

# Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona

**Bárbara Harzer**

Graduanda concluinte do curso de Biomedicina - Universidade Positivo,  
Curitiba, Paraná – Brasil.

E-mail: barbaraharzer@gmail.com.

**Maria Carolina Stipp**

Graduanda concluinte do curso de Biomedicina - Universidade Positivo,  
Curitiba, Paraná – Brasil.

E-mail: mariacarolinastipp@hotmail.com.

**Tatiana Herrerias**

Farmácia – Universidade Federal do Paraná. Doutora em Bioquímica.  
Professora universitária do curso de Biomedicina, Universidade Positivo,  
Curitiba, Paraná - Brasil.

E-mail: tatianaherrerias@hotmail.com.

**RESUMO**

Os desreguladores endócrinos (DE) são substâncias exógenas capazes de alterar uma ou mais funções do sistema endócrino, podendo provocar efeitos adversos sobre a integridade do organismo intacto, sua descendência e/ou populações (COM, 1999). Os lançamentos de efluentes industriais e esgoto doméstico em corpos d'água são as principais formas de contaminação pelos DEs, já que estes são excretados pela urina e fezes (MOREIRA, 2008). Uma das maiores preocupações com esses micropoluentes, é que os processos convencionais de tratamento de água não os removem totalmente, podendo provocar efeitos adversos no sistema reprodutivo e causar falhas no desenvolvimento de variadas espécies animais (GUIMARÃES, 2008; MACHADO 2010; MOREIRA, 2008). Neste trabalho, os DEs pesquisados são os hormônios sexuais femininos, dentre eles os estrógenos naturais Estriol e Estrona, que por serem muito utilizados para uso médico em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos, podem ser encontrados em abundância no ambiente, pois são excretados continuamente (MOREIRA, 2008). O objetivo deste projeto é avaliar os efeitos desses hormônios, sobre a função hepática dos peixes *Rhamdia quelen* após um tratamento sub-crônico de 30 dias. Para isso, foram avaliadas as atividades das enzimas que avaliam o dano hepático, como a alanina-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST) e a fosfatase alcalina. Cada um dos testes analisou de forma completa o sistema hepático onde, por meio da fosfatase alcalina (ALP), foi avaliada a agressão ao trato biliar, e através das enzimas AST e ALT foram indicados os níveis de lesão celular. Os resultados obtidos demonstraram alterações importantes na função dos peixes tratados quando comparados com o controle, indicando que a exposição desses animais aos hormônios estriol e estrona é capaz de promover danos hepáticos.

*Palavras – chave: Desreguladores endócrinos. Enzimas hepáticas. Estriol. Estrona.*

**ABSTRACT**

Endocrine disrupters (DE) are exogenous substances able to change one or more functions of the endocrine system, causing adverse effects on the integrity of the whole body, its descent and/or populations (COM, 1999). The releases of industrial effluents and domestic sewage in water bodies are the main forms of contamination by DEs, since these are excreted through urine and feces (MAY, 2008). One of the biggest concerns with these organic micropollutants, is that conventional water treatment processes do not remove DE completely, causing adverse effects on the reproductive system

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

and failures in the regular development of various animal species (GUIMARÃES, 2008; MACHADO, 2010; MOREIRA, 2008). The DEs surveyed here are female sex hormones, including estrogens Estrona and Estriol natural, which are widely used for medical purpose in hormone replacement therapies and birth control, and can be found in abundance in the environment because they are excreted continually (MAY, 2008). The goal of this project is to evaluate the effects of these hormones on liver function of *Rhamdia quelen* fish after a sub-crônico treatment of 30 days. For this, we evaluated the activities of the enzymes that evaluate the liver damage, as the alanine-aminotransferase (ALT), aspartate-aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase. Each of the tests analyzed the hepatic system where, by means of alkaline phosphatase (ALP), the aggression to biliary tract was evaluated. Through the enzymes AST and ALT levels of cellular injury were indicated. The results obtained showed important changes in the function of the treated fish when compared with the control, indicating that exposure of these animals to the hormones estriol and estrona is able to promote liver damage.

