

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos
Trópicos

EMILLY VALENTIM DE SOUZA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE BIOMARCADORES DA BIOLOGIA REDOX NO
FÍGADO DE FÊMEAS DE *ZEBRAFISH* EXPOSTAS AO METILPARABENO E AO
ÁCIDO 4-HIDROXIBENZÓICO

MACEIÓ - ALAGOAS
Março/2025

EMILLY VALENTIM DE SOUZA

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE BIOMARCADORES DA BIOLOGIA REDOX NO
FÍGADO DE FÊMEAS DE *ZEBRAFISH* EXPOSTAS AO METILPARABENO E AO
ÁCIDO 4-HIDROXIBENZÓICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Conservação da Biodiversidade Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Lázaro Wender Oliveira de Jesus

Co-orientadora: Prof. Dra. Jerusa Maria de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Robson Guimarães dos Santos

**MACEIÓ - ALAGOAS
Março/2025**

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 - 1767

S729a Souza, Emilly Valentim de.

Avaliação comparativa de biomarcadores da biologia redox no fígado de fêmeas de zebrafish expostas ao metilparabeno e ao ácido 4-hidroxibenzóico / Emilly Valentim de Souza. – 2025.

97 f. : il.

Orientador: Lázaro Wender Oliveira de Jesus.

Co-orientadora: Jerusa Maria de Oliveira.

Co-orientador: Robson Guimarães dos Santos.

Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos. Maceió, 2025.

Inclui bibliografias.

1. Defesa antioxidante. 2. Ecotoxicologia. 3. Parabenos. 4. Peixes. 5. Poluição da água. I. Título.

CDU: 597

Folha de aprovação

Emilly Valentim de Souza

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE BIOMARCADORES DA BIOLOGIA REDOX NO FÍGADO DE FÊMEAS DE ZEBRAFISH EXPOSTAS AO METILPARABENO E AO ÁCIDO 4-HIDROXIBENZÓICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS na área da Biodiversidade.

Dissertação aprovada em 21 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **LAZARO WENDER OLIVEIRA DE JESUS**
Data: 21/03/2025 18:18:35-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr.^(a) Presidente – Lazaro Wender de Oliveira
de Jesus/UFAL
(orientador)

Documento assinado digitalmente
 **TACIANA KRAMER DE OLIVEIRA PINTO**
Data: 21/03/2025 17:52:07-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr.^(a) – Taciana Kramer de Oliveira Pinto

Documento assinado digitalmente
 **ROBSON GUIMARAES DOS SANTOS**
Data: 21/03/2025 19:19:27-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

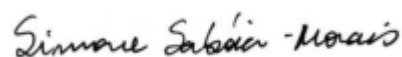
Dr.^(a) - Robson Guimarães dos Santos
(coorientador)

Documento assinado digitalmente
 **RENATA GUIMARAES MOREIRA WHITTON**
Data: 21/03/2025 17:27:46-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr.^(a) – Renata Guimaraes Moreira Whitton

Documento assinado digitalmente
 **JERUSA MARIA DE OLIVEIRA AMORIM**
Data: 21/03/2025 17:59:37-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dra. Jerusa Maria de Oliveira Amorim
(coorientadora)



Dr.^(a) – Simone Maria Teixeira de Sabóia
Morais

MACEIÓ - AL
Março/2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, pelo amor incondicional e pelo suporte em cada etapa desta jornada. Àqueles que sempre acreditaram em mim, incentivando-me a seguir em frente, mesmo diante dos desafios.

Dedico à minha mãe, dona Fátima, e ao meu pai, seu Eraldo, que nunca duvidaram do quanto eu poderia ir além e sempre foram minha base, sustentando-me quando pensei que não conseguiria.

Dedico também à minha doce Aurora, por quem tomei a decisão de fazer a seleção para o mestrado, quando ela ainda estava no meu ventre. Aurora é a razão pela qual não desisto dos meus sonhos. Brinco que essa dissertação também é dela, já que ela tinha cerca de 1 mês quando comecei o mestrado.

Dedico ao meu companheiro e amor, Anderson. Sem seu apoio e incentivo, eu não teria aguentado os dias mais difíceis. Sua calma me mantém firme e protegida.

Dedico à minha amiga e irmã de coração, Ariana, que sempre acreditou no meu potencial, mesmo quando eu mesma tinha minhas dúvidas.

Dedico também aos professores e mentores que me inspiraram com seu conhecimento e dedicação, e a todos que se unem no sonho de transformar a ciência em soluções concretas para um mundo mais sustentável.

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta dissertação não seria possível sem o apoio e a contribuição de muitas pessoas, às quais expresso minha mais profunda gratidão.

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada seria possível. Todas as coisas boas que vivo, incluindo experiências como esta, só acontecem graças à Sua gentileza e graça.

Agradeço à minha família, por estar sempre ao meu lado, oferecendo suporte, compreensão e motivação nos momentos mais solicitados.

À minha “Mainha” (Maria de Fátima), por cuidar da minha Aurora para que eu pudesse realizar meu mestrado. Todas as horas e dias que passei longe foram mais tranquilos porque eu sabia que não havia lugar mais seguro para minha filha, do que nos braços dela.

Ao meu “Painho” (Eraldo Valentim), pelo apoio incondicional e torcida incansável. Por todas as vezes que me buscou na UFAL tarde da noite ou nos finais de semana, quando me levava para alimentar os peixes. Seu orgulho sempre foi um dos maiores incentivadores da minha caminhada até aqui.

Ao meu bem, Anderson, pelo cuidado não apenas com nossa Aurora, mas também comigo. Sua compreensão, paciência e incentivo diários foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Você me faz acreditar que sou capaz de tudo!

Ao meu orientador, Prof. O Dr. Lázaro Wender, por sua orientação, paciência e incentivo ao longo de todo o processo de pesquisa. Suas contribuições foram fundamentais tanto para o desenvolvimento deste trabalho quanto para o meu crescimento acadêmico e profissional.

À Dra. Jerusa Oliveira, uma pessoa que Deus colocou na minha vida em situações tão diversas e cruciais. Sou imensamente grata pelo seu apoio e orientação. Se um dia eu puder ser ao menos um pouco da cientista que você é, já me sinto grande, porque você é gigante.

Aos amigos de laboratório e de pesquisa, em especial à Luciana Floresta, Dhandara Evelyn, Bianca Carnib, Ana Carla, Valberth Nunes e João Pedro, pelo apoio técnico e pela

parceria ao longo dessa caminhada. O ambiente colaborativo e as trocas de conhecimento foram essenciais para o progresso deste estudo, além de todas as risadas compartilhadas que tornaram os dias difíceis mais leves.

Aos meus amigos da turma do mestrado, que foram a melhor surpresa que o PPG DIBICT me trouxe. Mariana, Alicia, Milene, Ingredy e Afonso, o laço que criamos foi essencial para chegar até aqui. Quem mais poderia entender tão bem tudo que vivi nessa jornada, senão vocês? Obrigada por todas as risadas e aventuras que vivemos juntos.

Aos meus amigos de fora da vida acadêmica, pelos momentos de descontração e companhia. Arianne, Eduardo, Felipe, Karina, Andreza, Thamirys e Wemilly, obrigada por acreditarem em mim e por me perdoarem pelas vezes em que sumi por semanas (e até meses).

À Priscylla Dantas, que, mesmo de longe, continua me apoiando e sendo minha confidente, ouvindo meus desabaços e me aconselhando sobre uma fase da vida que eu estou vivendo e que ela já viveu. Em você, tenho um exemplo de profissional que desejo me tornar um dia.

À UFAL e ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos (PPG DIBICT), pelo acolhimento e pelas oportunidades de aprendizado e crescimento. Fazer parte desse programa me proporcionou não apenas conhecimento, mas também conexões valiosas que levarei para toda a vida.

As agências de fomento CAPES pela bolsa de mestrado concedida e FAPEAL, pelo auxílio à pesquisa (E:60030.0000000161/2022) que possibilitaram a realização deste estudo.

E, por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, desenvolveram para a realização desta pesquisa. Cada palavra de incentivo e cada gesto de apoio fizeram toda a diferença nesta jornada.

**"O importante é não parar de questionar.
A curiosidade tem sua própria razão de existir."
Albert Einstein**

RESUMO

Os parabenos têm sido amplamente utilizados em produtos industriais, cosméticos e alimentícios, devido à sua eficácia na prevenção de contaminação microbológica e na preservação de produtos. Contudo, o crescente uso desses compostos tem gerado preocupações sobre seu impacto na saúde animal, humana e ambiental. Embora os parabenos sejam habitualmente detectados em diferentes ambientes aquáticos, a compreensão de seus efeitos sistêmicos sobre organismos aquáticos ainda é limitada. O presente estudo utilizou como modelo animal fêmeas adultas de zebrafish (*Danio rerio*) para avaliar os efeitos ecotoxicológicos da exposição subaguda ao metilparabeno (MeP), um dos parabenos mais utilizados e detectados, bem como ao ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB), seu principal metabólito. Após a exposição das fêmeas a concentrações ambientalmente relevantes de MeP e 4-HB (1,0 e 10,0 µg/L) por 7 dias, foram avaliados parâmetros biométricos da água e múltiplos biomarcadores no fígado, tais como índice hepatossomático, desbalanço redox e estresse oxidativo no fígado. Os dados biométricos e o IHS não apresentaram alterações após o curto período de exposição. A atividade antioxidante foi alterada, com um aumento significativo na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) em todos os grupos expostos a ambos os parabenos. Os animais expostos ao MeP e ao 4-HB apresentaram uma redução significativa na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), além de alterações nos níveis de tiol total (T-SH), com respostas mais expressivas nas maiores concentrações testadas (10 µg/L). De forma geral, os grupos expostos ao 4-HB apresentaram maior toxicidade redox, indicando maior capacidade desse metabólito em comprometer os sistemas antioxidantes hepáticos. Por outro lado, a atividade da enzima glutatona-S-transferase (GST) não apresentou alterações significativas. A peroxidação lipídica, avaliada pelos níveis de malondialdeído (MDA), aumentou significativamente nos grupos expostos ao 4-HB e à maior concentração de MeP, indicando dano oxidativo às diferentes membranas celulares. O aumento nos níveis de proteína total nos grupos tratados com 4-HB indica possíveis respostas adaptativas do organismo. Nossos achados corroboram estudos prévios nos

quais o MeP provoca desequilíbrio redox e danos oxidativos. Entretanto, de forma inédita, demonstramos que a exposição ao 4-HB causou maior toxicidade hepática em comparação ao MeP, com efeitos mais expressivos na redução das defesas antioxidantes e no aumento da peroxidação lipídica. Os resultados demonstraram que o 4-HB causou maior impacto no fígado das fêmeas de zebrafish em comparação ao MeP. Os resultados sugerem que a exposição subaguda a ambos os parabenos, e especialmente ao 4-HB, representa um maior impacto na homeostase redox e possivelmente ao metabolismo hepático em peixes, evidenciando a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre os efeitos ecotoxicológicos da exposição ao 4-HB, visto que se trata de um metabólito comum aos diferentes parabenos parentais e tem sido ubiquamente detectado no ambiente e em amostras de organismos aquáticos.

Palavras-chave: defesa antioxidante, ecotoxicologia, parabenos, peixes, poluição aquática

COMPARATIVE ASSESSMENT OF REDOX BIOLOGY BIOMARKERS IN THE LIVER OF FEMALE ZEBRAFISH EXPOSED TO METHYLPARABEN AND 4-HYDROXYBENZOIC ACID

ABSTRACT

Parabens have been widely used in industrial, cosmetic, and food products due to their effectiveness in preventing microbial contamination and preserving products. However, the increasing use of these compounds has raised concerns about their impact on animal, human, and environmental health. Although parabens are frequently detected in various aquatic environments, understanding their systemic effects on aquatic organisms remains limited. This study used adult female zebrafish (*Danio rerio*) as an animal model to evaluate the ecotoxicological effects of subacute exposure to methylparaben (MeP), one of the most commonly used and detected parabens, as well as 4-hydroxybenzoic acid (4-HB), its primary metabolite. After exposing the females to environmentally relevant concentrations of MeP and 4-HB (1.0 and 10.0 µg/L) for seven days, multiple biomarkers in the liver were assessed, including biometric parameters, the hepatosomatic index, redox imbalance, and oxidative stress. Biometric data and the hepatosomatic index showed no significant alterations after the short exposure period. However, antioxidant activity was affected, with a significant increase in reactive oxygen species (ROS) production in all groups exposed to both parabens. Animals exposed to MeP and 4-HB exhibited a reduction in the activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), with more pronounced reductions associated with 4-HB, especially at the higher concentration. Conversely, total thiol (T-SH) levels, an antioxidant capacity biomarker, and the activity of glutathione-S-transferase (GST) showed no significant changes compared to the control group. Lipid peroxidation, evaluated through malondialdehyde (MDA) levels, significantly increased in groups exposed to 4-HB and the higher concentration of MeP, indicating oxidative damage to cell membranes. On the other hand, the increase in total protein levels in 4-HB-treated groups suggests possible adaptive responses by the organism. Our findings support previous studies showing that MeP induces redox imbalance and oxidative

damage. However, for the first time, we demonstrate that exposure to 4-HB results in greater hepatic toxicity compared to MeP, with more pronounced effects on the reduction of antioxidant defenses and the increase in lipid peroxidation. The results indicate that 4-HB had a more significant impact on the liver of female zebrafish compared to MeP. These findings suggest that subacute exposure to both parabens, especially 4-HB, has a greater impact on redox homeostasis and possibly hepatic metabolism in fish, highlighting the need for further investigations into the ecotoxicological effects of 4-HB exposure. Given that 4-HB is a common metabolite of various parent parabens and has been ubiquitously detected in the environment and aquatic organisms, further research is crucial.

Key-word: Antioxidant defense, ecotoxicology, parabens, fish, aquatic pollution

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da presença de contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos	20
Figura 2 – Bioacumulação e biomagnificação de contaminantes em aquários.....	22
Figura 3 – Estrutura química Metilparabeno e Ácido 4-hidroxibenzóico.....	25
Figura 4 – Estrutura e localização da enzima superóxido dismutase.....	33
Figura 5 – Mecanismo de ação da catalase.....	34
Figura 6 – Representação do mecanismo de ação da GST e GSH.....	36
Figura 7 – Mecanismo de formação do malondialdeído (MDA).....	37
Figura 8 – Zebrafish como modelo experimental em estudos toxicológicos.....	41
Figura 9 – Níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) no fígado de fêmeas de zebrafish expostas a 1,0 e 10 ug/L de Metilparabeno (MeP) e ao ácido 4- hidroxibenzóico (4-HB) por sete dias.....	70
Figura 10 – Atividades das enzimas antioxidantes (A) superóxido dismutase - SOD, (B) catalase - CAT e (C) glutathione-S-transferase - GST - no fígado de fêmeas de zebrafish expostas a 1,0 e 10 ug/L de Metilparabeno (MeP) e ácido 4- hidroxibenzóico (4-HB) por sete dias.....	71
Figura 11 – Efeitos da exposição ao Metilparabeno (MeP) e ao ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) nos parâmetros bioquímicos no fígado de fêmeas de zebrafish.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos aferidos na água dos aquários ao longo dos dias de exposição aos tratamentos.....	69
Tabela 2 – Parâmetros biométricos e índice hepatossomático (IHS) de fêmeas de zebrafish expostas a diferentes concentrações de metilparabeno (MeP) e ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) por sete dias.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CECs – Contaminantes de Preocupação Emergente (*Contaminants of Emerging Concern*)

EDCs – Desreguladores Endócrinos (*Endocrine-Disrupting Chemicals*)

PPCPs – Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (*Pharmaceuticals and Personal Care Products*)

MeP – Metilparabeno

PrP – Propilparabeno

EtP – Etilparabeno

BuP – Butilparabeno

4HB – Ácido 4-hidroxibenzóico

MDA – Malondialdeído

EROS – Espécies Reativas de Oxigênio (*Reactive Oxygen Species*)

SOD – Superóxido Dismutase

CAT – Catalase

GST – Glutathione S-transferase

GSH – Glutathione Reduzida

OECD – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (*Organisation for Economic Co-operation and Development*)

IHS – Índice Hepatosomático

BAFs – Fatores de Bioacumulação (*Bioaccumulation Factors*)

BSAFs – Fatores de Acúmulo Biota-Sedimento (*Biota-Sediment Accumulation Factors*)

TMF – Fator de Ampliação Trófica (*Trophic Magnification Factor*)

VTG – Vitelogenina

REL – Retículo endoplasmático liso

CRH – Hormônio Liberador de Corticotropina (*Corticotropin-Releasing Hormone*)

HPG – Eixo Hipotálamo-Pituitária-Gonadal (*Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis*)

°C – Graus Celsius

µg/L – Micrograma por litro

ng/g – Nanograma por grama

mg/L – Miligrama por litro

mmol/L – Milimol por litro

μmol/L – Micromol por litro

nmol/g – Nanomol por grama

μmol min⁻¹ g⁻¹ – Micromol por minuto por grama

kU/mg – Quilo unidades por miligrama de proteína

ppt – partes por trilhão

μS/cm – microsiemens por centímetro

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Apresentação	17
CAPÍTULO 2 – Revisão de literatura.....	19
1.1 Poluição ambiental e contaminantes de preocupação emergente	19
1.2 Parabenos e o seu potencial ecotoxicológico	21
1.3 Biologia Redox	29
1.3.1 Superóxido Dismutase (SOD).....	31
1.3.2 Catalase (CAT).....	32
1.3.3 Glutathione S-Transferase (GST) e Glutathione Reduzida (GSH).....	33
1.3.4 Malondialdeído (MDA).....	34
1.3.5 Espécies reativas de oxigênio (EROS).....	36
1.3.6 T-SH.....	37
1.4 Importância do Fígado para o Metabolismo Animal.....	38
1.5 Índice Hepatosomático (IHS) e sua Importância.....	39
1.6 Índice Hepatosomático (IHS) e sua Importância.....	40
Referências	45
CAPÍTULO 3 - Estresse oxidativo em fêmeas de zebrafish expostas ao Metilparabeno e seu metabólito ácido 4-hidroxibenzóico: Implicações para a homeostase hepática	58
Resumo.....	58
2 Introdução.....	60
3.1 Material e métodos.....	64
3.2.1 Manutenção das fêmeas de zebrafish.....	64
3.2.2 Bioensaio.....	64
3.2.3 Coleta de amostras biológicas e biometria.....	65

3.2.4 Análises bioquímicas.....	66
3.2.5 Análise estatística.....	68
3.4 Resultados.....	69
3.5 Discussão.....	74
3.6 Conclusão.....	81
3.7 Perspectivas futuras.....	82
Referências.....	83

CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO

O crescimento populacional e a intensificação das atividades industriais têm resultado na introdução de diversos contaminantes de preocupação emergentes (CECs) nos ecossistemas aquáticos, entre eles os parabenos. Esses compostos são amplamente utilizados em produtos cosméticos, farmacêuticos e alimentícios devido às suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas. No entanto, substâncias como o metilparabeno (MeP) e o propilparabeno (PrP) têm sido frequentemente detectadas em águas residuais e corpos hídricos, mesmo em concentrações da ordem de microgramas ou nanogramas por litro ($\mu\text{g/L}$ ou ng/L). Apesar dessas concentrações serem relativamente baixas, os parabenos possuem potencial para causar impactos ambientais significativos, afetando a saúde de organismos aquáticos (Haman et al., 2015; Derisso et al., 2020; Santos et al., 2016).

A presença desses contaminantes tem sido associada a diversos efeitos adversos, incluindo desregulação endócrina, toxicidade reprodutiva, estresse oxidativo e danos ao DNA. Esses impactos podem comprometer a sobrevivência e a reprodução de espécies aquáticas, alterando a dinâmica populacional e a estrutura dos ecossistemas (Routledge et al., 1998; Hu et al., 2023; Penha et al., 2021). Além disso, os parabenos e seus metabólitos, como o ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB), apresentam potencial de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar aquática, podendo atingir concentrações preocupantes em organismos de níveis tróficos superiores (Zhu et al., 2024; Xue et al., 2017).

A bioacumulação de parabenos em tecidos de peixes e outros organismos aquáticos têm sido associada a efeitos tóxicos crônicos, como hepatotoxicidade, neurotoxicidade e embriotoxicidade (Dasmahapatra et al., 2024). Estudos de toxicidade em diferentes fases do ciclo de vida têm demonstrado que a exposição a parabenos pode levar a um desbalanço no sistema redox dos organismos aquáticos, comprometendo a homeostase celular (Dasmahapatra et al., 2024). A alteração no equilíbrio entre espécies

reativas de oxigênio (ROS) e os mecanismos antioxidantes pode resultar em danos estruturais e funcionais, afetando processos fisiológicos essenciais (Dasmahapatra et al., 2024). Esses efeitos tóxicos podem se manifestar de maneira aguda ou crônica, dependendo da concentração e do tempo de exposição aos compostos.

A bioacumulação e biomagnificação dos parabenos na cadeia alimentar representam uma ameaça adicional à biodiversidade e à saúde dos ecossistemas aquáticos (McMullen et al., 2024). Estudos demonstram que esses compostos podem se acumular nos tecidos de organismos aquáticos, aumentando sua concentração ao longo da cadeia alimentar (Zhu et al., 2024; Xue et al., 2017). Esse fenômeno pode expor predadores de topo a concentrações elevadas de parabenos, resultando em impactos tóxicos que podem comprometer a estrutura e a funcionalidade das comunidades aquáticas.

Os efeitos deletérios dos parabenos não se restringem a organismos individuais, mas podem gerar impactos em cascata em níveis populacionais e ecossistêmicos, reduzindo a resiliência das populações e afetando a estabilidade das cadeias alimentares (Xu et al., 2024). Diante desse contexto, a contaminação por parabenos e outros CECs se configura como uma ameaça significativa à biodiversidade e à estabilidade ecológica dos ecossistemas aquáticos (Błędzka et al., 2014). Portanto, torna-se essencial a realização de estudos que avaliem os efeitos toxicológicos desses compostos e identifiquem estratégias eficazes de mitigação.

Esta dissertação é composta por uma revisão de literatura na temática acima apresentada e, a seguir, por um manuscrito no formato de artigo científico, o qual teve como objetivo avaliar os efeitos toxicológicos de concentrações ambientalmente relevantes do metilparabeno (MeP) e de seu metabólito ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) no fígado de fêmeas de *Zebrafish* (*Danio rerio*).

