

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Samantha Izildinha Veloso**

**IMPACTO DO ESGOTO SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE  
E A NEUROTRANSMISSÃO NO ENCÉFALO DE *Notothenia  
coriiceps***

**Taubaté**

**2019**

**Samantha Izildinha Veloso**

**IMPACTO DO ESGOTO SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE  
E A NEUROTRANSMISSÃO NO ENCÉFALO DE *Notothenia  
coriiceps***

Trabalho de Graduação apresentado  
para obtenção do Certificado de  
Graduação pelo Curso de Ciências  
Biológicas do Departamento de  
Biologia da Universidade de Taubaté,  
Área de Concentração: Bioquímica  
Orientador: Profº Dr. Edson Rodrigues

**Taubaté – SP**

**2019**

**SAMANTHA IZILDINHA VELOSO**

**IMPACTO DO ESGOTO SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE E A  
NEUROTRANSMISSÃO NO ENCÉFALO DE *Notothenia coriiceps***

Trabalho de Graduação apresentado  
para obtenção do Certificado de  
Graduação pelo Curso De Ciências  
Biológicas do Departamento de  
Biologia da Universidade de Taubaté,  
Área de Concentração: Bioquímica

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Universidade de Taubaté

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

## **Dedico**

Deus por ser essencial em minha vida, sempre mostrando o melhor caminho para que todos os obstáculos fossem passados com sabedoria.

Aos meus Pais, Irmã, e espécies de estimação que ao longo desta caminhada sempre estiveram ao meu lado, apoiando, alegrando com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

E ao meu namorado o meu muito obrigada pelo carinho, a paciência e pela sua capacidade de me trazer paz na correria de cada semestre.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus que me permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos.

Ao Professor Dr. Edson Rodrigues, pela orientação, oportunidade e incentivo durante todos estes anos de formação acadêmica.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu namorado João Vitor, dedicação, amor e principalmente pela paciência sempre me apoiando em todos os momentos, juntos ultrapassando os obstáculos, e se fazendo essencial durante todas as etapas deste trabalho.

Ao colega Denner Rodrigues pelo apoio e parceria durante todo o experimento e análise deste estudo, tendo papel fundamental para que o mesmo fosse cumprido com excelência.

Agradeço a todos os professores que me proporcionaram conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a repassar seus conhecimentos, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

A Universidade de Taubaté, por ceder o espaço físico do laboratório de Bioquímica, para a realização de todas as análises e pela oportunidade de fazer o curso.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais (INCT-APA) pelo apoio na coleta das amostras utilizadas neste trabalho.

À Marinha do Brasil, pela contribuição na coleta e manutenção dos bioensaios, bem como no transporte do material biológico para o Brasil.

Ao Arsenal de Marinha do Rio de Janeiro, de suma importância para que a logística dos bioensaios fosse realizada com sucesso.

À SECIRM e PROANTAR pelo apoio logístico e incentivo durante todas as Operações Antárticas.

Aos Grupos Base presente na Operação Antártica XXX pelo comprometimento e apoio na coleta e execução dos bioensaios.

Ao CNPq pelo apoio financeiro durante o período que cursei a graduação.

E agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”

Friedrich Nietzsche

## RESUMO

A Antártica tem sido considerada a região mais preservada do planeta. Contudo, a crescente presença humana na região tem suscitado preocupações quanto a poluição por esgoto, queima e vazamento de combustível fóssil. O peixe *Notothenia coriiceps* é estenotérmico e endêmico da região Antártica e um importante elo da malha trófica sendo uma das 5 espécies mais abundantes do ambiente marinho da Ilha Rei George. O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto do esgoto humano sobre a defesa antioxidante e a neurotransmissão do encéfalo do peixe antártico *N. coriiceps*. Os espécimes foram coletados com linha e anzol no ambiente marinho da Baía do Almirantado, Ilha Rei George. Os bioensaios foram conduzidos nos módulos de aquário da Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF), no verão de 2011. O grupo experimental (n=10) foi exposto ao efluente de esgoto da Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF), diluído à 0,5% (v/v) em condição termo-salina próxima do ambiente natural (0°C e 35 psu) por 96 h. Após o sacrifício dos indivíduos, o tecido encefálico foi coletado, imediatamente congelado em nitrogênio líquido e posteriormente transferido para o Laboratório de Bioquímica da Universidade de Taubaté. Os encéfalos dos espécimes do grupo controle e experimental foram homogeneizados em tampão e as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e acetilcolinesterase (AChE) foram determinadas espectrofotometricamente. A diferença entre a atividade de SOD, do tecido encefálico de *N. coriiceps* do grupo controle e experimental não foi estatisticamente significativa, diferente a atividade de AChE, que apresentou atividade significativamente mais elevada nos encéfalos dos peixes expostos ao efluente do esgoto. A ausência de modulação da atividade de SOD no encéfalo de *N. coriiceps*, expostas ao efluente do esgoto da EACF, pode ter relação com barreira hematoencefálica dos vertebrados. As junções muito estreitas do epitélio vascular encefálico, podem ter impedido, em parte, a livre difusão de xenobióticos através das paredes capilares, protegendo o sistema nervoso central dos efeitos deletérios dos poluentes do esgoto. Por outro lado, o impacto do esgoto sobre os demais tecidos de *N. coriiceps*, pode ter elevado as demandas sensoriais do sistema nervoso central, em resposta ao estresse por poluição. Assim os estímulos aferentes e respostas eferentes do SNC de *N. coriiceps*, podem ter se tornado mais intensas na poluição por esgoto, elevando a propagação de potenciais de ação e secreção de neurotransmissores nas sinapses, bem como demandando uma atividade mais elevada de AChE.

Palavras-Chave: esgoto, defesa antioxidante, neurotransmissão, peixe antártico



## ABSTRACT

The Antarctica was considered the most pristine region of the planet. However, the growing human presence in the region has caused concerns about the risk of pollution from sewer, burned and leaking fossil fuel. *Notothenia coriiceps* is stenothermal and endemic to the Antarctic region and is an important link in the trophic mesh and is one of the 5 most abundant species in the marine environment of King George Island. The purpose of the present study was to evaluate the impact of human sewage on antioxidant defense and neurotransmission of Antarctic fish *N. coriiceps*. The specimens were collected with line and hook in the marine environment of Admiralty Bay, King George Island. The bioassays were conducted in the Comandante Ferraz Antarctic Station (EACF) during in the summer of 2011. The experimental group (n = 10) was exposed to the sewage effect of the Comandante Ferraz Antarctic Station (EACF), diluted to 0.5 % (v/v) thermo-saline saline conditions near the natural environment (0°C and 35 psu) for 96 h. After the sacrifice of specimens, the encephalic tissue were collected, and immediately frozen in liquid nitrogen and later transferred to the Biochemistry Laboratory of the University of Taubaté. The encephalus of control and experimental groups were homogenized in the buffer and the activities of the superoxide dismutase (SOD) and acetylcholinesterase (AChE) enzymes were monitored spectrophotometrically. The difference between SOD activity, *N. coriiceps* neural tissue of the control and experimental group wasn't statistically significant, different from AChE activity, which exhibited the highest activity in the encephalus of the fishes exposed to sewage effluent. The absence of modulation of SOD activity at *N. coriiceps* level, exposed in the EACF effluent, might be related to the vertebrate blood-brain barrier. Because the very narrow junctions of the cerebrovascular epithelium may have partly prevented free diffusion of xenobiotics through the capillary walls, protecting the central nervous system from the deleterious effects of sewage pollutants. On the other hand, the impact of the sewer on other tissues of *N. coriiceps* may have a high level of demand for central nervous system sensors in response to pollution stress. Therefore, the afferent and the efferent stimulus responses of the *N. coriiceps* CNS can be made more intense in sewer pollution, increasing the propagation of action powers and secretion of neurotransmitters in synapses, as well as requiring higher AChE potential.