*Key-words: Endocrine disrupters. Hepatic enzymes. Estriol. Estrona.*

## INTRODUÇÃO

O sistema endócrino é um conjunto de órgãos que têm como principal característica a produção e secreção direta na corrente sanguínea de hormônios, os quais por sua vez vão atuar em outros órgãos, promovendo ou auxiliando no controle da função deste órgão. Apesar de serem capazes de controlar a maioria das funções metabólicas e endócrinas, as concentrações de hormônios necessárias para promover sua ação de regulação e controle são incrivelmente pequenas, podendo variar no sangue de não mais que um picograma. Portanto, a secreção desses hormônios é extremamente pequena e estritamente controlada pelo organismo (HALL et al., 2011).

Por este motivo, a exposição, voluntária ou acidental, a substâncias naturais e/ou sintéticas que simulam a ação fisiológica desses hormônios, pode promover alterações importantes na saúde de seres humanos e animais. Essas substâncias são chamadas de desreguladores endócrinos (BILA, 2007).

Os desreguladores endócrinos são por definição do Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) juntamente com a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), “substâncias ou compostos exógenos que alteram uma ou várias funções do sistema endócrino e geram, conseqüentemente, efeitos adversos sobre a saúde no

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

organismo intacto, sua descendência, ou (sub) populações” (COM, 1999). Conseqüentemente, essas substâncias químicas são de grande interesse científico.

Segundo Damstra et al. 2002, um receptor hormonal apresenta alta sensibilidade e afinidade por determinado hormônio sintetizado pelo organismo. Contudo, os receptores hormonais podem se ligar a outras substâncias químicas, o que justifica o fato dos desreguladores endócrinos, mesmo em baixas concentrações, serem capazes de promover uma resposta similar à natural daquele determinado receptor, ou então bloquear o efeito que normalmente seria produzido pelo receptor (GHISELLI, 2006).

Assim sendo, os desreguladores endócrinos são capazes de originar alterações no sistema endócrino, que pode ocorrer de três mecanismos diferentes: 1) atuando como antagonistas, de forma que reduza a atividade hormonal; 2) atuação como agonistas nos receptores endócrinos, levando a um aumento da atividade hormonal dos hormônios endógenos como o estrógeno e a testosterona; 3) por fim, quando afetam a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção dos hormônios naturais, alterando dessa forma as concentrações dos hormônios naturais no corpo (GHISELLI et al., 2007).

A chegada dos DEs no meio ambiente ocorre por diferentes rotas, sendo que uma importante fonte de contaminação é o lançamento de efluentes industriais e esgoto doméstico, tratado ou *in natura*, em corpos d'água (MOREIRA, 2008). Dentre os DEs encontrados em sistemas aquáticos destacam-se os hormônios sexuais femininos, que são encontrados nas águas de superfícies, as quais são na maior parte das vezes utilizadas como suprimento de água potável. Esses compostos são o objeto de estudo desse trabalho.

Dentre os hormônios sexuais, os estrógenos se destacam por serem compostos extremamente ativos biologicamente e estarem relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres (FILHO et al., 2006).

Os estrógenos naturais 17  $\beta$ -Estradiol ( $E_2$ ), Estriol, Estrona e o sintético 17  $\alpha$  -Etinilestradiol ( $EE_2$ ), desenvolvido para uso médico em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos, são os que

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

despertam maior preocupação, tanto pela potência como pela quantidade contínua introduzida no ambiente (FILHO et al., 2006).

Em geral, esses hormônios, tanto naturais quanto sintéticos, são rapidamente absorvidos pelo organismo, e então metabolizados pelo fígado. A sua excreção ocorre principalmente pela urina, como conjugados solúveis em água, e em menor proporção pelas fezes, demonstrando variações relacionadas com a solubilidade em água, taxa de excreção e catabolismo biológico. Quando em condições ambientais, os conjugados passam rapidamente por um processo de hidrólise, fazendo com que sejam liberados os hormônios livres e seus metabólitos (GHISELLI et al., 2007).