CAPÍTULO 2 - REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Poluição ambiental e contaminantes de preocupação emergente

O aumento populacional vem ocorrendo de forma acelerada nas últimas décadas e, em paralelo, o crescimento industrial. Por consequência, também tem aumentado os problemas ambientais, devido à perturbação nos diferentes ecossistemas, com reflexos na qualidade do solo, da água e do ar (Gomes da Silva et al., 2020). A água é o recurso natural de maior importância, pois é essencial para a manutenção da vida no planeta (Singh, 2024). O lançamento constante e crescente de contaminantes provenientes de esgotos tratados e brutos, águas para abastecimento público e águas de setores industriais tem gerado grande preocupação devido à presença de substâncias com potencial prejudicial ao meio ambiente, à saúde animal e à saúde humana (Theerthagiri et al., 2021).

Os sistemas agroindustriais e agropecuários são também grandes fontes de contaminação ambiental devido ao uso intensivo de fertilizantes, pesticidas e antibióticos, além do despejo de resíduos orgânicos e químicos em corpos hídricos (El-Ramady et al., 2022). O escoamento superficial desses compostos pode levar à eutrofização de rios e lagos, comprometendo a biodiversidade aquática e a qualidade da água (Zhou et al., 2023). Além disso, metais potencialmente tóxicos e resíduos de defensivos agrícolas podem se acumular nos sedimentos e tecidos de organismos aquáticos, promovendo bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia trófica (Gao et al., 2021). A presença de hormônios e antibióticos provenientes da pecuária também representa um risco significativo, uma vez que podem atuar como desreguladores endócrinos e contribuir para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana em microrganismos ambientais (Wilkinson et al., 2017).

A poluição de ambientes aquáticos é decorrente de uma variedade de substâncias produzidas pela indústria, dentre elas estão os chamados contaminantes de preocupação emergente (CECs). Estes são compostos por substâncias orgânicas e inorgânicas, como produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs), pesticidas e compostos desreguladores endócrinos (EDCs), e sua presença vem sendo detectada em diversos ecossistemas aquáticos (Richardson; Kimura, 2016; Wilkinson et al, 2017, Arshad et al., 2024). Essas substâncias estão sendo produzidas e comercializadas globalmente, sendo inseridas no ambiente através de resíduos industriais, agrícolas e esgoto doméstico, contaminando assim os corpos hídricos (Arshad et al., 2024). Ainda que sejam encontrados em baixas concentrações nos ambientes aquáticos ($\mu\text{g/L}$ ou ng/L), se faz necessário investigar seu comportamento no ecossistema, avaliando o potencial de desregulação endócrina e ecotoxicológico, uma vez que há pouco conhecimento sobre seus efeitos (Gao et al., 2021).

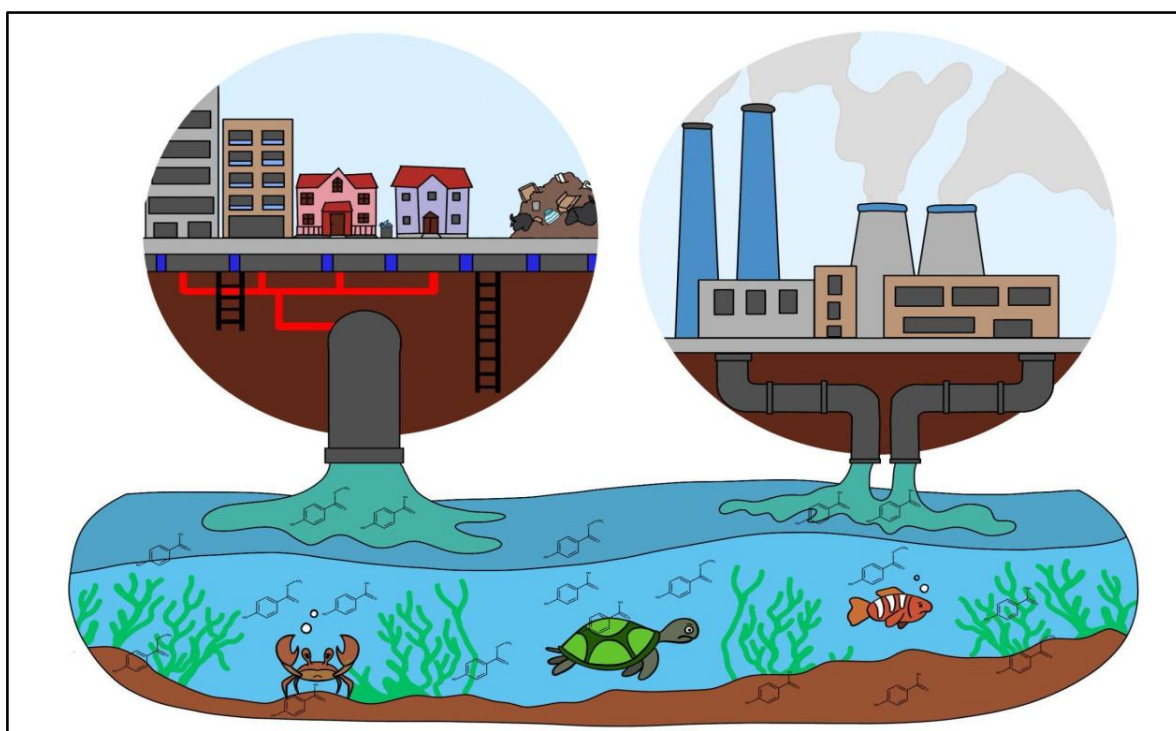


Figura 1. Fontes de contaminação aquática por poluentes emergentes. A imagem ilustra o despejo de efluentes domésticos e industriais em corpos d'água, destacando a presença de compostos químicos que podem impactar a fauna aquática e os ecossistemas.

1.2 Parabenos e o seu potencial ecotoxicológico

Os parabenos são um grupo de compostos químicos derivados do ácido p-hidroxibenzoico (PHBA), caracterizados por apresentarem um anel benzênico ligado a um grupo hidroxila (-OH) e a um grupo éster (-COOR) (Safarova et al., 2022). Sua estrutura química geral pode ser representada pela fórmula $\text{HO-C}_6\text{H}_4\text{-COOR}$, onde R representa diferentes cadeias alquilas ou arilas, determinando o tipo de parabeno (Figura 2) (Safarova et al., 2022). Esses compostos possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas, sendo amplamente utilizados como conservantes em produtos cosméticos, farmacêuticos e alimentares (Silveira et al., 2024; Chatterjee et al., 2024; Ramutshatsha-Makhwedzha & Munonde, 2024). Sua capacidade de inibir o crescimento de micro-organismos os torna eficazes na preservação de produtos de uso humano e industrial (Silveira et al., 2024).

Os diferentes tipos de parabenos variam de acordo com a cadeia lateral ligada ao grupo éster da molécula (Figura 2) (Safarova et al., 2022). Entre os mais comuns, destaca-se o metilparabeno (MeP), cuja fórmula molecular é $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ e que contém um grupo metila (-CH₃) como cadeia lateral (Figura 2). Ele apresenta alta solubilidade em água e é amplamente utilizado em cosméticos e produtos farmacêuticos (Haseeb, 2025). O etilparabeno (EtP), com fórmula $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, possui um grupo etila (-CH₂CH₃) e tem propriedades semelhantes às do MeP, mas com leve diferença em solubilidade e potência antimicrobiana (Haseeb, 2025). O propilparabeno (PrP) ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$) apresenta um grupo propila (-CH₂CH₂CH₃) e maior atividade antimicrobiana, especialmente contra fungos (Haseeb, 2025). O butilparabeno (BuP) ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$) contém um grupo butila (-CH₂CH₂CH₂CH₃), sendo menos solúvel em água, mas altamente eficaz na inibição do crescimento microbiano (Haseeb, 2025).

Além desses, o benzilparabeno (BzP) ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$) possui um grupo benzila (-CH₂C₆H₅) e, embora menos comum, é utilizado em algumas formulações cosméticas (Haseeb, 2025). Variantes estruturais como o isopropilparabeno e o isobutilparabeno apresentam ramificações em suas cadeias laterais alquilas, conferindo diferentes graus

de solubilidade e eficácia antimicrobiana (Figura 2). Outro composto relevante é o ácido 4-hidroxibenzoico (4-HB) ($C_7H_6O_3$), que é o metabólito primário dos parabenos após sua degradação no organismo ou no meio ambiente (Vale et al., 2022) (Figura 2). O 4-HB é o principal metabólito dos parabenos, sendo produzido no fígado a partir da hidrólise por parte de enzimas esterases hepáticas (Abbas et al., 2010). Em diversas espécies vegetais, o 4-HB pode ocorrer naturalmente tanto sob a forma livre quanto como um conjugado glicosídico (Yang et al., 2018; Rudenko et al., 2023).

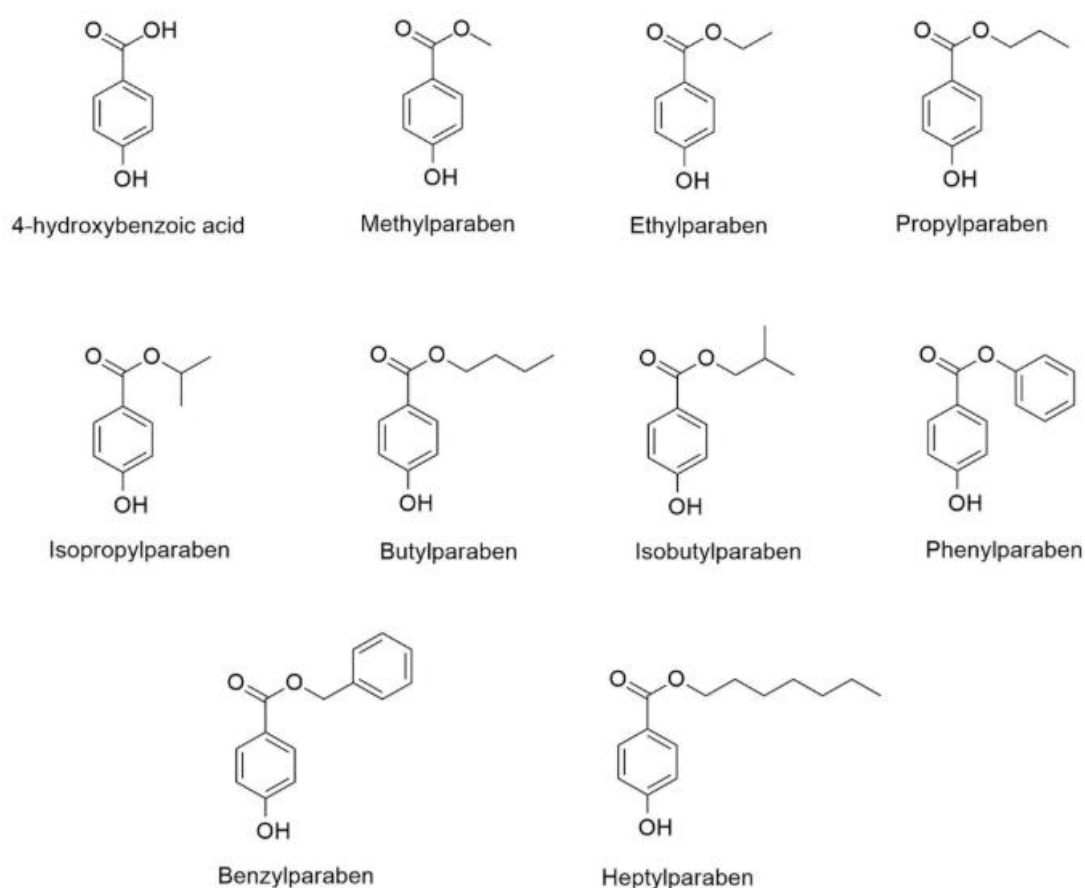


Figura 2. Estrutura química dos parabenos comumente empregados em formulações comerciais e industriais e também do ácido p-hidroxibenzoico (Silveira et al., 2024).

Os parabenos estão presentes em até 90% dos produtos cosméticos e têm sido detectados em águas residuais e corpos hídricos, especialmente na Europa, com

concentrações variando de 30.000 ng/L para MeP e 20.000 ng/L para PrP (Haman et al., 2015). No Brasil, Derisso et al. (2020) identificaram a presença de parabenos em quatro córregos da cidade de São Carlos, município de São Paulo, onde EtP e BuP tiveram concentrações de 0,38 a 6,40 µg/L e 2,50 a 11,00 µg/L , respectivamente. No mesmo estudo foi identificado também a presença de MeP e PrP em concentrações de até 0,98 µg/L o MeP e 0,70 a 7,90 µg/L o PrP. Um outro estudo realizado em um rio de Curitiba, no Paraná, detectou a presença de MeP até 2875 ng/L, EtP entre 310 e 381 ng/L, BuP com concentrações até 286 ng/L e PrP com concentrações de até 486 ng/L (Santos et al., 2016).

Os metabólitos dos parabenos são formados tanto por processos de biotransformação enzimática em organismos vivos quanto por biodegradação ambiental na água e no solo (Mishra et al., 2022). O principal metabólito gerado é o 4-HB, resultante da hidrólise da ligação éster dos parabenos (Mishra et al., 2022). Esse metabólito é altamente persistente no ambiente e pode ser detectado em diversos organismos aquáticos e terrestres.

Nos organismos animais, os parabenos são rapidamente metabolizados após a absorção, predominantemente no fígado, mas também nos rins, intestino e tecidos periféricos (Dasmahapatra et al., 2024; Alkafajy et al., 2020). A metabolização ocorre em duas fases principais: na Fase I, os parabenos sofrem hidrólise da ligação éster pela ação de esterases, gerando o metabólito primário 4-HB (Maia et al., 2023). Esse processo acontece rapidamente, o que explica a baixa bioacumulação dos parabenos inalterados no organismo. Já na Fase II, o 4-HB pode sofrer conjugação com ácido glicurônico ou sulfato, facilitando sua excreção pela urina e reduzindo sua toxicidade (Maia et al., 2023). Além do 4-HB, outros metabólitos secundários, como os conjugados glicuronídeos e sulfatos do MeP, EtP, PrP e BuP, podem ser formados antes da eliminação (Maia et al., 2023). A rápida metabolização e excreção urinária dos parabenos levam à sua detecção frequente em amostras biológicas humanas, como urina, sangue e leite materno (Wei et al., 2021).

No ambiente, os parabenos podem sofrer biodegradação microbiana tanto na água quanto no solo, levando à formação de metabólitos similares aos encontrados em organismos vivos (Vale et al., 2022). Na água, a degradação ocorre por ação de bactérias e fungos presentes em corpos hídricos e em estações de tratamento de esgoto, onde a principal via metabólica envolve a quebra da ligação éster, liberando o 4-HB (Maia et al., 2023). No solo, micro-organismos do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus* são capazes de degradar parabenos, resultando na formação de 4-HB e, em alguns casos, de intermediários como hidroquinona e catecol, que podem ser posteriormente convertidos em CO₂ e água (Kar et al., 2020).

A bioacumulação e biomagnificação de contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos são fatores críticos para compreender seus potenciais impactos ambientais e toxicológicos (Figura 3) (McMullen et al., 2024). Estudos recentes avaliaram a presença e transferência trófica do MeP e de seu metabólito 4-HB (Figura 3) em diferentes cadeias alimentares, demonstrando padrões distintos de bioacumulação e biomagnificação para esses compostos (Zhu et al., 2024; Xue et al., 2017; Peng et al., 2018).

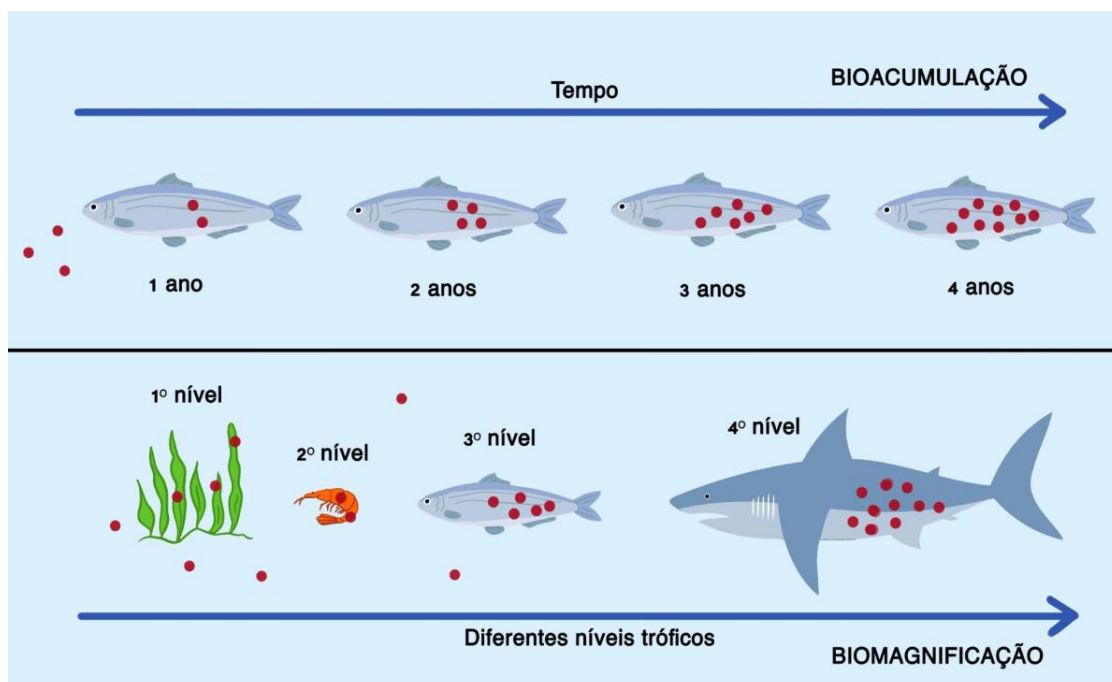


Figura 3. Representação da bioacumulação e biomagnificação de contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos.

No estudo de Zhu et al. (2024) no Golfo de Beibu, foi observado que o MeP e o 4-HB eram contaminantes predominantes em organismos marinhos, com concentrações variando de 0,18–13,77 ng/g e 13,48–222,24 ng/g, respectivamente. Embora a bioacumulação tenha sido limitada, com fatores de bioacumulação (BAFs) abaixo de 5000, os fatores de acúmulo biota-sedimento (BSAFs) foram elevados, indicando bioacumulação significativa dos sedimentos. O MeP apresentou biomagnificação na cadeia alimentar (TMF de 2,88), enquanto o 4-HB teve um TMF de 0,45 (Zhu et al.; 2024), sugerindo diluição trófica devido a seu metabolismo mais rápido.

A bioacumulação dos parabenos nos organismos têm revelado um padrão consistente entre os estudos. Peng et al. (2018) observaram em peixes de água doce da bacia hidrográfica do Rio das Pérolas, na China, que o fígado foi o órgão com as maiores concentrações de MeP e 4-HB, seguido pelo ovário, tecido adiposo e músculos dorsais,

respectivamente, reforçando a importância do fígado como órgão de bioacumulação. Esses achados estão alinhados com os resultados de Zhao et al. (2019), que identificaram fatores de bioacumulação (BAFs) variando entre 0,11 e 5,07, com destaque para o 4-HB, que apresentou forte tendência de bioacumulação ($\log \text{BAF} > 3,7$) em peixes. O fator de bioacumulação (BAF) é uma medida da capacidade de um organismo acumular um contaminante a partir do meio ambiente, levando em consideração a absorção via exposição direta e alimentação (Burkhard et al., 2021). Valores de $\log \text{BAF}$ superiores a 3 indicam uma alta propensão à bioacumulação, o que pode representar um risco ecológico significativo. Além disso, Peng et al. (2018) identificaram um aumento nas concentrações de parabenos à medida que os peixes cresciam, indicando bioacumulação dependente do tamanho corporal. Esses resultados sugerem que, embora os parabenos sejam rapidamente metabolizados, seu metabólito primário, o 4-HB, pode persistir e se acumular em tecidos específicos, aumentando os riscos potenciais para os organismos expostos.

Estudos recentes indicam que os parabenos, especialmente o MeP, são os compostos predominantes encontrados em diferentes compartimentos ambientais, com potencial de bioacumulação em organismos aquáticos. Em ambientes marinhos, MeP e PrP foram os compostos mais detectados, com concentrações de MeP variando entre 4,42 ng/g dw em corais, 5,95 ng/g dw em sedimentos e 3,58 ng/g dw em algas (Ge et al., 2024). A maior concentração nos sedimentos sugere que os parabenos podem sofrer deposição e acumulação nesses ambientes, enquanto a detecção em corais reforça o potencial de absorção desses compostos por organismos filtradores (Ge et al., 2024).

Estudos com lagostins demonstraram que MeP e PrP são os parabenos predominantes, sendo o MeP detectado em concentrações médias de 3,69 ng/g no hepatopâncreas e 0,39 ng/g no músculo (Xu et al., 2024). Esses resultados indicam que a bioacumulação ocorre de forma mais intensa em órgãos metabólicos e de filtração, o que pode estar relacionado à maior afinidade destes compostos por tecidos lipofílicos e ao metabolismo dos crustáceos (Xu et al., 2024).

Em peixes marinhos, MeP foi o parabeno mais detectado, com concentrações variando entre 6,82 e 25,3 ng/g ww em *Round scad* e 6,21 a 17,2 ng/g ww em *Greater lizardfish* (Pham et al., 2024). A presença desses compostos em diferentes espécies sugere um risco potencial de transferência trófica, especialmente em cadeias alimentares marinhas. Já em ambientes de água doce, como lagos, MeP também se destacou como o parabeno mais prevalente, com concentrações de 2,07 ng/L na água e 2,5 ng/g nos sedimentos (Fu et al., 2023). Esses valores indicam que, embora os parabenos sejam solúveis em água, parte deles pode se associar a partículas e se depositar nos sedimentos, contribuindo para sua persistência no ambiente.