Keywords: sewer, antioxidant defense, neurotransmission, antarctic fish

## LISTA DE ABREVIações

AChE	Acetilcolinesterase.
ASMA	Área Antártica Especialmente Gerenciada.
BCA	Ácido bicinconínico.
DTNB	5'5-Ditiobis (2-nitrobenzoico ácido).
EACF	Estação Antártica Comandante Ferraz.
ECO	Glaciar Ecology.
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético.
EROS	Espécies reativas de oxigênio.
ETE	Estação de tratamento de esgoto.
HCl	Ácido clorídrico.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
INCT-APA	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais.
LPO	Lipoperoxidação.
NADH+H <sup>+</sup>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida.
NBT	Azul de nitrotetrazólio.
O <sub>2</sub> <sup>-•</sup>	Ânion superóxido.
nm	Nanômetro.
p/v	Proporção peso por volume.
PBDEs	Ésteres de polibrometo de difenila.
PP	Punta Plaza.
psu	Unidade prática de salinidade.
rpm	Rotações por minuto.
ROS	Espécies reativas de oxigênio.
SNC	Sistema nervoso central.
SOD	Superóxido dismutase.
SSSI	Sítio Especial de Interesse Científico.
U	Unidade internacional.
UNITAU	Universidade de Taubaté.
UV	Ultravioleta.

$\lambda$  ..... Comprimento de onda.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. (A)** Locais de coleta de espécimes de *N. coriiceps* na zona marítima da Baía do Almirantado, Ilha Rei George; **(B)** Local dos bioensaios na Estação Antártica Comandante Ferraz .....22
- FIGURA 2.** Efeito da concentração enzima acetilcolinesterase (AChE) do encéfalo de Tilápia sobre a atividade enzimática ..... 24
- FIGURA 3.** Efeito da concentração enzima superóxido dismutase (SOD) do encéfalo de Tilápia sobre a atividade enzimática ..... 25
- FIGURA 4.** Atividade específica da superóxido dismutase (SOD) do encéfalo de *Notothenia coriiceps* ..... 27
- FIGURA 5.** Atividade específica da acetilcolinesterase (AChE) do encéfalo de *Notothenia coriiceps* ..... 28

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. OBJETIVO .....	20
2.1 Objetivos Gerais .....	20
2.2 Objetivos Específicos .....	20
3. METODOLOGIA .....	21
3.1 Material Biológico e Experimentos .....	21
3.2 Métodos Analíticos .....	23
3.3 Análises Estatísticas .....	26
4. RESULTADOS .....	27
5. DISCUSSÃO .....	29
6. CONCLUSÃO .....	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32

## 1-INTRODUÇÃO

A identificação de riscos ecológicos decorrentes da exposição da biota aquática à poluentes químicos é de extrema importância para o monitoramento ambiental. Os peixes têm um papel relevante na cadeia alimentar de ambientes aquáticos, participando da transferência de energia de níveis tróficos inferiores para níveis superiores. Os peixes são considerados por muitos, os organismos aquáticos mais adequados para o monitoramento de ambientes aquáticos, apesar da sua elevada capacidade de deslocamento<sup>(1)</sup>.

Os níveis de enzimas da defesa antioxidante e do metabolismo de xenobióticos do teleósteo marinho *Mullus barbatus* foram utilizados para avaliar o impacto ambiental da descarga de material dragado do porto de Leghorn – Itália e depositado a 25 km da região litorânea do mar Mediterrâneo<sup>(2)</sup>. Nesse caso, a variação dos níveis de enzimas da defesa antioxidante desse peixe foram utilizadas como marcadores bioquímicos do impacto precoce de poluentes sobre as respostas biológicas de *M. barbatus*. Embora o fígado seja o principal órgão do metabolismo de xenobióticos em peixes, o cérebro tem sido considerado um dos órgãos metabolicamente mais ativos e sensível a disruptões do metabolismo energético<sup>(3)</sup>.

A respiração celular é um processo essencial para produção de energia nos seres vivos. No entanto, produz espécies reativas de oxigênio (ROS), como o radical superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila<sup>(4)</sup>. A superóxido dismutase (SOD) é uma das enzimas responsáveis pelo controle destas espécies e constitui uma família de metaloenzimas que desempenha papel antioxidante que são um tipo de mecanismo de defesa contra os danos que a ROS pode causar ao organismo, estes antioxidantes estão em permanente atividade no organismo, sendo que a produção de energia é uma das principais causas da formação de radicais livres, então é necessário que tenha antioxidantes suficientes para neutralizar os efeitos dos radicais livres que são produzidos normalmente, e quando não há antioxidantes o suficiente para combater esses radicais livres está ocorrendo um estresse oxidativo que é um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, aumentando a quantidade dos agentes oxidantes<sup>(5,6)</sup>, e a SOD é importante por indicar sua presença em todos os organismos aeróbicos<sup>(7)</sup>, essa enzima catalisa a conversão do ânion reativo superóxido ( $O_2^- \cdot$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). A SOD mostra grandes diferenças em atividade entre tecidos e espécies de peixes e por cauda da maior

solubilidade de oxigênio em águas frias, os peixes antárticos possuem um alta concentração de oxigênio em seus tecidos e conseqüentemente pode-se esperar níveis elevados na produção de ROS<sup>(8)</sup> e das enzimas antioxidantes<sup>(9)</sup>. Sua atividade é maior em peixes marinhos, em comparação com peixes de água doce<sup>(10)</sup> e peixes herbívoros também apresentam maior atividade dessa enzima<sup>(11)</sup>. Em relação à presença de contaminantes, vários trabalhos mostram que a atividade da SOD tende a ser maior em peixes de locais poluídos, sugerindo que sua atividade pode ser usada para medir a severidade do impacto ambiental<sup>(1,11-15)</sup>. Esta enzima é induzida muito rapidamente, dentro de poucas horas, especialmente se a produção de espécies reativas de O<sub>2</sub> for muito elevada<sup>(1)</sup>.

O metabolismo cerebral de peixes tem se mostrado sensível ao efeito de diversos pesticidas e metais pesados<sup>(3)</sup>, mas tem sido pouco estudado em relação aos efeitos tóxicos de poluentes do esgoto humano. A acetilcolinesterase (AChE) hidrolisa a acetilcolina em acetato e colina, removendo rapidamente esse neurotransmissor de sinapses colinérgicas e junções neuromusculares<sup>(16)</sup>, nos peixes a inibição da AChE pode ser perigosa, principalmente por afetar a atividade natatória, comprometendo a alimentação e a fuga de seus predadores<sup>(17)</sup>. Níveis sub-letais de metais pesados são capazes de modular para cima os níveis de AChE em algumas espécies de peixes<sup>(18)</sup>. Contudo, pesticidas organofosforados inibem irreversivelmente a AChE, reduzindo os níveis cerebrais dessa enzima e, conseqüentemente, provocando disrupção neural. Assim, a atividade específica de AChE do sistema nervoso de peixes tem sido amplamente utilizada como marcador de função neural<sup>(1)</sup>.

