

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL**

MARIANA SILVA RABELO COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E HISTOLÓGICA DO FÍGADO, RIM E
PULMÃO DE *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) CAPTURADOS NA BACIA
DO PARAPEBA (MINAS GERAIS)**

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

MARIANA SILVA RABELO COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E HISTOLÓGICA DO FÍGADO, RIM E
PULMÃO DE *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) CAPTURADOS NA BACIA
DO PARAOPEBA (MINAS GERAIS)**

Monografia, apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Viçosa
como requisito para obtenção do título de bacharel
em Ciências Biológicas.

Orientador: Mariana Machado-Neves
Co-orientador: Camilo José Lopez Ramirez

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2025**


MARIANA SILVA RABELO COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E HISTOLÓGICA DO FÍGADO, RIM E
PULMÃO DE *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) CAPTURADOS NA BACIA
DO PARAÓPEBA (MINAS GERAIS)**


Monografia, apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Viçosa
como requisito para obtenção do título de bacharel
em Ciências Biológicas.

APROVADA em 25 de novembro de 2025.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **MARIANA SILVA RABELO COSTA**
Data: 30/11/2025 19:51:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Mariana Silva Rabelo Costa
Autora

Documento assinado digitalmente
 **MARIANA MACHADO NEVES**
Data: 30/11/2025 08:38:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Mariana Machado-Neves
Orientadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, minha força, meu porto seguro e a certeza de que mesmo nos meus dias mais difíceis, havia alguém que acreditava em mim.

Estendo essa gratidão a familiares e amigos que, com apoio, carinho e fé, ajudaram a transformar sonho em conquista.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, pelo esforço, dedicação e por jamais medirem sacrifícios para que eu pudesse estudar.

À Mylene, que esteve ao meu lado em cada etapa deste trabalho, compartilhando desafios, acompanhando de perto todo o processo de escrita e me oferecendo apoio mesmo nos momentos de estresse e ansiedade.

À minha orientadora, Dra. Mariana Machado-Neves, pela oportunidade, pela orientação generosa e pela confiança depositada em mim.

Ao Dr. Camilo Ramirez, pela coorientação sempre paciente e pelos valiosos ensinamentos ao longo desta jornada.

E a todos do LARAT, por me acolherem com carinho e colaboração.

Sem vocês, nada disso teria sido possível.

RESUMO

Phrynops geoffroanus é um quelônio semiaquático amplamente utilizado como bioindicador devido à sua sensibilidade a alterações ambientais e à capacidade de bioacumular contaminantes. Este estudo caracterizou os efeitos da exposição ambiental a metais pesados em indivíduos capturados na Bacia do Rio Paraopeba, em Brumadinho, Minas Gerais, por meio de análises de bioacumulação, estresse oxidativo e histologia de fígado, rim e pulmão. Foram avaliados dezesseis animais adultos, dos quais foram obtidos fragmentos dos três órgãos para determinação de metais por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), análise da atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione S-transferase, quantificação de marcadores de dano oxidativo (malondialdeído e proteínas carboniladas) e avaliação histopatológica em lâminas coradas com hematoxilina e eosina. Detectou-se acúmulo expressivo de alumínio, ferro, cobre, chumbo e manganês nos tecidos, com destaque para as altas concentrações de alumínio e ferro. Os achados bioquímicos demonstraram desequilíbrio redox e aumento de biomoléculas oxidadas, enquanto as análises histológicas evidenciaram infiltrado inflamatório, degeneração celular e outras alterações morfofuncionais compatíveis com exposição crônica a contaminantes. Em conjunto, os resultados indicam que *P. geoffroanus* apresenta respostas fisiológicas e teciduais sensíveis à contaminação ambiental, reforçando seu potencial como bioindicador e destacando a importância do monitoramento ecotoxicológico na Bacia do Rio Paraopeba.

Palavras-chave: bioacumulação; estresse oxidativo; bioindicadores ambientais; histopatologia.

ABSTRACT

Phrynops Geoffroyanus is a semiaquatic turtle widely used as a bioindicator due to its sensitivity to environmental disturbances and its capacity to bioaccumulate contaminants. This study characterized the effects of environmental exposure to heavy metals in individuals captured in the Paraopeba River Basin, in Brumadinho, Minas Gerais, through analyses of metal bioaccumulation, oxidative stress, and histology of the liver, kidney, and lung. Sixteen adult animals were evaluated, from which tissue fragments of the three organs were collected for metal quantification using inductively coupled plasma optical emission spectrometry, analysis of the activities of the enzymes superoxide dismutase, catalase, and glutathione S-transferase, quantification of oxidative damage markers (malondialdehyde and carbonylated proteins), and histopathological assessment of sections stained with hematoxylin and eosin. The results demonstrated substantial accumulation of aluminum, iron, copper, lead, and manganese in the tissues, with particularly high concentrations of aluminum and iron. The biochemical findings revealed redox imbalance and increased levels of oxidized biomolecules, whereas the histological analyses showed inflammatory infiltrates, cellular degeneration, and other morphofunctional alterations consistent with chronic exposure to environmental contaminants. Together, these results indicate that *P. Geoffroyanus* exhibits sensitive physiological and tissue-level responses to metal contamination, reinforcing its potential as an environmental bioindicator and highlighting the importance of continued ecotoxicological monitoring in the Paraopeba River.

Keywords: bioaccumulation; oxidative stress; environmental bioindicators; histopathology.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	9
2.	JUSTIFICATIVA.....	10
3.	OBJETIVOS.....	10
3.1.	Objetivo geral.....	10
3.2.	Objetivos específicos.....	10
4.	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
4.1.	Características biológicas de cágados-de-barbicha (<i>P. geoffroanus</i>) e sua importância como bioindicador ambiental.....	11
4.2.	Morfologia e funções de fígado, pulmões e rins em répteis.....	12
4.3.	Dinâmica ambiental e efeitos biológicos dos metais pesados.....	13
4.4.	Mecanismos bioquímicos e relevância ecotoxicológica do estresse oxidativo.....	14
4.5.	Alterações histopatológicas em répteis expostos a poluentes ambientais..	17
5.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
5.1.	Animais e método de captura.....	17
5.2.	Coleta de amostras.....	18
5.3.	Bioacumulação de metais em fígado, rim e pulmão de <i>P. geoffroanus</i>	19
5.4.	Atividade de enzimas antioxidantes e quantificação de metabólitos oxidativos em fígado, rim e pulmão de <i>P. geoffroanus</i>	20
5.5.	Análise histológica dos tecidos hepático, renal e pulmonar de <i>P. geoffroanus</i>	21
6.	RESULTADOS.....	21
6.1.	Quantificação de elementos químicos em órgãos de <i>P. geoffroanus</i>	21
6.2.	Estresse oxidativo.....	22
6.3.	Caracterização dos tecidos hepático, renal e pulmonar de <i>P. geoffroanus</i> da Bacia do Rio Paraopeba.....	23
6.3.1.	Fígado.....	23
6.3.2.	Pulmão.....	24
6.3.3.	Rim.....	25
7.	DISCUSSÃO.....	27
8.	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

O Cágado-de-Barbicha (*Phrynops geoffroanus*), uma espécie de quelônio amplamente distribuída em rios, lagos e ambientes lânticos da América do Sul, desempenha papel ecológico relevante como consumidor intermediário em cadeias tróficas aquáticas (Abrantes et al., 2021). Sua presença em ambientes urbanos e periurbanos, muitas vezes associados a efluentes domésticos e industriais, confere-lhe potencial como bioindicador da qualidade ambiental, especialmente em relação a contaminantes persistentes (Venâncio et al., 2013). Essa plasticidade ecológica, aliada à sua relativa abundância e hábito alimentar onívoro, favorece a bioacumulação de poluentes, tornando a espécie um modelo interessante para estudos ecotoxicológicos (Ribeiro et al., 2017).

Entre as pressões ambientais que afetam ecossistemas aquáticos, a contaminação por metais pesados se destaca pela persistência, capacidade de bioacumulação e efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações (Edo et al., 2024). Elementos como cádmio, chumbo e mercúrio são comumente detectados em corpos d'água impactados por atividades antrópicas, representando riscos não apenas à biota aquática, mas também à saúde humana por meio da cadeia alimentar (Fajardo et al., 2019). Em *P. geoffroanus*, alguns estudos já registraram bioacumulação significativa de metais em diferentes tecidos, com destaque para fígado e rim, órgãos comumente sobrecarregados pelo metabolismo e excreção de xenobióticos (Piña et al., 2009; Fonseca et al., 2023).

Nesse contexto, o fígado, o rim e o pulmão assumem relevância especial na toxicocinética e na toxicodinâmica dos metais pesados. O fígado atua como centro metabólico e primário na destoxificação, acumulando e biotransformando xenobióticos; o rim é responsável pela excreção e, conseqüentemente, altamente vulnerável a processos de acúmulo e dano oxidativo; e o pulmão, além de essencial nas trocas gasosas, pode atuar como porta de entrada de contaminantes e desempenhar papel adicional na resposta inflamatória sistêmica (Silva, 2011; Costa, 2016).

Diversas metodologias vêm sendo utilizadas para estudar os efeitos dos metais pesados em organismos aquáticos, incluindo quantificação da bioacumulação nos tecidos, avaliação da atividade de enzimas antioxidantes e análises histológicas (Silva et al., 2016). No entanto, há uma lacuna de conhecimento quanto à descrição conjunta e integrada dessas abordagens aplicadas a *P. geoffroanus*. Essa ausência limita a compreensão das relações entre acúmulo de metais, respostas de estresse oxidativo e alterações histológicas em órgãos vitais.