Consequentemente, os estrógenos atingem o meio ambiente diretamente, ou então após passarem por uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), onde os processos utilizados não são eficientes para retirá-los da água. Dessa forma, estão presentes nos ecossistemas, podendo chegar ao manancial de águas superficiais, a seus sedimentos, à matéria em suspensão e aos organismos aquáticos. A partir dessas afirmações é possível concluir que esses estrógenos, naturais ou sintéticos, em especial aqueles que fazem parte do grupo dos contraceptivos orais, podem ser considerados poluentes ambientais (GUIMARÃES, 2008).

Diversas pesquisas já demonstraram que esses hormônios possuem efeitos danosos quando em contato com diferentes espécies animais, sendo capazes de provocar lesões cancerígenas, assim como alterações importantes no sistema reprodutivo das espécies (BROWN et al., 2008; DELCLOS et al., 2009; NASH et al., 2004).

As alterações no metabolismo hepático e em processos celulares no organismo devido aos efeitos de diversos poluentes podem gerar mudanças nos testes do perfil bioquímico, possibilitando o estudo dos mecanismos destas substâncias (BEGUM, 2004; BORGES, 2005; GALEB, 2010).

O fígado é um órgão de fundamental importância nos processos de metabolização de xenobióticos, promovendo a biotransformação dessas

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

substâncias, tendo como consequência a eliminação das mesmas do organismo (RODRIGUES, 2003; SOUZA, 2006 apud MONTANHA et al., 2012). Dentre as diversas funções hepáticas estão incluídas, o metabolismo de carboidratos, de lipídeos e de proteínas, sendo responsável pela desintoxicação e excreção de catabólitos e de outras substâncias, atuando também na síntese de vários fatores de coagulação (GALEB, 2010).

As determinações da atividade de enzimas hepáticas são utilizadas como marcadores de lesão hepática e o aumento da sua atividade sérica pode ser decorrente da ruptura dos hepatócitos, que ocorre como resultado de processos como necrose celular (alanina-aminotransferase - ALT, AST-aspartato aminotransferase e LDH - lactato desidrogenase) ou do processo de agressão por agentes tóxicos (fosfatase alcalina - ALP e gama glutamiltransferase - GGT) (KANEKO, 1989).

A enzima ALT é responsável por catalisar de forma específica a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato, sendo que este último é reduzido à lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD (ALT/GPT, 2013; GALANTE, 2012). Já a enzima AST catalisa especificamente a transferência do grupo amina do ácido aspártico para o cetoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato, o qual seria reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto a coenzima NADH era oxidada à NAD (AST/ GOT, 2013; GALANTE, 2012).

A Fosfatase alcalina promove a hidrólise da timolftaleína monofosfato liberando timolftaleína, que em meio alcalino apresenta a coloração azul (FOSFATASE ALCALINA, 2013).

Os peixes são modelos animais excelentes para estudos de impacto toxicológico e tem sido muito utilizados para este fim. O peixe selecionado para esse estudo foi o *Rhamdia quelen* (Jundiá) que é um peixe teleosteo nativo da América do Sul.

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o papel da exposição crônica dos desreguladores endócrinos estriol e estrona sobre a função hepática de peixes *Rhamdia quelen*.

## MÉTODOS

### Animais

Os organismos utilizados foram peixes da espécie *Rhamdia quelen* (Jundiá), obtidos através de pisciculturas que não possuíam histórico de contaminação ou fontes próximas que pudessem fazê-lo.

Os animais foram aclimatados durante aproximadamente 15 dias em tanques de 100 litros, e então separados para os bioensaios em aquários contendo no máximo 1 exemplar para cada 5 litros de água. A temperatura da água foi mantida em torno de 28-29°C, e a aeração controlada.

### Tratamento

Foram utilizados 15 peixes *Rhamdia quelen* (Jundiá), os quais permaneceram em água contaminada com 50 µg.L<sup>-1</sup> dos hormônios estriol e estrona e foram alimentados com ração específica a cada 48 horas, por um período de 30 dias para avaliação da toxicidade crônica desses compostos. Após esse período os animais foram anestesiados até a morte com benzocaína diluída em etanol a 20%. O procedimento de coleta ocorreu após a morte dos animais, onde foi realizada uma punção caudal com auxílio de seringa sem a utilização de anticoagulante, sendo obtidas, portanto, amostras de soro dos animais.