Estudos de bioacumulação em espécies de peixes detectaram o 4-HB em concentrações muito mais altas do que os parabenos originais, chegando a valores acima de 68.000 ng/g em certas espécies de bivalves filtradores (Xue et al., 2017). O mesmo estudo também encontrou altas concentrações de 4-HB em diversas espécies de peixes, incluindo tubarões como Tubarão-martelo-panã (*Great hammerhead*), Tubarão-galha-preta (*Blacktip shark*), com acúmulo significativo nos rins (4110 ± 5354 ng/g, peso úmido) (Xue et al., 2017). Já no estudo conduzido por Tran-Lam et al. (2023) na costa do Vietnã, os pesquisadores detectaram altas concentrações de MeP e 4-HB em peixes marinhos, com valores expressivos na espécie *largehead hairtail* (*Trichiurus lepturus*) (MeP: 32,8 ng/g; 4-HB: 8822 ng/g de peso seco). Além disso, a pesquisa revelou biomagnificação significativa para o MeP e 4-HB, com TMFs superiores a 1, diferentemente do que foi observado por Zhu et al. (2024). Esses resultados indicam que os padrões de bioacumulação e ampliação trófica podem variar entre diferentes ecossistemas, dependendo de fatores como a biotransformação dos compostos, a estrutura da teia alimentar e características físico-químicas do ambiente.

Os parabenos tiveram sua atividade estrogênica descrita pela primeira vez por Routledge et al. (1998), em estudos *in vitro* (com leveduras) e *in vivo* (com ratos), nos quais foi observada uma relação entre a estrogenicidade e o comprimento da cadeia do éster do parabeno. Os primeiros estudos a avaliar os efeitos tóxicos e endócrinos dos

parabenos e seus metabólitos não encontraram evidências de que o 4-HB cause desregulação na via hipotálamo-pituitária-gonadal (HPG) (Pedersen et al., 2000). No experimento, juvenis de trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foram expostas ao 4-HB por meio de injeção intraperitoneal em diferentes concentrações (100 e 300 mg/kg), com uma segunda administração realizada no 6º dia e análise dos biomarcadores no 12º dia.

Com o passar dos anos, tem aumentado a preocupação com os efeitos negativos dos parabenos sobre o equilíbrio ecológico (Błędzka et al., 2014). A embriotoxicidade (Hu et al., 2023) e o estresse oxidativo também são efeitos deletérios que podem ser causados pelo MeP e demais parabenos (Hu et al., 2022; Penha et al., 2021).

Mais recentemente, alguns estudos investigaram os impactos da exposição a concentrações sub-letais ou ambientalmente relevantes de parabenos (Merola et al., 2020; Penha et al., 2021). Liang et al. (2023) expuseram embriões de *Danio rerio* a diferentes concentrações de parabenos por 120 horas, com renovação diária das soluções, utilizando MeP (20, 100 e 200 µM), EtP (20, 50 e 100 µM), PrP (2, 5 e 10 µM) e BuP (1, 2 e 5 µM). Após a exposição, observaram um aumento na expressão de VTG, indicando a indução da vitelogenina (VTG) em resposta ao PrP, MeP, EtP e BuP. Esses resultados sugerem que a exposição precoce a parabenos pode ativar genes relacionados à disrupção endócrina, reforçando o potencial desses compostos em alterar processos fisiológicos associados ao desenvolvimento reprodutivo no *Zebrafish*. Adicionalmente, Hu et al. (2023) demonstraram que, após período de exposição de 28 dias ao MeP (1, 3 e 10 µg/L), *Danio rerio* adulto pode ter sua atividade neural afetada, uma vez que tanto machos quanto fêmeas apresentaram um feedback negativo ao longo do eixo neuroendócrino de estresse, regulando negativamente as transcrições do hormônio liberador de corticotropina (CRH) e sua proteína de ligação, o que afetou as concentrações de cortisol no sangue.

Além disso, Hu et al. (2022) identificaram hepatotoxicidade em zebrafish expostos a concentrações de 0, 1, 3 e 10 µg/L de MeP por 28 dias, com exposição subcrônica

resultando em vacuolização hepatocelular em todos os grupos expostos. O efeito mais severo foi observado em fêmeas expostas a 10 µg/L, com ruptura da membrana celular e núcleos reduzidos. O MeP também causou desequilíbrio no estresse oxidativo, desregulando o metabolismo lipídico no fígado, intestino e sangue, além de alterar transcrições de receptores nucleares lipídicos e as concentrações dos principais metabólitos. Em outro estudo, Penha et al. (2021) relataram que zebrafish expostos por 96h a 50 mg/L de MeP apresentaram aumento na lipoperoxidação das brânquias e maior frequência de micronúcleos nos eritrócitos, indicando danos ao DNA.

Após 12 dias de exposição a MeP, EtP, PrP, BuP, BzP e uma mistura de MeP e PrP, as defesas antioxidantes e os danos oxidativos em brânquias e fígado de tilápias do Nilo foram avaliados (Silva et al., 2018). Os resultados indicaram que a exposição aos parabenos causou alterações bioquímicas significativas. A atividade das enzimas SOD, GPx e GR aumentou nas brânquias e no fígado, enquanto a atividade da CAT apresentou pouca ou nenhuma alteração (Silva et al., 2018). O conteúdo de GSH-t no fígado diminuiu após 6 dias, mas aumentou após 12 dias, sugerindo uma adaptação antioxidante dos peixes. Em relação à peroxidação lipídica, não foram observadas alterações nas brânquias, enquanto no fígado, os níveis de MDA foram reduzidos após 12 dias de exposição à mistura de parabenos, indicando proteção contra danos oxidativos (Silva et al., 2018). Esses resultados sugerem respostas adaptativas dos peixes, as quais contribuem para a proteção contra danos oxidativos.

Dessa forma, os impactos da bioacumulação e biomagnificação do MeP e 4-HB vão além da toxicidade individual, estendendo-se para níveis populacionais e ecossistêmicos. A interferência no equilíbrio redox e no metabolismo dos organismos compromete sua sobrevivência e reprodução, gerando efeitos em cascata que podem reduzir a resiliência das populações e comprometer a estrutura das cadeias alimentares (EDO et al., 2024). Esses fatores ressaltam a importância de monitorar e mitigar a contaminação por esses compostos, visando à preservação da biodiversidade e à manutenção da estabilidade ecológica dos ambientes aquáticos (Satkar et al., 2024).

1.3 Biologia Redox

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de EROS e a capacidade do sistema antioxidante de neutralizá-las, levando a danos oxidativos em lipídeos, proteínas e DNA na célula (Houldsworth, 2024). O fígado, devido à sua função central no metabolismo e na detoxificação de xenobióticos, é particularmente vulnerável a esse tipo de estresse (Esteves et al., 2021). Para avaliar o impacto dos contaminantes ambientais no desbalanço redox, biomarcadores bioquímicos são amplamente utilizados em diferentes tecidos e órgãos (Esteves et al., 2021). Esses biomarcadores incluem enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e a glutathione S-transferase (GST), a proteína glutathione reduzida (GSH) e o marcador da peroxidação lipídica, o malondialdeído (MDA), (Demirci-Cekic et al., 2022). O desequilíbrio redox ocorre quando há desregulação entre os processos de oxidação e redução nas células, levando ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) e comprometendo a homeostase celular (Ye et al., 2015).

O desequilíbrio redox pode ser classificado em três categorias, dependendo da intensidade dos estímulos e da capacidade adaptativa do organismo, conforme Niki (2018), Sies (2019) e Aschbacher & Mason (2020):

- ***Diestress (estresse negativo)***: ocorre quando há um acúmulo excessivo de espécies reativas de oxigênio (EROS) que supera os mecanismos antioxidantes do organismo. Esse desequilíbrio resulta em danos celulares, inflamação crônica e comprometimento da homeostase fisiológica. O *diestress* está associado a diversas doenças, como câncer, neurodegeneração, diabetes e disfunções cardiovasculares. Além disso, pode desencadear respostas comportamentais adversas, como ansiedade e depressão, devido à ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e ao aumento dos níveis de cortisol.

- ***Eustress (estresse positivo)***: refere-se a um nível controlado de estresse oxidativo que atua como um estímulo benéfico para o organismo. Pequenos aumentos na

produção de EROS podem ativar vias de sinalização celular que melhoram a resistência ao estresse e fortalecem os sistemas antioxidantes endógenos. Esse tipo de estresse está relacionado a melhorias no desempenho físico e cognitivo, auxiliando em processos de adaptação fisiológica, como a resposta imune e a neuroplasticidade.

- **Sustress (estresse neutro ou intermediário):** representa um estado de equilíbrio entre a produção de EROS e a capacidade antioxidante do organismo. O *sustress* ocorre quando o organismo enfrenta desafios moderados que não ultrapassam sua capacidade de adaptação. Embora não induza impactos negativos imediatos, a exposição prolongada a esse estado pode, a longo prazo, comprometer a resiliência celular e predispor o organismo a condições patológicas caso ocorra um aumento inesperado da carga oxidativa.

A distinção entre essas três formas de estresse oxidativo é essencial para entender como o organismo responde a diferentes estímulos ambientais e fisiológicos, além de ser um fator crítico na regulação da saúde celular e no desenvolvimento de estratégias para prevenir doenças associadas ao desequilíbrio redox.

1.3.1 Espécies reativas de oxigênio (EROS)

As espécies reativas de oxigênio (EROS) desempenham um papel crucial para a biologia celular pois participam de diferentes mecanismos celulares como sinalizações celulares, na resposta imune, indução de morte celular programada (apoptose) e diferenciação celular. (Demirci-Çekiç et al., 2022)., Radicais e livre como o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), e moléculas reativas como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), dentre outras são consideradas EROS e são geradas naturalmente no metabolismo celular, principalmente na mitocôndria. (Demirci-Çekiç et al., 2022). No entanto, quando sua produção excede a capacidade antioxidante do organismo, ocorre um desequilíbrio redox, levando a danos em biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA (Demirci-Çekiç et al., 2022). Por isso, a mensuração das EROS é amplamente utilizada na toxicologia como biomarcadores para avaliar a exposição de organismos aquáticos a

contaminantes, sendo um indicador precoce de disfunções celulares induzidas por poluentes (D'Souza et al., 2024).

1.3.2 Superóxido Dismutase (SOD)

A SOD é a primeira linha de defesa antioxidante, sendo responsável pela conversão do radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Jomova et al., 2024). Estudos mostram que a exposição ao MeP pode reduzir significativamente a atividade da SOD, tornando as células mais suscetíveis ao estresse oxidativo (Hu et al., 2023).

Existem três isoformas principais da SOD, cada uma localizada em compartimentos celulares distintos e dependentes de cofatores metálicos para sua atividade (Zheng et al., 2023) (Figura 4):

- **SOD1 (Cu/Zn-SOD):** Localizada predominantemente no citoplasma, utiliza cobre e zinco como cofatores. Atua na neutralização dos radicais superóxido gerados no citosol e no espaço intermembranar mitocondrial.
- **SOD2 (Mn-SOD):** Encontrada na matriz mitocondrial, essa isoforma utiliza manganês como cofator e é essencial para proteger as mitocôndrias contra danos oxidativos, pois essa organela é uma das principais fontes de ROS.
- **SOD3 (EC-SOD):** Localizada no espaço extracelular, também utiliza cobre e zinco como cofatores. Atua na neutralização dos radicais superóxido na matriz extracelular, protegendo as células de danos oxidativos provenientes do meio externo.

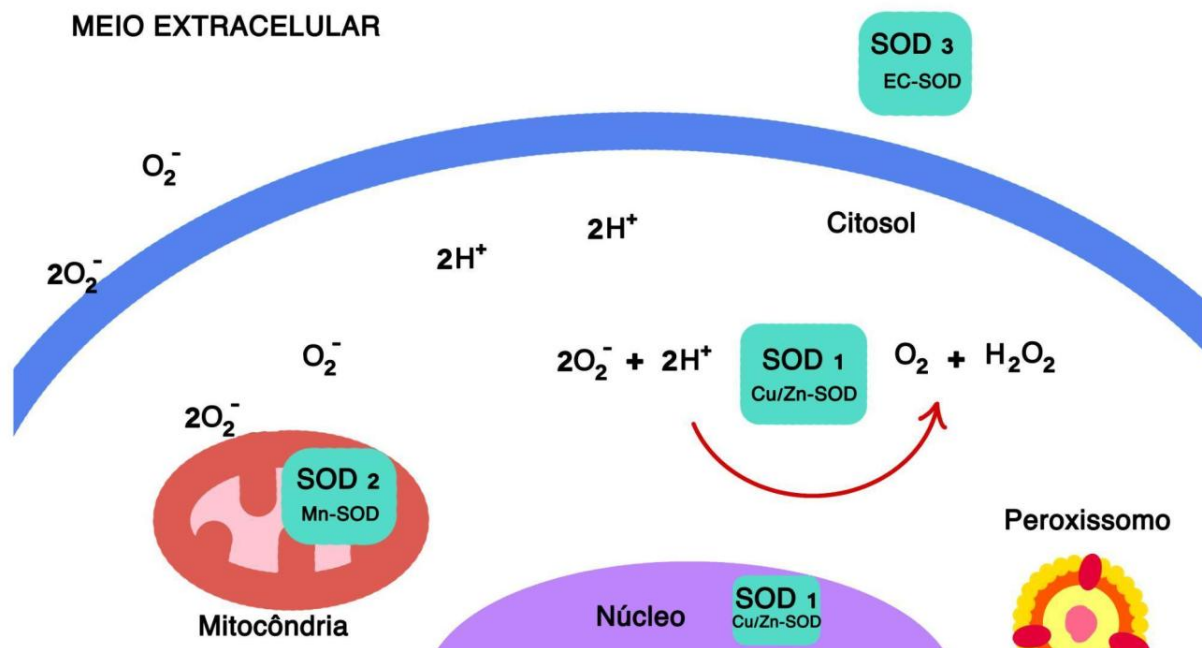


Figura 4. Localização e função das isoformas da enzima superóxido dismutase (SOD) na célula. A figura ilustra a distribuição das três principais isoformas da SOD: SOD1 (Cu/Zn-SOD) no citosol e núcleo, SOD2 (Mn-SOD) na mitocôndria e SOD3 (EC-SOD) no meio extracelular. Essas enzimas desempenham um papel essencial na defesa antioxidante, convertendo o ânion superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2), reduzindo o estresse oxidativo e protegendo a integridade celular (Rosa et al., 2021).

1.3.3 Catalase (CAT)

A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante essencial que protege as células contra o estresse oxidativo ao converter o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio (Figura 5) (Aebi, 1984). Presente principalmente nos peroxissomos, citosol, mitocôndrias e eritrócitos, sua atividade é crucial para manter a homeostase redox (Mahomoodally & MA-L, 2022). O mecanismo de ação da CAT ocorre em duas etapas: primeiro, o H_2O_2 se liga ao ferro do grupo heme da enzima, formando um intermediário reativo; em seguida, um segundo H_2O_2 reduz esse intermediário, regenerando a enzima e liberando água e oxigênio (Mahomoodally & MA-L, 2022).

A exposição a poluentes ambientais pode afetar a atividade da CAT de duas formas principais: inibição ou super ativação (Wei et al., 2016). Metais pesados, pesticidas

e compostos orgânicos podem inibir a enzima ao se ligarem ao seu sítio ativo ou induzirem danos oxidativos (Ighodaro & Akinloye, 2018). Já exposições moderadas a poluentes podem estimular temporariamente sua expressão como mecanismo de defesa. Assim, a avaliação da atividade da catalase serve como um importante biomarcador para mensurar o impacto da poluição na saúde dos organismos.

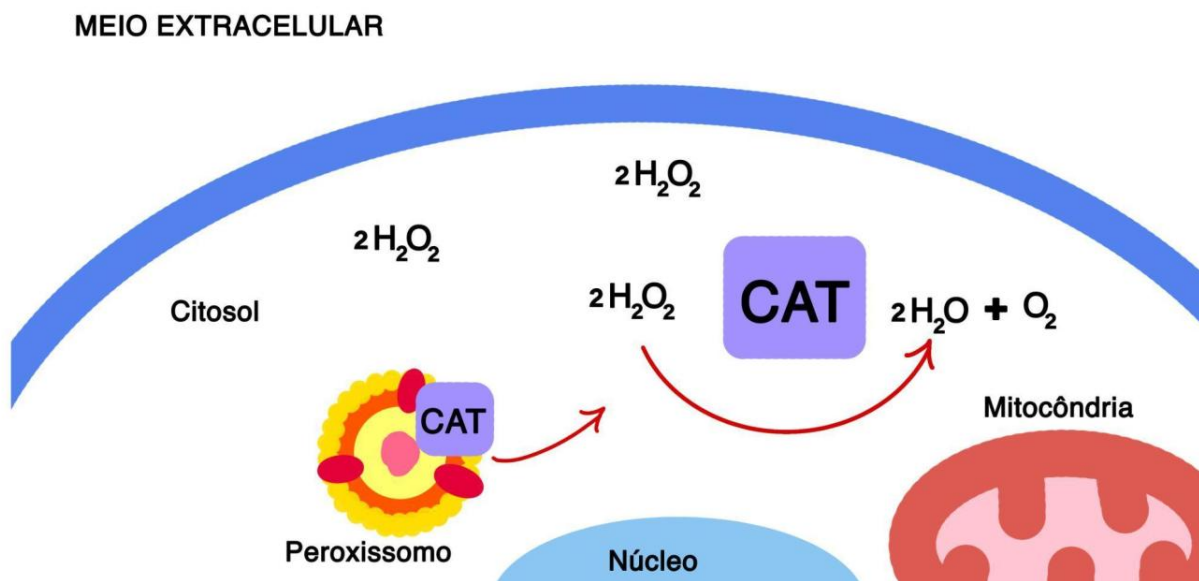


Figura 5. Representação esquemática do mecanismo de ação da catalase (CAT), uma enzima antioxidante fundamental localizada principalmente nos peroxissomos. A CAT catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um subproduto do metabolismo celular, em água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2). Esse processo é essencial para a manutenção da homeostase celular, prevenindo o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) que podem causar danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA (Nandi et al., 2019).

1.3.4 Glutathione S-Transferase (GST) e Glutathione Reduzida (GSH)

A glutathione S-transferase (GST) desempenha um papel crucial na proteção celular contra danos oxidativos e na detoxificação de xenobióticos (BK et al., 2022). Essa enzima catalisa a conjugação da glutathione reduzida (GSH) a compostos tóxicos eletrofílicos, tornando-os mais solúveis em água e facilitando sua excreção pelo organismo (Figura 6) (Bhagat & Ingole, 2015; Potęga, 2022).

O mecanismo de ação da GST ocorre em duas etapas principais (Potęga, 2022):

1. **Reação com o xenobiótico:** O grupo tiol (-SH) da GSH reage com compostos tóxicos eletrofílicos, formando um conjugado estável e menos reativo.
2. **Excreção do conjugado:** O produto formado é direcionado para eliminação, geralmente pela via urinária ou biliar (Hayes et al., 2005).

A GST é uma enzima crucial na biotransformação de xenobióticos, sendo uma das principais enzimas da fase 2 do processo. A GST também desempenha um papel vital na neutralização de peróxidos lipídicos gerados durante o estresse oxidativo, prevenindo danos adicionais às membranas celulares (Potêga, 2022). No entanto, uma exposição prolongada a altos níveis de xenobióticos pode sobrecarregar a GST, aumentando sua atividade e levando ao acúmulo de EROS. Esse aumento das EROS agrava a peroxidação lipídica e promove o aumento dos níveis de malondialdeído (MDA), um marcador de dano celular induzido pelo estresse oxidativo (Bhagat & Ingole, 2015). A ativação excessiva da GST pode ser um reflexo de um mecanismo de defesa do organismo, mas quando desregulada, pode resultar em disfunções celulares e tecidos danificados, contribuindo para o desenvolvimento de diversas doenças, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas (Bhagat & Ingole, 2015).

A GSH, por sua vez, é um antioxidante não enzimático essencial na neutralização de EROS e na regeneração de outros antioxidantes celulares (Moussa et al., 2019). Sua presença é fundamental para a proteção contra danos oxidativos, atuando em conjunto com a GST para reduzir compostos tóxicos e minimizar os impactos do estresse oxidativo no organismo (Moussa et al., 2019).

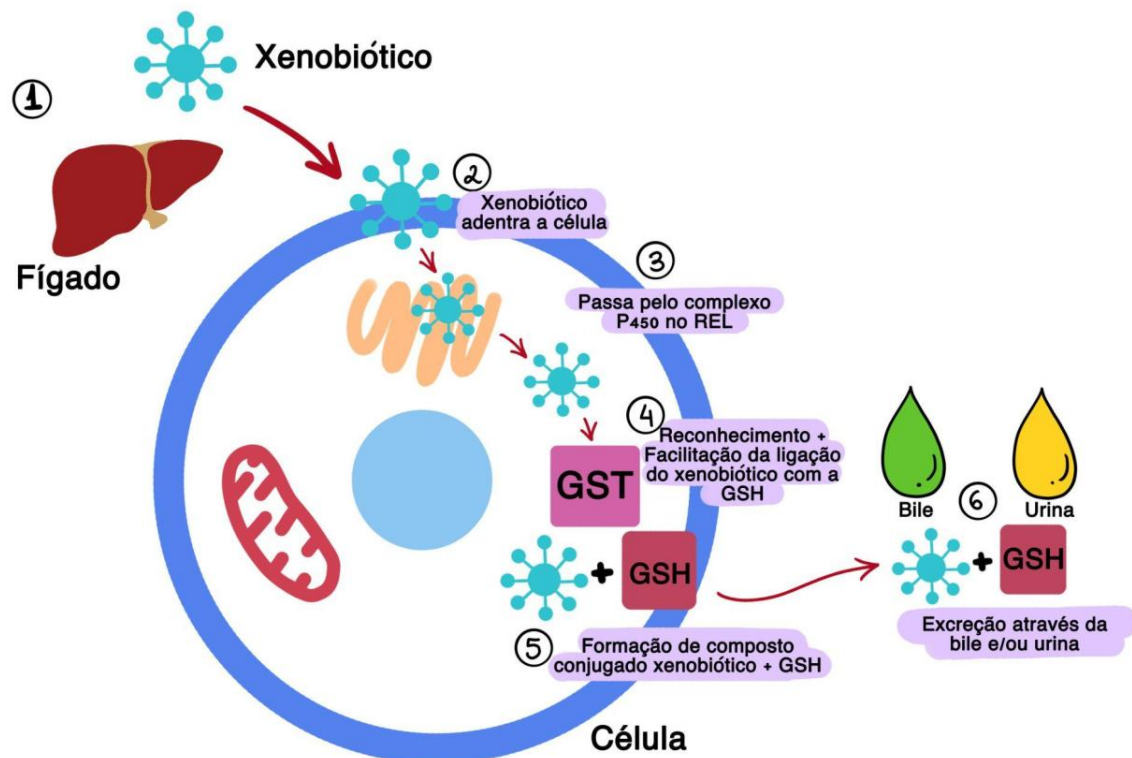


Figura 6. Representação esquemática do mecanismo de ação da glutatona S-transferase (GST) e da glutatona reduzida (GSH) na detoxificação celular. A GST catalisa a conjugação da GSH a xenobióticos e compostos eletrofílicos tóxicos, tornando-os mais hidrossolúveis para posterior excreção. Esse mecanismo é essencial para a defesa celular contra estresse oxidativo e danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROS), contribuindo para a homeostase redox e a proteção de macromoléculas como lipídios, proteínas e DNA (LV et al., 2023).