Diante disso, este estudo busca responder à seguinte questão central: quais são as características histológicas e funcionais do fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus* expostos a ambientes contaminados e quais metais pesados estão presentes nesses tecidos? Para tanto, o trabalho propõe avaliar simultaneamente alterações morfológicas, indicadores de estresse oxidativo e o perfil de bioacumulação, contribuindo para consolidar o papel da espécie como bioindicador de qualidade ambiental em ecossistemas aquáticos impactados.

2. JUSTIFICATIVA

A ausência de dados morfofuncionais integrados sobre fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus* evidencia a necessidade de estudos que contribuam para o entendimento da biologia desta espécie. Estabelecer parâmetros de base é fundamental para a avaliação da saúde dos indivíduos e da qualidade ambiental dos habitats onde vivem. Nesse contexto, destaca-se a relevância de pesquisas com répteis como bioindicadores em programas de monitoramento ambiental, uma vez que esses animais apresentam características que os tornam eficientes na detecção de alterações ecológicas. Além disso, as informações geradas possuem grande potencial para subsidiar estratégias de conservação da espécie e para auxiliar na avaliação da qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Descrever os aspectos morfológicos e funcionais dos órgãos fígado, rim e pulmão de *Phrynops geoffroanus* por meio da bioacumulação de metais pesados, de estresse oxidativo e análises histológicas

3.2. Objetivos Específicos

- Realizar a descrição histológica dos tecidos hepático, renal e pulmonar.
- Determinar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) nos três órgãos.
- Avaliar a presença de marcadores de dano oxidativo - malondialdeído (MDA) e carbonila - nos tecidos.
- Detectar e quantificar metais pesados acumulados nos órgãos.

- Integrar os dados obtidos para gerar uma caracterização funcional e estrutural inédita desses órgãos em *P. geoffroanus*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Características biológicas de cágados-de-barbicha (*P. geoffroanus*) e sua importância como bioindicador ambiental

P. geoffroanus é um quelônio endêmico da América do Sul, descrito pela primeira vez por Schweigger em 1812 (Schweigger, 1812). Essa espécie pertence à ordem dos Testudines, à subordem dos Pleurodira e à família dos quelônios. Esses cágados são animais pequenos, podendo as fêmeas adultas atingir até 350 mm e 2,5 kg de massa corporal (Bujes, 2010). A distribuição geográfica de cágados-de-barbicha estende-se desde o sul da Venezuela até o norte da Argentina, podendo ser encontrado na Venezuela e Colômbia até o sul do Brasil (Molina, 1998). Possui um habitat variado, sendo encontrado em diferentes corpos d'água, principalmente em águas rasas de lagos e riachos. No Brasil, é frequentemente registrada em águas poluídas de áreas urbanas (Bujes, 2010). Sua dieta é onívora e sua alimentação é baseada em pequenos peixes, crustáceos e insetos, embora indivíduos possam se adaptar às condições adversas do ambiente, aproveitando recursos alimentares provenientes de esgotos domésticos (Souza, 2004).

No que se refere à ecologia, estudos que avaliaram o comportamento de *P. geoffroanus* indicaram uma maior atividade desses animais durante os meses de setembro e novembro, associada à alta temperatura do ar, enquanto durante as estações chuvosas essa atividade tende a diminuir. O acasalamento ocorre no período da manhã e da tarde e a nidificação ocorre em solos arenosos ou argilosos, com áreas de vegetação arbustiva. Durante as desovas, que parecem acontecer durante as épocas secas, é gerado em média de 10 a 20 ovos, com eclosão durante os meses de dezembro e janeiro, coincidindo com as épocas mais chuvosas (Bujes, 2010; Souza, 1999; Souza, 2001).

Répteis semi aquáticos como *P. geoffroanus* têm sido reconhecidos como relevantes para o monitoramento da contaminação por metais pesados, dada sua posição em diferentes níveis da cadeia alimentar de ambientes aquáticos e terrestres (Burger et al., 2009; Adel et al., 2015; Moll D.; Moll E., 2004). Além disso, a presença frequente em ambientes poluídos favorece a exposição a contaminantes derivados de resíduos descartados nos corpos d'água. Esses metais pesados podem ser ingeridos ou inalados (Lillywhite, 2006; Wings, 2007),

acumulando-se em órgãos e tecidos e ocasionando danos metabólicos através do estresse oxidativo, causado pelo desbalanço entre espécies reativas de oxigênio e moléculas antioxidantes, o que resulta em danos às células estruturais do organismo (Cortes-Gomez et al., 2018; French et al., 2017; Machado et al., 2009).

4.2. Morfologia e funções de fígado, pulmões e rins em répteis

Fígado, pulmões e rins atuam em processos de absorção, biotransformação e excreção de substâncias exógenas que entram em contato com o organismo de répteis, sendo, portanto, fundamentais na avaliação dos efeitos de contaminantes ambientais. Por exemplo, o fígado é um órgão de grande relevância no organismo, desempenhando múltiplas funções metabólicas complexas, como absorção, síntese e armazenamento de substâncias provenientes do intestino, exceto lipídios (Machado Júnior et al., 2005). O fígado de répteis possui células semelhantes às dos outros vertebrados, exceto pelos melanomacrófagos, que são macrófagos portadores de melanina que possuem função antioxidante e são responsáveis pela destruição, detoxificação e reciclagem de materiais endógenos e exógenos. Sua presença, portanto, torna o fígado um dos órgãos mais adequados para a avaliação dos efeitos da exposição a poluentes (Barbosa, 2019; Ferreira, 2020; Moura, 2009)

Já os pulmões têm como função primordial a realização de trocas gasosas. A principal diferença entre os pulmões de répteis e os de mamíferos está na ausência de árvores brônquicas e alvéolos. Em répteis, as trocas gasosas são realizadas por estruturas chamadas *ediculi* e *faveoli* (Bennet, 2011; Stuart, 2017). Nos quelônios, os pulmões estão dorsalmente ligados à carapaça, o que afeta diretamente o processo respiratório desses animais, impossibilitando a respiração através dos movimentos da caixa torácica. Portanto, esses animais precisaram se adaptar aos mecanismos de inalação e exalação para uma estrutura rígida, utilizando principalmente os músculos hipaxiais associados aos membros. (Stuart, 2017)

Os rins são responsáveis pela excreção de metabólitos através da urina. Nos répteis, esses órgãos são especializados em sintetizar e excretar ácido úrico, além de reabsorver a água liberada durante a formação do precipitado. Do ponto de vista metabólico, os rins variam entre os diferentes grupos de répteis. Nos Testudines, os rins são achatados, lobulados e simétricos, localizados na porção caudal do celoma. Assim como nos mamíferos, os rins conectam-se à bexiga urinária através dos ureteres, e esta, por sua vez, comunica-se com a cloaca através da uretra (Faria, 2003).

4.3. Dinâmica ambiental e efeitos biológicos dos metais pesados

A bioacumulação refere-se ao processo de concentração de um determinado agente químico em um organismo vivo ao longo do tempo. Esse fenômeno ocorre quando a taxa de absorção e armazenamento da substância é maior do que sua biotransformação e excreção pelo organismo. Trata-se de um processo natural, essencial para a obtenção de micronutrientes necessários à nutrição e ao crescimento dos seres vivos. No entanto, quando a taxa de acúmulo supera a de eliminação, a bioacumulação pode tornar-se prejudicial, ocasionando efeitos tóxicos aos organismos expostos (Bernardi et al., 2008 apud Silva, 2011). A bioacumulação é caracterizada por atingir um mesmo indivíduo ao longo do tempo, quando a acumulação passa ao longo da cadeia trófica, o processo é chamado de biomagnificação (Ferreira, 2025).

Os elementos químicos ocorrem naturalmente no meio ambiente e têm origem nas rochas presentes na superfície terrestre, sendo continuamente liberados por processos de intemperismo e erosão. Muitos desses elementos são essenciais à saúde dos seres vivos, desempenhando diferentes funções biológicas nos organismos. Entretanto, o desbalanço nas concentrações pode causar efeitos adversos, resultando em deficiências ou toxicidade (Silva et al, 2006).

Aproximadamente 25 elementos são considerados essenciais para a manutenção da vida (Silva et al, 2006), entre os quais destacam-se o cobre (Cu), ferro (Fe) e cobalto (Co). Esses elementos são classificados em macronutrientes, quando representam mais de 0,1% da massa corporal, e micronutrientes, quando estão presentes em concentrações inferiores a 0,1% (Silva et al, 2006). Contudo, mesmo os elementos essenciais podem causar intoxicação quando presentes em concentrações elevadas.

Além disso, alguns elementos considerados não essenciais, como arsênio (As), cromo (Cr), níquel (Ni), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), não possuem função biológica conhecida e são potencialmente tóxicos para os organismos. Apesar disso, podem ser incorporados ao organismo por meio da alimentação e da água, acumulando-se nos tecidos de acordo com sua afinidade química por determinados compartimentos biológicos (Silva et al, 2006). Do ponto de vista ambiental, esses metais tóxicos podem ser denominados metais pesados, definidos como elementos metálicos que, a depender da concentração e do tempo de exposição, apresentam potencial tóxico e podem causar danos à saúde dos organismos vivos (Von Sperling, 2014).

A depender de fatores como o pH, a temperatura, a composição do solo e as características químicas do composto, os metais podem ser dissolvidos mais lentamente, o que favorece sua persistência no meio ambiente (Silva et al., 2006). Essa persistência está diretamente relacionada à capacidade desses elementos de se acumularem nos tecidos biológicos, que pode resultar em efeitos tóxicos aos organismos (Silva et al., 2006; Von Sperling, 2014 apud Sousa, 2020). Isso ocorre porque substâncias potencialmente tóxicas precisam estar em sua forma química biodisponível para exercer algum tipo de efeito nocivo à saúde (Silva et al., 2006). Como exemplo, pode-se citar metais com Pb e Cd, que apresentam maior biodisponibilidade em condições ácidas e tornam-se menos biodisponíveis com o aumento do pH (Silva et al., 2006).