### Determinação das atividades enzimáticas

Para determinação da atividade das enzimas hepáticas foram utilizadas amostras sanguíneas dos peixes, as quais foram centrifugadas à

2.500 rpm, para obtenção do soro, necessário para as determinações espectrofotométricas. Em todos os testes foram utilizados kits da marca LabTest®.

### **Determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)**

A atividade enzimática foi avaliada através de metodologia colorimétrica, como indicado na bula do kit LabTest. A redução da absorbância em 340 nm, conseqüente à oxidação da coenzima NADH, é monitorada espectrofotometricamente, sendo diretamente proporcional à atividade enzimática.

### **Determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)**

O sistema para a determinação da Aspartato-aminotransferase (AST) utiliza metodologia colorimétrica, como indicado na bula do kit LabTest. A redução da absorbância em 340 nm, conseqüente à oxidação da coenzima NADH, foi monitorada espectrofotometricamente, sendo diretamente proporcional à atividade enzimática.

### **Determinação da atividade enzimática da Fosfatase Alcalina (ALP)**

Para determinar a atividade enzimática da Fosfatase alcalina (ALP) foram utilizados reagentes colorimétricos por método cinético de tempo fixo e medição de ponto final. O produto final da reação foi formado pela coloração azul (produzida pela timolftaleína) misturado com a cor própria do substrato que foi medida em 590 nm.

**DISCUSSÃO E DISCUSSÕES**

Os resultados obtidos a partir das determinações das atividades enzimáticas da ALT, AST e ALP para o grupo de peixes tratados com o hormônio estriol (tabela 1) e com o hormônio estrona (tabela 2), podem ser observados abaixo:

Tabela 1 – Valores obtidos através das dosagens enzimáticas dos peixes *Ramdhia quelen* expostos ao hormônio estriol.

	ALT (U.L <sup>-1</sup> )	ALP (U.L <sup>-1</sup> )
<b>CONTROLE</b>	100,88	28,48
<b>TESTE</b>	336,18	59,42

Tabela 2 – Valores obtidos através das dosagens enzimáticas dos peixes *Ramdhia quelen* expostos ao hormônio estrona.

	AST (U.L <sup>-1</sup> )	ALT (U.L <sup>-1</sup> )	ALP (U.L <sup>-1</sup> )
<b>CONTROLE</b>	43,25	543,26	15,04
<b>TESTE</b>	20,76	642,76	53,17

As transaminases hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são enzimas que possuem um papel chave nas reações de transaminação hepáticas, e podem ser utilizadas como biomarcadores de hepatotoxicidade, possuindo como principal objetivo monitorar danos hepáticos, que por sua vez, podem ocorrer por meio da exposição a agentes potencialmente tóxicos únicos ou em misturas complexas (SILINS et al., 2011).

Enquanto os danos histopatológicos necessitam geralmente de exposições de longo prazo para serem detectados, as análises bioquímicas das atividades enzimáticas das enzimas AST e ALT são mais rapidamente detectadas e indicam tanto um efeito agudo, quanto crônico da exposição aos agentes tóxicos (VUTUKURU et al., 2007), pois suas atividades plasmáticas podem se elevar em doença hepatocelular grave em algumas espécies de peixe (GALEB, 2010; MARTINS, 2004). Estudos recentes com peixes

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

demonstraram que as mudanças nas atividades enzimáticas são provenientes de alterações bioquímicas induzidas por poluentes (HEATH, 1995).

No presente trabalho avaliou-se a atividade enzimática das transaminases hepáticas e da fosfatase alcalina, buscando monitorar os prováveis danos hepáticos nos peixes *Rhamdia quelen*, provocados pelos desreguladores endócrinos.