1.3.5 Malondialdeído (MDA)

O MDA é também um biomarcador amplamente utilizado para avaliar os danos celulares resultantes do estresse oxidativo (Demirci-Cekic et al., 2022). Ele é gerado como um produto final de peroxidação lipídica, um processo no qual radicais livres em excesso atacam os lipídios das membranas celulares, especialmente os ácidos graxos poli-insaturados (Demirci-Cekic et al., 2022) (Figura 7). Níveis elevados de MDA indicam um

aumento no dano oxidativo, refletindo a insuficiência do sistema antioxidante em neutralizar as EROS (Kwiecien et al., 2014).

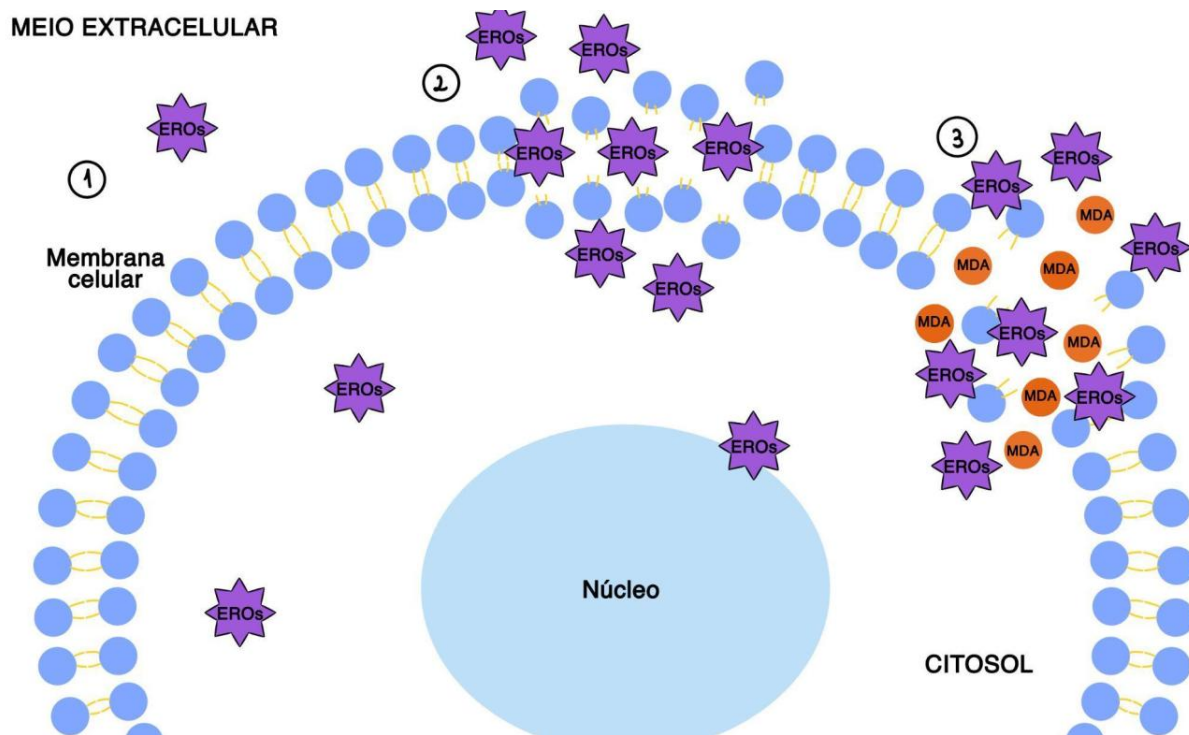


Figura 7. Representação esquemática do mecanismo de formação do malondialdeído (MDA) a partir da peroxidação lipídica. O MDA é um subproduto da degradação de ácidos graxos poli-insaturados devido ao ataque de espécies reativas de oxigênio (EROS). Esse processo inicia-se com a oxidação de lipídios de membrana, resultando na formação de radicais livres e hidroperóxidos lipídicos, que posteriormente se degradam em aldeídos reativos, como o MDA. Esse composto é amplamente utilizado como biomarcador de estresse oxidativo, estando associado a danos celulares e inflamação (Huang et al., 2020).

1.3.6 T-SH

Os T-SH (T-SH) são compostos orgânicos caracterizados pela presença do grupo funcional sulfidríla (-SH), que confere a essas moléculas propriedades antioxidantes e redox-reguladoras (Cerkezi et al., 2024). Eles podem ser encontrados tanto em pequenas moléculas, como a glutathiona (GSH), quanto em proteínas, como nas cisteínas, onde

desempenham um papel crucial na estabilidade estrutural e na função enzimática (Cerkezi et al., 2024).

Na biologia, os T-SH são essenciais para a defesa celular contra o estresse oxidativo, pois participam de reações de óxido-redução (redox), neutralizando as EROS e prevenindo danos a lipídios, proteínas e DNA (Poimenova et al., 2024). Além disso, atuam na detoxificação de xenobióticos, na manutenção da homeostase celular e na sinalização intracelular (Ali et al., 2022). Na toxicologia, os T-SH são frequentemente utilizados como biomarcadores da capacidade antioxidante, uma vez que seu nível pode indicar a resposta do organismo a contaminantes ambientais e a alterações no equilíbrio redox (Poimenova et al., 2024). A redução na concentração de T-SH sugere um aumento do estresse oxidativo, enquanto sua elevação pode representar uma resposta adaptativa ao dano oxidativo (Poimenova et al., 2024).

1.4 O fígado e seu papel no metabolismo

O fígado desempenha um papel fundamental na homeostase do organismo, atuando na metabolização de nutrientes, armazenamento de energia e biotransformação de xenobióticos (Casotti et al., 2019). Ele é responsável por processos como a desintoxicação de compostos químicos e a síntese de proteínas essenciais ao metabolismo celular (Casotti et al., 2019). Além disso, o fígado exerce funções vitais, como a síntese de proteínas plasmáticas, incluindo albumina e fatores de coagulação, que são essenciais para a manutenção da pressão osmótica do sangue e para a cascata de coagulação (Hao, 2020; Cherian, 2024). Também está envolvido na produção de fatores de crescimento, armazenamento de ferro na forma de ferritina, metabolismo de biomoléculas como carboidratos, lipídios e aminoácidos, e na conversão e armazenamento da vitamina A (Hao, 2020; Cherian, 2024).

O fígado ainda desempenha um papel importante na remoção de hemácias envelhecidas, facilitando a degradação da hemoglobina e a reciclagem do ferro, além de ser responsável pela produção e secreção da bile, fundamental para a digestão e absorção de lipídios no intestino (Cherian, 2024). Essas múltiplas funções reforçam sua relevância na manutenção da homeostase e na resposta do organismo a diferentes agentes químicos e metabólicos.

A exposição a contaminantes ambientais pode comprometer a função hepática, afetando a atividade enzimática e promovendo o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (Cano et al., 2021). Como resultado, podem ocorrer danos oxidativos às membranas celulares, levando à perda de integridade dos hepatócitos, morte celular e a disfunções metabólicas (Lința et al., 2024). Além disso, o fígado é um dos principais órgãos onde ocorre a bioacumulação de xenobióticos (Edo et al., 2024; Topić Popović et al., 2023), tornando-se um alvo primário para avaliação dos efeitos tóxicos do MeP e 4-HB (Lința et al., 2024).

A análise de biomarcadores hepáticos, como atividade antioxidante e níveis de peroxidação lipídica, permite uma avaliação detalhada da toxicidade de contaminantes emergentes (Zhou et al., 2023). Estudos demonstram que alterações na atividade de enzimas como SOD, CAT e GST no fígado de peixes expostos a poluentes podem indicar o comprometimento da homeostase redox, refletindo impactos negativos no metabolismo e na sobrevivência desses organismos (Da Costa Araújo et al., 2022; Zhou et al., 2023).

1.5 Índice Hepatossomático (IHS) e sua Importância

O índice hepatossomático (IHS) é uma métrica amplamente utilizada na ecotoxicologia e na fisiologia animal para avaliar o estado de saúde dos organismos, refletindo alterações metabólicas, nutricionais e ambientais (Muhammad et al., 2021). Estudos recentes demonstram a relevância do HSI na investigação da influência da dieta sobre a saúde hepática. Pereira et al. (2025) observaram que dietas ricas em macroalgas reduziram o IHS em douradas (*Sparus aurata*) após 60 dias, indicando potenciais

adaptações metabólicas ou um possível efeito de restrição calórica associado a dietas com maior teor de fibras.

Além da dieta, o IHS também pode ser um indicador valioso da exposição a poluentes. Martins et al. (2023) analisaram espécies ameaçadas de tubarões e peixes-guitarra do sudeste do Brasil e encontraram altas concentrações de poluentes orgânicos persistentes no fígado e músculo. Embora o IHS não tenha sido diretamente afetado, algumas substâncias, como o metilparabeno, mostraram uma tendência negativa sobre esse índice, sugerindo possíveis efeitos a longo prazo na saúde hepática das espécies avaliadas.

Dessa forma, o cálculo do IHS é uma ferramenta essencial para monitorar o impacto de fatores ambientais e dietéticos na saúde dos organismos aquáticos (Prakash, 2022). Reduções ou aumentos significativos nesse índice podem indicar estresse fisiológico, afetando não apenas a sobrevivência individual, mas também a manutenção da espécie em seu habitat natural (Leao et al., 2021). Alterações no IHS podem indicar respostas adaptativas ao estresse ambiental ou efeitos tóxicos de contaminantes (Vilvert et al., 2024). Estudos sugerem que a exposição ao MeP e 4-HB pode influenciar o IHS, comprometendo a função hepática e a homeostase energética dos organismos expostos, como evidenciado pela redução significativa dos valores do IHS ($\text{IHS} = \text{peso do fígado/peso corporal} \times 100$) em *zebrafish* fêmeas após 28 dias de exposição a 1 e 10 µg/L de MeP em ensaio realizado por Hu et al. (2022).

1.6 *Zebrafish* como modelo de estudo

Os peixes são amplamente afetados pelos contaminantes ambientais, com sua biologia reprodutiva, desenvolvimento embrio-larval e longevidade comprometidos, uma vez que concentrações subletais podem causar alterações metabólicas, fisiológicas e morfológicas (Naz et al., 2023). Além disso, devido à sua abundância e diversidade ecológica, os peixes são considerados excelentes bioindicadores da qualidade ambiental

de corpos d'água, tornando-se modelos essenciais para o estudo da toxicidade de contaminantes ambientais (Damir et al., 2024).

O *zebrafish* (*Danio rerio*), um peixe nativo do sudeste asiático, consolidou-se como um dos principais organismos-modelo em estudos ambientais e biomédicos (Elizalde-Velázquez et al., 2023) (Figura 8). Sua utilização é amplamente reconhecida em pesquisas sobre frequência mutagênica induzida por carcinógenos ambientais, mecanismos de toxicidade de contaminantes e impactos fisiológicos e genéticos (Lin et al., 2023; Elizalde-Velázquez et al., 2023). Esse modelo se destaca pelo seu genoma completamente sequenciado, com aproximadamente 71% de homologia com o genoma humano e cerca de 84% de homologia para genes relacionados a doenças humanas (Roper & Tanguay, 2018; Elizalde-Velázquez et al., 2023).

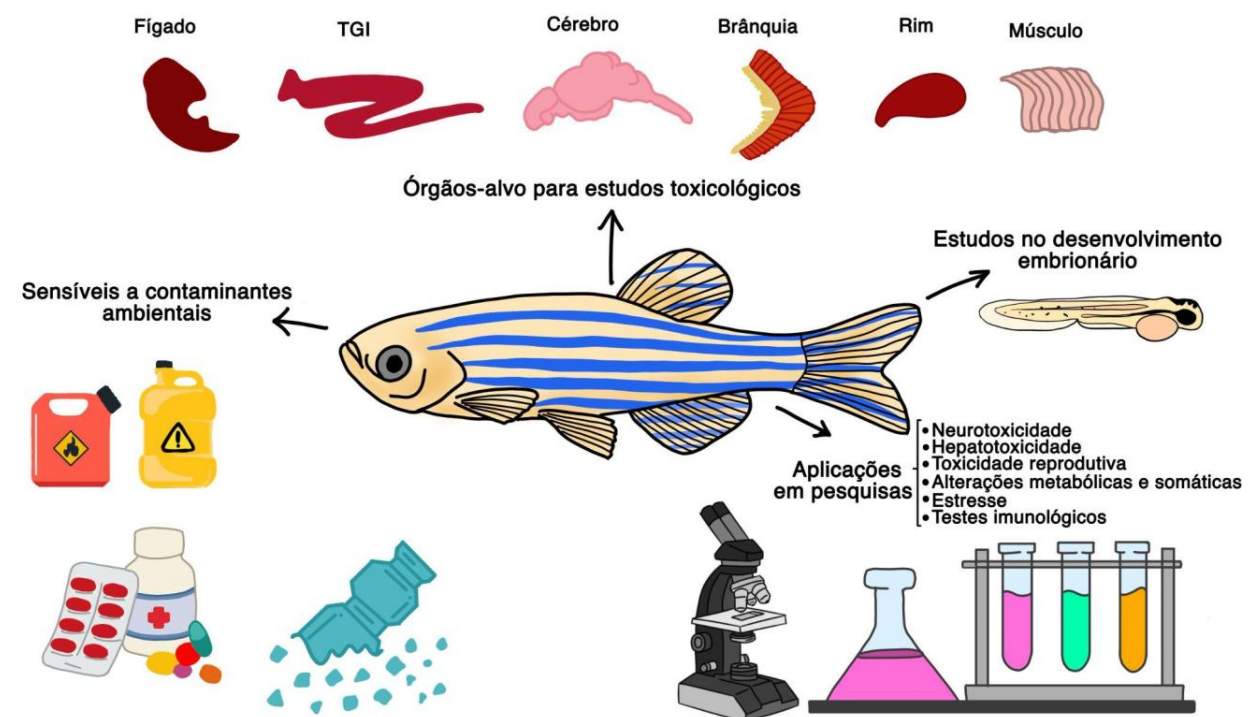


Figura 8. Representação esquemática dos principais órgãos-alvo em Zebrafish (*Danio rerio*) utilizados em estudos toxicológicos. A figura destaca o fígado (metabolismo e detoxificação), brânquias (trocas gasosas e contato direto com contaminantes aquáticos), trato gastrointestinal (TGI) (absorção de substâncias e microbiota), cérebro (efeitos neurotóxicos), rins (excreção e homeostase iônica) e músculo/embriões (exposição direta a poluentes ambientais).

Entre suas principais vantagens, o zebrafish possui um desenvolvimento embrionário larval rápido e transparente, permitindo observação detalhada desde as primeiras horas após a fertilização (Zhang et al., 2022). Os embriões eclodem em cerca de 48-72 horas pós-fertilização (hpf) e atingem a maturidade sexual em 3 a 4 meses. Os adultos apresentam dimorfismo sexual, com as fêmeas sendo ligeiramente maiores e mais arredondadas, e alcançam um tamanho médio de 3 a 4 centímetros, o que possibilita a criação de muitos indivíduos em espaços reduzidos, facilitando seu manejo em laboratório (Roper & Tanguay, 2018; Zhang et al., 2022). Além disso, as fêmeas depositam centenas de ovos por reprodução, podendo desovar mais de uma vez por semana, o que permite experimentos de alta reprodutibilidade (Roper & Tanguay, 2018).

A utilização do *zebrafish* como modelo toxicológico teve início em 1965, com os primeiros estudos avaliando os efeitos do sulfato de zinco em embriões dessa espécie (Skidmore, 1965). Desde então, ele tem sido amplamente empregado para investigar a toxicidade de substâncias como nanomateriais (Haque et al., 2018; Bai et al., 2020; Khan et al., 2024; Mutalik et al., 2024), metais pesados (Gouva et al., 2020; Paduraru et al., 2023), bisfenóis (Moreman et al., 2017; Gao et al., 2022), pesticidas (Wang et al., 2017; Falfushynska et al., 2022; Saputra et al., 2023), dioxinas (Baker et al., 2014; Cintrón-Rivera et al., 2023) e fármacos (Yang et al., 2021; Yan et al., 2025). O avanço das técnicas moleculares, incluindo microarrays e análises ômicas (transcriptômica, proteômica e metabolômica) (Yang et al., 2022; Shi et al., 2022; Chen et al., 2025; Langan et al., 2024; Li et al., 2025), impulsionou sua aplicação no entendimento dos mecanismos de toxicidade em nível celular e genético.

Uma das principais vantagens do *zebrafish* como modelo toxicológico é sua eficiência como sistema in vivo, sendo um modelo de baixo custo, reprodutível, acessível e de alto rendimento (Zhang et al., 2022). Seu desenvolvimento embrionário ocorre rapidamente, com órgãos essenciais formados até 96 hpf, permitindo avaliações precoces dos efeitos de substâncias tóxicas (Zhang et al., 2022). Além disso, ele é utilizado em testes de toxicidade aguda (Su et al., 2021), crônica e combinada (Shen et al., 2024;

Pandelides et al., 2024), possibilitando a avaliação de múltiplos parâmetros toxicológicos, como alterações comportamentais (Wu et al., 2024), toxicidade hepática (Rehman et al., 2024; Liu et al., 2024; Chen et al., 2024; Hog et al., 2024), cardiovascular (Hsiao et al., 2024), intestinal (Wang et al., 2021), endócrina (Ahmed et al., 2024; Lee et al., 2024; Xue et al., 2025), neurotoxicidade (Boopathi et al., 2024), imunotoxicidade (Zhao et al., 2021), genotoxicidade (Canedo et al., 2021), toxicidade reprodutiva (Sun et al., 2024) e efeitos transgeracionais (Zheng et al., 2022).

As vias de exposição do zebrafish a substâncias químicas incluem administração direta na água, microinjeção em embriões ou tecidos específicos e alimentação, permitindo diferentes abordagens experimentais (Bauer et al., 2021; Chaoul et al., 2023). A administração na água é a mais comum, simulando a exposição ambiental e permitindo a absorção pelas brânquias, pele e trato gastrointestinal, sendo amplamente utilizada para testar poluentes como metais pesados, pesticidas e fármacos (Zhao et al., 2024). A microinjeção garante a introdução precisa de substâncias em embriões ou tecidos específicos, sendo útil para investigações de neurotoxicidade, cardiotoxicidade e biotransformação de xenobióticos (Echeazarra et al., 2021; Zhao et al., 2024). Já a alimentação é empregada para estudos de bioacumulação e biomagnificação, permitindo avaliar a ingestão de contaminantes via cadeia alimentar (Tongo et al., 2022). A escolha da via de exposição depende dos objetivos do estudo e das propriedades do composto avaliado, sendo a combinação dessas técnicas essencial para investigações toxicológicas e biomédicas (Zhao et al., 2024).

Nos últimos anos, o *zebrafish* tem sido amplamente empregado em nanotoxicologia, sendo um modelo essencial para a avaliação da biocompatibilidade de diferentes tipos de nanopartículas (NPs) (Khan et al., 2024; Mutalik et al., 2024), incluindo óxidos metálicos (D'Amora et al., 2022), nanotubos de carbono (Aksakal et al., 2019) e *quantum dots* (Bai et al., 2023). Estudos demonstraram que a exposição a nanopartículas pode causar estresse oxidativo, danos ao DNA, alterações no metabolismo lipídico e impactos neurotóxicos, dependendo do tamanho, forma e carga superficial das NPs (Lei et al., 2023).

Apesar das inúmeras vantagens, o modelo zebrafish apresenta algumas limitações, como diferenças metabólicas em relação aos mamíferos e a ausência de placenta, o que impede a avaliação de certos aspectos da toxicocinética, além do seu tamanho reduzido, que dificulta a coleta de amostras como fígado e sangue (Horzmann et al., 2018). No entanto, novas abordagens, como o uso de *human organoids* e modelos computacionais preditivos, têm sido exploradas para ampliar sua aplicabilidade (Shcheglovitov et al., 2021; Fazio et al., 2020). Dessa forma, o zebrafish consolidou-se como um modelo robusto para estudos de toxicologia ambiental e biomédica, sendo uma ferramenta essencial para a avaliação de riscos ecológicos e para o desenvolvimento de estratégias de segurança química e farmacêutica.

Referências

- ABBAS, Suzanne et al. Metabolism of Parabens (4-Hydroxybenzoic Acid Esters) by Hepatic Esterases and UDP-Glucuronosyl transferases in Man. **Drug Metab. Pharmacokinet.** v. 25, n. 6, p. 568-577, 2010.
- AHMED, Rehab Youssef Salama et al. Avaliação da toxicidade do desenvolvimento e do modo potencial de ação subjacente à exposição única e binária a produtos químicos desreguladores endócrinos estrogênicos em peixe-zebra (*Danio rerio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 277, p. 109821, 2024.
- ARSHAD, Sahrish et al. Chemicals of Emerging Concerns CECs and Their Transformation Products TPs in Aquatic Environment, Current Status and Challenges: A Comprehensive Review. **International Research Journal of Management and Social Sciences**, v. 5, n. 2, p. 995-1010, 2024.
- AKSAKAL, Feyza Icoğlu; CILTAS, Abdulkadir; OZEK, Nihal Simsek. A holistic study on potential toxic effects of carboxylated multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs-COOH) on *zebrafish* (*Danio rerio*) embryos/larvae. **Chemosphere**, v. 225, p. 820-828, 2019.
- ALI, Vahab et al. Unique thiol metabolism in trypanosomatids: Redox homeostasis and drug resistance. **Advances in Parasitology**, v. 117, p. 75-155, 2022.
- ALKAFAJY, S.; ABDUL-JABBAR, R. Comprehensive effects of parabens in human physiology. **Ann. Trop. Med. Publ. Health**, v. 23, p. 23, 2020.
- BAKER, Tracie R.; PETERSON, Richard E.; HEIDEMAN, Warren. Using zebrafish as a model system for studying the transgenerational effects of dioxin. **Toxicological Sciences**, v. 138, n. 2, p. 403-411, 2014.
- BŁĘDZKA, Dorota et al. Parabens: From environmental studies to human health. **Environment International**, v. 67, p. 27-42, jun. 2014.
- BK, Sonu Koirala et al. Functional and structural diversity of insect glutathione S-transferases in xenobiotic adaptation. **International journal of biological sciences**, v. 18, n. 15, p. 5713, 2022.
- BURKHARD, Lawrence P. Evaluation of published bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) data for per-and polyfluoroalkyl substances across aquatic species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 6, p. 1530-1543, 2021.