Embora também possa ter origem a partir de fontes naturais, a contaminação por metais pesados ocorre, sobretudo, em decorrência de atividades industriais, uso de produtos químicos nas atividades agrícolas e pelos processos de extração, fundição e concentração de minerais, (Stark et al., 2022). Os elementos químicos participam de ciclos bioquímicos e geoquímicos, porém, a ação antrópica constitui o principal fator responsável pela sua entrada no meio ambiente. Entre os principais metais pesados encontrados no solo destacam-se o Cd, Cr, Cu, Fe, manganês (Mn), Ni, Pb. Esses elementos podem persistir no solo por milhares de anos, atingindo concentrações acima dos limites permissíveis, o que lhes confere potencial tóxico, mutagênico e carcinogênico.

A exposição a esses contaminantes provoca diversas alterações fisiológicas em répteis e organismos aquáticos, associados principalmente aos danos oxidativos em moléculas de lipídios, ácidos nucleicos e proteínas. Esse processo resulta em diversas disfunções metabólicas e lesão celular, significativas transformações em órgãos, supressão do sistema imunológico e maior susceptibilidade a doenças (Stark et al., 2022).

4.4. Mecanismos bioquímicos e relevância ecotoxicológica do estresse oxidativo

Durante os processos metabólicos dos organismos, ocorre a produção fisiológica e contínua de radicais livres, responsáveis por mediar a transferência de elétrons em diversas reações químicas. Esses radicais podem ser gerados em diferentes compartimentos celulares, incluindo as membranas, citoplasma e, principalmente, nas mitocôndrias durante a cadeia transportadora de elétrons. Na mitocôndria, a citocromo oxidase, responsável por catalisar a reação de redução tetravalente do O₂ em água, também atua no controle da produção excessiva de radicais livres. Entretanto, cerca de 2% a 5% do oxigênio metabolizado são desviados para

outras vias metabólicas, reduzidos de forma univalente e resultando na formação de radicais livres. Entre as principais espécies reativas de oxigênio (EROs) formadas neste processo estão o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a hidroxila (OH^{\bullet}), através de reações específicas catalisadas por íons de ferro e de cobre. Outras incluem a peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas celulares e a ação das enzimas NADPH oxidases, uma proteína transmembrana responsável pela geração de (O_2^{\bullet}). Além disso, os radicais livres podem ser gerados em situações não fisiológicas, através da exposição da célula a xenobióticos (Ferreira; Matsubara, 1997).

O aumento da produção de radicais livres ativa o sistema de defesa antioxidante, cuja função é inibir ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres. O desequilíbrio causado entre compostos oxidantes e antioxidantes, favorecendo o primeiro, caracteriza o estresse oxidativo, responsável por ocasionar a oxidação de biomoléculas, perda de função e desequilíbrio homeostático. Esse processo está associado ao envelhecimento, mutações, morte celular e ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas como aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer. (Barbosa et al, 2010).

O sistema de defesa antioxidante age através de mecanismos que impedem a formação ou a ação dos radicais livres, bem como favorecem o reparo das estruturas biológicas danificadas. Esse sistema é dividido em mecanismos não enzimáticos, constituídos por uma grande variedade de substâncias antioxidantes, e os mecanismos enzimáticos, que incluem as enzimas SOD, CAT e glutathione peroxidase (GPx) e GST (Hellou et al., 2011). A SOD catalisa a dismutação do ânion superóxido em H_2O_2 e O_2 , sendo encontrada na forma de Cu/Zn-SOD (citoplasmática) e Mn-SOD (mitocondrial). As enzimas CAT e GPx atuam na remoção do H_2O_2 , evitando sua conversão ao radical hidroxila, considerado a espécie mais reativa. A catalase é encontrada principalmente no fígado, rim, medula óssea, sangue e mucosas (Ferreira; Matsubara, 1997; Barbosa et al., 2010). Já a GST é uma enzima de desintoxicação e desempenha um papel essencial na defesa celular ao catalisar a conjugação do GSH com os xenobióticos, tornando-os menos tóxicos e facilitando sua exportação da célula (Hellou et al., 2011; Mazari et al., 2013).

A oxidação de biomoléculas gera marcadores do estado de estresse oxidativo. Muitos desses biomarcadores se dão, sobretudo, pela oxidação de lipídios e proteínas. O MDA é um aldeído formado no processo de peroxidação de lipídios (LPO), cuja quantificação pode ser

realizada por meio do ensaio TBARS) (Barbosa et al., 2010; Halliwell, 2009; Mayne, 2003). Quanto ao dano proteico, as carbonilas são os biomarcadores mais utilizados, formadas através dos processos de glicação de proteínas, pela ligação de proteínas com aldeídos ou como resultado da ação das espécies reativas sobre as cadeias laterais dos aminoácidos (Barbosa et al., 2010; Halliwell, 2009). Esses compostos podem ser facilmente medidos por espectrofotometria ou por técnicas de ELISA. (Halliwell, 2009).

A LPO pode ser caracterizada pelo processo resultante da ação das EROs sobre os das membranas celulares, desencadeando uma sequência de reações que podem resultar na perda da integridade e seletividade de membrana, comprometendo a matriz celular, danos ao DNA e morte celular. O processo de LPO pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação. A fase de iniciação é caracterizada pelo processo de peroxidação, no qual uma EROs remove um átomo de hidrogênio de um ácido graxo poliinsaturado, formando um radical carbono. Esse radical, por sua vez, reage com o oxigênio molecular, formando um radical peroxil, que tem a capacidade de atacar outros lipídios, dando início à etapa de propagação. Nesse processo, ocorre uma reação em cadeia devido a formação contínua de novos radicais, que continuam a atacar as membranas celulares. A etapa de terminação ocorre com a neutralização desses radicais livres, através do sistema de defesa antioxidante ou quando ocorrem reações de dismutação ou clivagem, resultando na formação de produtos estáveis como o MDA (Lima; Abdalla, 2001).

Como citado anteriormente, EROs podem interagir com proteínas por diversos mecanismos. A peroxidação de proteínas também ocorre através de radicais de carbono, os quais originam os radicais peroxila, que, ao receber elétrons, são convertidos em hidroperóxidos. Esses hidroperóxidos podem sofrer reações subsequentes, gerando novas EROs e produtos secundários (como as carbonilas) (Davies, 2016). A oxidação de proteínas pode comprometer processos celulares essenciais, como mecanismos de transdução de sinal, atividade enzimática, estabilidade ao calor e suscetibilidade à proteólise (Zhang et al., 2013 Apud Chaves; Franco, 2022).

A análise do estresse oxidativo por meio de biomarcadores tem se consolidado como uma ferramenta relevante para a avaliação ambiental. O uso de organismos bioindicadores permite identificar as alterações provocadas por compostos xenobióticos no organismo, e inferir os potenciais impactos no ecossistema. A mensuração da atividade de enzimas antioxidantes em animais bioindicadores funciona como um alerta para a presença de poluentes, bem como

compostos tóxicos e metais pesados, contribuindo para estratégias de controle e conservação ambiental. (Cogo; Siqueira et al., 2009).

4.5. Alterações histopatológicas em répteis expostos a poluentes ambientais

A exposição a metais pesados pode desencadear alterações histológicas significativas em diferentes órgãos de vertebrados. Essas alterações refletem mecanismos de defesa e respostas adaptativas frente ao estresse oxidativo e à toxicidade induzida por contaminantes ambientais. Um estudo responsável por investigar os efeitos dos metais chumbo e cádmio em lagartos expostos a pesticidas relatou efeitos significativos na histologia do fígado e do rim desses répteis. Foram observadas alterações na arquitetura hepática, que incluíram hepatócitos retraídos, citoplasma vacuolizado, aumento no número e tamanho dos melanomacrófagos e áreas de fibrose. Tais alterações podem estar relacionadas a um mecanismo de defesa contra contaminantes lipossolúveis (Barbosa, 2019).

Pesquisas envolvendo a histologia renal e pulmonar de répteis no contexto da ecotoxicologia ainda são escassas. Entretanto, Medina et al. (2016) exploraram as alterações histopatológicas no rim e fígado de anfíbios intoxicados por cádmio, relatando infiltrado inflamatório misto com predominância de leucócitos polimorfonucleares e congestão glomerular, além de lesões nos túbulos proximais, como necrose e presença de cilindros proteicos. Esses achados sugerem uma resposta a agentes estressores como poluentes químicos, visto que o aumento do número de leucócitos ocorre como uma resposta ao estresse celular. No fígado, foram descritas alterações funcionais e citológicas nos hepatócitos e nas células de Kupffer, as quais aumentaram de número e tamanho em resposta à presença de metais pesados. (Medina et al, 2016). De forma semelhante, Al-Johany; Haffor (2009) ao analisarem os efeitos da exposição a cádmio em pulmões de *Uromastix aegyptius*, identificaram descamação de pneumócito do tipo II, espessamento da parede do septo alveolar devido à proliferação de células endoteliais dos capilares pulmonares, além de um aumento significativo em leucócitos, linfócitos, neutrófilos e monócitos. Esse quadro sugere uma atividade quimiotática que aumentou a transmigração de células da microcirculação pulmonar para o tecido inflamado (Al-Johany; Haffor, 2009).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Animal e método de captura

Foram utilizados 16 *P. geoffroanus* capturados em dois pontos amostrais ao longo da Bacia do Paraopeba, considerados locais não afetados pelo derramamento do rejeito oriundo da barragem de Brumadinho. As capturas ocorreram nos anos de 2023 e 2024. Foram coletados somente animais considerados adultos, com comprimento retilíneo máximo de carapaça igual ou superior a 21 cm (Souza & Abe, 2001). O primeiro ponto amostrado pode ser caracterizado como a) Trecho a montante da confluência do rio Paraopeba com o ribeirão Ferro-Carvão, à montante da Pequena Central Hidrelétrica (PCH) Salto Paraopeba (município de Jeceaba), próximo ao remanso formado pela PCH e com acesso através de um areal, bem como no município de Brumadinho. É um trecho de agricultura e pastagens, numa área com presença de draga de areia, forte fluxo de água, margens altas em alguns locais com paredões de pedra ou com vegetação parcialmente degradada. O segundo ponto é um trecho a jusante da confluência do rio Paraopeba com o ribeirão Ferro-Carvão, no município de Felixlândia, sendo uma área que faz parte do remanso formado pela represa de Três Marias. Nela o rio é bastante largo, apresentando baixa turbidez e fluxo de água, com leito do rio profundo, margens bastante baixas e com vegetação aquática próximo a margem. Este ponto não foi afetado pelo derramamento de rejeito de Brumadinho.

