÇÃO	PILOEREÇÃO	APARÊNCIA GERAL	ATIVIDADE GERAL
SALINA	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 1 (175 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 2 (550 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 3 (1750 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 4 (5000 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0

0 – Escore atribuído aos animais que não apresentaram nenhuma alteração dos parâmetros analisados.

Tabela 3. Análise dos sinais clínicos iniciais dos ratos fêmeas por grupo experimental antes do início dos tratamentos.

SINAIS CLÍNICOS DETALHADOS - FÊMEAS								
GRUPO	FRÊMITO VOCAL	IRRITABILIDADE	RESPOSTA AO TOQUE	FORÇA AGARRAR	LACRIMEJAMENTO E SALIVAÇÃO	PILOEREÇÃO	APARÊNCIA GERAL	ATIVIDADE GERAL
SALINA	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 1 (175 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 2 (550 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 3 (1750 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSE 4 (5000 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0

0 – Escore atribuído aos animais que não apresentaram nenhuma alteração dos parâmetros analisados.

Tabela 4. Resumo dos sinais clínicos gerais diários dos ratos machos por grupo experimental durante todo o protocolo experimental.

SINAIS CLÍNICOS GERAIS - MACHOS				
GRUPO	COMPORTAMENTO DO ANIMAL	REGIÃO CAUDAL	REGIÃO ABDOMINAL	EXTREMIDADES
SALINA	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 1 (175 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 2 (550 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 3 (1750 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 4 (5000 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A

S/A – Sem alteração.

Tabela 5. Resumo dos sinais clínicos gerais diários dos ratos fêmeas por grupo experimental durante todo o protocolo experimental.

SINAIS CLÍNICOS GERAIS - FÊMEAS				
GRUPO	COMPORTAMENTO DO ANIMAL	REGIÃO CAUDAL	REGIÃO ABDOMINAL	EXTREMIDADES
SALINA	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 1 (175 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 2 (550 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 3 (1750 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A
DOSE 4 (5000 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A

S/A – Sem alteração.

APÊNDICE 2

Tabela 6. Peso corporal médio semanal em gramas dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS		FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP				
SEMANA		SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)
BASAL	MÉDIA	452,047	386,720	367,790	407,673	445,633
	DP&	29,577	5,280	12,095	11,921	8,523
	N	3	3	3	3	3
1	MÉDIA	485,233	431,133	423,333	437,567	480,533
	DP&	28,242	4,248	20,115	12,194	26,487
	N	3	3	3	3	3
2	MÉDIA	512,533	455,867	461,433	476,767	504,167
	DP&	35,061	5,058	20,586	15,340	22,869
	N	3	3	3	3	3

&Desvio Padrão; N = número de animais; BASAL – antes da administração.

Tabela 7. Peso corporal médio semanal em gramas dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS		FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP				
SEMANA		SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)
BASAL	MÉDIA	224,467	202,900	214,917	250,063	250,600
	DP&	13,557	13,261	6,466	18,343	10,312
	N	3	3	3	3	3
1	MÉDIA	246,267	219,833	238,067	265,000	264,933
	DP&	16,706	18,847	7,191	21,702	20,353
	N	3	3	3	3	3
2	MÉDIA	251,567	225,167	243,167	278,500	270,133
	DP&	12,173	22,300	11,415	22,006	18,817
	N	3	3	3	3	3

&Desvio Padrão; N = número de animais; BASAL – antes da administração.

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

Tabela 8. Peso corporal terminal individual em gramas no dia da necropsia (pós-jejum) dos ratos machos após 14 dias da administração única da Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS		FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP			
N	SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)
1	448,300	413,700	410,200	451,500	483,400
2	497,790	433,900	439,300	463,800	500,200
3	512,000	423,300	443,200	433,300	458,300
MÉDIA ±	486,030 ±	423,633 ±	430,900 ±	449,533 ±	480,633 ±
DP^{&}	33,439	10,104	18,032	15,345	21,087

[&]Desvio Padrão.

Tabela 9. Peso corporal terminal individual em gramas no dia da necropsia (pós-jejum) dos ratos fêmeas após 14 dias da administração única da Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS		FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP			
N	SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)
1	245,590	218,290	238,100	242,900	280,700
2	240,700	224,800	216,400	258,800	264,200
3	218,470	192,280	237,600	281,500	266,700
MÉDIA ±	234,920 ±	211,790 ±	230,700 ±	200,235 ±	270,533 ±
DP^{&}	14,454	17,207	12,387	19,400	8,893

[&]Desvio Padrão.

APÊNDICE 3

Tabela 10. Consumo total de ração em gramas dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS			FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP			
GRUPO	SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)	
TOTAL (g)	1181,900	1168,600	1280,430	1186,350	1284,740	

Tabela 11. Consumo de ração em gramas dos ratos fêmeas por semana e grupo experimental.