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima de extravasamento que está livre em grande concentração no citoplasma de hepatócitos. Quando os hepatócitos passam por um processo de alteração importante, como ocorre nos casos de lesão, ou até mesmo necrose da célula, pode ocorrer um aumento da atividade sérica de ALT (MONTANHA et al., 2012). Em caso de lesões agudas, é provável que a atividade sérica de ALT seja proporcional à quantidade de células lesadas. Contudo, a magnitude da atividade de ALT não indica a causa ou o tipo da lesão que acomete os hepatócitos (THRALL et al., 2007).

A atividade de ALT nos peixes tratados com hormônio estriol apresentou uma atividade três vezes superior aos valores encontrados nos organismos utilizados como controle, que eram os peixes que não foram submetidos a contaminação com hormônios (Tabela 1 e Gráfico 1). Nos animais tratados com estrona, foi verificado um aumento de cerca de 20% da atividade sérica de ALT, quando comparado com o controle negativo (Tabela 2 e Gráfico 1).

Em peixes a atividade plasmática de ALT se eleva aproximadamente 12 horas após a lesão hepática, podendo se elevar também durante a fase de recuperação da lesão hepática, quando os hepatócitos estão promovendo regeneração ativa (THRALL et al., 2007).

Vutukuru 2007 observou um significativo aumento das transaminases hepáticas em peixes *Labeo rohita*, expostos ao metal arsênio e chegou a conclusão que essas elevações ocorrem devido a um possível vazamento de

enzimas através das membranas plasmáticas danificadas, refletindo uma situação de dano tecidual. Outro estudo realizado por Yang 2003, em peixes *Cyprinus carpio*, também demonstrou um aumento da atividade de AST, ALT e ALP após a exposição de gálio, que segundo o autor, é decorrente de uma situação de danos teciduais e estresse.

A enzima aspartato aminotransferase (AST) encontra-se presente em maior concentração na mitocôndria de hepatócitos, células musculares esqueléticas e cardíacas de todas as espécies (MONTANHA et al., 2012).

A determinação da atividade enzimática da AST nos peixes tratados com estrona indicou uma redução em 50% na sua atividade quando comparado com o controle (Tabela 2, Gráfico 1). Contudo, não é normal o aparecimento destas enzimas no soro de seres humanos e/ou animais, portanto, níveis reduzidos das mesmas não podem ser tratados como alterações fisiológicas, e sim, como uma determinação dentro da normalidade. Por meio desta observação, as reduções encontradas para o grupo estrona, não representam significado clínico.

É importante observar que não foi possível realizar a determinação da AST nos peixes submetidos à exposição com o estriol, devido à interferência dos níveis de hemoglobina na amostra, pois a técnica utilizada recomendava que o valor máximo de hemoglobina permitido deveria ser de até 45 mg/dL, e a amostra de soro utilizada encontrou-se em 61 mg/dL de hemoglobina. Isso ocorreu como resultado de coletas extremamente difíceis, nas quais os eritrócitos apresentaram um elevado índice de hemólise, dando origem a liberação de uma concentração de hemoglobina no soro superior à permitida. Salienta-se que esse interferente não afetou a dosagem de ALT (máximo 180 mg/dL de hemoglobina).

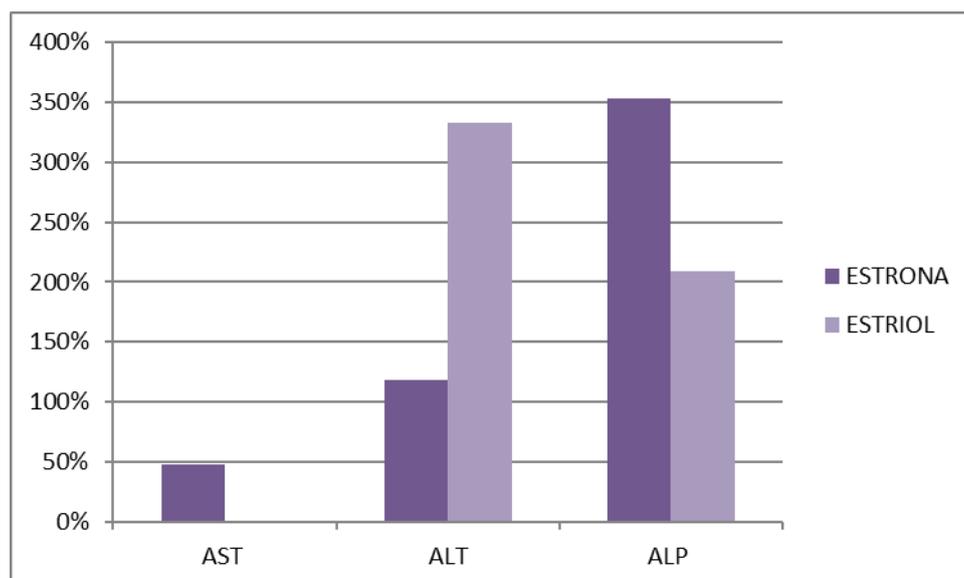
A fosfatase alcalina é uma enzima de indução sintetizada no fígado, nos osteoblastos, nos epitélios intestinal e renal, sendo que grande parte da atividade plasmática encontrada para esta enzima corresponde às formas