Para a coleta de *P. geoffroanus* foram utilizadas até 60 armadilhas do tipo covó (40 cm x 80 cm). As armadilhas foram instaladas com uma distância mínima de 30 m entre si, em pontos previamente selecionados com base em características ambientais favoráveis à ocorrência da espécie, como locais com baixa correnteza (poções, remansos ou pequenas praias) e nas proximidades de troncos, pedras e galhadas emersas. Os covos foram dispostos no período da tarde e inspecionados na manhã seguinte. As armadilhas foram iscadas com sardinha em conserva de óleo ou com uma combinação de sardinha com fígado de galinha e ração de gato, colocadas em tubos tipo Falcon (50 ml) perfurados. Para que o covó não ficasse totalmente submerso, uma garrafa PET foi utilizada como boia, evitando o afogamento dos animais capturados. Após a biometria e identificação, os indivíduos foram transportados em sacos de contenção, dentro em caixas de transporte adequadas, que garantiram ventilação e umidade adequadas. Os animais foram levados ao laboratório da Amplo, onde foram eutanasiados e dissecados para a coleta dos órgãos.

5.2. Coleta de amostras

Os cágados foram previamente sedados com anestésico inalatório (isoflurano) e, quando necessário, foram administrados anestésicos injetáveis (xilazina, 1–1,25 mg/kg, e cetamina, 60–

90 mg/kg). Em seguida, os animais foram eutanasiados com sobredose de anestésico geral (propofol, acima de 20 mg/kg), seguida de metodologia complementar de eutanásia (perfuração e injeção intracraniana de lidocaína líquida). As práticas de uso e eutanásia dos animais seguiram as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2018). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV (CEUA número de protocolo 63/2019).

Para as análises propostas neste estudo, os órgãos fígado, rim e pulmão foram removidos e fragmentados. Parte dos fragmentos foi fixada para análises histológicas, enquanto a outra parte foi acondicionada em criotubos e congelada em nitrogênio líquido para as demais análises. Os fragmentos foram coletados de modo a atingir o mínimo de 300 mg de cada órgão, quantidade necessária para a realização de todos os ensaios. Os potes e o botijão de nitrogênio contendo os criotubos foram posteriormente enviados aos Laboratórios de Biologia Estrutural da UFV.

5.3. Bioacumulação de metais em fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus*

Fragmentos congelados dos órgãos foram descongelados, identificados e dispostos em placas de Petri para secagem em estufa (55–60 °C) até atingirem massa seca constante, sendo então quantificados em balança analítica de precisão. Após a completa secagem, aproximadamente 100 mg de cada amostra foram pesados e armazenados em dessecador até o momento da digestão em solução de ácido nítrico e ácido perclórico (2:1 v/v), realizada até a dissolução completa da matéria orgânica. A digestão foi conduzida em Bloco Digestor com Rampas e Patamares (modelo TE-041/25, TECNAL®). Durante o processo, as temperaturas variaram de 60 °C a 180 °C, com tempos de rampa e patamar entre 15 e 90 minutos. Após a digestão, foi realizada uma filtração simples da suspensão resultante, e o filtrado foi diluído com água destilada em balão volumétrico de 10 mL e armazenado em tubos tipo Falcon. O material foi então congelado até o momento da análise no Laboratório de Espectrometria do Departamento de Solos da UFV, para determinação do conteúdo de elementos traço por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). Os elementos analisados foram Al, As, Pb, Cu, Fe, Cd, Cr, Co, Ni e Mn. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seca (ppm). Os limites de quantificação do equipamento foram: Al = 0,0411 mg L⁻¹; As = 0,0694 mg L⁻¹; Pb = 0,0194 mg L⁻¹; Cu = 0,0064 mg L⁻¹; Fe = 0,0218 mg L⁻¹; Cd = 0,0070 mg L⁻¹; Cr = 0,0044 mg L⁻¹; Co = 0,0066 mg L⁻¹; Ni = 0,0105 mg L⁻¹; e Mn = 0,0077 mg L⁻¹. A seleção desses elementos baseou-se na relevância de diversos metais

como agentes tóxicos à saúde pública e à homeostase corporal (Liu et al., 2008; Flora et al., 2011; Wu et al., 2016), além de estudos que investigaram amostras provenientes de áreas impactadas por derramamento de rejeitos (Segura et al., 2016; Quadra et al., 2018; Thompson et al., 2020; Vergilio et al., 2020).

5.4. Atividade de enzimas antioxidantes e quantificação de metabólitos oxidativos em fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus*

As amostras de órgãos foram descongeladas, cortadas e pesadas em fragmentos de aproximadamente 100 mg de tecido, utilizando uma balança analítica de precisão. Os fragmentos foram homogeneizados em 1 mL de tampão fosfato 0,1 M, com o auxílio de um homogeneizador mecânico mantido em banho de gelo, a fim de se obter um homogenato de cada tecido. Em seguida, os homogenatos foram centrifugados a $10.000 \times g$, durante 10 minutos, a 4 °C. Os sobrenadantes foram transferidos para microtubos novos, enquanto os pellets foram armazenados separadamente em freezer até o momento das análises. Os sobrenadantes foram utilizados para a realização dos ensaios de atividade das enzimas antioxidantes CAT, SOD e glutathione S-transferase (GST), bem como do marcador de peroxidação lipídica (MDA). Os pellets foram utilizados para a quantificação da concentração de proteínas carboniladas (PC).

A atividade da enzima CAT foi determinada conforme Hadwan & Abed (2016), com pequenas modificações propostas por Carvalho et al. (2022). A atividade da SOD foi mensurada com base na capacidade desta enzima de catalisar a dismutação do radical superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água, reduzindo a taxa de auto-oxidação do pirogalol (Marklund & Marklund, 1974). A determinação da atividade da GST foi realizada pela formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno, estimada pela variação da absorbância a 340 nm durante 90 segundos (Habig et al., 1974). Já a concentração de MDA foi determinada de acordo com o protocolo descrito por Buege & Aust (1978), baseado na reação com ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Ramirez-Lopez et al., 2023). A oxidação de proteínas foi avaliada por meio da quantificação de proteínas carboniladas, utilizando o ensaio bioquímico com dinitrofenilhidrazina (DNPH), conforme Levine et al. (1990). A concentração total de proteínas foi determinada pelo método de Bradford, utilizado para normalizar a atividade enzimática por miligrama de proteína do homogenato (Guimarães-Ervilha et al., 2023).

5.5. Análise histológica dos tecidos hepático, renal e pulmonar de *P. geoffroanus*

As amostras fixadas dos órgãos foram processadas para inclusão em parafina. Para esse processamento, os fragmentos foram desidratados em série alcoólica crescente (70%, 80%, 90%, 95% e absoluto), com três banhos de 1 hora em cada concentração e emblocadas em álcool absoluto. Em seguida, as amostras foram diafanizadas em xilol, realizando-se três passagens de 1 hora em cada banho, e posteriormente embebidas em parafina, também em três banhos de 1 hora cada.

Após a inclusão, os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo (Leica RM2155) para obtenção de cortes semi-seriados de 5 µm de espessura, utilizando-se navalhas de aço e selecionando-se um corte a cada dez realizados. As lâminas contendo as secções histológicas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE), montadas entre lâmina e lamínula com resina sintética (Entellan®) e analisadas qualitativamente em microscópio óptico.

A avaliação histológica foi realizada de forma randomizada, avaliando-se múltiplos campos por lâmina e, no mínimo, três secções de cada órgão por animal. Posteriormente, os cortes histológicos foram fotografados em fotomicroscópio acoplado a um sistema de captura de imagem, e as melhores imagens foram selecionadas para a confecção das pranchas ilustrativas dos resultados histológicos (Souza et al., 2023).

A análise quantitativa das patologias em órgãos foi avaliada com base na frequência de ocorrência das lesões (%) entre os animais amostrados.

6. RESULTADOS

6.1. Quantificação de elementos químicos em órgãos de *P. geoffroanus*

A quantificação dos elementos químicos por ICP-OES evidenciou a presença de 8 dos 10 metais avaliados, não sendo detectado arsênio e níquel em nenhum órgão. Co, por sua vez, foi detectado somente em rim (Tabela 1) de animais desta espécie. Especificamente, o fígado de *P. geoffroanus* apresentou maiores concentrações de Fe e Al, seguido de Cu, Mn e Pb. O elemento Cr apresentou a mais baixa concentração no tecido hepático em relação aos demais elementos químicos (Tabela 1). No pulmão e rim, as concentrações de Fe e Al também foram as mais altas dentro dos elementos mensurados em cada órgão. No entanto, o pulmão apresentou concentrações maiores de Cu, seguidas de Mn Pb e Cr, enquanto o rim apresentou concentrações maiores de Mn, seguida de Cu, Pb, Co e Cr (Tabela 1). O elemento Cd foi detectado somente em amostras de rim (Tabela 10).