FÊMEAS			FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA - USP			
GRUPO	SALINA	DOSE 1 (175 mg/kg)	DOSE 2 (550 mg/kg)	DOSE 3 (1750 mg/kg)	DOSE 4 (5000 mg/kg)	
TOTAL (g)	791,700	705,800	769,670	800,210	788,790	

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

APÊNDICE 4

Tabela 12. Análise de parâmetros hematológicos dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS												
GRUPO		WBC (x10 ³ /µL)	RBC (x10 ⁶ /µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (x10 ³ /µL)	W-SCR (%)	W-MCR (%)	W-LCR (%)
SALINA	MÉDIA	16,047	7,397	14,933	44,933	60,700	20,167	33,267	817,667	82,433	7,767	7,800
	DP ^{&}	3,594	0,513	1,124	4,150	1,652	0,153	0,757	346,428	2,122	0,833	1,500
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	9,513	7,983	15,500	47,233	59,167	19,433	32,867	319,667	80,200	3,800	11,167
	DP ^{&}	2,006	0,737	1,082	3,951	1,350	0,681	0,473	301,510	1,308	3,559	1,172
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	14,530	7,433	15,133	46,000	61,833	20,367	32,933	410,000	84,367	2,767	8,567
	DP ^{&}	2,867	0,595	1,168	3,859	0,451	0,252	0,702	598,361	1,626	1,940	1,159
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	16,190	7,700	14,867	46,033	59,700	19,333	32,333	335,667	77,567	7,400	11,200
	DP ^{&}	8,201	0,465	0,987	3,525	1,652	0,907	1,069	423,394	7,522	3,081	4,636
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	13,890	7,847	15,133	46,433	59,133	19,300	32,600	1044,000	80,067	8,133	10,833
	DP ^{&}	2,588	0,760	1,436	4,446	0,208	0,265	0,557	124,756	8,566	4,043	4,416
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; WBC – Células totais; RBC – Hemácias; HGB – Hemoglobina; HCT – Hematócrito; MCV – Volume corpuscular; MCH – Hemoglobina corpuscular média; MCHC – Concentração média da hemoglobina corpuscular; PLT – Contagem de plaquetas; W-SCR – Índice de leucócito pequenos (linfócitos); W-MCR – Índice de leucócitos médios (monócitos); W-LCR – Índice de leucócitos grandes (neutrófilos).

Tabela 13. Análise de parâmetros hematológicos dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS												
SALINA		WBC (x10 ³ /µL)	RBC (x10 ⁶ /µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (x10 ³ /µL)	W-SCR (%)	W-MCR (%)	W-LCR (%)
SALINA	MÉDIA	7,047	6,497	12,967	37,467	57,833	20,000	34,600	330,333	88,233	3,933	6,300
	DP ^{&}	3,058	1,059	1,856	5,552	1,450	0,436	0,300	539,279	4,725	2,511	2,972
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	6,040	7,310	14,267	41,500	56,767	19,533	34,400	842,000	84,633	5,800	8,133
	DP ^{&}	2,290	0,212	0,551	1,652	1,361	0,231	1,200	49,669	5,288	2,536	2,237
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	7,580	7,543	15,300	44,000	58,367	20,267	34,767	614,000	79,800	9,600	7,000
	DP ^{&}	1,620	0,274	0,794	2,252	0,808	0,351	0,351	519,919	14,504	9,219	3,219
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	8,700	7,240	14,467	43,400	60,000	20,000	33,333	670,000	83,733	5,000	9,133
	DP ^{&}	2,490	0,269	0,643	1,400	0,361	0,346	0,569	433,097	5,572	1,735	3,953
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	6,863	6,303	12,700	36,733	58,233	20,167	34,700	386,667	83,367	5,800	8,033
	DP ^{&}	3,364	1,075	1,833	6,127	0,611	0,666	0,872	489,087	3,536	0,100	2,950
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; WBC – Células totais; RBC – Hemácias; HGB – Hemoglobina; HCT – Hematócrito; MCV – Volume corpuscular; MCH – Hemoglobina corpuscular média; MCHC – Concentração média da hemoglobina corpuscular; PLT – Contagem de plaquetas; W-SCR – Índice de leucócito pequenos (linfócitos); W-MCR – Índice de leucócitos médios (monócitos); W-LCR – Índice de leucócitos grandes (neutrófilos).