Efluentes de esgotos humanos e industriais são misturas complexas de poluentes, que podem agir de forma interativa prejudicando os sistemas fisiológicos de peixes. Para mitigar o estresse tóxico, os peixes normalmente elevam o gasto energético com o metabolismo de xenobióticos e a defesa antioxidante<sup>(1)</sup>. O aumento da urbanização e do desenvolvimento econômico dos últimos anos tem implicado em uma maior produção tanto de esgoto domésticos quanto de efluentes industriais, e em áreas costeiras esses são fatores preocupantes pois inúmeras áreas urbanas não possuem tratamento de esgoto adequados e o mar tem sido o receptor desses elementos orgânicos que podem também serem provenientes de rios, lançamento *in natura* e do despejo de navios e plataformas. Esse material orgânico apresenta principalmente em sua composição fósforo e nitrogênio que são elementos que causam o crescimento de microalgas que em excesso causam eutrofização<sup>(19)</sup>.

O esgoto é constituído de uma mistura complexa de dejetos humanos, água e compostos químicos derivados de uso doméstico ou industrial, e muitos poluentes como hidrocarbonetos do petróleo, metais pesados e compostos organoclorados tornam-se constituintes comuns por conta de sua fácil absorção na matéria orgânica<sup>(20)</sup>. Outros fatores condicionantes para a presença de esgotos no ambiente marinho são as ocorrências de chuvas que carregam esgotos e outros tipos de detritos estagnados nos arredores de canais de drenagem; as condições de maré quando as enchentes barram os cursos hídricos contaminados e quando as vazantes causam drenagem desses cursos para o mar; e a atividade turística aumenta a produção dos esgotos e a sobrecarga das fossas sépticas<sup>(21)</sup>.

O destino final desses dejetos das atividades humanas é o fundo dos corpos d'água, pois os contaminantes uma vez no ambiente acabam depositando-se no sedimento e passam a fazer parte desse compartimento, além disso vários processos físicos, químicos e biológicos podem resultar na liberação desses contaminantes presentes nos sedimentos para a coluna d'água, gerando riscos a biota<sup>(22)</sup>.

A Antártida é um grande deserto e virtualmente intocado pela ação antrópica. Contudo, o aumento da presença humana na região tem suscitado preocupações e elevado os questionamentos sobre os impactos de poluentes na flora e fauna da região<sup>(23)</sup>. A Antártida é uma vez e meia maior do que o Brasil, tem 99% da sua superfície coberta por um volume de 25,4 km<sup>3</sup> de gelo, que constitui o maior reservatório de água doce do planeta. Essa também é a região mais fria do planeta, com temperatura mínima de -93,2°C, registrada no Dome Argus em agosto de 2010 pelo satélite Landsat 8 da NASA. Essa temperatura é cerca de 25°C mais baixa do que a menor temperatura registrada em regiões permanentemente habitadas pelo homem<sup>(24)</sup>.

Os impactos antrópicos aumentaram substancialmente por ocasião do Ano Geofísico Internacional de 1957/58 (IGY), quando mais de uma dezena de estações científicas (McMurdo e Amundsen-Scott dos Estados Unidos, Vostok da antiga União Soviética, dentre outras) foram construídas e cerca de 5.000 pessoas foram deslocadas para essa região no período entre julho de 1957 e dezembro de 1958. O sucesso da colaboração científica levou à criação do Conselho Científico de Pesquisa Antártica (*Scientific Committee on Antarctic Research; SCAR*), que passou a atuar sugerindo políticas científicas para região. A cooperação científica também abriu caminho para a assinatura do Tratado da Antártica, em 1º de dezembro de 1959,



criando um continente livre de armas nucleares e aberto para a ciência. Posteriormente, em 1961, o Tratado foi ratificado pelos 12 membros signatários, em reunião realizada em Washington<sup>(25,26)</sup>. Assim, a exploração comercial sofreu forte restrição a partir de 1959 e as atividades humanas ficaram limitadas às instalações científicas e navios de pesquisa, bem com a bordo de navios de pesca e turismo<sup>(27,28)</sup>.

O contingente humano a bordo de navios de turismo e estações científicas na Antártida aumentou substancialmente nas últimas três décadas, tornando os vazamentos de óleos combustíveis mais frequentes e elevando o volume de esgoto descartado no ambiente marinho. Por exemplo, a Baía do Almirantado, localizada na Ilha Rei George, recebeu no verão 2005/2006, um total de 1.819 turistas embarcados em navios. Já no verão de 2015/2016, esse número foi de 7.057 turistas, representando um aumento de 388% de turistas em dez anos<sup>(29)</sup>. Além do turismo, o suporte logístico das estações científicas também foi incrementando, elevando o impacto antrópico sobre o ecossistema antártico. Devido as condições climáticas mais amenas, as regiões litorâneas da Antártida contemplam a grande maior parte da microbiota, que fica mais exposta aos impactos antrópicos. Nesse sentido, cabe salientar que aproximadamente 80% das instalações científicas estão localizadas no litoral da Antártida<sup>(30)</sup>.

A Ilha Rei George (62°02'S e 58°21'W) está localizada no extremo norte da Península Antártica, é a maior Ilha do Arquipélago das Shetlands do Sul, sendo que a região litorânea dessa Ilha abriga instalações científicas de 9 Países (Brasil, Equador, Estados Unidos, Peru, Polônia, Chile, Argentina, Rússia e Coreia do Sul), um Sítio Especial de Interesse Científico (SSSI N°8) e uma Área Antártica Especialmente Gerenciada (ASMA), a qual inclui a Baía do Almirantado, com 362 km<sup>2</sup>, sendo que 32 km<sup>2</sup> dessa área, encontra-se livre de gelo<sup>(31,32)</sup>. A Baía do Almirantado, onde os bioensaios do presente estudo foram realizados, abriga instalações científicas de 5 países, inclusive a Estação Antártica Brasileira Comandante Ferraz (EACF).

A dispersão dos efluentes de esgotos nas regiões litorâneas da Antártica tem sido monitorada pelo acúmulo de poluentes nos tecidos de organismos e em sedimentos marinhos<sup>(12,33-36)</sup>. As análises químicas sugere que a poluição por esgoto da EACF permanece restrita ao entorno da estação e, embora tenha aumentado mais de duas vezes no período entre 1997 e 2003, provavelmente devido ao aumento do número de pesquisadores, continuou localizada no entorno da EACF<sup>(13,34,37)</sup>.

Apesar das recomendações feitas pelas partes consultivas do Tratado da Antártica, até o ano de 2005, aproximadamente 37% das estações científicas permanentes e 69% das estações de verão, não tinham implementado nenhum tipo de tratamento para o esgoto e águas cinzas<sup>(38)</sup>. A EACF entrou em operação em 1984 e até 2012 operou com capacidade máxima de alojamento para 60 pessoas. O efluente do esgoto e águas cinzas da EACF, após tratamento secundário na estação de tratamento de esgoto (ETE), era descartado na Enseada de Martel, logo abaixo da linha da maré baixa. Já o resíduo sólido da ETE tinha como destino a incineração nas dependências da EACF<sup>(39)</sup>.