BAI, Changcun; TANG, Meng. Toxicological study of metal and metal oxide nanoparticles in zebrafish. **Journal of applied toxicology**, v. 40, n. 1, p. 37-63, 2020.

BOOPATHI, Seenivasan et al. Neurobehavioral impairments from chromium exposure: insights from a zebrafish model and drug validation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 275, p. 109780, 2024.

BAUER, Benedikt et al. Zebrafish embryos and larvae as alternative animal models for toxicity testing. *International journal of molecular sciences*, v. 22, n. 24, p. 13417, 2021

BAI, Changcun; TANG, Meng. Progress on the toxicity of quantum dots to model organism-zebrafish. **Journal of Applied Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 89-106, 2023.

CANEDO, Aryelle; ROCHA, Thiago Lopes. Zebrafish (*Danio rerio*) using as model for genotoxicity and DNA repair assessments: Historical review, current status and trends. **Science of the Total Environment**, v. 762, p. 144084, 2021.

CHAOUL, Victoria et al. Assessing drug administration techniques in zebrafish models of neurological disease. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 19, p. 14898, 2023.

CERKEZI, Sabetim et al. The role of sulfhydryl (thiols) groups in oral and periodontal diseases. **Biomedicines**, v. 12, n. 4, p. 882, 2024.

CHEN, Pengyu et al. Hepatotoxicity and lipid metabolism disorders of 8: 2 polyfluoroalkyl phosphate diester in zebrafish: In vivo and in silico evidence. **Journal of Hazardous Materials**, v. 469, p. 133807, 2024.

CHEN, Hsiu-Chao et al. Evaluation of sub-chronic toxicity of melamine via systematic or oral delivery in adult zebrafish based on behavioral endpoints. **NeuroToxicology**, v. 102, p. 68-80, 2024.

CHEN, Youran et al. Molecular insights into developmental toxicity induced by PCB77 exposure on zebrafish via integrating transcriptomics with adverse outcome pathway. **Science of The Total Environment**, v. 962, p. 178502, 2025.

CHERIAN, Verghese T. Physiological functions of blood. In: *Blood substitutes and oxygen biotherapeutics*. **Cham: Springer International Publishing**, 2022. p. 33-43.

CHATTERJEE, Sovona et al. Parabens as the double-edged sword: Understanding the benefits and potential health risks. **Science of The Total Environment**, p. 176547, 2024.

CASOTTI, Valeria; D'ANTIGA, Lorenzo. Basic principles of liver physiology. **Pediatric Hepatology and Liver Transplantation**, p. 21-39, 2019.

CANO, Raquel et al. Role of endocrine-disrupting chemicals in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: a comprehensive review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4807, 2021.

DERISSO, C. A. et al. Occurrence of Parabens in Surface Water, Wastewater Treatment Plant in Southeast of Brazil and Assessment of Their Environmental Risk. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 9, p. 1-13, 27 ago. 2020.

DEMIRCI-CEKIC, Sema et al. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 209, p. 114477, 2022.

DA COSTA ARAÚJO, A. P. et al. Toxicity evaluation of the combination of emerging pollutants with polyethylene microplastics in zebrafish: Perspective study of genotoxicity, mutagenicity, and redox unbalance. **Journal of Hazardous Materials**, v. 432, p. 128691, 2022.

DASMAHAPATRA, Asok K.; CHATTERJEE, Joydeep; TCHOUNWOU, Paul B. A systematic review of the toxic potential of parabens in fish. **Frontiers in Toxicology**, v. 6, p. 1399467, 2024.

DAMIR, Nicoleta et al. From Waters to Fish: A Multi-Faceted Analysis of Contaminants' Pollution Sources, Distribution Patterns, and Ecological and Human Health Consequences. **Fishes**, v. 9, n. 7, p. 274, 2024.

D'AMORA, Marta et al. Effects of metal oxide nanoparticles in zebrafish. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, n. 1, p. 3313016, 2022.

D'SOUZA, Leonard Clinton et al. Environmental chemical-induced reactive oxygen species generation and immunotoxicity: a comprehensive review. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 40, n. 10-12, p. 691-714, 2024.

ELIZALDE-VELÁZQUEZ, Gustavo Axel; HERRERA-VÁZQUEZ, Selene Elizabeth. Zebrafish as Model Organism in Aquatic Ecotoxicology: Current Trends and Future Perspectives. In: **Zebrafish Research-An Ever-Expanding Experimental Model**. IntechOpen, 2023.

EL-RAMADY, Hassan et al. An overview of agro-waste management in light of the water-energy-waste nexus. **Sustainability**, v. 14, n. 23, p. 15717, 2022.

EDO, Great Iruoghene et al. Environmental persistence, bioaccumulation, and ecotoxicology of heavy metals. **Chemistry and Ecology**, v. 40, n. 3, p. 322-349, 2024.

EDO, Great Iruoghene et al. Sensitivity ecology and evolution, toxicology organism assessment model in the use of chemical applications for the management of toxic substances. **Ecological Frontiers**, 2024.

ESTEVEES, Francisco et al. The central role of cytochrome P450 in xenobiotic metabolism—a brief review on a fascinating enzyme family. **Journal of xenobiotics**, v. 11, n. 3, p. 94-114, 2021.

ECHEAZARRA, Leyre et al. Adult and developing zebrafish as suitable models for cardiac electrophysiology and pathology in research and industry. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 607860, 2021.

FAZIO, Maurizio et al. Zebrafish patient avatars in cancer biology and precision cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 20, n. 5, p. 263-273, 2020.

FALFUSHYNSKA, Halina et al. Toxic effects and mechanisms of common pesticides (Roundup and chlorpyrifos) and their mixtures in a zebrafish model (*Danio rerio*). **Science of the Total Environment**, v. 833, p. 155236, 2022.

FU, Liguang et al. Parabens, triclosan and bisphenol A in surface waters and sediments of baiyang lake, China: occurrence, distribution, and potential risk assessment. **Toxics**, v. 12, n. 1, p. 31, 2023.

GOMES DA SILVA, Francisco José et al. Global population growth and industrial impact on the environment. **Cleaner Production: Toward a Better Future**, p. 33-75, 2020.

GAO, Yanpeng et al. An inescapable fact: toxicity increases during photo-driven degradation of emerging contaminants in water environments. **Current Opinion In Green And Sustainable Chemistry**, v. 30, p. 100472, 2021.

GE, Yiming et al. Parabens, bisphenols, and triclosan in coral polyps, algae, and sediments from sanya, China: Occurrence, profiles, and environmental implications. **Environmental Pollution**, v. 361, p. 124839, 2024.

GOUVA, Evangelia et al. Comparative study of the effects of heavy metals on embryonic development of zebrafish. *Aquaculture Research*, v. 51, n. 8, p. 3255-3267, 2020.

GAO, Yue et al. Assessing the toxicity of bisphenol A and its six alternatives on zebrafish embryo/larvae. *Aquatic Toxicology*, v. 246, p. 106154, 2022.

HASEEB, S. D. et al. A review on synthesis of paraben and applications of preservatives. **International Journal of Indigenous Herbs and Drugs**, p. 1-5, 2025.

HU, C. et al. Endocrine disruption and reproductive impairment of methylparaben in adult zebrafish. **Food and Chemical Toxicology**, v. 171, p. 113545, 2023.

HU, C. et al. Hepatotoxicity caused by methylparaben in adult zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 250, p. 106255, 2022.

HU, Chenyan et al. Exposure to methylparaben at environmentally realistic concentrations significantly impairs neuronal health in adult zebrafish. **Journal of Environmental Sciences**, v. 132, p. 134-144, 2023.

HOULDSWORTH, Annwyne. Role of oxidative stress in neurodegenerative disorders: a review of reactive oxygen species and prevention by antioxidants. **Brain Communications**, v. 6, n. 1, p. fcad356, 2024.

HAO, Shaorui. Liver Function. In: **Artificial Liver**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2020. p. 49-71.

HUANG, Jiansheng et al. Reactive dicarbonyl scavenging effectively reduces MPO-mediated oxidation of HDL and restores PON1 activity. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 1937, 2020.

HAMAN, Camille et al. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. **Water Research**, v. 68, p. 1-11, 2015.

HAQUE, Enamul; WARD, Alister C. Zebrafish as a model to evaluate nanoparticle toxicity. **Nanomaterials**, v. 8, n. 7, p. 561, 2018.

HSIAO, Bu-Yuan et al. Assessing cardiovascular toxicity in zebrafish embryos exposed to copper nanoparticles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 277, p. 109838, 2024.

HORZMANN, Katharine A.; FREEMAN, Jennifer L. Making waves: New developments in toxicology with the zebrafish. **Toxicological Sciences**, v. 163, n. 1, p. 5-12, 2018.

HONG, Taeyeon et al. Tolyfluanid induces developmental toxicity via liver dysfunction in zebrafish embryos. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 20, n. 4, p. 1045-1051, 2024.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

JOMOVA, Klaudia et al. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. **Archives of Toxicology**, v. 98, n. 5, p. 1323-1367, 2024.

KHAN, Imran Ahamed et al. In vivo toxicity of upconversion nanoparticles (NaYF₄: Yb, Er) in zebrafish during early life stages: Developmental toxicity, gut-microbiome disruption, and proinflammatory effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 284, p. 116905, 2024.

KAR, Supratik et al. Ecotoxicological assessment of pharmaceuticals and personal care products using predictive toxicology approaches. **Green Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 1458-1516, 2020.

KWIECIEN, S. et al. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress-induced gastric injury. **J Physiol Pharmacol**, v. 65, n. 5, p. 613-622, 2014.

LEAO, Taynara et al. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. **The Anatomical Record**, v. 304, n. 4, p. 860-871, 2021.

LV, Ning et al. Overexpression of glutathione S-transferases in human diseases: drug targets and therapeutic implications. **Antioxidants**, v. 12, n. 11, p. 1970, 2023.

LEI, Pengyu et al. Advances in the utilization of zebrafish for assessing and understanding the mechanisms of nano-/microparticles toxicity in water. **Toxics**, v. 11, n. 4, p. 380, 2023.

LEE, Jangjae et al. Effects of crosstalk between steroid hormones mediated thyroid hormone in zebrafish exposed to 4-tert-octylphenol: Estrogenic and anti-androgenic effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 277, p. 116348, 2024.

LIU, Xunyue et al. Liver damage and lipid metabolic dysregulation in adult zebrafish (*Danio rerio*) induced by spirotetramat. **Science of The Total Environment**, v. 951, p. 175525, 2024.

LANGAN, Laura M. et al. Proteome changes in larval zebrafish (*Danio rerio*) and fathead minnow (*Pimephales promelas*) exposed to (±) anatoxin-a. **Environment International**, v. 185, p. 108514, 2024.

- LI, Bin et al. Spatial metabolomics revealed multi-organ toxicity and visualize metabolite changes induced by borneol in zebrafish. **Science of The Total Environment**, v. 968, p. 178886, 2025.
- LI, Zekun et al. Exposure to butylparaben induces craniofacial bone developmental toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 265, p. 115523, 2023.
- LIN, Wenting et al. Investigating the neurotoxicity of environmental pollutants using zebrafish as a model organism: **A review and recommendations for future work. Neurotoxicology**, v. 94, p. 235-244, 2023.
- LINȚA, Adina V. et al. Liver and pancreatic toxicity of endocrine-disruptive chemicals: focus on mitochondrial dysfunction and oxidative stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 13, p. 7420, 2024.
- LIANG, J. et al. Studying paraben-induced estrogen receptor-and steroid hormone-related endocrine disruption effects via multi-level approaches. **Science of The Total Environment**, v. 869, p. 161793, 2023.
- MARTINS, Mariana F. et al. Bioaccumulation and potential impacts of persistent organic pollutants and contaminants of emerging concern in guitarfishes and angelsharks from Southeastern Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 893, p. 164873, 2023.
- MCMULLEN, Karly et al. Modelling microplastic bioaccumulation and biomagnification potential in the Galápagos penguin ecosystem using Ecopath and Ecosim (EwE) with Ecotracer. **Plos one**, v. 19, n. 1, p. e0296788, 2024.
- MEROLA, C. et al. Embryotoxicity of methylparaben to zebrafish (*Danio rerio*) early-life stages. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 236, p. 108792, out. 2020.
- MAHOMOODALLY, Mohamad Fawzi et al. Catalase. In: Antioxidants effects in health. **Elsevier**, p. 81-90. 2022.
- MOUSSA, Ziad; JUDEH, Z. M.; AHMED, Saleh A. Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. **Free radical medicine and biology**, v. 1, p. 11-22, 2019.
- MISHRA, Prabhakar et al. Algae bioprocess to deal with cosmetic chemical pollutants in natural ecosystems: A comprehensive review. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 1083-1097, 2022.

MAIA, Carolina et al. Parabens removal from wastewaters by microalgae—Ecotoxicity, metabolism and pathways. **Chemical Engineering Journal**, v. 453, p. 139631, 2023.

MUTALIK, Chinmaya et al. Zebrafish insights into nanomaterial toxicity: a focused exploration on metallic, metal oxide, semiconductor, and mixed-metal nanoparticles. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 3, p. 1926, 2024.

MOREMAN, John et al. Acute toxicity, teratogenic, and estrogenic effects of bisphenol A and its alternative replacements bisphenol S, bisphenol F, and bisphenol AF in zebrafish embryo-larvae. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 21, p. 12796-12805, 2017.

NAZ, Saima et al. A comprehensive review on metallic trace elements toxicity in fishes and potential remedial measures. **Water**, v. 15, n. 16, p. 3017, 2023.

NANDI, Ankita et al. Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 9613090, 2019.

PHAM, Phuong Thi et al. Quantification of parabens in marine fish samples by a rapid, simple, effective sample preparation method. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 11, p. 16571-16582, 2024.

POIMENOVA, Iuliia A. et al. Analytical Methods for Assessing Thiol Antioxidants in Biological Fluids: A Review. **Molecules**, v. 29, n. 18, p. 4433, 2024.

PANDELIDES, Zacharias; ARBLASTER, Jennifer; CONDER, Jason. Establishing chronic toxicity effect levels for Zebrafish (*Danio rerio*) exposed to perfluorooctane sulfonate. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 7-18, 2024.

PADURARU, Emanuela et al. Zebrafish as a potential model for neurodegenerative diseases: a focus on toxic metals implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3428, 2023.

PEREIRA, Alícia et al. Antioxidant, metabolic and digestive biomarker responses of farmed *Sparus aurata* supplemented with *Laminaria digitata*. **Aquaculture**, v. 598, p. 741984, 2025.

PRAKASH, Sadguru. Condition Factor, Hepato-somatic Index and Gonado-somatic Index of Fish, *Channa punctatus* Collected from Sawan Nallaha, Balrampur, UP. **The Scientific Temper**, v. 13, n. 01, p. 46-50, 2022.

POTEGA, Agnieszka. Glutathione-mediated conjugation of anticancer drugs: an overview of reaction mechanisms and biological significance for drug detoxification and bioactivation. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5252, 2022.

PENHA, Larissa Cristine de Carvalho et al. Toxicity and sublethal effects of methylparaben on zebrafish (*Danio rerio*) larvae and adults. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 33, p. 45534-45544, 18 abr. 2021.

PEDERSEN, K. L. The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an in vivo fish assay. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 86, n. 3, p. 110-113, 2000.

PENG, Xianzhi et al. Body size–dependent bioaccumulation, tissue distribution, and trophic and maternal transfer of phenolic endocrine-disrupting contaminants in a freshwater ecosystem. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 7, p. 1811-1823, 2018.

PEREIRA, Alícia et al. Antioxidant, metabolic and digestive biomarker responses of farmed *Sparus aurata* supplemented with *Laminaria digitata*. **Aquaculture**, v. 598, p. 741984, 2025.

QIN, Digen et al. Growth, fat metabolism and hepatic health in largemouth bass fed varying fat-level diets. **Aquaculture Reports**, v. 40, p. 102535, 2025.

ROSA, Arianna Carolina et al. Superoxide dismutase administration: A review of proposed human uses. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1844, 2021.

RICHARDSON, Susan D.; KIMURA, Susana Y. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 1, p. 546-582, 2016.

RAMUTSHATSHA-MAKHWEDZHA, Denga; MUNONDE, Tshimangadzo S. Review of the Integrated Approaches for Monitoring and Treating Parabens in Water Matrices. **Molecules**, v. 29, n. 23, p. 5533, 2024.

RUDENKO, Natalia N. et al. Antioxidants of Non-Enzymatic Nature: Their function in higher plant cells and the ways of boosting their Biosynthesis. **Antioxidants**, v. 12, n. 11, p. 2014, 2023.

ROUTLEDGE, Edwin J. et al. Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 153, n. 1, p. 12-19, 1998.

ROPER, Courtney; TANGUAY, Robert L. Zebrafish as a Model for Developmental Biology and Toxicology. **Handbook Of Developmental Neurotoxicology**, p. 143-151, 2018.

REHMAN, Abdul et al. Nanoplastic contamination: Impact on zebrafish liver metabolism and implications for aquatic environmental health. **Environment International**, v. 187, p. 108713, 2024.

SHCHEGLOVITOV, Aleksandr; PETERSON, Randall T. Screening platforms for genetic epilepsies—zebrafish, iPSC-derived neurons, and organoids. **Neurotherapeutics**, v. 18, n. 3, p. 1478-1489, 2021.

SU, Tenghui et al. The feasibility of the zebrafish embryo as a promising alternative for acute toxicity test using various fish species: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 787, p. 147705, 2021.

SHI, Leilei et al. The developmental toxicity and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to carbon nanoparticles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 234, p. 113417, 2022.

SAPUTRA, Ferry et al. The effect of the pyrethroid pesticide fenpropathrin on the cardiac performance of zebrafish and the potential mechanism of toxicity. **Biology**, v. 12, n. 9, p. 1214, 2023.

SILVA, Daniele C. et al. Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 162, p. 85-91, 2018.

SAFAROVA, Irada R. Hydroxybenzoic acid derivatives and their biological activity. **Processes of Petrochemistry and Oil Refining**, v. 23, n. 1, 2022.

SATKAR, Sagar Gorakh et al. Impact of Pollution and Toxic Stress on Fish Health: Mechanisms, Consequences, and Mitigation Strategies. **UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY**, v. 45, n. 6, p. 29-45, 2024.

SANTOS, Mauricius Marques dos et al. Occurrence and risk assessment of parabens and triclosan in surface waters of southern Brazil: a problem of emerging compounds in an emerging country. **Rbrh**, v. 21, n. 3, p. 603-617, set. 2016.

SINGH, Vir. Water Resources. In: Textbook of Environment and Ecology. **Singapore: Springer Nature Singapore**, 2024. p. 107-122.

THEERTHAGIRI, J.; et al. Application of advanced materials in sonophotocatalytic processes for the remediation of environmental pollutants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 412, p. 125245, 2021.

TOMÁS-BARBERAN, Francisco A., CLIFFORD, Michael N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. **J. Sci. Food Agric.**, v. 80, p. 1024-1032, 2000.

TRAN-LAM, Thanh-Thien et al. Occurrence, biomagnification, and risk assessment of parabens and their metabolites in marine fish: The case study of Vietnam. **Chemosphere**, v. 344, p. 140221, 2023.

TONGO, I. et al. Levels, bioaccumulation and biomagnification of pesticide residues in a tropical freshwater food web. **International Journal of Environmental Science and Technology**, p. 1-16, 2022.

TOPIĆ POPOVIĆ, Natalija et al. Fish liver damage related to the wastewater treatment plant effluents. **Environmental science and pollution research**, v. 30, n. 17, p. 48739-48768, 2023.

VALE, Francisca et al. Parabens as emerging contaminants: Environmental persistence, current practices and treatment processes. **Journal of Cleaner Production**, v. 347, p. 131244, 2022.

VILVERT, Maiara P. et al. Influence of taurine on the zootechnical performance and health parameters of juvenile Nile tilapia in a recirculating aquaculture system. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 2, p. e20230892, 2024.

WU, Baihui et al. Behavioral studies of zebrafish reveal a new perspective on the reproductive toxicity of micro-and nanoplastics. **Toxics**, v. 12, n. 3, p. 178, 2024.

WANG, Yonghua et al. Intestinal toxicity and microbial community disorder induced by bisphenol F and bisphenol S in zebrafish. **Chemosphere**, v. 280, p. 130711, 2021.

WANG, Yanhua et al. Single and joint toxic effects of five selected pesticides on the early life stages of zebrafish (*Denio rerio*). **Chemosphere**, v. 170, p. 61-67, 2017.

WEI, Fang et al. Parabens as chemicals of emerging concern in the environment and humans: A review. **Science of the Total Environment**, v. 778, p. 146150, 2021.

WEI, Keqiang; YANG, Junxian. Copper-induced oxidative damage to the prophenoloxidase activation system in the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 52, p. 221-229, 2016.

WANG, Jiacheng et al. Biodegradation of phenolic pollutants and bioaugmentation strategies: A review of current knowledge and future perspectives. **Journal of Hazardous Materials**, p. 133906, 2024.

WILKINSON, John et al. Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: an overarching review of the field. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 954-970, dez. 2017.

XUE, Xiaohong et al. Trophic magnification of parabens and their metabolites in a subtropical marine food web. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 2, p. 780-789, 2017.

XUE, Moyong. The toxicity and mechanism of combined exposure to microplastics and bisphenol compounds on zebrafish. 2025.

XU, Jiayi et al. Parabens and triclosan in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) from China: Concentrations, tissue distribution and related human dietary intake risk. **Science of The Total Environment**, v. 932, p. 173130, 2024.

XUE, Xiaohong et al. Trophic Magnification of Parabens and Their Metabolites in a Subtropical Marine Food Web. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 2, p. 780-789, 5 jan. 2017.