hepáticas e ósseas. Entretanto os hepatócitos respondem pela maior parte da atividade sérica normal de ALP (MONTANHA et al. 2012).

Após o tratamento sub-crônico de 30 dias com os hormônios estriol e estrona houve um aumento na atividade enzimática da ALP em cerca de 2 e 3 vezes respectivamente (Tabela 1 e 2; Gráfico 1). O aumento das concentrações séricas de ALP pode estar diretamente relacionado aos casos de maior atividade osteoblástica, colestase, indução por drogas e várias doenças crônicas (THRALL et al., 2007). Neste caso, o aumento observado da atividade enzimática sérica da ALP pode ser relacionado à indução pelos desreguladores endócrinos pesquisados.

No entanto, em alguns casos, pode-se observar uma redução na concentração sérica de ALP, como por exemplo, no estudo realizado por Montanha et al., 2014, em peixes jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos a concentrações de cipermetrina 1,5 e 2,5 mg / L, onde o autor observou uma diminuição da atividade enzimática desta, quando comparado com o grupo controle. Este é um caso similar ao da enzima AST no presente trabalho, e por se tratar de uma redução da atividade enzimática, esses resultados não representam significado clínico.

Gráfico 1 – Porcentagem da atividade enzimática em relação ao controle negativo.



Os hormônios pesquisados são capazes de provocar um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e os mecanismos de defesa antioxidante (JÚNIOR, CRISTÓVÃO & HERRERIAS, 2014) que é conhecido como estresse oxidativo, que por sua vez pode gerar lesões cancerígenas, além de outras doenças (ZHOU et al., 1991).

O metabolismo dos peixes é amplamente oxidativo (BASER et al., 2003; OSTI et al., 2007; POLAT et al., 2002; VIRAN et al., 2003; VELISEK et al., 2007), possibilitando, portanto, a geração de espécies reativas de oxigênio, e tendo como resultado o estresse oxidativo.

Desse modo, é possível sugerir que as alterações observadas nas enzimas hepáticas pesquisadas podem ser o resultado de um aumento no estresse oxidativo no hepatócito, que é um dos mecanismos comprovados para promover danos celulares (BERTOLAMI, 2005). Entretanto, novos estudos são necessários, utilizando-se outros desreguladores e em outras doses para melhor compreensão do papel desses compostos na alteração da função hepática.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos foi possível verificar que a exposição crônica aos hormônios estriol e estrona deu origem a alterações nas dosagens das enzimas hepáticas dos peixes *Rhamdia quelen*, indicando um quadro de lesão no hepatócito. Estes resultados motivam novos experimentos utilizando outros desreguladores endócrinos e em dosagens diferentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALT/GPT Liquiform. Ref.: 108. LabTest® Diagnóstica S.A., 2013. Lagoa Santa – Minas Gerais.

AST/GOT Liquiform. Ref.: 109. LabTest® Diagnóstica S.A., 2013. Lagoa Santa – Minas Gerais.

BASER, S.; ERKOÇ. F.; SELVI, M.; KOÇAK, O. **Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata***. Chemosphere, v. 51, p. 469-474, 2003.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

BEGUM, G. **Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response.** *Aquatic Toxicology*, n. 66, p. 83-92, 2004.