Estudos têm revelado que a matéria orgânica e os contaminantes químicos de esgotos têm reduzido a biodiversidade e alterado a estrutura de comunidades bentônicas em algumas regiões litorâneas da Antártida<sup>(40)</sup>. Análises histológicas realizados no fígado e brânquias do peixe antártico *Trematomus bernacchii*, coletados em locais próximos da desembocadura da ETE da estação australiana de Davis, mostraram que o efluente do esgoto foi capaz de promover alterações patológicas nesses tecidos<sup>(41)</sup>. Bioensaios conduzidos com água do mar coletada na saída da ETE da EACF mostraram que a poluição por esgoto é capaz de induzir a formação de micronúcleos e provocar outras anomalias nucleares eritrocitárias em *Trematomus newnesi*<sup>(42)</sup>.

Por outro lado, o metabolismo energético de peixes tem sido pouco estudado naquilo que diz respeito ao efeito de poluentes químicos de efluente humano. Os produtos farmacêuticos e hormônios esteroides, os quais estão normalmente presentes nos efluentes humanos, podem causar disrupção endócrina e metabólica em peixes<sup>(43,44)</sup>. Ésteres de polibrometo de difenila (PBDEs), os quais estão normalmente presentes em efluentes, foram capazes de promover disrupção metabólica em *T. bernacchii*, acelerando o metabolismo celular e comprometendo o já limitado balanço energético desse peixe antártico<sup>(45)</sup>. A presença de PBDEs em tecidos de *T. bernacchii* e anfípodas, coletados à 1,6 e 0,7 km, respectivamente, revelou a extensão espacial da poluição por esgoto descartado pela Estação Australiana Casey na Antártica, mostrando que esse tipo de poluição transcende o entorno dessa estação científica<sup>(46)</sup>.

Em trabalhos recentes foi observado que o esgoto da EACF, diluído à 0,05% (v/v), é capaz de promover profundas alterações metabólicas no fígado, rins, brânquias e músculos dos peixes antárticos *Notothenia rossii* e *N. coriiceps*, bem

como alterar, expressivamente, os níveis de diversos constituintes plasmáticos<sup>(14,47)</sup>. As duas espécies envolvidas no estudo são demersais, estenotérmicas, endêmicas da região antártica e abundantes na Baía do Almirantado, Ilha Rei George<sup>(34)</sup>, bem como um importante elo da cadeia trófica, atuando na transferência energética de níveis tróficos inferiores para níveis superiores<sup>(48)</sup>.

## **2- OBJETIVO**

### **2.1- Objetivos Gerais**

Avaliar o impacto da poluição por efluente humano sobre a defesa antioxidante e a neurotransmissão do encéfalo *Notothenia coriiceps*.

### **2.2- Objetivos Específicos**

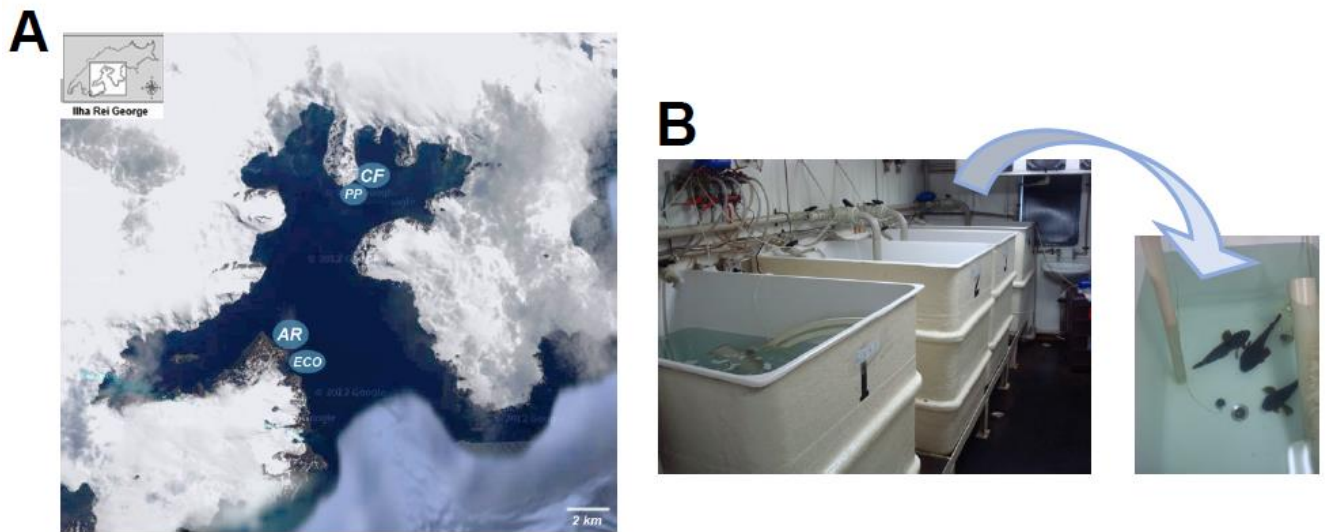
Utilizando os níveis enzimáticos como “proxy” do metabolismo energético do encéfalo de *N. coriiceps*, especificamente foram determinadas a atividade específica da superóxido dismutase (SOD) e acetilcolinesterase (AChE) como enzimas-chaves da defesa antioxidante e da transmissão neural, respectivamente.

### 3- METODOLOGIA

#### 3.1- Material Biológico e Experimentos

Espécimes de *N. coriiceps* foram coletadas com linha e anzol, em profundidade de 10 a 20 metros, nos ambientes marinhos de Punta Plaza (PP) (62°05'0"S/58°23'28"W), e "Glaciar Ecology" (ECO) (62°10'03,5"S/58°26'59,8"W), Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Antártida (figura 1A), durante o verão Austral de 2011, por ocasião da Trigesima Expedição Brasileira a Antártica (XXX Operação Antártica).

Após a captura, os peixes foram imediatamente transportados para Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) (62°05'0"S / 58°23'28"W) e aclimatados por um período de 3 dias, em condição termo-salina próxima do ambiente natural (0°C e 35 psu) para reduzir o estresse da captura. Após anestesia com benzocaína (0,1% p/v dissolvida em água do mar), os peixes foram pesados, marcados com linha colorida na nadadeira dorsal e transferidos para tanques aquário de 1000 L, na proporção de 1 peixe para cada 150 – 170 L de água do mar (figura 1B) e foram aclimatados em condições termo-salina próximas as da natureza por 3 dias, para minimizar o estresse da manipulação. Durante esse período, os peixes foram condicionados a buscar alimento oferecido na ponta de um longo estilete. A aeração dos aquários foi contínua e o fotoperíodo foi de 12h, em todos os experimentos.



**Figura 1. (A)** Sítios de coleta na Baía do Almirantado, Ilha Rei George. Os peixes antárticos foram capturados em Punta Plaza (PP), há cerca de 500 m da EACF (CF; 62°05'0"S/ 58°23'28"W), e na Enseada do Glaciar "Ecology" (ECO), próximo da Estação Científica Polonesa de Arctowski (AR, 62o10'03,5"S/58o26'59,8"W) (Fonte: Adaptado de google mapas). **(B)** Laboratório de bioensaios da Estação Antártica Comandante Ferraz. Os peixes antárticos foram mantidos em tanques de 1000 L (Fonte: Edson Rodrigues).

Todos os bioensaios foram conduzidos com água do mar na condição termo-salina de 0°C e 35 psu e os bioensaios tiveram duração de 96h. Os peixes do grupo controle (n=10) foram mantidos em água do mar sem a adição de efluente. Já no grupo experimental (n=10) foram expostos ao efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da EACF, adicionado a água dos tanques para uma diluição final de 0,5% (v/v).