Tabela 1: Quantificação de 10 elementos químicos (ppm) em órgãos (fígado, pulmão e rim) de *P. geoffroanus* (n = 16) capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais).

Elementos químicos	Órgãos		
	Fígado	Pulmão	Rim
Alumínio (Al)	157.18 ± 84.73	131.33 ± 72.73	146.43 ± 51.47
Arsênio (Ar)	0	0	0
Chumbo (Pb)	3.78 ± 5.41	1.01 ± 2.77	3.62 ± 5.79
Cobre (Cu)	18.2 ± 10.46	2.59 ± 0.71	6.64 ± 1.66
Ferro (Fe)	2743.13 ± 1905.37	236.83 ± 84.97	222.65 ± 377.64
Cádmio (Cd)	0	0	0.88 ± 0.81
Cromo (Cr)	0.69 ± 1.37	0.41 ± 0.77	1.23 ± 1.32
Cobalto (Co)	0	0	2.44 ± 3.08
Níquel (Ni)	0	0	0
Manganês (Mn)	5.39 ± 1.78	1.87 ± 1.2	6.84 ± 2.88

6.2 Estresse Oxidativo

A análise da atividade das enzimas antioxidantes mostrou que GST teve alta atividade em tecido hepático, seguido de SOD e CAT (Tabela 2). Em pulmão, a CAT apresentou alta atividade, seguida de GST e SOD, enquanto o tecido renal apresentou alta atividade de GST, seguida de CAT e SOD (Tabela 2). Nos três órgãos, a concentração de PC foi alta, seguida da concentração de MDA (Tabela 2).

Tabela 2: Atividade de enzimas antioxidantes e concentração de marcadores oxidativos relacionados ao estresse oxidativo em fígado, pulmão e rim de *P. geoffroanus* (n = 16) capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais).

Enzimas	Órgãos		
	Fígado	Pulmão	Rim
Superóxido dismutase (U sod / mg ptn)	34.48 ± 65.81	0.62 ± 1.36	4.18 ± 3.32
Catalase (U cat / mg ptn)	23.50 ± 13.91	47.88 ± 28.03	20.04 ± 11.42
Glutathiona S-transferase (U GST / mg ptn)	190.96 ± 133.67	23.81 ± 26.52	83.45 ± 189.83
malondialdeído (nmol / ml)	0.50 ± 0.68	0.16 ± 0.31	0.03 ± 0.02
Proteína carbonilada (nmol / ml)	14.89 ± 13.41	3.71 ± 3.26	9.88 ± 8.02

6.3. Caracterização dos tecidos hepático, renal e pulmonar de *P. geoffroanus* da Bacia do Rio Paraopeba

6.3.1. Fígado

O fígado de *P. geoffroanus* apresentou hepatócitos organizados em grupo, em formato cilíndrico em tamanhos variados, cercados por capilares sinusóides. Os mesmos apresentaram um núcleo por célula, localizados em sua posição basal média. O citoplasma se mostrou altamente vacuolizado e pouco eosinofílico quando observado pela técnica de coloração HE. No parênquima hepático, foram encontradas grandes quantidades de melanomacrófagos, que foram visualizadas de forma aleatória, como áreas de pigmentação marrom (fig. 1A). O fígado de todos os 16 animais analisados apresentou essas células (Tabela 3). Ainda nesse órgão, entre os 16 indivíduos avaliados, foram registradas como alterações a presença de infiltrado inflamatório, degeneração celular, presença de parasitas, necrose e colestase (Tabela 3; Fig. 1B e C).

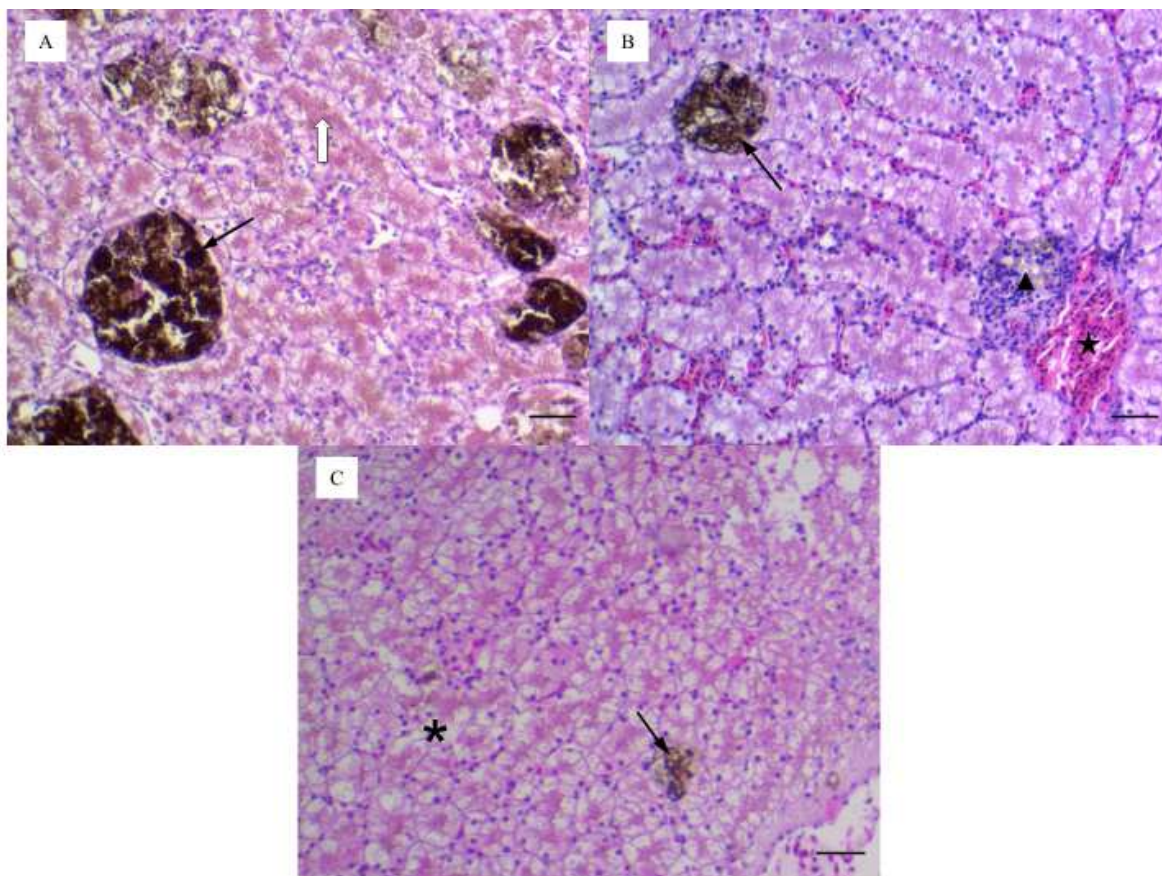


Figura 1: Alterações histológicas no fígado de *P. Geoffroyanus* capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais). Seta preenchida: melanomacrófagos; seta vazada: colestase; estrela: congestão; triângulo: infiltrado inflamatório; * degeneração celular. Barra de 20µm. (n = 16 animais)

6.3.2 Pulmão

A histologia do pulmão revelou brônquios intrapulmonares revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado com células mucossecretoras, sustentado por um tecido conjuntivo rico em vasos sanguíneos, com a presença de tecido muscular liso e fragmentos de cartilagem hialina abaixo da lâmina própria. À medida que o brônquio se ramificava, sua parede se tornava mais simples, com o desaparecimento da peça de cartilagem e o epitélio de revestimento mais baixo. As células passaram de simples para cúbica, com sustentação do tecido conjuntivo entremeado por tecido muscular liso, dando origem a trabécula primária. A superfície luminal das trabéculas secundárias se mostrou revestida por epitélio simples, já a superfície luminal das trabéculas terciárias, por epitélios pavimentoso simples. Em ambas, foi observado células em íntima associação com vasos sanguíneos. Nessa região foram encontrados pneumócitos do tipo I e II, o que sugere ser o local de ocorrência das trocas gasosas. A face interna da parede do pulmão revelou projeções sustentadas por tecido muscular liso, imerso em uma matriz de tecido conjuntivo que formam septos de diferentes tamanhos que se projetam

para o interior dos pulmões. No pulmão, as análises revelaram a ocorrência de infiltrado inflamatório, sendo esta a alteração mais frequente (Tabela 3; Fig. 2A e C). Foram observadas também degeneração celular (Tabela 3), enquanto as demais alterações histopatológicas, como edema, ectasia, congestão (Fig. 2B) e presença de parasitas, foram identificadas apenas uma vez cada (Tabela 3).