BERTOLAMI, M. C. **Mecanismos de hepatotoxicidade.** Scielo. Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo. *Arq. Bras. Cardiol.* Vol. 85. Suppl.5 São Paulo Oct 2005.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências.** *Quim. Nova*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3, p. 651-667, fev. 2007.

BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses subletais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen*.** Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

BROWN, KIM H; IRVIN R SCHULTZ; JAMES J NAGLER. Reduced embryonic survival in rainbow trout resulting from paternal exposure to the environmental estrogen 17 $\alpha$ -ethynylestradiol during late sexual maturation. **Reproduction.** 2007 November; 134(5): 659–666.

COM.1999 “**Community strategy for endocrine disrupters: a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Communication from the commission to the council and the European parliament.**” Commission of the European Communities, Bruxelas, Belgica, 706., Disponível em <<http://ec.europa.eu/environment/docum/99706sm.htm>> Acesso em: 25 de abril de 2012.

DAMSTRA et al. “**Global Assessment of the State – of – the Science of Endocrine Disrupters.**” World Health Organization – International Programme on Chemical Safety, 180. 2002.

DELGLOS, K. B.; WEIS CONSTANCE C., THOMAS J. BUCCI, GREG OLSON, PAUL MELLICK, NATALYA SADOVOVA, JOHN R. LATENDRESSE, BRETT THORN, AND RETHA R. NEWBOLD. Overlapping but distinct effects of genistein and ethinyl estradiol (EE2) in female Sprague-Dawley rats in multigenerational reproductive and chronic toxicity studies. **Reprod Toxicol.** April; 27(2): 117–132, 2009.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

FILHO, R. W. R.; ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M. **Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos.** Quim. Nova, São Carlos, v. 29, n. 4, p. 817-822, abr. 2006.

FOSFATASE ALCALINA Liquiform. Ref.: 79. LabTest® Diagnóstica S.A., 2013. Lagoa Santa – Minas Gerais. Bula de instruções técnicas.

GALANTE, Fernanda; Marcus Vinicius Ferreira de Araújo. **Fundamentos de bioquímica: para universitários, técnicos e demais profissionais da área de saúde /** São Paulo : Rideel, 2012.

GALEB, L. A. G. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo jundiá (Rhamdia quelen).** Curitiba, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2010.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: Ocorrência da determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP),** 2006, 190 páginas, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2006.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no ambiente.** Quim. Nova, Campinas, v. 30, n. 3. p. 695-706, fev. 2007.

GUIMARÃES, T. S. **Deteção e quantificação dos hormônios sexuais 17  $\beta$ -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em água de abastecimento: estudo de caso da cidade de São Carlos, com vistas ao saneamento ambiental.** 2008. 81f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Faculdade de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

HALL, John E. **Tratado de Fisiologia Médica,** 12<sup>o</sup> Edição, Ed. Elsevier, Rio de Janeiro – RJ, 2011, capítulo 74 – Introdução à Endocrinologia.

HEATH, A.G. **Water Pollution and Fish Physiology.** 2 Ed. Lewis publishers, Boca Raton New York London Tokyo, 1995.

HERRERIAS, T.; OLIVEIRA, B.H.; GOMES, M.A.B.; OLIVEIRA, M.B.M.; CARNIERI, E.G.S.; CADENA, S.M.S.C.; MARTINEZ, G.R.; ROCHA M.E.M. **Eupafolin: Effect on mitochondrial energetic metabolism. Bioorganic & Medicinal Chemistry,** Oxford, v.16, p.854-861, 2008.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. **Avaliação da função hepática de peixes Rhamdia quelen expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade,** v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

JÚNIOR, E.N.; CRISTÓVÃO, R.; HERRERIAS, T. **Avaliação da toxicidade subcrônica dos desreguladores endócrinos**. Relatório final do Programa de Iniciação Científica da Universidade Positivo, 2014.

KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4.ed. San Diego: Academic, 1989. 932p.