A água dos tanques foi trocada parcialmente (50% do volume total) após 48h, na mesma condição experimental. Os peixes foram alimentados diariamente com músculo axial de peixes antárticos, em quantidade correspondente a 1% da sua massa corpórea.

Ao final dos experimentos os peixes foram sacrificados por secção da coluna vertebral, em local próximo da base do crânio. Os encéfalos foram removidos e imediatamente transferidos para tubos criogênicos, congelados em nitrogênio líquido e transportados para o Laboratório de Bioquímica da Universidade de Taubaté, onde foram armazenados em ultrafreezer -80°C.

### 3.2- Métodos Analíticos

O tecido encefálico foi homogeneizado em Potter-Elvehjem, na proporção de 10 mL de tampão Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), para cada grama de tecido<sup>(49)</sup>. Os homogeneizados foram sonicados por 15 segundos e centrifugados a 14.000 g durante 10 minutos. Os sobrenadantes foram utilizados para padronizar as medidas de atividades das acetilcolinesterase (EC. 3.1.17) e superóxido dismutase (EC 1.15.1.1) em encéfalo de peixes, e após as determinações foram conduzidas em duplicata na temperatura não desnaturante de 20°C.

A atividade da AChE foi determinada em tampão fosfato 100 mM (pH 7,0), contendo iodeto de acetiltiocolina 75 mM e 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoato (DTNB) 10 mM e NADH+H<sup>+</sup> 150 µM. A variação de absorbância foi acompanhada de forma contínua em 410 nm<sup>(50)</sup>.

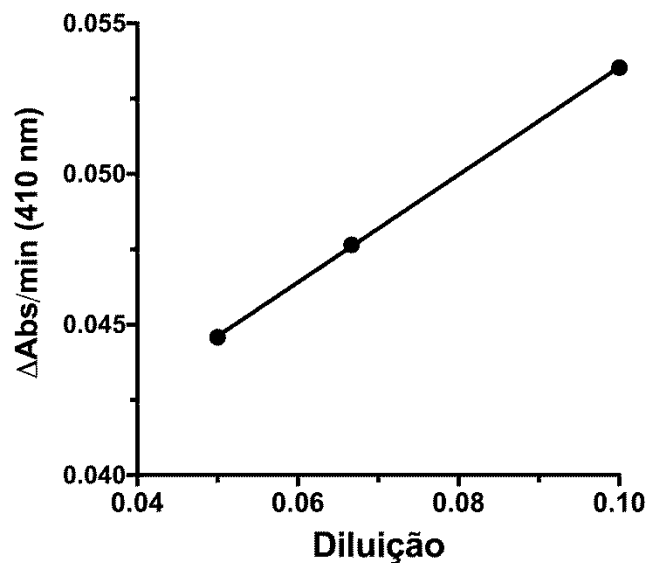
A atividade da SOD foi determinada em tampão carbonato de sódio 100 mM (pH 10,2), contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,175 mM, cloreto de tetrazólio-nitroazul (NBT) 1 mM e hidroxilamina 3,7 mM. A variação de absorbância foi acompanhada de forma contínua em 560 nm<sup>(51)</sup>.

A atividade da AChE foi conduzida em microplacas de 384, incubando 70 µL do sistema de reação com 10 µL de homogeneizado. A atividade da SOD foi determinada em microplacas de 96 poços UV, incubando 147µL de sistema de reação, 37 µL de hidroxilamina e 20 µL de homogeneizado e as variações de absorbância registradas por um leitor de microplacas FLUOstar OPTMA da BMG.

A atividade da AChE foi expressa em unidade internacional (U). Assim, uma unidade internacional de AChE foi definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar um µmol de acetiltiocolina em produtos no tempo de um minuto (µmol/min). A atividade da SOD foi expressa em função da sua habilidade de inibir a redução do NBT <sup>(51)</sup>. Uma unidade de SOD (USOD) foi definida como a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a redução de NBT do sistema de reação.

A proteína total dos homogeneizados foi quantificada pelo método do ácido bicinconínico (BCA), utilizando Kit reagente QuantiPro BCA da Sigma-Aldrich. As atividades enzimáticas foram normalizadas em função da concentração de proteínas dos homogeneizadas e expressas U/mg de proteínas.

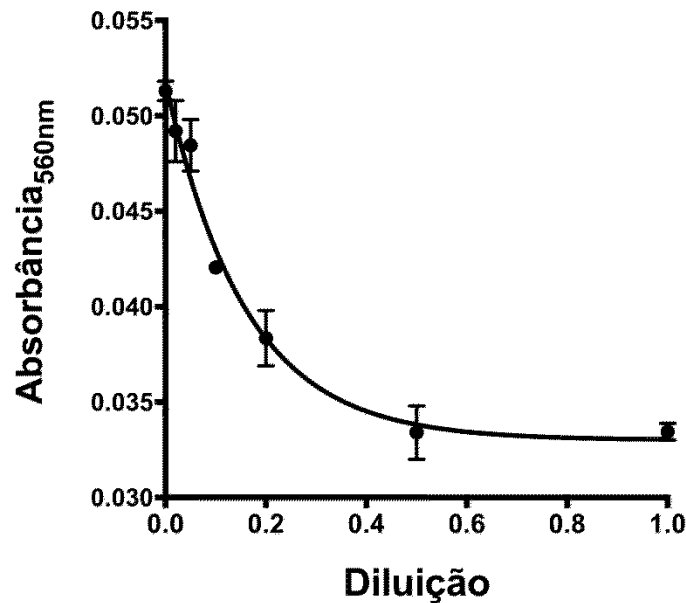
Considerando que a atividade da enzima no homogeneizado é diretamente proporcional a concentração da enzima, a atividade da enzima no homogeneizado diluído 1/15 deve ser 33% maior do que a 1/20 e a diluição 1/10 deve ser 50% maior do que a diluição 1/15, como pode ser visto na figura 2. O coeficiente de determinação de 0,9999 revela a relação direta entre a concentração de AChE no homogeneizado e a atividade dessa colinesterase.



**Figura 2:** Efeito da concentração da enzima acetilcolinesterase (AChE) de encéfalo de Tilápia sobre a atividade enzimática. A variação da absorbância por minuto ( $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ ) em 410 nm reflete a atividade da enzima. Alíquotas do homogeneizado diluído 1:10 (0,1), diluído 1/15 (0,066) e diluído 1:20 (0,05), foram utilizados para determinação da atividade enzimática.

Os testes de validação do método de medida da atividade da SOD foram conduzidos em duplicata, utilizando alíquotas de homogeneizado não diluído e diluído 1:2, 1:5, 1:10, 1:20 e 1:50. Os resultados podem ser vistos no gráfico da figura 3.





**Figura 3:** Efeito da concentração da enzima superóxido dismutase (SOD) de encéfalo de Tilápia sobre a atividade enzimática. A variação da absorbância por minuto ( $\Delta$ Abs/min) em 560 nm reflete a atividade da enzima. Apenas que quanto maior for a quantidade de SOD, menor é o  $\Delta$ Abs/min. Aliquotas do homogeneizado sem diluição diluído (1,0) e diluído 1:2 (0,5), 1:5 (0,2), 1:10 (0,1), 1:20 (0,05), 1:50 (0,02), foram utilizados para determinação da atividade enzimática.