APÊNDICE 5

Tabela 14. Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS										
GRUPO		ALT (U/L)	GGT (U/L)	TRI (mg/dL)	PT (g/dL)	CRE (mg/dL)	ALB (g/dL)	AST (U/L)	CÁLCIO (mg/dL)	GLICOSE (mg/dL)
SALINA	MÉDIA	54,267	5,333	165,667	9,053	0,853	3,333	109,967	11,960	369,633
	DP ^{&}	1,290	9,238	83,008	0,877	0,061	0,415	28,786	2,881	180,473
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	52,633	0,667	156,667	9,223	0,573	3,713	85,867	15,320	336,667
	DP ^{&}	4,443	1,155	46,544	0,480	0,051	0,175	13,657	1,264	120,587
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	48,300	0,000	185,000	9,110	0,553	3,710	85,800	15,017	307,100
	DP ^{&}	2,339	0,000	36,865	0,217	0,261	0,046	2,343	0,894	88,370
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	57,433	0,333	132,667	8,807	0,577	3,517	97,967	14,953	331,900
	DP ^{&}	3,636	0,577	47,290	0,344	0,157	0,075	11,774	0,764	86,981
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	63,833	0,667	131,000	9,300	0,563	3,780	109,600	15,893	519,867
	DP ^{&}	9,738	1,155	53,254	0,923	0,015	0,346	12,372	0,681	171,297
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - Gama-glutamilttransferase; TRI - Triglicérideos; PT - Proteína total; CRE - Creatinina; ALB - Albumina; AST - Aspartato Aminotransferase.

Tabela 14 (Continuação). Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS									
GRUPO		BT (mg/dL)	CT (mg/dL)	FA (U/L)	P (mg/dL)	URÉIA (mg/dL)	Na (nmol/L)	K (nmol/L)	Cl (nmol/L)
SALINA	MÉDIA	0,060	80,000	239,000	17,430	38,900	144,000	11,650	101,667
	DP ^{&}	0,104	11,533	39,611	0,840	5,620	8,888	6,780	7,095
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,093	85,667	327,667	17,293	47,167	144,333	12,700	102,00
	DP ^{&}	0,095	16,258	75,082	0,245	7,371	9,609	0,794	6,000
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,007	89,333	353,333	17,117	43,600	179,667	14,600	128,000
	DP ^{&}	0,012	5,033	30,616	0,566	6,252	9,292	8,429	7,937
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,003	94,667	315,000	17,970	47,300	157,000	13,267	113,000
	DP ^{&}	0,006	22,143	78,937	0,590	3,863	18,735	0,764	14,177
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,007	89,667	346,333	17,593	43,733	163,000	12,600	115,000
	DP ^{&}	0,012	9,504	17,926	1,913	8,503	7,000	7,330	4,583
	N	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; BT - Bilirrubina total; CT - Colesterol total; FA - Fosfatase alcalina; P - Fósforo; Na - Sódio; K - Potássio; Cl - Cloreto.

Tabela 15. Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS										
GRUPO		ALT (U/L)	GGT (U/L)	TRI (mg/dL)	PT (g/dL)	CRE (mg/dL)	ALB (g/dL)	AST (U/L)	CÁLCIO (mg/dL)	GLICOSE (mg/dL)
SALINA	MÉDIA	43,433	2,000	134,000	8,483	0,447	3,180	98,267	10,010	196,467
	DP ^{&}	4,120	3,464	31,796	0,413	0,145	0,017	19,969	1,912	61,613
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	56,833	4,667	125,000	9,677	0,607	4,000	87,467	14,977	469,700
	DP ^{&}	2,987	7,234	16,093	0,060	0,136	0,131	14,796	0,902	82,396
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	50,433	0,667	128,000	9,177	0,623	4,017	93,767	13,547	263,733
	DP ^{&}	12,933	1,155	36,056	0,392	0,074	0,163	10,879	1,940	96,214
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	48,767	1,000	168,000	9,260	0,773	4,070	86,600	14,840	259,533
	DP ^{&}	9,074	1,732	59,657	0,403	0,307	0,230	6,580	0,635	45,601
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	45,100	7,000	149,333	8,990	0,583	3,807	122,100	13,733	268,233
	DP ^{&}	12,211	12,124	27,538	0,353	0,163	0,122	35,743	0,396	17,498
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - Gama-glutamilttransferase; TRI - Triglicerídeos; PT - Proteína total; CRE - Creatinina; ALB - Albumina; AST - Aspartato Aminotransferase.

Tabela 15 (Continuação). Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS									
GRUPO		BT (mg/dL)	CT (mg/dL)	FA (U/L)	P (mg/dL)	URÉIA (mg/dL)	Na (nmol/L)	K (nmol/L)	Cl (nmol/L)
SALINA	MÉDIA	0,000	70,667	117,333	14,473	26,500	147,333	14,050	110,667
	DP ^{&}	0,000	11,676	11,504	1,068	4,419	17,388	8,124	8,622
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,000	97,000	235,333	16,537	39,267	140,333	12,133	98,000
	DP ^{&}	0,000	22,913	38,070	1,851	5,541	11,504	0,751	7,550
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,000	93,667	157,333	18,060	52,167	144,000	14,450	108,667
	DP ^{&}	0,000	5,033	29,484	0,701	3,787	5,568	8,346	1,528
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,003	93,000	177,000	17,143	49,600	159,667	12,033	118,000
	DP ^{&}	0,006	4,000	84,018	1,189	12,611	7,024	2,503	4,000
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,003	89,333	116,667	19,213	48,533	134,000	12,550	100,667
	DP ^{&}	0,006	14,468	13,650	0,681	8,620	9,644	7,370	5,508
	N	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; BT - Bilirrubina total; CT - Colesterol total; FA - Fosfatase alcalina; P - Fósforo; Na - Sódio; K - Potássio; Cl - Cloreto.