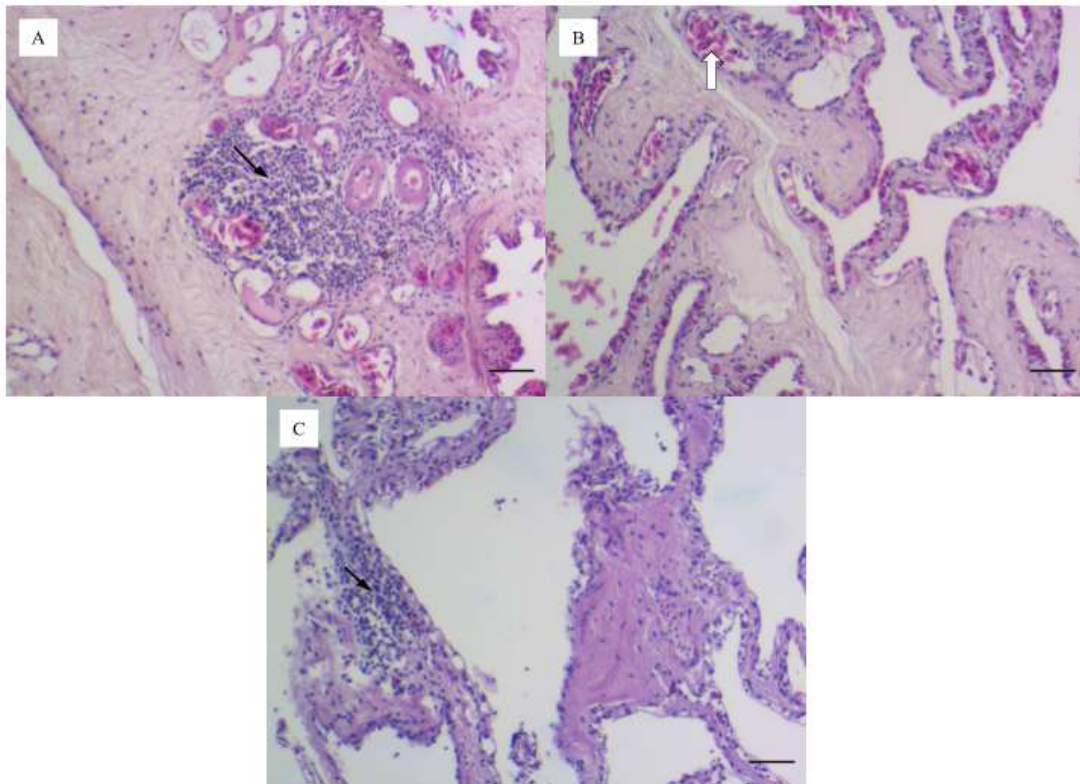


Figura 2: Alterações histológicas no pulmão de *P. geoffroanus* capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais). Seta preenchida: infiltrado inflamatório; seta vazada: congestão. Barra de 20 μ m. (n = 16 animais)

6.3.3 Rim

Os rins apresentaram lóbulos contendo glomérulos compactos circundados por uma cápsula de Bowman. Os espaços de Bowman mostraram-se revestidos por epitélio parietal atenuado e contínuo, com o segmento do colo estreito caracterizado por células epiteliais com citoplasma reduzido e núcleos volumosos, de formato arredondado a oval. Os túbulos contornados proximais foram identificados por seu diâmetro grande, epitélio colunar baixo, citoplasma com moderada eosinofilia, lúmen estreito e presença de borda em escova pouco evidente. Em contrapartida, os túbulos distais apresentaram menor diâmetro, porém com lúmen mais amplo, revestido por células cúbicas variando de levemente pálido a eosinofílico, e

ausência de borda em escova. Através das análises histológicas de rim, verificou-se a presença de infiltrado inflamatório em 9 amostras (Figura 3A), vacuolização e degeneração em 3 (Figura 3B; Tabela 3).

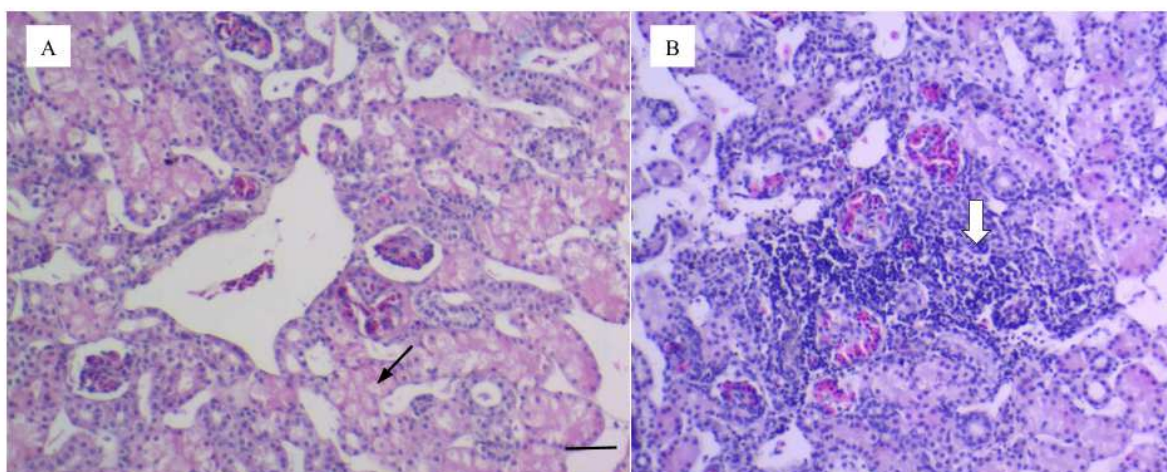


Figura 3: Alterações histológicas no rim de *P. geoffroanus* capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais). Seta preenchida: degeneração celular; seta vazada: infiltrado inflamatório. Barra de 20 μ m. (n = 16 animais)

Tabela 3: Ocorrência de lesões histopatológicas em fígado, pulmão e rim de *P. geoffroanus* capturados na Bacia do Paraopeba (Minas Gerais)

	Fígado	Pulmão	Rim
Melanomacrófago	16 (100%)	-	-
Infiltrado	10 (62.5%)	11 (68.75%)	9 (56.25%)
Degeneração	7 (43.75%)	2 (12.5%)	3 (18.75%)
Parasitas	1 (6.25)	1 (6.25%)	-
Necrose	2 (12.5)	-	-
Colestase	4 (25%)	-	-
Edema	-	1 (6.25%)	-
Ectasia	-	1 (6.25%)	-
Congestão	-	1 (6.25%)	-
Hiperemia	-	1 (6.25%)	-
Vacuolização	-	-	5 (31.25%)

7. DISCUSSÃO

Este trabalho apresentou uma análise integrada da bioacumulação de metais, das respostas bioquímicas de estresse oxidativo e da histologia em fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus* capturados na Bacia do Rio Paraopeba. Os resultados revelaram altas concentrações de Fe, Al, seguido de Cu, Mn, Pb e Cr nos tecidos analisados. Cd e Co, por sua vez, foram somente encontrados em amostras de rim. Obtivemos também valores quanto à atividade das enzimas antioxidantes, com GST mais ativa em fígado e rim, enquanto a CAT mais ativa no pulmão. O marcador de dano celular com maior concentração foi o de oxidação de proteínas (PC), seguido de peroxidação lipídica (MDA). Paralelamente, as avaliações histopatológicas evidenciaram ocorrência de infiltrado inflamatório, degeneração celular, vacuolização e outras lesões morfofuncionais, potencialmente condizentes com o estado de vida livre desses animais.

A espécie *P. geoffroanus*, assim como outros répteis semi-aquáticos, tem sido amplamente reconhecida como um importante bioindicador em estudos de contaminação por metais pesados, devido à sua elevada frequência em ambientes poluídos (Adel et al., 2015; Burger et al., 2009; Moll D; Moll E., 2004). Entretanto, ainda há escassez de estudos que utilizem quelônios como bioindicadores, especialmente aqueles que abordam estresse oxidativo e os metais aqui analisados. Em concentrações moderadas, elementos químicos essenciais, como Fe, Cu, Co e Mn, desempenham funções essenciais ao metabolismo por atuarem como micronutrientes. Contudo, quando presentes em níveis elevados, esses elementos podem causar danos significativos aos organismos. A exposição ocorre principalmente por via oral e inalatória, favorecendo a bioacumulação em diversos órgãos e tecidos (Silva et al., 2006). Já elementos não essenciais, como Al, Pb, Cd e Cr, em baixas e altas concentrações podem causar disfunções orgânicas uma vez que eles não exercem um papel fisiológico conhecido no organismo. O acúmulo de metais pesados em sistemas aquáticos está frequentemente associado a atividades antrópicas, gerando impactos de grande escala no ecossistema e colocando em risco a saúde humana nas áreas adjacentes (Lillywhite, 2006; Silva et al., 2006; Wings, 2007). Uma vez expostos a metais pesados, organismos expostos passam a expressar enzimas de detoxificação e defesa antioxidante, que funcionam como biomarcadores valiosos em estudos ecotoxicológicos, auxiliando no monitoramento da qualidade ambiental (Cogo, 2009).