A atividade da SOD foi determinado em homogeneizados sem diluição (1,0), diluídos 1:2 (0,5), 1:5 (0,2), 1:10 (0,1), 1:20 (0,05), 1:50 (0,02) e sem homogeneizado (0). O sistema de reação contém um sistema gerador de superóxido que oxida o NBT, que na sua forma oxidada, absorve luz de 560 nm. A SOD decompõe o superóxido e assim compete com a reação de oxidação do NBT. Assim, o esperado é que o sistema de reação sem homogeneizado deve apresentar o maior valor de Abs/min, pois a oxidação do NBT pelo superóxido não o efeito competitivo da SOD. Por outro lado, também é esperado que quanto maior a quantidade de SOD no homogeneizado, menor deve ser o valor de Abs/min. Isso pode ser observado no gráfico da figura 3. Quanto maior a diluição do homogeneizado (menor quantidade de SOD), maior o valor de Abs/min.

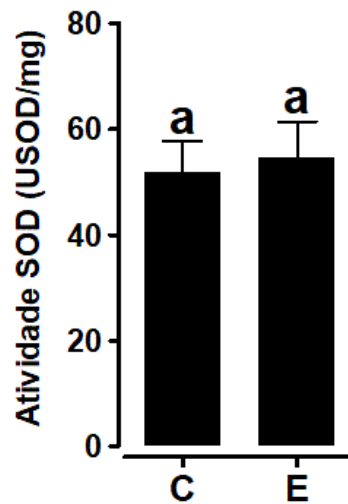
Assim, os resultados de validação dos métodos enzimáticos foram satisfatórios, mostrando que existe linearidade entre tomada de ensaio do homogeneizado e a atividade enzimática.

### **3.3- Análise Estatística**

As comparações estatísticas foram conduzidas no programa “GraphPad Prism 5”. As análises de variância foram conduzidas utilizando teste t não pareado. A normalidade e a homogeneidade dos dados foram verificadas usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Os resultados mostraram um conjunto de dados normais e homogêneos. As diferenças entre as médias dos grupos controle e experimental foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

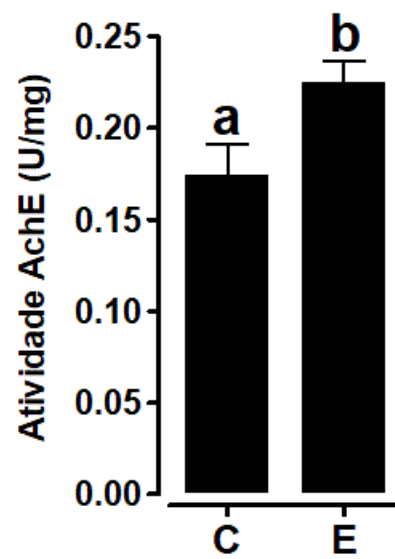
#### 4-RESULTADOS

Os níveis da enzima superóxido dismutase do encéfalo de *N. coriiceps*, dos grupos controle e experimental com esgoto diluído à 0,5%, foram considerados estatisticamente iguais ( $p= 0.7613$ ), como mostrado na figura 4.



**Figura 4:** Atividade específica da enzima superóxido dismutase (SOD) do encéfalo de *Notothenia coriiceps*. Os peixes dos grupos controle (C) e experimental (E) foram mantidos em condições termo-salina próximas da natureza (0°C; 35 psu) por 96h. Letras iguais sobre as barras indicam diferença não significativa para  $p < 0,05$ .

Os níveis de AChE do encéfalo de *N. coriiceps* se mostraram mais elevados nos peixes do grupo experimental em relação aos do grupo controle ( $p= 0,0242$ ; figura 5), mostrando que o efluente do esgoto da EACF foi capaz de modular, no curto prazo, a transmissão neural desse peixe antártico.



**Figura 5:** Atividade específica da enzima acetilcolinesterase (AChE) do encéfalo de *Notothenia coriiceps*. Os peixes dos grupos controle (C) e experimental (E) foram mantidos em condições termo-salinas próximas da natureza (0°C; 35 psu), por 96h. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa para  $p < 0,05$ .

## 5-DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o efluente do esgoto da EACF, diluído à 0,5% (v/v), modulou no curto prazo, os níveis de AChE, que hidrolisa a acetilcolina no processo de transmissão neural. Por outro lado, os níveis de SOD, que é uma enzima chave da defesa antioxidante, não foram modulados pelos poluentes do esgoto.

A atividade da AChE tem sido frequentemente utilizada como biomarcador de poluição, considerando o seu papel na transmissão neural e na sua consequente relevância no controle de atividades fisiológicas envolvidas com a localização de presas, evasão de predadores e a orientação para a alimentação<sup>(52)</sup>.

Estudo com o peixe *Prochilodus lineatus*, mostrou que o efluente de esgoto foi incapaz de modular os níveis enzimáticos encefálicos da defesa antioxidante e da acetilcolinesterase. Contudo, esse tipo de poluição modulou os níveis de enzimas da defesa antioxidante branquial e promoveu lesões oxidativas no fígado, as quais foram marcadas pelo aumento dos níveis de lipoperoxidação (LPO)<sup>(15)</sup>. Os baixos níveis de AChE podem causar um acúmulo de acetilcolina nas sinapses colinérgicas centrais e nas junções neuromusculares dos vertebrados e como consequência disso podem causar distúrbios na locomoção e no equilíbrio desses organismos<sup>(17,53)</sup>, e o aumento da AChE causa a diminuição da disponibilidade de acetilcolina disponível nas sinapses, o que pode causar um comprometimento na atividade motora dos organismos como perda da atividade motora causando múltiplos problemas para o peixe, incluindo o controle da natação e a cessação do movimento opercular<sup>(54)</sup>. Em um estudo com o peixe da espécie *Ictalurus punctatus* foi observado uma diminuição de 90% de atividade neuronal quando o organismo foi exposto a carbamato Aldicarb que é um tipo de pesticida conhecido por causar a inibição da acetilcolinesterase<sup>(55)</sup>, mas mesmo assim os peixes foram capazes de apresentarem apenas sinais moderados de toxicidade, e então foi sugerido que a inibição da AChE muscular é o fator mais importante na mortalidade<sup>(56)</sup>.

Nesse sentido, o efluente da EACF também foi capaz de modular o metabolismo energético e a defesa antioxidante que no metabolismo hepático exposto a curto prazo sofreu um aumento de SOD no fígado, no metabolismo renal também houve um aumento de 114% de SOD à exposição de curto prazo em *N. coriiceps* e no metabolismo branquial essa enzima foi modulada negativamente em exposição de curto prazo com efluente diluído à 0,5% (v/v) do efluente da EACF<sup>(14)</sup>, mas não

modulou os níveis de SOD no encéfalo, como mostrado no presente estudo. Mudanças ambientais naturais ou antrópicas podem elevar a formação de EROS e gerar estresse oxidativo, sendo que os tecidos nem sempre conseguem responder adequadamente, elevando os níveis de enzimas da defesa antioxidante<sup>(1,9)</sup>. A disrupção metabólica de *N. coriiceps*, imposta pelo esgoto da EACF, sugere que esta espécie é mais sensível a esse tipo de poluição do que peixes tropicais, o que pode resultar em efeitos negativos de curto prazo<sup>(47)</sup>. Alterações metabólicas, comprometimento de sistemas fisiológicos e da capacidade reprodutiva, tem sido associados a presença de produtos fármacos e hormônios estrógenos nos efluentes de esgotos humanos<sup>(57,58)</sup>.