APÊNDICE 6

Tabela 16. Peso absoluto (gramas) dos órgãos principais dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS										
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,084	0,823	2,132	1,770	1,622	18,977	3,618	4,008	0,598
	DP&	0,012	0,123	0,063	0,150	0,065	1,193	0,405	0,094	0,056
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,072	0,850	2,138	2,016	1,592	16,552	3,928	3,660	0,838
	DP&	0,010	0,072	0,013	0,295	0,176	1,768	0,243	0,266	0,144
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,064	0,824	2,044	1,704	1,504	18,078	3,744	3,545	0,647
	DP&	0,018	0,063	0,139	0,101	0,053	1,691	0,439	0,038	0,125
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,065	0,911	2,093	6,327	1,578	16,445	3,744	3,886	0,477
	DP&	0,006	0,081	0,122	8,363	0,065	0,241	0,439	0,110	0,079
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,075	0,954	2,232	2,027	2,084	18,413	4,606	3,988	1,094
	DP&	0,002	0,109	0,037	0,093	0,163	1,550	0,466	0,170	0,943
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3

&Desvio Padrão; N = número de animais.

Tabela 17. Peso absoluto (gramas) dos órgãos principais dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS									
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM (PAR)	OVÁRIO (PAR)	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,079	0,558	1,994	1,160	9,158	2,058	0,161	0,432
	DP&	0,007	0,112	0,025	0,050	1,115	0,096	0,027	0,013
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,079	0,433	1,934	0,998	7,991	2,117	0,142	0,428
	DP&	0,018	0,072	0,109	0,089	0,792	0,318	0,029	0,075
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,077	0,511	1,914	1,051	8,941	2,122	0,138	0,457
	DP&	0,013	0,068	0,107	0,095	0,809	0,093	0,015	0,101
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,068	0,610	1,984	1,087	9,531	2,327	0,151	0,546
	DP&	0,007	0,046	0,026	0,037	0,426	0,133	0,022	0,022
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,069	0,614	1,948	1,050	9,062	2,293	0,153	0,544
	DP&	0,001	0,013	0,082	0,047	0,580	0,039	0,027	0,099
	N	3	3	3	3	3	3	3	3

&Desvio Padrão; N = número de animais.

Tabela 18. Peso relativo (%) dos órgãos principais ao peso terminal dos ratos machos por grupo experimental.

MACHOS										
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,017	0,145	0,425	0,379	0,337	3,653	0,947	0,850	0,118
	DP ^{&}	0,002	0,010	0,030	0,027	0,024	0,260	0,017	0,060	0,008
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,017	0,164	0,481	0,429	0,380	4,130	0,943	0,960	0,134
	DP ^{&}	0,003	0,003	0,008	0,007	0,007	0,072	0,040	0,017	0,002
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,015	0,163	0,479	0,427	0,379	4,112	0,903	0,956	0,133
	DP ^{&}	0,004	0,007	0,020	0,018	0,016	0,176	0,031	0,041	0,006
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,014	0,156	0,459	0,409	0,363	3,940	0,903	0,916	0,128
	DP ^{&}	0,002	0,005	0,016	0,014	0,012	0,135	0,031	0,031	0,004
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,016	0,146	0,429	0,383	0,340	3,687	0,845	0,857	0,120
	DP ^{&}	0,001	0,006	0,019	0,017	0,015	0,163	0,037	0,038	0,005
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

Tabela 19. Peso relativo (%) dos órgãos principais ao peso terminal dos ratos fêmeas por grupo experimental.

FÊMEAS									
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM (PAR)	OVÁRIO (PAR)	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,036	0,209	0,858	0,487	4,070	0,910	0,076	0,190
	DP ^{&}	0,002	0,013	0,055	0,031	0,259	0,058	0,005	0,012
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 1 (175 mg/kg)	MÉDIA	0,040	0,233	0,954	0,542	4,523	1,011	0,085	0,212
	DP ^{&}	0,003	0,020	0,081	0,046	0,383	0,086	0,007	0,018
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 2 (550 mg/kg)	MÉDIA	0,036	0,213	0,874	0,496	4,142	0,926	0,078	0,194
	DP ^{&}	0,002	0,012	0,048	0,027	0,229	0,051	0,004	0,011
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 3 (1750 mg/kg)	MÉDIA	0,032	0,189	0,773	0,439	3,666	0,819	0,069	0,172
	DP ^{&}	0,002	0,014	0,057	0,032	0,270	0,060	0,005	0,013
	N	3	3	3	3	3	3	3	3
DOSE 4 (5000 mg/kg)	MÉDIA	0,032	0,185	0,758	0,430	3,592	0,803	0,067	0,168
	DP ^{&}	0,000	0,001	0,005	0,003	0,024	0,005	0,000	0,001
	N	3	3	3	3	3	3	3	3

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

APÊNDICE 7

Tabela 20. Avaliações macroscópicas dos ratos machos durante a necropsia.