As regiões da Bacia do Paraopeba onde foram obtidas as amostras deste estudo são caracterizadas por condições geológicas que favorecem a presença natural de diversos

elementos traço. A bacia pode ser dividida em três regiões, considerando suas características geológicas distintas. Enquanto o Alto Paraopeba apresenta predominância de rochas vulcânicas, naturalmente ricas em elementos como Pb, Cr, vanádio e Ni, o Médio Paraopeba apresenta rochas associadas ao elemento Fe, que possuem elevada capacidade de adsorção de elementos traço. Já o Baixo Paraopeba é composto principalmente por áreas ricas em calcário, ardósia, folhelho e siltito. Essas características geológicas indicam a presença natural de elementos como Al, Mn, Fe, Co, Cu, Pb, Cr, As, Cd e Ni, que atingem os corpos d'água devido aos processos erosivos das rochas (Geoenviron 2022a; Geoenviron 2022b). A erosão também pode causar o aumento de alumínio e silicatos na água, ajudando na fixação de elementos em pequenas quantidades e na formação de depósitos no leito do rio (CPRM, 2020; Ramos et al., 2014). Sabe-se que, no Rio Paraopeba, existem concentrações elevadas de Al, Pb, Fe, Cu, Cr e Mn em sua água, ultrapassando os limites estabelecidos pela Portaria 36/90 (Brasil, 1990). Esta Portaria estabelece os seguintes valores máximos permitidos para potabilidade da água: Al: 0,2 mg/L; Pb: 0,01 mg/L; Cu: 2 mg/L; Fe: 0,3 mg/L; Cr: 0,05 mg/L; e Mn: 0,1 mg/L (considera-se que, em soluções aquosas diluídas, 1 ppm é aproximadamente equivalente a 1 mg/L). Entre esses elementos, o Al apresentou níveis especialmente superiores ao permitido. A ocorrência dessas concentrações elevadas pode estar relacionada tanto à composição geológica natural da região quanto a possíveis fontes antrópicas de contaminação. A alteração do pH da água, por exemplo, pode mobilizar metais naturalmente presentes no solo, aumentando sua dissolução e disponibilidade no ambiente aquático (Freitas et al., 2001). Esse processo representa risco potencial para a fauna, a flora e para as populações humanas que utilizam a água da bacia. Outro elemento que aparece naturalmente na bacia é o Mn. Quando ele está na água, passa por vários ciclos de dissolução e precipitação. Isso acontece porque o Mn se oxida facilmente em ambientes com bastante oxigênio, formando compostos sólidos. Por outro lado, em áreas de sedimentação, onde há pouco oxigênio dissolvido, ele pode se reduzir novamente, voltando a ficar dissolvido na água. Esse ciclo facilita a liberação de outros elementos ligados ao Mn, como Cr, Cu, Ni e Cd (Geoenviron 2022a.; Geoenviron 2022b).

O Al é amplamente reconhecido como um poluente ambiental, e sua toxicidade pode envolver a indução de estresse oxidativo através da amplificação e potencialização do sistema oxidante ascorbato/Fe²⁺. Esse sistema é responsável por produzir EROs, com alterações em enzimas antioxidantes e aumento da LPO (Amador et al, 2000; García-Medina et al., 2010). A exposição ao Al tem sido associada a alterações significativas no metabolismo do ferro. Estudos com mamíferos expostos a altas concentrações de Al demonstraram um aumento da

concentração desse elemento no sistema nervoso central, ao mesmo tempo em que desorganizam os níveis de Fe e Mn. Além disso, o Al compromete a eritropoiese ao inibir o metabolismo do Fe, dificultando a síntese de hemoglobina e a maturação das células eritroides. Esse efeito combinado contribui para quadros semelhantes à anemia e para maior vulnerabilidade do tecido nervoso a danos oxidativos. Dessa forma, a relação entre Al e Fe revela um mecanismo duplo de toxicidade: por um lado, o Al intensifica processos oxidativos mediados pelo Fe; por outro, interfere diretamente na utilização do Fe para funções vitais como a produção de hemácias (Yousef, 2004). Esses fenômenos reforçam a relação entre esses elementos e podem explicar os elevados níveis de bioacumulação observados. Em humanos, concentrações elevadas de Al podem causar problemas renais, distúrbios motores e imunológicos, especialmente após exposições prolongadas. A biodisponibilidade do Al também aumenta na presença de flúor e águas de baixa dureza (Silva et al., 2006).

O Fe, apesar de ser um elemento essencial, em excesso pode provocar distúrbios metabólicos em virtude de sua capacidade de catalisar a formação de espécies reativas de oxigênio por meio da reação de Fenton. Tais processos podem resultar em LPO, oxidação de proteínas e danos ao DNA (Sevcikova et al., 2011). Em peixes expostos ao ferro, foram observados aumentos da LPO e na atividade de SOD nos eritrócitos (Ruas et al., 2008 Apud Sevcikova et al., 2011), além de níveis elevados de LPO e carbólinas de proteína no fígado e rins (Baker et al., 1997; Bagnyukova et al., 2006 Apud Sevcikova et al., 2011).

Os metais Fe e Pb são capazes de induzir a formação de subprodutos tóxicos, como peróxidos, aldeídos, cetonas e óxido de colesterol, que comprometem a função de linfócitos e macrófagos, favorecendo quadros de imunossupressão e maior suscetibilidade a infecções (French et al., 2017; Da Silva et al., 2016; Stark, 2022). Em *Chelonia mydas*, Da Silva et al. (2016) identificaram associação entre concentrações de Cu, Fe e Pb e a ocorrência de fibropapilomatose, possivelmente em razão da redução do colesterol sérico e do aumento da peroxidação lipídica.

A análise histológica constitui ferramenta relevante para avaliar os efeitos de xenobióticos sobre os tecidos animais e, portanto, é amplamente utilizada na identificação de bioindicadores de impacto ambiental. Embora não permita a determinação exata da causa das lesões, quando associada à escolha adequada dos órgãos e a outras metodologias, pode contribuir significativamente para a compreensão dos efeitos tóxicos. Fígado e rins, órgãos

centrais na excreção de xenobióticos, além de tecidos diretamente expostos, como o pulmão, estão entre os mais investigados em estudos ecotoxicológicos (Lins et al., 2010).

De forma integrada, os resultados deste estudo demonstram que *P. geoffroanus* está exposta a um cenário complexo de contaminação ambiental, caracterizado pela bioacumulação simultânea de metais potencialmente tóxicos, especialmente Al, Fe, Pb e Cu. A presença desses elementos em concentrações elevadas nos tecidos avaliados esteve associada a alterações significativas nos marcadores de estresse oxidativo, revelando desbalanço redox, danos a macromoléculas e comprometimento dos sistemas antioxidantes celulares. Essa disfunção bioquímica se refletiu nas alterações histológicas observadas, marcadas por infiltrado inflamatório nos três órgãos estudados, indicando uma resposta imune crônica frente ao dano tecidual induzido pelos metais. Assim, a integração dos achados de bioacumulação, estresse oxidativo e histopatologia evidencia um processo tóxico contínuo, no qual a exposição ambiental resulta em prejuízos fisiológicos mensuráveis e potencialmente progressivos. Tais evidências reforçam o papel de *P. geoffroanus* como bioindicadora sensível de qualidade ambiental e alertam para a necessidade de monitoramento contínuo e intervenções de manejo que minimizem a carga de contaminantes metálicos na Bacia do Rio Paraopeba.

Diante desse cenário, torna-se fundamental ampliar os esforços de monitoramento ecotoxicológico na Bacia do Paraopeba. Estudos futuros devem incluir análises comparativas com áreas de referência não impactadas, avaliações ao longo de diferentes períodos sazonais, aumento da amostragem e inclusão de outros níveis de resposta biológica, como análises genotóxicas, imunológicas e comportamentais. A incorporação de modelos integrativos que relacionem cargas ambientais, biomarcadores celulares e efeitos em nível populacional também se mostra promissora para compreender a real dimensão dos impactos da contaminação metálica na fauna aquática.

8. CONCLUSÃO

Em conjunto, os resultados deste estudo mostram que fígado, rim e pulmão de *P. geoffroanus* apresentam elementos químicos essenciais e não essenciais nos tecidos, consolidando seu uso como bioindicador em ecossistemas aquáticos. Parte da retenção metálica detectada nestes órgãos pode refletir características geológicas naturais da região, especialmente no caso do Al, Mn e Fe, o que reforça a importância de interpretar os resultados dentro de um contexto ambiental mais amplo. Do mesmo modo, embora o estresse oxidativo seja um indicador importante, trata-se de um processo fisiológico que pode ser influenciado por

múltiplos fatores, e, portanto, sua interpretação isolada é limitada. A análise histológica dos órgãos também nos mostrou, pela primeira vez, a arquitetura tecidual de rim e pulmão nesta espécie, bem como a morfologia já conhecida do fígado, com melanomacrófagos envolvidas na remoção de agentes tóxicos. As alterações histológicas encontradas são geralmente de causas inespecíficas, condizente com o estado de vida livre dos animais. Os resultados apresentados reforçam a urgência de estratégias de conservação e gestão ambiental voltadas para a mitigação da exposição a metais pesados, incluindo ações de recuperação de áreas degradadas, maior fiscalização do lançamento de efluentes e programas contínuos de biomonitoramento. A adoção dessas medidas contribuirá não apenas para a proteção de *P. geoffroanus*, mas também para a preservação da integridade ecológica da Bacia do Rio Paraopeba e da saúde das comunidades humanas que dependem desse ecossistema.

REFERÊNCIAS:

- ADEL, M.; SARAVI, H. N.; DADAR, M.; NIYAZI, L.; LEY-QUINONEZ, C. P. **Mercury, lead, and cadmium in tissues of the Caspian Pond Turtle (*Mauremys caspica*) from the southern basin of Caspian Sea.** *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 4, p. 3244–3250, 2015.
- AL-JOHANY, A. M.; HAFFOR, A. S. **Effects of cadmium exposure on the ultrastructural pathology of different pulmonary cells, leukocyte count, and activity of glutathione peroxidase and lactate dehydrogenase in relation to free radical production in *Uromastix aegyptius*.** *Ultrastructural Pathology*, v. 33, n. 2, p. 39–47, 2009.
- AMADOR, Fátima C.; SANTOS, Maria S.; OLIVEIRA, Catarina R. **Lipid peroxidation and aluminium effects on the cholinergic system in nerve terminals.** *Neurotoxicity research*, v. 3, n. 3, p. 223-233, 2001.
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.** *Revista de Nutrição*, v. 23, p. 629–643, 2010.
- BARBOSA, Larissa Cardoso. **Efeitos da contaminação por pesticidas em órgãos do lagarto *Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied, 1820)(Squamata, Tropiduridae) de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.** 2019.
- BENNETT, Tracy. **The chelonian respiratory system.** *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, v. 14, n. 2, p. 225–239, 2011.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. **Microsomal lipid peroxidation.** *Methods in Enzymology*, v. 52, p. 302–310, 1978.
- BUJES, Clóvis S. **Os Testudines continentais do Rio Grande do Sul, Brasil: taxonomia, história natural e conservação.** *Iheringia. Série Zoologia*, v. 100, p. 413–424, 2010.