YANG, Huaiyu; ZHANG, Fan; WU, Han. Review on life cycle of parabens: synthesis, degradation, characterization and safety analysis. **Current Organic Chemistry**, v. 22, n. 8, p. 769-779, 2018.

YAN, Jin et al. Zebrafish as a model organism in One health Toxicology: Impact of solvents and exposure routes on the toxicity of platinum anticancer drugs. **Environment International**, p. 109349, 2025.

YANG, Huiting et al. Transcriptome profiling reveals toxicity mechanisms following sertraline exposure in the brain of juvenile zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 242, p. 113936, 2022.

YANG, Huiting et al. Molecular and behavioral responses of zebrafish embryos/larvae after sertraline exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111700, 2021.

ZHAO, Xue et al. Occurrence, distribution, bioaccumulation, and ecological risk of bisphenol analogues, parabens and their metabolites in the Pearl River Estuary, South China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 180, p. 43-52, 2019.

ZHU, Rong-Gui et al. Parabens and their metabolite in a marine benthic-dominated food web from the Beibu gulf, South China Sea: Occurrence, trophic transfer and health risk assessment. **Water Research**, v. 248, p. 120841, 2024.

ZHENG, Mengli et al. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. **Antioxidants**, v. 12, n. 9, p. 1675, 2023.

ZHOU, Xiaolu et al. Recent advances in analytical methods of oxidative stress biomarkers induced by environmental pollutant exposure. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 160, p. 116978, 2023.

.

ZHANG, Yun et al. Progress in using zebrafish as a toxicological model for traditional Chinese medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 282, p. 114638, 2022.

ZHAO, Chenxi et al. Triclosan induced zebrafish immunotoxicity by targeting miR-19a and its gene socs3b to activate IL-6/STAT3 signaling pathway. **Science of the Total Environment**, v. 815, p. 152916, 2022.

SUN, Ziqing et al. Impacts of Environmental Concentrations of Nanoplastics on Zebrafish Neurobehavior and Reproductive Toxicity. **Toxics**, v. 12, n. 8, p. 617, 2024.

ZHENG, Jia-Lang et al. Transgenerational effects of zinc in zebrafish following early life stage exposure. **Science of The Total Environment**, v. 828, p. 154443, 2022.

ZHAO, Weichao et al. The uses of zebrafish (*Danio rerio*) as an in vivo model for toxicological studies: A review based on bibliometrics. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 272, p. 116023, 2024.

CAPÍTULO 3 - Desbalanço redox e estresse oxidativo em fêmeas de zebrafish expostas ao Metilparabeno e seu metabólito ácido 4-hidroxibenzóico: Implicações para a homeostase hepática

Resumo

Os parabenos, amplamente utilizados como conservantes, têm sido detectados em diversas matrizes ambientais ao longo do globo, bem como em amostras de organismos aquáticos. Além da capacidade de bioacumulação, a contaminação por parabenos tem sido associada a efeitos tóxicos sistêmicos em organismos aquáticos. Entretanto, pouco se conhece sobre os efeitos hepatotóxicos do metilparabeno (MeP) e do seu metabólito ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) em peixes fêmeas, visto que o fígado é essencial para o metabolismo animal bem como para o processo de vitelogênese em organismos ovíparos. Assim, objetivou-se avaliar em fêmeas de zebrafish (*Danio rerio*) múltiplos biomarcadores de balanço redox, como a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST), e marcadores de estresse oxidativo, como os níveis de malondialdeído (MDA) e proteína total (PT), espécies reativas de oxigênio (EROS) e radicais sulfidrilas totais (T-SH), além de parâmetros biométricos e índice hepatossomático (IHS). Para isso, os animais foram expostos a concentrações ambientalmente relevantes de MeP e 4-HB (1,0 e 10,0 µg/L) por 7 dias (exposição subcrônica). Nenhum parâmetro biométrico avaliado e IHS apresentaram alterações após o curto período de exposição. A atividade antioxidante foi alterada, com um aumento significativo na produção de EROS nos grupos expostos a 10 µg/L de MeP e a 1 e 10 µg/L de 4-HB. Já a exposição ao MeP e ao 4-HB causou uma redução na atividade das enzimas SOD e CAT, com redução mais acentuada associada ao 4-HB, especialmente na maior concentração. Os níveis de MDA estavam aumentados na maior concentração de MeP e para ambas as concentrações do metabólito, indicando lipoperoxidação. Já os níveis de T-SH apresentaram um aumento significativo no grupo exposto a MeP 10,0 µg/L, enquanto o grupo exposto a 4-HB 1,0 µg/L apresentou uma redução nos níveis de T-SH, sugerindo que o MeP em concentrações mais altas pode induzir uma resposta antioxidante, enquanto o 4-HB na menor concentração testada pode levar à depleção de T-SH, indicando um possível estresse oxidativo. A ausência de alterações significativas na atividade da GST sugere que o tempo de exposição não foi suficiente para ativar a segunda via de defesa antioxidante. Por outro lado, o aumento nos níveis de PT nos grupos tratados com 4-HB indica possíveis respostas adaptativas do organismo. De forma inédita, evidenciamos que a exposição subaguda das fêmeas ao 4-HB causou maior toxicidade hepática em comparação ao MeP, nas condições experimentais adotadas, desregulando a atividade antioxidante e promovendo estresse oxidativo. Este estudo

evidencia os riscos que a exposição a concentrações de MeP e 4-HB detectadas em ambientes aquáticos pode provocar em organismos aquáticos.

Palavras-chave: poluição aquática, parabenos, peixes, biomarcadores, biologia redox.

3.1 Introdução

O aumento acelerado da população e o crescimento industrial, agroindustrial e agropecuário nas últimas décadas vêm gerando sérios problemas ambientais, impactando a qualidade do solo, água e ar, como apontado por Saxena (2025). A água, um recurso natural essencial para a vida, tem sido impactada pelo descarte contínuo de contaminantes provenientes de esgotos, atividades industriais e resíduos agroindustriais (Gomes da Silva et al., 2020). A presença de contaminantes nas águas de abastecimento público e nos ecossistemas aquáticos têm levantado preocupações quanto aos efeitos adversos na saúde ambiental e humana (Theerthagiri et al., 2021).

Entre esses contaminantes, destacam-se os contaminantes de preocupação emergente (CECs), uma classe de substâncias que inclui compostos orgânicos e inorgânicos como produtos farmacêuticos, pesticidas e desreguladores endócrinos (EDCs), frequentemente detectados em ecossistemas aquáticos (Richardson & Kimura, 2016; Wilkinson et al., 2017). Os CECs estão presentes no ambiente, mesmo em baixas concentrações ($\mu\text{g/L}$ ou ng/L), por serem liberados a partir de resíduos industriais, agrícolas e esgotos domésticos (Arshad et al., 2024). Apesar de sua concentração reduzida, é fundamental compreender o comportamento dessas substâncias poluentes no ecossistema e seus potenciais efeitos na saúde ambiental e nos organismos (Gao et al., 2021). Segundo Gao et al. (2021), ainda há um conhecimento limitado sobre os impactos ecotoxicológicos e desregulatórios desses contaminantes.

Dentre os CECs, os parabenos são amplamente utilizados em produtos cosméticos, alimentícios e farmacêuticos devido às suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas (Davidson, 2020). Além de serem detectados em águas residuais e corpos hídricos, sua presença também foi relatada em tecidos de organismos aquáticos e humanos, indicando um potencial de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar (Xue & Kannan, 2016). O metilparabeno (MeP) e seu metabólito primário, o ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB), são compostos preocupantes devido à sua persistência

no ambiente e capacidade de interferir nos sistemas biológicos dos organismos expostos (Wang et al., 2016).

O MeP e o 4-HB têm sido associados a diversos efeitos tóxicos, incluindo hepatotoxicidade, neurotoxicidade e desregulação endócrina. Estudos demonstraram que a exposição subcrônica ao MeP pode induzir alterações na atividade enzimática hepática, levando à redução das defesas antioxidantes e ao aumento da peroxidação lipídica em zebrafish adulto (Hu et al., 2023). Além disso, a exposição ao 4-HB revelou efeitos ainda mais intensos sobre a toxicidade hepática em zebrafish, com maiores níveis de estresse oxidativo e danos celulares em comparação ao MeP (Ball et al., 2023). Outros estudos indicam que os parabenos podem comprometer a reprodução e o desenvolvimento embrionário de organismos aquáticos, alterando a expressão gênica de proteínas essenciais à espermatogênese e ovogênese (Elsehly et al., 2022). Além disso, há indícios de que a exposição prolongada a parabenos pode impactar funções neurológicas, induzir danos ao DNA e modular vias inflamatórias, exacerbando efeitos adversos à saúde dos organismos expostos.

Nos organismos animais, os parabenos são rapidamente metabolizados após a absorção, predominantemente no fígado, mas também nos rins, intestino e tecidos periféricos (Dasmahapatra et al., 2024; Alkafajy et al., 2020). Esse metabolismo ocorre em duas fases principais: na Fase I, os parabenos sofrem hidrólise da ligação éster pela ação de esterases, resultando na formação do metabólito primário 4-HB (Maia et al., 2023). Na Fase II, esse metabólito pode ser conjugado com ácido glicurônico ou sulfato, facilitando sua excreção e reduzindo sua toxicidade (Maia et al., 2023). Apesar dessa rápida metabolização, a presença frequente dos parabenos e seus metabólitos em fluidos biológicos, como urina, sangue e leite materno, sugere uma exposição contínua e preocupante (Wei et al., 2021).

O fígado é um órgão fundamental para a homeostase dos organismos aquáticos, desempenhando papel essencial na detoxificação de xenobióticos e no metabolismo

celular (Casotti et al., 2019; Topić Popović et al., 2023). Além de ser um centro metabólico crucial, o fígado sintetiza proteínas plasmáticas, regula a coagulação sanguínea, armazena ferro e vitaminas, e participa da degradação de hemácias envelhecidas, entre outras funções (Hao, 2020; Cherian, 2024). Devido à sua função central na biotransformação de contaminantes, é um dos principais órgãos afetados por compostos tóxicos ambientais (Hao, 2020; Cherian, 2024). A exposição a poluentes como os parabenos pode comprometer sua função, levando ao aumento do estresse oxidativo, danos estruturais às células hepáticas e disfunções metabólicas (Linça et al., 2024). Estudos indicam que alterações na atividade de enzimas antioxidantes, como SOD, CAT e GST, e no nível de peroxidação lipídica refletem os impactos negativos do MeP e do 4-HB na homeostase hepática e na sobrevivência dos organismos expostos (Da Costa Araújo et al., 2022; Zhou et al., 2023). Além disso, a exposição prolongada pode induzir mecanismos de adaptação celular, incluindo aumento da atividade de algumas enzimas antioxidantes e modulação de vias inflamatórias, sugerindo respostas biológicas dinâmicas à toxicidade dos parabenos (Hegazy et al., 2015; Fransway et al., 2019; Yin et al., 2023; Ai et al., 2024).

A hepatotoxicidade causada pelo MeP e seu metabólito, o 4-HB, tem sido amplamente investigada devido aos seus impactos no equilíbrio redox e na homeostase hepática (Peng et al., 2018; Hu et al., 2022; Liang et al., 2023; Gong et al., 2023). Estudos demonstram que a exposição ao MeP pode alterar a atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e promovendo a peroxidação lipídica. Embora os estudos sobre o 4-HB sejam limitados, sua persistência no ambiente aquático, seu potencial de biomagnificação e bioacumulação (Xue et al., 2017; Zhao et al., 2019; Zhu et al., 2024) levantam preocupações sobre seu possível efeito hepatotóxico, justificando investigações mais aprofundadas.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao metilparabeno (MeP) e ao ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) no fígado de fêmeas de

zebrafish (*Danio rerio*), analisando sua influência na homeostase hepática e na indução de estresse oxidativo. Foram avaliados parâmetros biométricos, índice hepatossomático e biomarcadores hepáticos de atividade antioxidante, buscando elucidar os impactos desses contaminantes emergentes sobre a saúde dos organismos aquáticos.

Com base nesses objetivos, foram formuladas as seguintes hipóteses: (i) a exposição ao MeP e ao seu metabólito 4-HB causa alterações no metabolismo hepático, promovendo estresse oxidativo e comprometendo a homeostase redox e (ii) o 4-HB apresenta maior toxicidade hepática do que seu precursor MeP, causando um desbalanço redox mais acentuado e comprometendo mais intensamente as defesas antioxidantes.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Manutenção das fêmeas de zebrafish

Fêmeas adultas de zebrafish (linhagem selvagem) foram adquiridas em criadouro comercial e mantidas no Biotério de Peixes do ICBS - UFAL. Inicialmente os animais foram mantidos em quarentena por 30 dias em aquários de vidro de 60 L, na proporção de 5 animais/L, com um sistema de filtros e aeração constante, em um ciclo claro-escuro de 14:10h, conforme recomendado por Reed e Jennings (2011). Os aquários foram preenchidos com água reconstituída (água deionizada, bicarbonato de sódio e sal marinho Instant Ocean ® 1,2g/20 L) com pH 7,0, a 27°C e limpos regularmente, com trocas de água a cada 48h, sendo substituído cerca de 70% do volume total de cada aquário. Foram realizadas três alimentações ao dia, com ração comercial em flocos Poytara e uma vez ao dia com artêmias salinas. Todo o protocolo experimental executado foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFAL (13/2024).

3.2.2 Bioensaio

Ao final da quarentena, 270 fêmeas ($3,8 \pm 0,36$ cm de comprimento total e $3,12 \pm 0,39$ g de peso) foram destinadas ao bioensaio. 18 fêmeas foram aleatoriamente distribuídas por aquário, em triplicata ($n=3$), num total de 54 fêmeas por tratamento. O metilparabeno (MeP) e o ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) utilizados no experimento foram adquiridos da Sigma-Aldrich, com grau de pureza ≥ 99 %. Antecedendo o início do experimento, foi preparada uma solução estoque de 200 mg/L de MeP e 4-HB, em um volume total de 50ml, e armazenada em refrigerador até o momento da exposição dos animais. Foram utilizados volumes de 350µL da solução estoque para as concentrações

de MeP e 4-HB a 10,0 µg/L em um volume de 7 litros dos aquários e volumes de 35µL da solução estoque para as concentrações de MeP e 4-HB a 1,0 µg/L.

Foram utilizados os seguintes tratamentos diluídos em água reconstituída: Controle do solvente (0,05% DMSO); MeP a 1,0 µg/L; MeP a 10,0 µg/L; 4-HB a 1,0 µg/L e 4-HB a 10,0 µg/L. Os animais foram expostos aos cinco tratamentos em aquários de vidro de 8 L por um período de 7 dias (exposição subcrônica), mantidos as condições de pH, temperatura, fotoperíodo e alimentação da quarentena. A exposição aos tratamentos ocorreu de forma semi-estática, onde a cada 48h foi realizada a troca de 70% da água dos tratamentos de cada aquário.

Foram analisados os seguintes parâmetros abióticos: temperatura da água, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, amônia e nitrito. A análise foi realizada utilizando uma sonda multiparâmetro da marca Akso (Modelo AK88) e kits colorimétricos para amônia e nitrito. Os parâmetros foram aferidos nos dias de troca da água dos tratamentos, em todos os aquários.

3.2.3 Coleta de amostras biológicas e biometria

Ao final do período de exposição, os animais foram eutanasiados com overdose de benzocaína (0,1%), submetidos à biometria (comprimento total e comprimento padrão (mm) e massa corporal total (mg). Em seguida o fígado de cada animal foi cuidadosamente dissecado e pesado em balança analítica com precisão de 0,001 g. O fígado de cada animal foi dissecado, pesado (mg) em balança analítica para o cálculo do índice

hepatossomático [IHS (%) = (Peso corporal total / Peso do fígado) × 100], segundo Bernet et al. (1999).

3.2.4 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas, foram coletados o fígado de nove animais por aquário, os quais foram agrupados aleatoriamente em três pools, totalizando nove pools por tratamento e 45 amostras de fígados, os quais foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente armazenados em freezer a -80 °C até o início das análises. Para tal, as amostras foram homogeneizadas em solução-tampão fosfato com pH 7.4, com auxílio de um homogeneizador de tecidos (D-160 DLAB), e centrifugadas a 4 °C, 12.000 rpm, por 15 minutos, sendo destinados os sobrenadantes ou os pellets à análise descritas abaixo.

Para a quantificação de EROS, segundo a metodologia de Muthulakshmi et al. (2018), foram adicionados 20 µL do homogenato a uma placa de 96 poços e incubados à temperatura ambiente durante 5 min. Após a incubação, 100 µL de PBS e 8,3 µL de solução estoque de DCFH-DA (2',7'-dicloro-dihidrofluoresceína diacetato) (dissolvido em DMSO, 10 mg/mL) foram adicionados a cada poço, e a placa foi incubada por 30 min. Após este período, a intensidade da fluorescência foi medida utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax M2) com comprimentos de onda de excitação e emissão fixados em 485 e 530 nm, respectivamente. Os resultados da intensidade de fluorescência das amostras foram expressos em unidades arbitrárias (diclorofluoresceína).

A atividade da CAT foi avaliada segundo método de Hadwan & Khabt (2018), em microplaca, foi adicionada à amostra em duplicata, o H₂O₂ (20 mmol/ L) e após 5 min foi adicionado molibdato de amônio (32,4 mmol/ L). A leitura foi realizada em leitor de microplacas (SpectraMax M2) a 374 nm e calculada como kU por miligramas de proteína. A atividade da enzima foi quantificada por meio de curva padrão utilizando o H₂O₂ (20

mmol/ L) em concentrações conhecidas diluídas em tampão de fosfato de sódio e potássio (50 mmol/ L, pH 7,0).

Para a superóxido dismutase (SOD), a atividade da enzima foi determinada em leitor de Elisa a 570 nm (Dieterich et al., 2000) baseado na capacidade desta enzima em catalisar a reação do radical superóxido e o peróxido de hidrogênio e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol. O teste foi realizado em microplaca de 96 poços e em cada poço uma mistura reacional de tampão fosfato de potássio (25 mmol/ L, pH 8), 30µl amostra em duplicata, 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl) -2,5 difenil brometo de tetrazolina] (MTT) (1,25 mmol/ L) e ácido pirogálico (100 µmol/ L) foram adicionados. Em seguida, as microplacas foram incubadas a 37°C por 5 min, e a reação finalizada com a adição de dimetilsulfóxido (DMSO). A absorbância foi mensurada a 570 nm, em leitor de microplaca. A atividade da SOD foi calculada como unidades por miligrama de proteína, com uma unidade (U) de SOD definido como a quantidade que inibiu a taxa da oxidação de 50% do pirogalol.

Já para a atividade da enzima glutathione S-transferase (GST), foi determinado através da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno, obtida por meio da variação na absorbância a 340 nm em espectrofotômetro (V-1100, IL-593-S Kasuaki). O conjugado é formado espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) por ocorrência não enzimática, sendo sua formação acelerada pela atividade da GST. Uma unidade (U) de GST corresponde à quantidade de enzima necessária para formar 1 mol de conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno por minuto. Para os cálculos, foi utilizado o coeficiente de extinção molar do CDNB a 340 nm, igual a 9,6 mmol/ cm⁻¹ e a atividade da GST foi expressa em µmol/min/ g (Habig et al., 1976). A análise foi feita em triplicata por amostra.

Para a quantificação da proteína total foi utilizado o ensaio de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino como padrão (1,6 mg/ml). A leitura foi realizada em leitor de microplacas a 595 nm, sendo cada amostra analisada em duplicata. A

absorbância do produto foi avaliada calculada para expressar os resultados dos parâmetros por proteína.

A quantificação de T-SH totais (T-SH) foi realizada por métodos colorimétricos utilizando 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoato) (DTNB), que reage com grupos sulfidríla livres (-SH) formando um complexo amarelo mensurável em 412 nm no leitor de microplacas. As amostras em duplicata foram incubadas com DTNB por 30 minutos a temperatura ambiente, protegido da luz. A absorbância foi medida, e a concentração de T-SH foi determinada comparando-se os valores obtidos a uma curva padrão de referência. Os resultados foram expressos em μmol de T-SH / mg de proteína (Aksenov et al., 2001).

Por fim, a quantificação do produto da peroxidação lipídica o MDA, foi efetuada segundo a metodologia de Buege & Aust (1978), onde o homogenato foi adicionado a solução TBARS (ácido tricloroacético 15% e 0,375% de ácido tiobarbitúrico, e HCl 0,25 N), depois foi colocado em banho maria por 40 minutos, resfriado, centrifugado a 2500 rpm e o sobrenadante mensurado em leitor de microplacas a 535 nm (Buege e Aust, 1978). Os resultados foram expressos em nmol/g tecido e todas as amostras foram analisadas em duplicata e os resultados expressos em nmol MDA/ mg proteína.