MACHOS										
GRUPO	ANIMAL	ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 1 (175 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 2 (550 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 3 (1750 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	Tamanho anormal, volumoso.	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 4 (5000 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	Aspecto anormal, massa volumosa e rígida.

N – Nenhuma lesão ou anormalidade visível.

Tabela 21. Avaliações macroscópicas dos ratos fêmeas durante a necropsia.

FÊMEAS									
GRUPO	ANIMAL	ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	OVÁRIO	FÍGADO	RIM (PAR)	TIMO
SALINA	1	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 1 (175 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 2 (550 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 3 (1750 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N
DOSE 4 (5000 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N

N – Nenhuma lesão ou anormalidade visível.

RELATÓRIO FOSFOETANOLINA

APÊNDICE 8

Tabela 22. Análise dos sinais clínicos detalhados dos ratos machos por grupo experimental antes do início dos tratamentos da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

SINAIS CLÍNICOS DETALHADOS - MACHOS								
GRUPO	FRÊMITO VOCAL	IRRITABILIDADE	RESPOSTA AO TOQUE	FORÇA AGARRAR	LACRIMEJAMENTO E SALIVAÇÃO	PILOEREÇÃO	APARÊNCIA GERAL	ATIVIDADE GERAL
SALINA	0	0	0	0	0	0	0	0
FOSFO (1000 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0

0 – Escore atribuído aos animais que não apresentaram nenhuma alteração dos parâmetros analisados.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 23. Análise dos sinais clínicos detalhados dos ratos fêmeas por grupo experimental antes do início dos tratamentos da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

SINAIS CLÍNICOS DETALHADOS - FÊMEAS								
GRUPO	FRÊMITO VOCAL	IRRITABILIDADE	RESPOSTA AO TOQUE	FORÇA AGARRAR	LACRIMEJAMENTO E SALIVAÇÃO	PILOEREÇÃO	APARÊNCIA GERAL	ATIVIDADE GERAL
SALINA	0	0	0	0	0	0	0	0
FOSFO (1000 mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0

0 – Escore atribuído aos animais que não apresentaram nenhuma alteração dos parâmetros analisados.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 24. Resumo dos sinais clínicos gerais dos ratos machos por grupo experimental durante todo o protocolo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

SINAIS CLÍNICOS GERAIS - MACHOS				
GRUPO	COMPORTAMENTO DO ANIMAL	REGIÃO CAUDAL	REGIÃO ABDOMINAL	EXTREMIDADES
SALINA	S/A	S/A	S/A	S/A
FOSFO (1000 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A

S/A – Sem alteração.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 25. Resumo dos sinais clínicos gerais dos ratos fêmeas por grupo experimental durante todo o protocolo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

SINAIS CLÍNICOS GERAIS - FÊMEAS				
GRUPO	COMPORTAMENTO DO ANIMAL	REGIÃO CAUDAL	REGIÃO ABDOMINAL	EXTREMIDADES
SALINA	S/A	S/A	S/A	S/A
FOSFO (1000 mg/kg)	S/A	S/A	S/A	S/A

S/A – Sem alteração.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

APÊNDICE 9

Tabela 26. Peso corporal médio semanal em gramas dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS			FOSFOETANOLAMINA
SEMANA		SALINA	
BASAL	MÉDIA	435,260	453,440
	DP&	19,372	18,386
	N	5	5
1	MÉDIA	482,140	487,640
	DP&	16,558	31,260
	N	5	5
2	MÉDIA	501,460	511,900
	DP&	21,779	21,538
	N	5	5

&Desvio Padrão; N = número de animais.

Tabela 27. Peso corporal médio semanal em gramas dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS			FOSFOETANOLAMINA
SEMANA		SALINA	
BASAL	MÉDIA	253,540	261,220
	DP&	10,147	15,077
	N	5	5
1	MÉDIA	272,940	287,500
	DP&	8,097	15,177
	N	5	5
2	MÉDIA	283,320	288,740
	DP&	13,124	11,689
	N	5	5

&Desvio Padrão; N = número de animais.