Um número pequeno de estudos tem avaliado o efeito da poluição por esgoto sobre a ictiofauna antártica. Corbet *et al.* (2014) mostraram que o esgoto da Estação Australiana de Davis foi capaz de promover alterações histopatológicas no fígado e brânquias do peixe antártico *Trematomus bernacchii*, num gradiente espacial de 2 km. Rodrigues Jr *et al.*, trabalhando com o peixe antártico *N. coriiceps*, mostraram que o efluente do esgoto da EACF foi capaz de modular sensivelmente o metabolismo do fígado, brânquias, rins e musculatura epaxial<sup>(14)</sup>.

Os ausência de modulação dos níveis de SOD do encéfalo de *N. coriiceps*, exposta ao esgoto da EACF, pode ter relação com as junções estreitas do epitélio vascular encefálico<sup>(59)</sup>. Isso pode ter impedido, em parte, a livre difusão de xenobióticos através das paredes capilares, protegendo o sistema nervoso central dos efeitos deletérios de xenobióticos presentes no esgoto.

Por outro lado, o impacto do esgoto sobre os demais tecidos de *N. coriiceps*, pode ter elevado as demandas sensoriais do sistema nervoso central, em resposta ao estresse por poluição<sup>(14)</sup>. Desta forma, os estímulos aferentes e as respostas eferentes do SNC de *N. coriiceps*, podem ter se tornado mais intensas na exposição ao efluente do esgoto da EACF, elevando a propagação de potenciais de ação e a secreção de neurotransmissores nas sinapses, bem como a necessidade de níveis mais elevados de AChE nas bordas das fendas sinápticas do encéfalo de *N. coriiceps*.

## 6-CONCLUSÃO

Os poluentes do esgoto da EACF elevaram a demanda neuro-fisiológica de *N. coriiceps*, marcada pelo aumento dos níveis da principal enzima (AChE) envolvida com a neuro-transmissão motora de vertebrados.

Os poluentes do esgoto não foram capazes de modular a atividade da SOD, uma das principais enzimas da defesa antioxidante do encéfalo de peixes, sugerindo que: a barreira hemato-encefálica pode ter limitado o acesso de boa parte dos poluentes do esgoto da EACF ao sistema nervoso de *N. coriiceps*, protegendo, parcialmente, o sistema nervoso central dos efeitos deletérios de poluentes, ou, o tecido encefálico de *N. coriiceps* apresenta baixa plasticidade metabólica antioxidante na expressão de enzimas da defesa antioxidante, no estresse por esgoto humano.

## 7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2003;13:57–149.
2. Regoli F, Pellegrini D, Winston GW, Gorbi S, Giuliani S, Virno-Lamberti C, et al. Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). *Mar Pollut Bull*. 2002;44(9):912–22.
3. Soengas JL, Aldegunde M. Energy metabolism of fish brain. *Comp Biochem Physiol - B Biochem Mol Biol*. 2002;131(3):271–96.
4. Reichmann ME, Rice SA, Thomas CA, Doty P. A Further Examination of the Molecular Weight and Size of Desoxypentose Nucleic Acid. *Mol Weight Size Desoxypentose Nucleic Acid*. 1954;76(11):3047–53.
5. Renz SV. Dano Oxidativo e Regulação Biológica pelo Radicais Livres. UFRGS. 2002.
6. Barbosa KBF, Costa NMB, De Cássia Gonçalves Alfenas R, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr*. 2010;23(4):629–43.
7. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; 2005. 936 p.
8. Ansaldo M, Luquet CM, Evelson PA, Polo JM, Llesuy S. Antioxidant levels from different Antarctic fish caught around South Georgia Island and Shag Rocks. *Polar Biol*. 2000;23(3):160–5.
9. Abele D, Puntarulo S. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol*. 2004;138(4):405–15.
10. Wilhelm Filho D, Torres MA, Tribess TB, Pedrosa RC, Soares CHL. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Brazilian J Med Biol Res*. 1996;34(6):719–26.
11. Lackner R. “Oxidative stress” in fish by environmental pollutants. *Fish Ecotoxicol*. 1998;203–24.
12. Curtosi A, Pelletier E, Vodopivec CL, Mac Cormack WP, Lurman GJ, Macdonald JA, et al. Sewage organic markers in surface sediments around the Brazilian Antarctic station: Results from the 2009/10 austral summer and historical tendencies. *Antarct Sci* [Internet]. 2010;3(4):329–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polar.2009.12.001>
13. Montone RC, Martins CC, Bicego MC, Taniguchi S, Albuquerque Moreira da Silva D, Campos LS, et al. Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators. *Sci Total Environ* [Internet]. 2010;408(20):4665–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.07.012>



14. Junior ER. Impacto de fatores naturais e antrópicos sobre o metabolismo de Nototeniíodes antárticos. Universidade Federal do Paraná; 2015.
15. Pérez MR, Rossi AS, Bacchetta C, Elorriaga Y, Carriquiriborde P, Cazenave J. In situ evaluation of the toxicological impact of a wastewater effluent on the fish *Prochilodus lineatus*: biochemical and histological assessment. *Ecol Indic.* 2018;84(April):345–53.
16. Kavitha P, Venkateswara Rao J. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pestic Biochem Physiol.* 2007;87(2):182–8.
17. Bálint T, Szegletes T, Szegletes Z, Halasy K, Nemcsók J. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorus methidathion and the pyrethroid deltamethrin. *Aquat Toxicol.* 1995;33(3–4):279–95.
18. Dethloff GM, Schlenk D, Hamm JT, Bailey HC. Alterations in physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/zinc mixtures. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1999;42(3):253–64.
19. Aslan JF, Pinto AEM, De Oliveira MM. Poluição Do Meio Ambiente Marinho: Um Breve Panorama Dos Princípios, Instrumentos Jurídicos E Legislação Brasileira. *Planeta Amaz Rev Int Direito Ambient e Políticas Públicas.* 2018;(9):175.
20. Kennish MJ. *Practical Handbook os Estuarine and Marine Pollution.* Flórida: CRC Press; 1997. 544 p.
21. Montone RC. *Contribuição ao estudo da poluição orgânica no ambiente marinho.* Universidade de São Paulo; 2006.
22. Oliveira LFJ de. *Estudo Da Qualidade Do Sedimento Através De Teste De Toxicidade E Marcadores De Esgoto Na Enseada De Ubatuba - Sp, Brasil. Influência Do Aumento Da População De Veraneio.* Universidade de São Paulo; 2009.
23. Bargagli R. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. *Sci Total Environ* [Internet]. 2008;400(1–3):212–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.062>
24. Turner J, Barrand NE, Bracegirdle TJ, Convey P, Hodgson DA, Jarvis M, et al. Antarctic climate change and the environment: An update. *Polar Rec (Gr Brit).* 2014;50(3):237–59.
25. Summerhayes CP. International collaboration in Antarctica: The International Polar Years, the International Geophysical Year, and the Scientific Committee on Antarctic Research. *Polar Rec (Gr Brit).* 2008;44(4):321–34.
26. Wexler H, Maud Q. Antarctic Research During the International Geophysical Year required : *Antarct Int Geophys Year.* 1956;1.
27. Cohen HK. *Handbook of the Antarctic Treaty System.* United States Departament, Washington. In Washington; 2002. p. 993.
28. Tin T, Liggett D, Lamers M. Setting the Scene: Human Activities, Environmental Impacts and Governance Arrangements in Antarctica Tina. In: *Antarctic Futures:*