BURGER, Joanna et al. **Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and selenium levels in blood of four species of turtles from the Amazon in Brazil.** *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, v. 73, n. 1, p. 33–40, 2009.

CARVALHO, R. P. R. et al. **High doses of eugenol cause structural and functional damage to the rat liver.** *Life Sciences*, v. 304, p. 120696, 2022. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120696.

COGO, Antônio JD et al. **Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais.** *Natureza online*, v. 7, n. 1, p. 37–42, 2009.

CORTÉS-GÓMEZ, A. A. et al. **Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations.** *Environmental Pollution*, v. 233, p. 156–167, 2018.

DA SILVA, C. C. et al. **Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean.** *Aquatic Toxicology*, v. 170, p. 42–51, 2016.

DAVIES, Michael J. **Protein oxidation and peroxidation.** *Biochemical journal*, v. 473, n. 7, p. 805-825, 2016.

DE BARROS MOLINA, Flavio. **O comportamento reprodutivo de quelônios.** *Biotemas*, v. 5, n. 2, p. 61–70, 1992.

FARIA, Tânia Negreiros. **Topografia e morfologia do sistema urinário de jabuti (*Geochelone carbonaria* - Spix, 1824).** 2003. Tese (Doutorado) – FMVZ, USP, São Paulo, 2003. DOI: 10.11606/T.10.2003.tde-03052004-114700. Acesso em: 13 out. 2025.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, p. 61–68, 1997.

FERREIRA, Larissa Gabrielle Pinheiro. **Avaliação da contaminação ambiental no estuário do Rio dos Cachorros: Bioacumulação e percepção do risco químico de metais em peixes.** 2025. Dissertação (Mestrado) – UFMA, São Luís, 2025.

FERREIRA, Susana Cristina da Rocha. **Efeitos histopatológicos em fígado de pregado (*Scophthalmus maximus*) exposto cronicamente a concentrações ambientalmente realísticas de metais pesados.** 2020.

FRANCO, Filipe Nogueira; CHAVES, Miriam Martins. **Estresse oxidativo um fator chave do envelhecimento: uma revisão narrativa.** *PISTA: Periódico Interdisciplinar [Sociedade Tecnologia Ambiente]*, v. 4, n. 2, p. 58-81, 2022.

FRENCH, S. S. et al. **Too much of a good thing? Human disturbance linked to ecotourism has a “dose-dependent” impact on innate immunity and oxidative stress in marine iguanas, *Amblyrhynchus cristatus*.** *Biological Conservation*, v. 210, p. 37–47, 2017.

FREITAS, Marcelo Bessa de; BRILHANTE, Ogenis Magno; ALMEIDA, Liz Maria de. **Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio**

de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 17, p. 651–660, 2001.

GARCÍA-MEDINA, S. et al. **Estresse oxidativo induzido por alumínio em linfócitos de carpa comum (Cyprinus carpio).** *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 36, p. 875–882, 2010.

GEOENVIRON. Nota técnica: avaliação complementar de caracterização geoquímica dos rejeitos (fase I): composição química global e classificação segundo a NBR ABNT 10.004/2004 dos rejeitos dos depósitos temporários (DTRS). NT-MIN-VL-CF-02-22-RV00, 2022a.

GEOENVIRON. Relatório técnico: avaliação de efeitos ecotoxicológicos dos rejeitos da barragem B1. RT-MIN-VL-CF-01-22-RV00, 2022b.

GUIMARÃES-ERVILHA, L. O. et al. **Effect of induced pulmonary arterial hypertension on testicular parameters of wistar rats subjected to resistance exercise training.** *Microscopy and Microanalysis*, v. 29, p. 635–648, 2023.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. **Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 249, n. 22, p. 7130–7139, 1974.

HADWAN, M. H.; ABED, H. N. **Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity.** *Data in Brief*, v. 6, p. 194–199, 2016.

HALLIWELL, Barry; WHITEMAN, Matthew. **Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?** *British Journal of Pharmacology*, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004.

HELLOU, Jocelyne; ROSS, Neil W.; MOON, Thomas W. **Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota.** *Environmental Science and Pollution Research*, v. 19, n. 6, p. 2007–2023, 2012.

LEVINE, R. L. et al. **Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins.** *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 464–478, 1990.

LILLYWHITE, Harvey B. **Water relations of tetrapod integument.** *Journal of Experimental Biology*, v. 209, n. 2, p. 202–226, 2006.

LIMA, E. S.; ABDALLA, **Dulcineia Saes Parra. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas.** *Braz J Pharm Sci*, v. 37, n. 3, p. 293–303, 2001.

LIU, J.; GOYER, R. A.; WAALKES, M. **Toxic effects of metals.** In: KLAASSEN, C. D. (ed.). *Casarett & Doull's Toxicology: the basic science of poisons*. 7. ed. New York: McGraw Hill, 2008. p. 931–979.

MACHADO JÚNIOR, A. A. N. et al. **Anatomia do fígado e vias bilíferas do muçã (Kinosternon scorpioides).** *Archives of Veterinary Science*, v. 10, n. 2, p. 125–133, 2005.

MACHADO, Luciana Pereira et al. **Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária.** *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 8, n. 1, p. 84–94, 2009.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. **Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase.** *European Journal of Biochemistry*, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.

MAYNE, Susan T. **Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research.** *The Journal of Nutrition*, v. 133, n. 3, p. 933S–940S, 2003.

MAZARI, Aslam MA et al. **The multifaceted role of glutathione S-transferases in health and disease.** *Biomolecules*, v. 13, n. 4, p. 688, 2023.

MEDINA, Marcela Fátima et al. **Histopathological and biochemical changes in the liver, kidney, and blood of amphibians intoxicated with cadmium.** *Turkish Journal of Biology*, v. 40, n. 1, p. 229–238, 2016.

MOLL, D.; MOLL, E. O. **The ecology, exploitation and conservation of river turtles.** Oxford University Press, 2004.

MOLINA, F. de B. **Comportamento e biologia reprodutiva dos cágados *Phrynops geoffroanus*, *Acanthochelys radiolata* e *Acanthochelys spixii* (Testudines, Chelidae) em cativeiro.** *Revista de Etologia*, p. 25–40, 1998.

MOURA, Léa Resende et al. **Aspectos morfológicos do fígado de tartaruga-da-amazônia *Podocnemis expansa* (...).** 2009.

PEREIRA NAVARRO LINS, José Augusto et al. **Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático.** *Revista Acadêmica Ciência Animal*, v. 8, n. 4, p. 469–484, 2010.

QUADRA, G. R. et al. **Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil.** *Chemosphere*, v. 215, p. 753–757, 2018.

RAMÍREZ-LÓPEZ, C. J. et al. **Oxidative stress associated with proteomic and fatty acid profiles of sperm from nellore bulls at rest.** *Biology of Reproduction*, 2023.

SEGURA, F. R. et al. **Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil).** *Environmental Pollution*, v. 218, p. 813–825, 2016.

SEVCIKOVA, Marie et al. **Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review.** *Veterinary Medicine*, v. 56, n. 11, p. 537–546, 2011.

SILVA, Cassio Roberto da et al. **Geologia Médica no Brasil: efeitos dos materiais e fatores geológicos na saúde humana e meio ambiente.** 2006.

SILVA, Luciana Medeiros. **Metais pesados em tecidos de *Chelonia mydas* encalhadas no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2011.

SOUZA, A. C. F. et al. **Long-term reproductive effects in male rats prenatally exposed to sodium arsenite.** *Environmental Toxicology*, v. 38, n. 5, p. 1162–1173, 2023.

SOUZA, F. L. **Ecologia do cágado *Phrynops geoffroanus* (...).** 1999. Tese (Doutorado) – UNESP, Rio Claro.

SOUZA, Franco Leandro; ABE, Augusto Shinya. **Population structure and reproductive aspects of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting an urban river in southeastern Brazil.** *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v. 36, n. 1, p. 57–62, 2001.

SOUZA, Franco L. et al. **Uma revisão sobre padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidae).** *Phyllomedusa*, v. 3, n. 1, p. 15–27, 2004.

STARK, Amanda Andersson Pereira. **Metais pesados: prejuízos causados e répteis como bioindicadores de monitoramento.** 2022.

STARK, Amanda Andersson Pereira et al. **Metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo em répteis.** *Research, Society and Development*, v. 11, n. 3, 2022.

THOMPSON, F. et al. **Severe impacts of the Brumadinho dam failure (...).** *Science of the Total Environment*, v. 705, p. 135914, 2020.

UETZ, P.; HALLERMANN, J. ***Phrynops geoffroanus*.** *The Reptile Database*. Disponível em: reptile-database.reptarium.cz/Phrynops/geoffroanus. Acesso em: 22 set. 2025.

VERGILIO, C. S. et al. **Metal concentrations and biological effects from one of the largest mining disasters in the world: Brumadinho, Minas Gerais, Brazil.** *Scientific Reports*, v. 10, p. 1–12, 2020.

WINGS, Oliver. **A review of gastrolith function with implications for fossil vertebrates and a revised classification.** *Acta Palaeontologica Polonica*, v. 52, n. 1, p. 1–16, 2007.

WU, X. et al. **A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment.** *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, p. 8244–8259, 2016.

YOUSEF, Mokhtar I. **Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid.** *Toxicology*, v. 199, n. 1, p. 47-57, 2004.