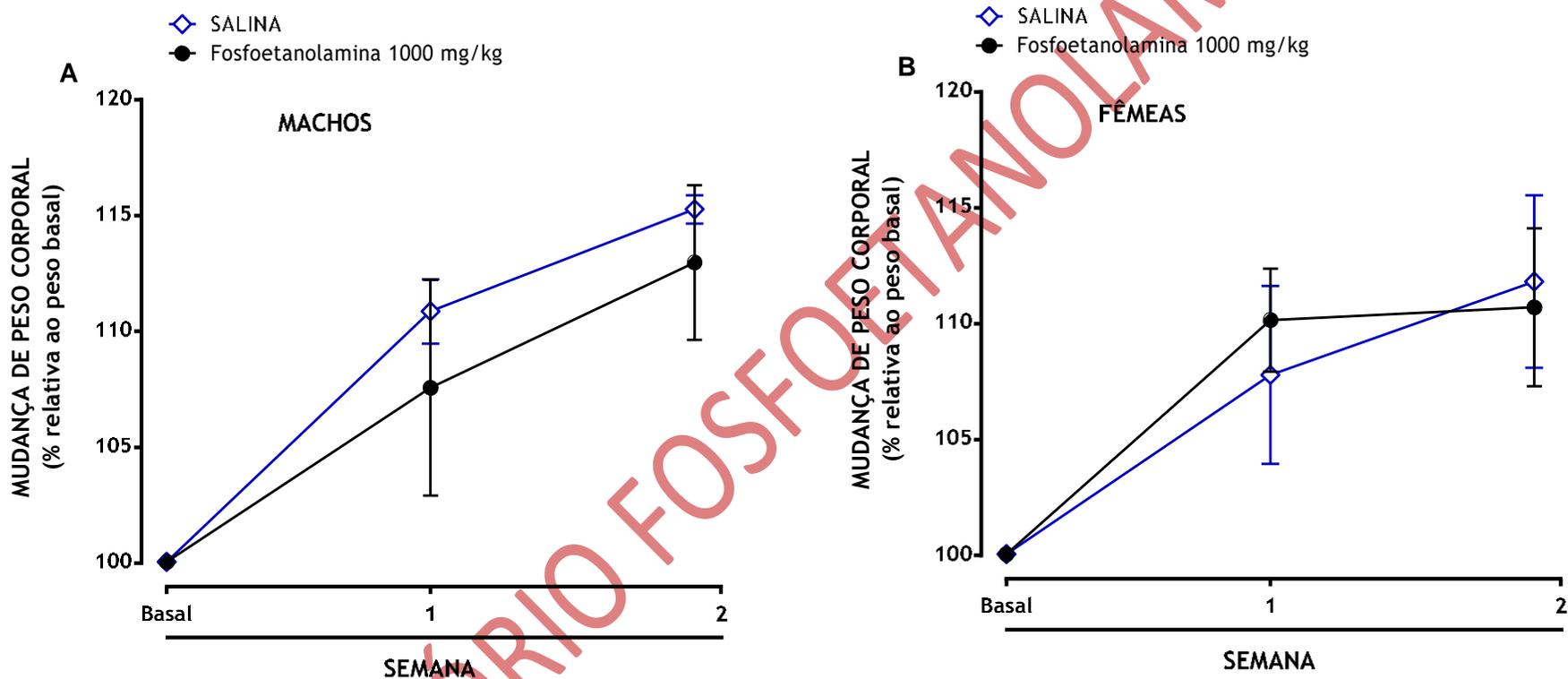


Figura 2. Percentual de mudança de peso corporal em relação ao peso basal (Etapa II). Os animais tiveram seus pesos medidos antes do início do tratamento (Basal) e uma vez por semana após o tratamento. (A) Percentual de mudança de peso dos ratos machos e (B) percentual de mudança de peso dos ratos fêmeas.

ESTUDO DE TOXICIDADE ORAL DE DOSE MÁXIMA TOLERADA E DOSES REPETIDAS POR 7 DIAS DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA (USP – SÃO CARLOS) EM RATOS

Tabela 28. Peso corporal terminal individual em gramas no dia da necropsia (pós-jejum) dos ratos machos no 14º dia após 7 tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS		FOSFOETANOLAMINA
N	SALINA	1000 mg/kg
1	469,400	496,440
2	464,410	486,570
3	465,680	448,440
4	444,790	449,470
5	494,210	484,780
MÉDIA ± DP^{&}	467,698 ± 17,645	473,140 ± 22,523

[&]Desvio Padrão.

Tabela 29. Peso corporal terminal individual em gramas no dia da necropsia (pós-jejum) dos ratos fêmeas no 14º dia após 7 tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS		FOSFOETANOLAMINA
N	SALINA	1000 mg/kg
1	274,740	282,540
2	256,660	274,870
3	264,620	250,510
4	249,230	274,270
5	271,710	265,690
MÉDIA ± DP^{&}	263,392 ± 10,552	269,576 ± 12,214

[&]Desvio Padrão.