- Human Engagement with the Antarctic Environment. 2014. p. 1–360.
29. IAATO. International Association of Antarctica Tour Operators [Internet]. 2016. Available from: <http://www.iaato.org>
  30. Hughes KA, Pertierra LR, Walton DWH. Area protection in Antarctica: How can conservation and scientific research goals be managed compatibly? *Environ Sci Policy* [Internet]. 2013;31:120–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envsci.2013.03.012>
  31. Arigony-Neto J, Simões JC, Bremer UF. Implementation of the Admiralty Bay Geographic Information System , King George Island , Antarctica. *Brazilian Antarct Res*. 2004;190:187–90.
  32. Braun M, Simões JC, Vogt S, Bremer UF, Blindow N, Pfender M, et al. An improved topographic database for King George Island: Compilation, application and outlook. *Antarct Sci*. 2001;13(1):41–52.
  33. Cipro CVZ, Colabuono FI, Taniguchi S, Montone RC. Persistent organic pollutants in bird, fish and invertebrate samples from King George Island, Antarctica. *Antart Sci*. 2013;25(4):545–52.
  34. Bargagli R. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. *Sci Total Environ*. 2008;15.
  35. Curtosi A, Pelletier E, Vodopivec CL, Mac Cormack WP. Distribution of PAHs in the water column, sediments and biota of potter cove, south Shetland Islands, antarctica. *Antarct Sci*. 2009;21(4):329–39.
  36. Lurman GJ, Macdonald JA, Evans CW. Evaluating the impact of environmental pollution on fish in McMurdo Sound, Antarctica: A biomarker approach. *Polar Sci* [Internet]. 2010;3(4):246–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polar.2009.12.001>
  37. Martins CC, Aguiar SN, Bícigo MC, Montone RC. Sewage organic markers in surface sediments around the Brazilian Antarctic station: Results from the 2009/10 austral summer and historical tendencies. *Mar Pollut Bull*. 2012;64(12):2867–70.
  38. Gröndahl F, Sidenmark J, Thomsen A. Survey of waste water disposal practices at Antarctic research stations. *Polar Res*. 2009;
  39. COMNAP-AEON. Waste Management in Antarctica, Antarctic Environmental Officers Network. Council of Managers of National Antarctic Programs; 2006. 157 p.
  40. Stark JS, Kim SL, Oliver JS. Anthropogenic disturbance and biodiversity of marine benthic communities in Antarctica: A regional comparison. *PLoS One*. 2014;9(6).
  41. Corbett PA, King CK, Stark JS, Mondon JA. Direct evidence of histopathological impacts of wastewater discharge on resident Antarctic fish ( *Trematomus bernacchii* ) at Davis Station , East Antarctica. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2014;87(1–2):48–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.08.012>

42. Ngan P Van, Gomes V, Passos MJACR, Ussami KA, Campos DYF, Rocha AJ da S, et al. Biomonitoring of the genotoxic potential (micronucleus and erythrocyte nuclear abnormalities assay) of the Admiralty Bay water surrounding the Brazilian Antarctic Research Station "Comandante Ferraz," King George Island Phan. *Polar Biol.* 2007;30:209–17.
43. Ankley GT, Bencic DC, Breen MS, Collette TW, Conolly RB, Denslow ND, et al. Endocrine disrupting chemicals in fish: Developing exposure indicators and predictive models of effects based on mechanism of action. *Aquat Toxicol.* 2009;92:168–78.
44. Overturf MD, Anderson JC, Pandelides Z, Beyger L, Holdway DA. Pharmaceuticals and personal care products: A critical review of the impacts on fish reproduction. *Crit Rev Toxicol.* 2015;45(6):492–530.
45. Ghosh R, Lokman PM, Lamare MD, Metcalf VJ, Burritt DJ, Davison W, et al. Changes in physiological responses of an Antarctic fish, the emerald rock cod (*Trematomus bernacchii*), following exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Aquat Toxicol* [Internet]. 2013;128–129:91–100. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.11.019>
46. Wild S, Mclagan D, Schlabach M, Bossi R, Hawker D, Cropp R, et al. An Antarctic Research Station as a Source of Brominated and Perfluorinated Persistent Organic Pollutants to the Local Environment. *Environ Sci Technol.* 2015;49:103–12.
47. Junior ER, Feijó-Oliveira M, Suda CNK, Vani GS, Donatti L, Rodrigues E, et al. Metabolic responses of the Antarctic fishes *Notothenia rossii* and *Notothenia coriiceps* to sewage pollution. *Fish Physiol Biochem.* 2015;41(5):1205–20.
48. Corbisier TN, Petti MA V., Skowronski RSP, Brito TAS. Trophic relationships in the nearshore zone of Martel Inlet (King George Island, Antarctica):  $\delta^{13}\text{C}$  stable-isotope analysis Received: *Polar Biol.* 2003;27:75–82.
49. Torres JJ, Somero GN. Metabolism, enzymic activities and cold adaptation in Antarctic mesopelagic fishes. *Mar Biol.* 1988;98:169–80.
50. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric of Acetylcholinesterase determination. *Biochem Pharmacol.* 1961;7:88–95.
51. Kono Y. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Arch Biochem Biophys.* 1978;186(1):189–95.
52. Oliveira MM, Silva Filho M V., Cunha Bastos VLF, Fernandes FC, Cunha Bastos J. Brain acetylcholinesterase as a marine pesticide biomarker using Brazilian fishes. *Mar Environ Res.* 2007;63(4):303–12.
53. Bretaud S, Toutant JP, Saglio P. Effects of carbofuran, diuron, and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicol Environ Saf.* 2000;47(2):117–24.
54. Perkins EJ. In Vivo Acetylcholinesterase Inhibition, Metabolism, and Toxicokinetics of Aldicarb in Channel Catfish: Role of Biotransformation in Acute

- Toxicity. *Toxicol Sci.* 2000;53(2):308–15.
55. Maxwell DM, Koplovitz I, Worek F, Sweeney RE. A structure-activity analysis of the variation in oxime efficacy against nerve agents. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;231(2):157–64.
  56. Guiloski IC, da Silva EG, Nishikawa CM, de Assis HC da S. Atividade da colinesterase em cérebro e músculo de *Corydoras paleatus* (Pisces, Teleostei) expostos ao carbaril. *Rev Acadêmica Ciência Anim.* 2017;8(4):461.
  57. Corcoran J, Winter MJ, Tyler CR. Pharmaceuticals in the aquatic environment : A critical review of the evidence for health effects in fish. *Crit Rev Toxicol.* 2010;40(4):287–304.
  58. Tanoue R, Nomiya K, Nakamura H, Kim J, Isobe T, Shinohara R, et al. Uptake and Tissue Distribution of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wild Fish from Treated-wastewater Impacted Streams. *Environ Sci Technol.* 2015;
  59. Soengas JL, Aldegunde M. Energy metabolism of fish brain. *Comp Biochem Physiol.* 2002;131:271–96.

**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBi/UNITAU**  
**Biblioteca Setorial de Biociências**

**V443i** Veloso, Samantha Izildinha  
Impacto do esgoto sobre a defesa antioxidante e a neurotransmissão no encéfalo de *Notothenia coriiceps* / Samantha Izildinha Veloso. – 2019.  
36f. : il.

Monografia (Graduação) – Universidade de Taubaté, Departamento de Ciências Biológicas, 2019.  
Orientador: Prof. Dr. Edson Rodrigues, Departamento de Ciências Biológicas.

1. Esgoto. 2. Defesa antioxidante. 3. Neurotransmissão. 4. Peixe antártico. I. Título.

CDD- 597