3.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos para os diversos parâmetros avaliados foram agrupados por tratamentos. A seguir, os dados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados que apresentaram normalidade passaram pela análise de variância de um fator (ANOVA one-way) para avaliar as diferenças entre os diferentes tratamentos, seguida do teste de Tukey para analisar as diferenças entre os tratamentos e os grupos controle. Foi considerada diferença significativa com $p < 0,05$ para todos os testes. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

3.4. Resultados

A tabela 1 apresenta os parâmetros físico-químicos da água dos aquários ao longo da exposição das fêmeas de zebrafish a diferentes concentrações de metilparabeno (MeP) e 4-hidroxibenzóico (4-HB) por sete dias. Comparações feitas entre os grupos controle e os submetidos a concentrações de 1,0 µg/L e 10,0 µg/L de MeP e 4-HB indicaram uma estabilidade geral nos parâmetros avaliados, dentro do esperado.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos aferidos na água dos aquários ao longo dos dias de exposição aos tratamentos. Oxigênio dissolvido (O₂); temp.: temperatura (T); amônia (NH₃); nitrito (NO₂); Condutividade (Cond); Parâmetros recomendados (Par. rec); Tratamentos (Trat); Parâmetros recomendados (Par. rec)

Trat Par	Controle Solvente	MeP 1,0 µg/L	MeP 10,0 µg/L	4-HB 1,0 µg/L	4-HB 10,0 µg/L	Par. rec (Hammer, 2020)
pH	7,18 ± 0,40 ^a	6,99 ± 0,10 ^a	7,07 ± 0,16 ^a	7,1 ± 0,09 ^a	7,04 ± 0,09 ^a	7–8
NH ₃ (mg/L)	0,33 ± 0,18 ^a	0,25 ± 0,18 ^a	0,28 ± 0,15 ^a	0,25 ± 0,2 ^a	0,36 ± 0,33 ^a	0–1
NO ₂ (mg/L)	0,31 ± 0,11 ^a	0,28 ± 0,20 ^a	0,31 ± 0,24 ^a	0,5 ± 0,33 ^a	0,46 ± 0,10 ^a	0–0,5
Temp (° C)	27,2 ± 0,37 ^a	27,3 ± 0,43 ^a	27,4 ± 0,43 ^a	27,4 ± 0,42 ^a	27,3 ± 0,41 ^a	26–29
O ₂ Diss. (mg/L)	7,33 ± 0,28 ^a	7,12 ± 0,32 ^a	7,23 ± 0,49 ^a	7,03 ± 0,34 ^a	6,87 ± 0,27 ^a	6,0–8,0
Salinidade (ppt)	0,38 ± 0,05 ^a	0,36 ± 0,02 ^a	0,36 ± 0,05 ^a	0,36 ± 0,05 ^a	0,36 ± 0,07 ^a	0–1
Cond (µS/cm)	1016 ± 39,33 ^a	1028 ± 33,7 ^a	1006 ± 8,7 ^a	1005 ± 11,8 ^a	1005 ± 9,44 ^a	200–3000

Na tabela 2 são apresentados os dados biométricos obtidos dos animais de cada tratamento e para o IHS. Nas condições experimentais adotadas em nosso estudo, a

exposição subaguda não promoveu alterações em qualquer um dos parâmetros biométricos e no IHS entre os diferentes tratamentos ($p > 0,05$).

Tabela 2. Parâmetros biométricos e índice hepatossômico (IHS) de fêmeas de zebrafish expostas a diferentes concentrações de metilparabeno (MeP) e ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) por sete dias. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Média e desvio padrão). Comprimento total (CT); Comprimento padrão (CP); Peso corporal (PC); Peso do fígado (PF).

Tratamentos	CT (cm)	CP (cm)	PC (g)	PF (g)	IHS (%)
Controle	3,99±0,13 ^a	3,24±0,09 ^a	0,664±0,077 ^a	0,010±0,002 ^a	1,697±0,246 ^a
1,0 µg/L MeP	3,91±0,07 ^a	3,22±0,12 ^a	0,600±0,066 ^a	0,009±0,001 ^a	1,462±0,379 ^a
10,0 µg/L MeP	3,90±0,09 ^a	3,15±0,10 ^a	0,637±0,016 ^a	0,013±0,004 ^a	1,420±0,385 ^a
1,0 µg/L 4-HB	4,03±0,17 ^a	3,31±0,10 ^a	0,714±0,072 ^a	0,020±0,015 ^a	1,846±0,494 ^a
10,0 µg/L 4-HB	3,75±0,18 ^a	3,07±0,17 ^a	0,538±0,031 ^a	0,009±0,001 ^a	1,715±0,633 ^a

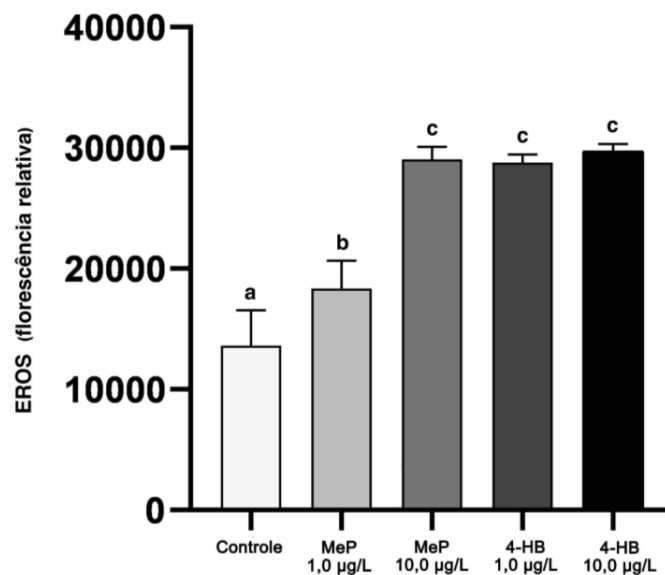


Figura 9. Níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) no fígado de fêmeas de zebrafish expostas a 1,0 e 10 µg/L de Metilparabeno (MeP) e ao ácido 4- hidroxibenzóico (4-HB) por sete

dias. As barras representam a média $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

Os resultados da quantificação de EROS indicam um aumento significativo na produção desses compostos em resposta à exposição ao MeP e ao 4-HB (Figura 9). O grupo controle apresentou os menores níveis de fluorescência relativa, diferindo dos demais grupos. A exposição ao MeP 1,0 $\mu\text{g/L}$ resultou em um aumento moderado na produção de EROS, enquanto concentrações mais altas de MeP (10,0 $\mu\text{g/L}$) e ambas as concentrações de 4-HB (1,0 e 10,0 $\mu\text{g/L}$) levaram a um aumento ainda mais expressivo nos níveis de EROS, sem diferença entre esses três grupos.

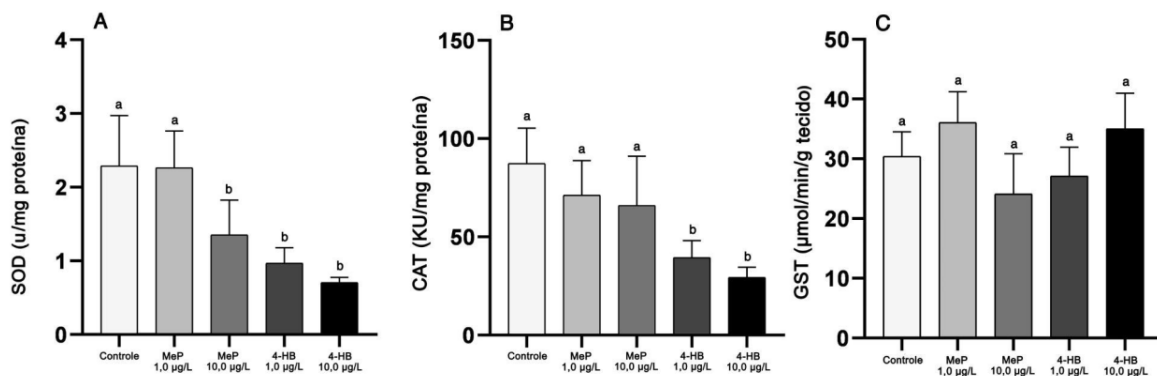


Figura 10. Atividades das enzimas antioxidantes (A) superóxido dismutase - SOD, (B) catalase - CAT e (C) glutationa-S-transferase - GST - no fígado de fêmeas de zebrafish expostas a 1,0 e 10 $\mu\text{g/L}$ de Metilparabeno (MeP) e ácido 4- hidroxibenzoico (4-HB) por sete dias. As barras representam a média $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

A figura 10 mostra os efeitos do MeP e 4-HB nas atividades de SOD, CAT e GST no fígado de fêmeas de zebrafish. Os resultados evidenciam diminuição na atividade de SOD e CAT em comparação ao grupo controle. Para a SOD, na concentração de 1,0 $\mu\text{g/L}$ de MeP, não foi observada diferença em relação ao controle. No entanto, na concentração de 10,0 $\mu\text{g/L}$ de MeP, houve uma redução na atividade da SOD ($p < 0.0001$). A exposição ao 4-HB resultou em uma redução mais acentuada para a SOD, para ambas as

concentrações avaliadas. Em relação à atividade da enzima CAT, ambas as concentrações de MeP (1,0 µg/L e 10,0 µg/L) não alteraram a atividade dessa enzima quando comparados ao grupo controle. Por outro lado, a exposição ao 4-HB causou uma redução na atividade da CAT ($p < 0.0001$ para 1,0 µg/L e $p < 0.0001$ para 10,0 µg/L).

A atividade da GST não apresentou diferenças entre os tratamentos (Figura 10C). O grupo controle apresentou uma atividade que foi mantida nos grupos tratados com MeP (1,0 µg/L e 10,0 µg/L) e 4-HB (1,0 µg/L e 10,0 µg/L).

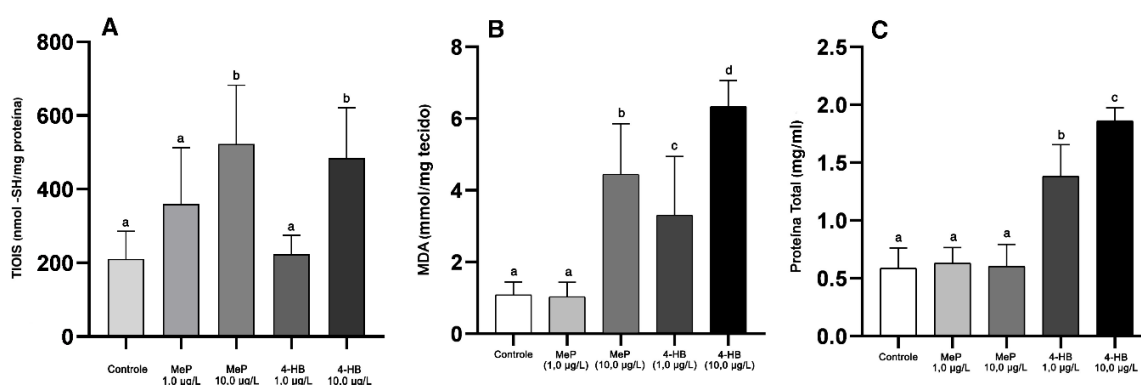


Figura 11. Efeitos da exposição ao Metilparabeno (MeP) e ao ácido 4-hidroxibenzóico (4-HB) nos parâmetros bioquímicos no fígado de fêmeas de zebrafish. (A) Concentração de T-SH totais (T-SH), (B) níveis de malondialdeído (MDA) e (C) concentração de proteína total no fígado. As barras representam a média $\pm$ erro padrão. Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

Os resultados da quantificação de T-SH (Figura 11A) mostram que os grupos expostos a MeP 1,0 µg/L e 4-HB 1,0 µg/L não apresentaram alterações em relação ao controle. A exposição ao MeP 10,0 µg/L resultou em um aumento nos níveis de T-SH, sendo diferente do grupo controle. O grupo exposto a 4-HB 10,0 µg/L também apresentou um aumento significativo nos níveis de T-SH em comparação aos demais grupos.

A figura 11B indica os níveis de malondialdeído (MDA) no fígado de zebrafish fêmeas expostas a diferentes concentrações de MeP e 4-HB. No grupo controle, os níveis de MDA permaneceram baixos, representando o estado basal sem exposição a agentes tóxicos. No entanto, o grupo tratado com a maior concentração de MeP (10,0 µg/L)

apresentou um aumento de cerca de 4 vezes nos níveis de MDA. Em contraste, a concentração mais baixa de MeP (1,0 µg/L) não causou qualquer alteração ($p > 0,05$). Por outro lado, os grupos expostos ao 4-HB mostraram um aumento expressivo nos níveis de MDA, chegando a aproximadamente seis vezes no grupo exposto ao 4-HB (10,0 µg/L).

Os níveis de proteína total apresentaram-se aumentados nos grupos tratados com 4-HB (Figura 11C). O tratamento com 4-HB (1,0 µg/L) resultou em um aumento nos níveis de proteína total ($p < 0,0001$). Esse efeito foi ainda mais acentuado na concentração de 10,0 µg/L de 4-HB, que apresentou o maior aumento ($p < 0,0001$). Por outro lado, a exposição a ambas as concentrações de MeP não diferiu do observado no grupo controle ($p > 0,0001$).

3.5 Discussão

Este estudo foi pioneiro ao investigar a toxicidade hepática do 4-HB em fêmeas de *zebrafish*, evidenciando seu impacto significativo na homeostase redox, reforçando a necessidade de mais pesquisas sobre esse e demais metabólitos dos parabenos. Estudos anteriores realizados em juvenis de *Cyprinus carpio* (Barse et al., 2010), em adultos de *Oryzias latipes* (Kawashima et al.; 2022), de *Oreochromis niloticus* (Silva et al.; 2018) e de *zebrafish* (De Carvalho-Penha et al., 2021; Hu et al., 2022), já avaliaram diferentes biomarcadores no fígado de peixes expostos ao MeP. Entretanto, com exceção do estudo realizado em *Oncorhynchus mykiss* por Pedersen et al. (2000), no qual os níveis plasmáticos de vitelogenina foram analisados após a exposição ao 4-HB, para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a avaliar múltiplos biomarcadores hepáticos em animais expostos ao 4-HB. Este é o principal metabólito dos parabenos e frequentemente detectado em altas concentrações em amostras de águas de ambientes marinhos e de água doce (Vale et al., 2022), de sedimentos (Mishra et al., 2022) e de diferentes organismos aquáticos, incluindo peixes (Zhu et al., 2024; Xue et al., 2017).

Assim, neste estudo, o IHS não apresentou alteração entre e os grupos expostos a ambos parabenos, diferentemente do encontrado em fêmeas de *zebrafish* expostas às concentrações de 1, 3 e 10 µg/L de MeP por 28 dias (Hu et al. 2022). O IHS é um importante indicador da condição fisiológica e metabólica de animais, especialmente em peixes (Al-Ghais, 2013). Esse índice reflete a funcionalidade do fígado, órgão central no metabolismo energético e desintoxicação, além de ser crucial para a biologia reprodutiva em diversas espécies. Alterações no IHS podem sinalizar respostas adaptativas ou patológicas (Al-Ghais, 2013). Reduções no índice frequentemente indicam esgotamento de reservas energéticas, estresse específico ou desnutrição, enquanto aumentos podem indicar acúmulo de lipídios, intensidade ou sobrecarga funcional causada pela exposição a toxinas (Hajji & Lucas, 2024). Essas mudanças podem comprometer funções metabólicas essenciais, prejudicar a desintoxicação e impactar a sobrevivência e a reprodução do indivíduo, tornando o IHS uma ferramenta para avaliar a saúde e o impacto

da gordura neste órgão (Hajji & Lucas, 2024; Leao et al., 2021). Dessa forma, sugere-se que apenas exposição crônica pode causar impactos no IHS de fêmeas expostas a parabenos.

As EROS desempenham um papel central no estresse oxidativo induzido por xenobióticos (Silvestre, 2020). A geração excessiva de EROS, incluindo o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH), podem levar danos a diversas biomoléculas, como lipídios, proteínas e DNA (Halliwell & Gutteridge, 2015). No presente estudo, todas as concentrações testadas de MeP e 4-HB promoveram um aumento nos níveis de EROS, demonstrando que mesmo em baixas concentrações induzem um quadro de desbalanço redox. Ao avaliar a toxicidade de parabenos (MeP, EtP, PrP e BuP) em *Caenorhabditis elegans*, observou-se que o MeP foi o mais tóxico, com LC50 de 278,1 µg/ml, seguido por EtP (217,8 µg/ml), PrP (169,2 µg/ml) e BuP (131,88 µg/ml) (Nagar et al., 2020). Neste mesmo estudo, a exposição a 1/5 da LC50 aumentou os níveis de EROS em todos os grupos expostos aos parabenos, especialmente ao MeP, resultando em estresse oxidativo e ativação de transcrições antioxidantes, com localização nuclear de DAF-16, proteína envolvida na resposta ao estresse (Nagar et al., 2020). Em outro estudo, as medições de EROS e MDA no fígado, brânquias e rim mostraram um aumento significativo após o tratamento de peixes da espécie *Labeo rohita* por 21 dias com etilparabeno nas concentrações de 2000 µg/L, 4000 µg/L e 6000 µg/L, em comparação com o grupo controle (Akmal et al., 2024). Além disso, os resultados de SOD e CAT apresentaram reduções significativas nos mesmos tratamentos (Akmal et al., 2024).

Nossos dados evidenciaram que a exposição subaguda ao 4-HB, especialmente na concentração de 10,0 µg/L, induziu a redução na atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, indicando estresse oxidativo no fígado dos animais. Interessantemente, o MeP apresentou efeitos menos intensos, com redução na SOD apenas na maior concentração testada (10,0 µg/L). Essa diminuição na atividade de SOD e CAT pode ser resultado da exaustão enzimática, processo que ocorre quando enzimas, após estarem

continuamente ativadas para neutralizar estresses ou danos celulares, perdem sua capacidade de funcionar de maneira eficiente (Miyazaki et al., 2001; Sadiq et al., 2023). Isso geralmente acontece devido ao uso excessivo das enzimas em processos como a defesa antioxidante, levando à sobrecarga e, eventualmente, à degradação ou alteração de sua estrutura (García-Caparrós et al., 2021). Como resultado, a atividade enzimática é comprometida, o que pode gerar desequilíbrios celulares e contribuir para o desenvolvimento de doenças ou disfunções, especialmente em casos de estresse oxidativo (Afzal et al., 2023). Tal redução na atividade de ambas as enzimas (SOD e CAT) pode ter comprometido a neutralização dos EROS, favorecendo a um quadro de desbalanço redox e ocorrência de danos oxidativos (Afzal et al., 2023). Esse desequilíbrio no sistema redox não apenas compromete a funcionalidade celular, mas também pode induzir mecanismos de morte celular, como apoptose e necrose, impactando diretamente a integridade hepática e a homeostase do organismo (Venditti et al., 2015).

Hu et al. (2022) relataram que a exposição subcrônica (28 dias) de fêmeas de *zebrafish* a concentrações de 3 e 10 µg/L de MeP resultou em um aumento na produção de EROS, acompanhado por uma diminuição na atividade catalítica da CAT. Resultados semelhantes foram observados em machos adultos de *zebrafish* foram expostos a concentrações subcrônicas de 1, 3 e 10 µg/L de MeP, resultando em uma redução na atividade das enzimas CAT e SOD no cérebro dos animais (Hu et al., 2023). Estudos com outros parabenos também reforçam esses achados, onde foi observada uma diminuição na atividade de SOD e CAT em larvas de *zebrafish* após a exposição ao butilparabeno (0,5; 0,75 e 1 mg/L) (Li et al., 2023). Esses resultados são consistentes com os obtidos no presente estudo, sugerindo a toxicidade das concentrações ambientais de MeP e 4-HB.

A presença de xenobióticos no organismo pode comprometer a atividade de enzimas antioxidantes, como a SOD e a CAT, promovendo o acúmulo de EROS e o consequente estresse oxidativo (Limón-Pacheco & Gonsebatt, 2009). A biotransformação desses compostos frequentemente gera EROS como subprodutos metabólicos (Halliwell & Gutteridge, 2015), o que sobrecarrega os sistemas antioxidantes celulares. A SOD atua

convertendo o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que por sua vez é decomposto em água e oxigênio pela ação da CAT. No entanto, além de estimular a produção de EROS, os xenobióticos podem inativar diretamente essas enzimas por meio de danos oxidativos, depleção de cofatores metálicos ou interferência na síntese proteica (Hassan et al., 2024).

Nesse contexto, os resultados obtidos no nosso estudo corroboram com esses mecanismos. A exposição subaguda ao MeP e, principalmente, ao seu metabólito 4-HB, resultou em aumento significativo nos níveis de EROS e T-SH, acompanhado de uma inibição marcante nas atividades de SOD e CAT, especialmente nas fêmeas expostas à maior concentração de 4-HB (10 $\mu\text{g/L}$). Esses achados reforçam que o 4-HB apresenta potencial de toxicidade redox superior ao MeP, possivelmente por gerar maior sobrecarga mitocondrial ou por interagir diretamente com os sistemas enzimáticos antioxidantes. O acúmulo de ROS, associado à queda das enzimas SOD e CAT, refletiu-se no aumento significativo dos níveis de malondialdeído (MDA), um indicador clássico de peroxidação lipídica.

Por outro lado, a atividade da GST não foi significativamente alterada nas nossas análises, sugerindo que o tempo de exposição de sete dias pode não ter sido suficiente para desencadear respostas compensatórias nesses sistemas, ou que a toxicidade gerada pelos compostos testados tenha afetado preferencialmente a linha de defesa antioxidante enzimática primária. Esses dados reforçam que alterações na SOD e CAT são biomarcadores sensíveis de desequilíbrio redox frente à exposição a parabenos, sendo o 4-HB um composto relevante na indução de estresse oxidativo hepático em zebrafish.

Apesar de encontrar redução na atividade das enzimas SOD e CAT, não houve alteração na atividade da enzima GST entre os tratamentos. A GST é uma enzima de fase II importante no sistema antioxidante, desempenhando um papel crucial na proteção celular, essa enzima catalisa a conjugação da GSH a compostos tóxicos eletrofílicos,

tornando-os mais solúveis em água e facilitando sua excreção pelo organismo (Tew & Rona, 1999; Bhagat & Ingole, 2015). Além disso, a GST pode neutralizar peróxidos lipídicos gerados durante o estresse oxidativo, prevenindo danos adicionais às membranas celulares.

Não foi encontrado na literatura resultados da quantificação de T-SH em zebrafish expostos a MeP e 4-HB. Porém, há estudos que relatam que após exposição de embriões de zebrafish de 28h a BuP (500 e 1.000 nM) houve aumento no conteúdo de T-SH, corroborando com os resultados observados em nosso estudo (Brown et al., 2024). A Exposição por 7 dias de tilápias do Nilo há uma mistura de Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs), que pertencem ao grupo de desreguladores endócrinos similares aos parabenos, também resultou no aumento do conteúdo de T-SH no fígado (De Souza et al., 2024). O aumento de T-SH indica uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo, pois os tióis, como a glutathiona reduzida (GSH), são essenciais na neutralização de EROS e na manutenção da homeostase redox. Esse aumento pode representar um mecanismo de defesa para compensar a diminuição das enzimas antioxidantes (SOD e CAT), que também foram reduzidas nos grupos expostos.

Os resultados observados em nosso trabalho sugerem que o 4-HB apresenta um maior potencial para promover danos oxidativos às membranas celulares em comparação ao MeP, mesmo quando os peixes são expostos a concentrações baixas de parabenos, comumente detectadas nos ambientes aquáticos. Níveis elevados de MDA indicam um aumento no dano oxidativo, refletindo a insuficiência do sistema antioxidante em neutralizar as EROS (Lushchak, 2016). Estudos relataram que a produção de MDA em larvas de zebrafish expostas ao MeP (50 mg/L) por 72h aumentou, enquanto a atividade antioxidante da GST reduziu (Ateş et al., 2018). Da mesma forma, um estudo com exposição de 120h ao butilparabeno mostrou o aumento nos níveis de MDA e redução na atividade das enzimas SOD e CAT em larvas de zebrafish após a exposição a concentrações de 0,75 e 1,0 mg/L (Li et al., 2023). Tais resultados podem indicar uma possível relação entre a redução da atividade das enzimas SOD, CAT e GST, o aumento

de EROS e, conseqüentemente, a intensificação da peroxidação lipídica, resultando em efeitos semelhantes aos observados no presente estudo com as enzimas CAT, SOD e o MDA.