APÊNDICE 10

Tabela 30. Consumo total de ração em gramas dos ratos machos por grupo experimental na fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS		FOSFOETANOLAMINA
GRUPO	SALINA	1000 mg/kg
TOTAL (g)	2.080,960	1.908,620

Tabela 31. Consumo de ração em gramas dos ratos fêmeas por semana e grupo experimental na fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS		FOSFOETANOLAMINA
GRUPO	SALINA	1000 mg/kg
TOTAL (g)	1.258,230	1.215,810

APÊNDICE 11

Tabela 32. Análise de parâmetros hematológicos dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS												
GRUPO		WBC (x10 ³ /µL)	RBC (x10 ⁶ /µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (x10 ³ /µL)	W-SCR (%)	W-MCR (%)	W-LCR (%)
SALINA	MÉDIA	17,176	9,024	16,560	49,840	55,240	18,360	33,260	318,800	82,260	2,940	8,280
	DP ^{&}	3,039	0,721	1,167	4,105	1,607	0,483	0,472	354,419	7,713	2,252	3,731
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	10,818*	8,758	16,240	49,200	56,180	18,540	33,020	486,400	80,560	4,400	10,860
	DP ^{&}	2,295	0,382	0,808	2,419	1,545	0,451	0,415	472,305	2,783	2,184	3,384
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; ^{*}Difere significativamente em relação ao grupo veículo; N = número de animais; WBC – Células totais; RBC – Hemácias; HGB – Hemoglobina; HCT – Hematócrito; MCV – Volume corpuscular; MCH – Hemoglobina corpuscular média; MCHC – Concentração média da hemoglobina corpuscular; PLT – Contagem de plaquetas; W-SCR – Índice de leucócito pequenos (linfócitos); W-MCR – Índice de leucócitos médios (monócitos); W-LCR – Índice de leucócitos grandes (neutrófilos).

Tabela 33. Análise de parâmetros hematológicos dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS												
SALINA		WBC (x10 ³ /µL)	RBC (x10 ⁶ /µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (x10 ³ /µL)	W-SCR (%)	W-MCR (%)	W-LCR (%)
SALINA	MÉDIA	7,282	7,484	14,640	42,940	57,300	19,520	34,080	238,600	87,800	2,920	5,880
	DP ^{&}	3,163	1,428	3,001	8,794	1,608	0,526	0,259	461,026	7,790	0,942	4,051
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	7,600	6,906	13,660	39,600	57,280	19,780	34,540	46,800	92,040	2,220	4,460
	DP ^{&}	4,274	1,628	3,202	9,618	1,016	0,192	0,513	48,142	5,977	0,559	3,7595
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; WBC – Células totais; RBC – Hemácias; HGB – Hemoglobina; HCT – Hematócrito; MCV – Volume corpuscular; MCH – Hemoglobina corpuscular média; MCHC – Concentração média da hemoglobina corpuscular; PLT – Contagem de plaquetas; W-SCR – Índice de leucócito pequenos (linfócitos); W-MCR – Índice de leucócitos médios (monócitos); W-LCR – Índice de leucócitos grandes (neutrófilos).

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

APÊNDICE 12

Tabela 34. Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS										
GRUPO		ALT (U/L)	GGT (U/L)	TRI (mg/dL)	PT (g/dL)	CRE (mg/dL)	ALB (g/dL)	AST (U/L)	CÁLCIO (mg/dL)	GLICOSE (mg/dL)
SALINA	MÉDIA	70,940	5,400	141,200	8,812	0,466	3,636	54,920	14,368	291,580
	DP ^{&}	44,667	7,603	80,776	1,119	0,108	0,553	19,521	0,554	106,949
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	111,040	2,400	99,000	9,770	0,506	3,764	34,840	13,478	289,960
	DP ^{&}	84,404	2,510	10,464	0,394	0,030	0,159	29,136	0,283	44,177
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - Gama-glutamilttransferase; TRI - Triglicérides; PT - Proteína total; CRE - Creatinina; ALB - Albumina; AST - Aspartato Aminotransferase.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 34 (Continuação). Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS									
GRUPO		BT (mg/dL)	CT (mg/dL)	FA (U/L)	P (mg/dL)	URÉIA (mg/dL)	Na (nmol/L)	K (nmol/L)	Cl (nmol/L)
SALINA	MÉDIA	0,050	99,200	178,000	17,604	44,060	136,200	11,200	101,000
	DP ^{&}	0,073	26,376	29,479	3,458	4,913	3,493	5,073	1,732
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,028	70,600	205,000	20,974	50,760	145,000	13,767	104,800
	DP ^{&}	0,041	9,317	56,586	3,131	4,113	7,211	7,568	5,263
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; BT - Bilirrubina total; CT - Colesterol total; FA - Fosfatase alcalina; P - Fósforo; Na - Sódio; K - Potássio; Cl - Cloreto.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 35. Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS										
GRUPO		ALT (U/L)	GGT (U/L)	TRI (mg/dL)	PT (g/dL)	CRE (mg/dL)	ALB (g/dL)	AST (U/L)	CÁLCIO (mg/dL)	GLICOSE (mg/dL)
SALINA	MÉDIA	80,460	2,400	227,600	10,458	0,434	4,544	44,420	14,368	291,580
	DP ^{&}	70,151	3,362	61,849	0,519	0,132	0,250	25,792	0,554	106,949
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	92,020	4,600	122,200*	9,880	0,508	4,256	52,080	13,478	165,880*
	DP ^{&}	55,085	9,209	34,809	0,587	0,069	0,285	20,424	0,283	56,154
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; *Difere significativamente em relação ao grupo veículo; N = número de animais; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - Gama-glutamilttransferase; TRI - Triglicerídeos; PT - Proteína total; CRE - Creatinina; ALB - Albumina; AST - Aspartato Aminotransferase.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 35 (Continuação). Análise de parâmetros bioquímicos dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidas com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS									
GRUPO		BT (mg/dL)	CT (mg/dL)	FA (U/L)	P (mg/dL)	URÉIA (mg/dL)	Na (nmol/L)	K (nmol/L)	Cl (nmol/L)
SALINA	MÉDIA	0,000	108,400	138,000	17,368	59,100	138,800	13,033	104,400
	DP ^{&}	0,000	21,267	58,868	1,642	4,121	8,758	7,181	5,128
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,032	89,200	126,400	17,846	51,080	136,200	13,800	105,200
	DP ^{&}	0,072	6,760	46,468	1,604	2,212	5,848	6,172	6,140
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais; BT - Bilirrubina total; CT - Colesterol total; FA - Fosfatase alcalina; P - Fósforo; Na - Sódio; K - Potássio; Cl - Cloreto.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