MARTINS, L. H. B. **Avaliação do impacto ambiental causado pelo efluente da indústria de polpa de celulose e papel, in situ, utilizando o bioindicador *Oreochromis niloticus* (Tilápia)**. 2004. Dissertação (Programa de Pós – Graduação em Engenharia Ambiental) Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MACHADO, K. S. **Determinação de hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR**. 2010. 116f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C.T. **Efeitos toxicológicos de piretróides (Cipermetrina e Deltametrina) em peixes – Revisão**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária , n. 18, 2012.

MONTANHA, F.P.; FREDIANELLI, A.C.; WAGNER R.; SACCO S.R.; ROCHA D.C.C.; PIMPÃO, C.T. **Efeitos clínicos, bioquímicos e hematológicos em *Rhamdia quelen* expostos à cipermetrina**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Vol. 66 no. 3 Belo Horizonte, 2014.

MOREIRA, D. S. **Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia/espectrometria de massas para avaliação da ocorrência de perturbadores endócrinos em mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte**. 2008. 123f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.

NASH, JON P.; DAVID E. KIME, LEO T. M. VAN DER VEN, PIET W. WESTER, FRANÇOIS BRION, GERD MAACK, PETRA STAHLSCHMIDT-ALLNER, CHARLES R. TYLER Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish. **Environmental Health Perspectives** • v 112 | n 17 | December 2004.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

OSTI, S. C.; VAROLI, F. M. F.; MATUSHIMA, E. R.; BERNARDI, M. M. **Comparative studies of deltamethrin acute toxicity in exotic and Brazilian fish.** Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology, v. 2, n. 2, p.101-106, 2007.

POLAT, H.; ERKOÇ, F. U.; VIRAN, R.; KOÇAK, O. **Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*.** Chemosphere, v. 49, p. 39-44, 2002.

RODRIGUES, L. C. Bioquímica sistema de biotransformação de xenobióticos. Rio de Janeiro, 2003. Adaptado da tese "***Estudo das glutation S-transferases hepáticas solúveis do peixe piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887 (pacu)***" apresentada por Luciana Camacho Rodrigues à Pós-graduação em Biologia do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes/UERJ em fevereiro de 2003 para obtenção do grau de doutor em Ciência.

SILINS, I; HÖGBERG, J. **Combined Toxic Exposures and Human Health: Biomarkers of Exposure and Effect.** Int. J. Environ. Res. Public Health, Switzerland v. 8, 629-647, 2011.

THRALL, M. A; BAKER, D. C; CAMPBELL, T. W; DENICOLA, D; FETTMAN, M. J; LASSEN, E. D; REBAR, A; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária.** São Paulo: Editora Roca, 2007b. Cap.19: Hematologia de Peixes.

VELISEK, J.; JURCIKOV, J.; DOBSIKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; PIACKOVÁ, V.; MÁCHOVÁ, J.; NOVOTNY, L. **Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).** Sciencedirect. Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 23, p. 297-301, 2007.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. R.; POLAT, H.; KOÇAK, O. **Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*).** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 55, p. 82-85, 2003.

VUTUKURU, S.S.; PRABHATH, N.A; RAGHAVENDER, M.; YERRAMILI, A. **Effect of Arsenic and Chromium on the Serum Amino-Transferases Activity in Indian Major Carp, *Labeo rohita*.** Int. J. Environ. Res. Public Health 2007, 4(3), 224-227.

YANG, Jen-Lee; Chen, Hon-Cheng: **Serum Metabolic Enzyme Activities and Hepatocyte Ultrastructure of Common Carp after Gallium Exposure,** Zoological Studies, 2003, Vol. 42 (3), pp. 455-461.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade,** v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.

ZHOU, Y. C.; ZHENG, R. L. **Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants.** *Biochemical Pharmacology*, v. 42, n. 6, pp. 1177-1179, 1991.

---

HARZER, Bárbara; STIPP, Maria Carolina; HERRERIAS, Tatiana. Avaliação da função hepática de peixes *Rhamdia quelen* expostos aos desreguladores endócrinos estriol e estrona. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 82-99, fev. 2015.