APÊNDICE 13

Tabela 36. Peso absoluto (gramas) dos órgãos principais dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS										
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,075	0,918	2,048	1,953	1,634	16,850	3,718	4,127	0,596
	DP ^{&}	0,018	0,159	0,163	0,102	0,067	0,795	0,256	0,188	0,049
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,075	0,857	2,126	1,832	1,470	17,522	3,926	3,830	0,504
	DP ^{&}	0,011	0,076	0,110	0,197	0,104	1,545	0,159	0,295	0,108
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 37. Peso absoluto (gramas) dos órgãos principais dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS									
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM (PAR)	OVÁRIO (PAR)	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,089	0,646	2,057	1,186	9,976	2,357	0,165	0,452
	DP ^{&}	0,029	0,043	0,054	0,089	0,442	0,190	0,029	0,071
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,084	0,579	2,051	1,078	10,086	2,377	0,175	0,462
	DP ^{&}	0,007	0,035	0,083	0,138	0,351	0,110	0,025	0,117
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 38. Peso relativo (%) dos órgãos principais ao peso terminal dos ratos machos por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS										
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,016	0,195	0,438	0,418	0,350	3,603	0,795	0,884	0,127
	DP ^{&}	0,004	0,027	0,038	0,026	0,014	0,128	0,031	0,059	0,008
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,016	0,181	0,449	0,387	0,311	3,706	0,831	0,810	0,107
	DP ^{&}	0,003	0,018	0,011	0,041	0,019	0,338	0,055	0,065	0,026
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

Tabela 39. Peso relativo (%) dos órgãos principais ao peso terminal dos ratos fêmeas por grupo experimental da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS									
GRUPO		ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM (PAR)	OVÁRIO (PAR)	TIMO
SALINA	MÉDIA	0,034	0,246	0,782	0,450	3,795	0,896	0,063	0,171
	DP ^{&}	0,012	0,020	0,046	0,024	0,273	0,084	0,010	0,023
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
FOSFO (1000 mg/kg)	MÉDIA	0,031	0,215	0,761	0,399	3,744	0,882	0,065	0,172
	DP ^{&}	0,004	0,016	0,028	0,043	0,115	0,036	0,009	0,045
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

[&]Desvio Padrão; N = número de animais.

RELATÓRIO FOSFOETANOLAMINA

APÊNDICE 14

Tabela 40. Avaliações macroscópicas dos ratos machos durante a necropsia da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

MACHOS										
GRUPO	ANIMAL	ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	N
FOSFO (1000 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	Machas amarelas	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	N

N – Nenhuma lesão ou anormalidade visível.

Tabela 41. Avaliações macroscópicas dos ratos fêmeas durante a necropsia da fase de tratamentos repetidos com a Fosfoetanolamina Sintética (USP - São Carlos).

FÊMEAS										
GRUPO	ANIMAL	ADRENAL (PAR)	BAÇO	CÉREBRO	CORAÇÃO	EPIDÍDIMO (PAR)	FÍGADO	RIM (PAR)	TESTÍCULO	TIMO
SALINA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	N
FOSFO (1000 mg/kg)	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	N

N – Nenhuma lesão ou anormalidade visível.