EROS podem atacar com mais facilidade os componentes celulares, especialmente lipídios das membranas, resultando na produção de MDA (Venditti et al., 2015). O MDA é então utilizado como um biomarcador de estresse oxidativo (Hassan et al., 2024). A relação entre a redução da atividade da SOD e da CAT e o aumento do MDA está diretamente ligada ao desequilíbrio da biologia redox (Venditti et al., 2015). Esse processo pode criar um ciclo vicioso de estresse oxidativo, agravando os danos celulares e contribuindo para condições patológicas associadas à toxicidade dos xenobióticos (hepatotoxicidade, neurotoxicidade, cardiotoxicidade, imunotoxicidade, toxicidade reprodutiva) (Pei, 2025). Assim, a maior toxicidade do 4-HB em relação ao MeP pode estar associada a um aumento na geração de EROS e a uma ineficiência dos sistemas antioxidantes e do processo de metabolização em neutralizar seus efeitos deletérios.

Nós também observamos níveis elevados de PT no fígado de fêmeas de zebrafish expostas às duas concentrações de 4-HB. Esse resultado pode indicar uma resposta adaptativa ou tóxica ao estresse causado por esses compostos (Cichoż-Lach & Michalak, 2014). Nesse caso, podem ser um indicativo de disfunção hepática, como edema ou alterações estruturais no fígado, decorrentes da toxicidade subaguda (Opara, 2003; Cichoż-Lach & Michalak, 2014). A combinação de alta PT e baixa atividade antioxidante pode indicar que o organismo está tentando compensar o dano celular, mas sem sucesso, o que pode levar a um aumento no estresse oxidativo e potencial progressão para danos celulares severos, como peroxidação lipídica e morte celular, a realização de análises histopatológicas nas amostras coletadas poderão elucidar melhor os danos estruturais ocorridos no fígado.

O 4-HB parece ser aproximadamente 100 vezes mais tóxico para hepatócitos de peixes do que para hepatócitos humanos (Ball et al., 2023). Foi observado em um estudo

de caso no Vietnã uma maior concentração do 4-HB em peixes marinhos da espécie *Largehead hairtail* ao analisar níveis de bioacumulação de parabenos e seus metabólitos (Tran-Lam et al., 2023). O estudo ainda observou nos fatores de ampliação trófica (TMF) níveis de MeP e 4-HB superiores a 1, indicando biomagnificação substancial dessas substâncias na cadeia alimentar marinha do Vietnã (Tran-Lam et al., 2023). A biomagnificação do MeP foi também observada em uma teia alimentar marinha subtropical na Flórida, apresentando um fator de magnificação trófica (TMF) de 1,83 (Xue et al., 2017). Esses achados indicam que tanto o 4-HB quanto o MeP podem se acumular e amplificar ao longo da cadeia alimentar marinha, representando um potencial risco ecotoxicológico. A maior toxicidade do 4-HB para hepatócitos de peixes, aliada à sua biomagnificação, sugere que organismos em níveis tróficos superiores podem estar expostos a concentrações ainda mais elevadas, aumentando a preocupação sobre os impactos dessas substâncias nos ecossistemas aquáticos e na segurança alimentar.

A redução da atividade de enzimas como SOD e CAT pode comprometer outros processos biológicos essenciais, afetando a aptidão das fêmeas de zebrafish expostas ao MeP e 4-HB (Halliwell & Gutteridge, 2015). Esses efeitos podem prejudicar os processos reprodutivos ao afetar a qualidade dos ovócitos, reduzir a eficiência metabólica ao desviar recursos para reposição celular, e diminuir a sobrevivência devido à maior suscetibilidade a doenças e condições adversas, com implicações que podem se estender ao nível populacional, ameaçando a viabilidade da espécie em ambientes contaminados (Silvestre, 2020).

Em conjunto, os resultados do presente estudo são consistentes com estudos anteriores que associaram a exposição à diferentes parabenos parentais ao desbalanço redox e ao aumento do estresse oxidativo. No entanto, os efeitos ecotoxicológicos da exposição ao 4-HB ainda são escassos, tornando necessária a realização de estudos futuros que envolvam diferentes grupos de organismos aquáticos, diferentes tempos de exposição e avaliação de diferentes órgãos e múltiplos biomarcadores. Além disso, é fundamental considerar os efeitos cumulativos e os riscos associados à biomagnificação

dessas substâncias na cadeia alimentar, uma vez que estudos prévios têm apontado para a persistência ambiental dos parabenos. Portanto, nossos achados denotam o risco potencial das concentrações ambientais de MeP e 4-HB para organismos aquáticos, reforçando a necessidade de uma maior investigação sobre os impactos ecotoxicológicos dos a exposição aos parabenos parentais e aos seus metabólitos.

3.6 Conclusão

Os resultados apresentados neste estudo apontam que, mesmo em baixas concentrações, a exposição subaguda ao MeP e ao 4-HB desregula a homeostase redox do fígado de fêmeas de zebrafish. A exposição a ambos parabenos resultou em um aumento na produção de EROS, bem como em uma diminuição na atividade das enzimas SOD e CAT, evidenciaram o desequilíbrio redox. Os níveis elevados de MDA denotam a intensidade do estresse oxidativo induzido por esses compostos. Em conjunto, esses dados evidenciam os riscos ecotoxicológicos causados em organismos aquáticos expostos a contaminantes emergentes, como o MeP e o 4-HB.

CAPÍTULO 4 - Perspectivas Futuras

As perspectivas futuras incluem a quantificação das concentrações reais de MeP e 4-HB na água dos aquários durante a exposição coletadas após cada troca, bem como a realização de análises de expressão gênica para quantificar os transcritos de vitelogenina no fígado de fêmeas de *zebrafish* expostas a baixas concentrações de MeP e 4-HB, fornecendo uma avaliação mais detalhada sobre a potencial interferência endócrina dessas substâncias na produção de vitelogenina pelo fígado. Além disso, análises histopatológicas serão realizadas para identificar possíveis danos estruturais no tecido hepático, como vacuolização, necrose ou alterações vasculares e inflamatórias. Como existem evidências que a exposição a parabenos também altera o metabolismo lipídico, a quantificação de ácidos graxos também está sendo conduzidas. Em conjunto, estes novos dados poderão clarificar os efeitos ecotoxicológicos da exposição a ambas as substâncias em peixes.

Referências

- ABBAS, Suzanne et al. Metabolism of Parabens (4-Hydroxybenzoic Acid Esters) by Hepatic Esterases and UDP-Glucuronosyltransferases in Man. **Drug Metab. Pharmacokinet.** v. 25, n. 6, p. 568-577, 2010.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Method Enzymol.** v. 105, p. 121-126, 1984.
- AL-KHAZRAJI, Hind I. et al. Bioindicators of pesticides pollution in the aquatic environment: A review. **Plant Archives**, v. 20, n. 1, p. 1607-1618, 2020.
- AL-GHAIS, Saif M. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. **Marine pollution bulletin**, v. 74, n. 1, p. 183-186, 2013.
- ADEYEMI, Joseph A. et al. Teratogenicity, genotoxicity and oxidative stress in zebrafish embryos (*Danio rerio*) co-exposed to arsenic and atrazine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 172, p. 7-12, 2015.
- ANDERSON, Mary E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. In: Methods in enzymology. **Academic Press**, 1985. p. 548-555.
- ANDERSEN, Maria Helena Guerra et al. Placental transport of parabens studied using an ex-vivo human perfusion model. **Placenta**, v. 115, p. 121-128, 2021.
- ATEŞ, Perihan Seda et al. Methylparaben induces malformations and alterations on apoptosis, oxidant–antioxidant status, ccnd1 and myca expressions in zebrafish embryos. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 32, n. 3, p. e22036, 2018.
- AFZAL, Sheryar et al. From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration. **Frontiers in pharmacology**, v. 14, p. 1269581, 2023.
- ASCHBACHER, Kirstin; MASON, Ashley E. Eustress, distress, and oxidative stress: Promising pathways for mind-body medicine. In: **Oxidative Stress**. Academic Press, p. 583-617, 2020.
- AKSENOV, Michael Y.; MARKESBERY, William R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience letters**, v. 302, n. 2-3, p. 141-145, 2001.

Al, Xiaoqi et al. Exposure to butylparaben induces oxidative stress and apoptosis in the liver of *Polypedates megacephalus* tadpole. **Frontiers in Marine Science**, v. 11, p. 1480097, 2024.

AKMAL, Hasnain et al. A study on assessing the toxic effects of ethyl paraben on rohu (*Labeo rohita*) using different biomarkers; hemato-biochemical assays, histology, oxidant and antioxidant activity and genotoxicity. **PloS one**, v. 19, n. 5, p. e0302691, 2024.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of fish diseases**, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.

BHAGAT, J.; INGOLE, B. S. Glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and lipid peroxidation as a biomarkers of oxidative stress in snails: A review. 2016.

BALL, Ashley L. et al. Comparative cytotoxicity induced by parabens and their halogenated byproducts in human and fish cell lines. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 4, p. 786-794, 2023.

BARSE, A. V. et al. Vitellogenin induction and histo-metabolic changes following exposure of *Cyprinus carpio* to methyl paraben. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 12, p. 1557-1565, 2010.

BAMBINO, Kathryn; CHU, Jaime. Zebrafish in toxicology and environmental health. **Current topics in developmental biology**, v. 124, p. 331-367, 2017.

BEREKETOGLU, Ceyhun; PRADHAN, Ajay. Comparative transcriptional analysis of methylparaben and propylparaben in zebrafish. **Science of the Total Environment**, v. 671, p. 129-139, 2019.

BJERREGAARD, L. B. et al. Sex hormone concentrations and gonad histology in brown trout (*Salmo trutta*) exposed to 17 β -estradiol and bisphenol A. **Ecotoxicology**, v. 17, p. 252-263, 2008.

BOLUJOKO, N. B. et al. Toxicity and removal of parabens from water: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 792, p. 148092, 2021.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D. Microsomal lipid peroxidation. In: Methods in enzymology. **Academic press**, 1978. p. 302-310.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of fish diseases**, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.

BŁĘDZKA, Dorota; GROMADZIŃSKA, Jolanta; WĄSOWICZ, Wojciech. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**, v. 67, p. 27-42, jun. 2014.

CRAIG, Zeliann R. et al. Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. **Reproduction**, v. 142, n. 5, p. 633, 2011.

CICHOŻ-LACH, Halina; MICHALAK, Agata. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 25, p. 8082, 2014.

CARNEVALI, Olina et al. Endocrine-disrupting chemicals in aquatic environment: what are the risks for fish gametes?. **Fish physiology and biochemistry**, v. 44, p. 1561-1576, 2018.

CERVENY, Daniel et al. Young-of-the-year fish as a prospective bioindicator for aquatic environmental contamination monitoring. **Water research**, v. 103, p. 334-342, 2016.

DAVIDSON, P. Michael. Parabens. In: Antimicrobials in food. **CRC Press**, 2020. p. 405-420.

DAMBAL, Vrinda Yatin et al. Developmental toxicity and induction of vitellogenin in embryo-larval stages of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to methyl Paraben. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 141, p. 113-118, jul. 2017.

DA COSTA ARAÚJO, A. P. et al. Toxicity evaluation of the combination of emerging pollutants with polyethylene microplastics in zebrafish: Perspective study of genotoxicity, mutagenicity, and redox unbalance. **Journal of Hazardous Materials**, v. 432, p. 128691, 2022.

DA SILVEIRA, Felipe Félix Costa Lima et al. Bioaccumulation and ecotoxicity of parabens in aquatic organisms: Current status and trends. **Environmental Pollution**, p. 125213, 2024.

DERISSO, C. A. et al. Occurrence of Parabens in Surface Water, Wastewater Treatment Plant in Southeast of Brazil and Assessment of Their Environmental Risk. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 9, p. 1-13, 27 ago. 2020.

DEMIRCI-CEKIC, Sema et al. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 209, p. 114477, 2022.

DIETERICH, Sabine et al. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 33-39, 2000.

DE LIMA, L. B. D.; et al. Use of biomarkers to evaluate the ecological risk of xenobiotics associated with agriculture. **Environmental Pollution**, 237, 611-624. 2018.

ELSEHLY, W. M.; et al. The potential implications of estrogenic and antioxidant-dependent activities of high doses of methyl paraben on MCF7 breast cancer cells. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 36, n. 5, p. 23012, 2022.

ESTÉVEZ, J.; et al. Biomarkers for testing toxicity and monitoring exposure to xenobiotics. In: Biomarkers in Toxicology. **Academic Press**, 2019. p. 1165-1174.

FRANKLIN, James. How reliable are field-derived biomagnification factors and trophic magnification factors as indicators of bioaccumulation potential? Conclusions from a case study on per-and polyfluoroalkyl substances. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 12, n. 1, p. 6-20, 2015.

FRANSWAY, Anthony F. et al. Paraben toxicology. **Dermatitis**, v. 30, n. 1, p. 32-45, 2019.

FREDERIKSEN, H; et al. Parabens in urine, serum and seminal plasma from healthy Danish men determined by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 21, n. 3, p. 262-271, 2011.

FOSSI, Maria Cristina. Biomarkers as diagnostic and prognostic tools for wildlife risk assessment: integrating endocrine-disrupting chemicals. **Toxicology and Industrial Health**, v. 14, n. 1-2, p. 291-309, 1998.

GAO, Yanpeng et al. An inescapable fact: toxicity increases during photo-driven degradation of emerging contaminants in water environments. **Current Opinion In Green And Sustainable Chemistry**, v. 30, p. 100472, 2021.

GAMSE, J. T.; GORELICK, D. A. Mixtures, metabolites, and mechanisms: understanding toxicology using zebrafish. **Zebrafish**, v. 13, n. 5, p. 377-378, 2016.

GONG, Deyan; ZHA, Zhengbao. Hydroxybenzoic acids. In: Handbook of Food Bioactive Ingredients: Properties and Applications. **Cham: Springer International Publishing**, 2023. p. 29-58.

GARCÍA-CAPARRÓS, Pedro et al. Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. **The Botanical Review**, v. 87, p. 421-466, 2021.

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

HU, C. et al. Endocrine disruption and reproductive impairment of methylparaben in adult zebrafish. **Food and Chemical Toxicology**, v. 171, p. 113545, 2023.

HU, C. et al. Hepatotoxicity caused by methylparaben in adult zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 250, p. 106255, 2022.

HAMAN, Camille et al. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. **Water Research**, v. 68, p. 1-11, 2015.

HINTON, David E. et al. Toxic responses of the liver. In: Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. **CRC Press**. p. 224-268, 2017.

HERMOSO, Virgilio et al. Assessing the ecological status in species-poor systems: A fish-based index for Mediterranean Rivers (Guadiana River, SW Spain). **Ecological Indicators**, v. 10, n. 6, p. 1152-1161, 2010.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. Free radicals in biology and medicine. **Oxford university press**, USA, 2015.

HAYES, John D. et al. Glutathione transferases. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, p. 51-88, 2005.

HAJJI, Angelina L.; LUCAS, Kelsey N. Anthropogenic stressors and the marine environment: from sources and impacts to solutions and mitigation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 205, p. 116557, 2024.

HAMMER, Hugh S. Water quality for zebrafish culture. In: The zebrafish in biomedical research. Academic Press, p. 321-335, 2020.

HASSANZADEH, Nasrin et al. Histopathological evaluation of the Zebrafish (Danio rerio) testis following exposure to methyl paraben. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 5, n. 2, p. 71-78, 2017.

HABIG, William. H. et al. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HADWAN, M. H.; KHABT, H. Simple Spectrophotometric Method for Analysis of Serum Catalase Activity. **Journal of Clinical & Diagnostic Research**, v. 12, n. 9, 2018.

Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. **Oxford university press**, USA; 2015.

HASSAN, Huda A.; AHMED, Hind Sh; HASSAN, Dheefaf F. Free radicals and oxidative stress: Mechanisms and therapeutic targets. **Human Antibodies**, v. 32, n. 4, p. 151-167, 2024.

HAYES, John D.; FLANAGAN, Jack U.; JOWSEY, Ian R. Glutathione transferases. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, n. 1, p. 51-88, 2005.

HOWE., K., Clark, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, v. 496 (7446, p. 498-503, 2013

HEGAZY, Hoda G.; ALI, Elham HA; ELGOLY, Amany H. Mahmoud. Interplay between pro-inflammatory cytokines and brain oxidative stress biomarkers: evidence of parallels between butyl paraben intoxication and the valproic acid brain physiopathology in autism rat model. **Cytokine**, v. 71, n. 2, p. 173-180, 2015.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

IRIBARNE-DURÁN, L. M. et al. Menstrual blood concentrations of parabens and benzophenones and related factors in a sample of Spanish women: An exploratory study. **Environmental research**, v. 183, p. 109228, 2020.

JIN, Xiaowei et al. Ecological risk of nonylphenol in China surface waters based on reproductive fitness. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 1256-1262, 2014.

KAWASHIMA, Yukio et al. Summary of 17 chemicals evaluated by OECD TG229 using Japanese Medaka, *Oryzias latipes* in EXTEND 2016. **Journal of Applied Toxicology**, v. 42, n. 5, p. 750-777, 2022.

KIDD, Karen A. et al. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 104, n. 21, p. 8897-8901, 2007.

LAUGHLIN, D. C.; MESSIER, J. Fitness of multidimensional phenotypes in dynamic adaptive landscapes. **Trends In Ecology & Evolution**, v. 30, n. 8, p. 487-496, ago. 2015.

LIANG, Jiefeng et al. Assessment of thyroid endocrine disruption effects of parabens using in vivo, in vitro, and in silico approaches. **Environmental science & technology**, v. 56, n. 1, p. 460-469, 2021.

LIANG, J. et al. Studying paraben-induced estrogen receptor-and steroid hormone-related endocrine disruption effects via multi-level approaches. **Science of The Total Environment**, v. 869, p. 161793, 2023.

LI, Wenhui et al. Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. **Journal of hazardous materials**, v. 300, p. 29-38, 2015.

LIN, Yiling et al. Occurrence and bioaccumulation of parabens and their metabolites in the biota from a subtropical freshwater river ecosystem: Implications for human exposure. **Environmental Research**, v. 240, p. 117530, 2024.

LI, Zekun et al. Exposure to Butylparaben Induces Craniofacial Bone Developmental Toxicity in Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 265, p. 115523, 2023.

LEAO, Taynara et al. Morfologia hepática comparativa associada ao índice hepatossomático em cinco espécies de anuros neotropicais. **The Anatomical Record** , v. 304, n. 4, p. 860-871, 2021.

LIMÓN-PACHECO, Jorge; GONSEBATT, María E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 674, n. 1-2, p. 137-147, 2009.

LUBZENS, Esther et al. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. **General and comparative endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 367-389, 2010.

LUSHCHAK, Volodymyr I. Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, p. 711-747, 2016.

MATOZZO, Valerio et al. Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: a review. **Environment international**, v. 34, n. 4, p. 531-545, 2008.

MA, W. et al. Concentrations and fate of parabens and their metabolites in two typical wastewater treatment plants in northeastern China. **Science of the total environment**, v. 644, p. 754-761, 2018.

MARLATT, V. L. et al. Impacts of endocrine disrupting chemicals on reproduction in wildlife and humans. **Environmental research**, v. 208, p. 112584, 2022.

MARUYA, K. A. et al. An adaptive, comprehensive monitoring strategy for chemicals of emerging concern (CECs) in California's aquatic ecosystems. **Integrated environmental assessment and management**, v. 10, n. 1, p. 69-77, 2014.

MCDONOUGH, Callie M. et al. Toxicity of bisphenol analogues on the reproductive, nervous, and immune systems, and their relationships to gut microbiome and metabolism: Insights from a multi-species comparison. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 51, n. 4, p. 283-300, 2021.

MEIJIDE, F. J. et al. Effects of waterborne exposure to 17 β -estradiol and 4-tert-octylphenol on early life stages of the South American cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 124, p. 82 – 90, 2016.

MISHRA, A. K.; MOHANTY, B. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 26, n. 2, p. 136-141, 2008.

MEROLA, C. et al. Embryotoxicity of methylparaben to zebrafish (*Danio rerio*) early-life stages. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 236, p. 108792, out. 2020.

MAHARAJAN, Kannan et al. Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): a multi biomarker study. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 132-145, mar. 2018.

MIYAZAKI, Hiromi et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. **European journal of applied physiology**, v. 84, p. 1-6, 2001.

NAGAR, Yogendra et al. Toxicity assessment of parabens in *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, v. 246, p. 125730, 2020.

NIKI, Etsuo. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress?. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 595, p. 19-24, 2016.

NOWAK, Karolina et al. Parabens and their effects on the endocrine system. **Molecular And Cellular Endocrinology**, v. 474, p. 238-251, out. 2018.

OPARA, Emmanuel C. Oxidative stress. **Colonic Diseases**, p. 179-189, 2003.

PEDERSEN, K. L. The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an in vivo fish assay. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 86, n. 3, p. 110-113, 2000.

PENHA, Larissa Cristine de Carvalho et al. Toxicity and sublethal effects of methylparaben on zebrafish (*Danio rerio*) larvae and adults. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 28, n. 33, p. 45534-45544, 18 abr. 2021.

PYCKE, Benny FG et al. Maternal and fetal exposure to parabens in a multiethnic urban US population. **Environment international**, v. 84, p. 193-200, 2015.

POPRAC, Patrik et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. **Trends in pharmacological sciences**, v. 38, n. 7, p. 592-607, 2017.

PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S.. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (bloch). **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 20, n. 1, p. 112-117, jul. 2005.

PEI, De-Sheng; LIU, Yiyun (Ed.). **Toxicological Assessment of Combined Chemicals in the Environment**. John Wiley & Sons, 2025.

RAI, Prabhat Kumar et al. Environmental fate, ecotoxicity biomarkers, and potential health effects of micro-and nano-scale plastic contamination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123910, 2021.

RIBAS, L.; PIFERRER, F.. The zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research. **Reviews In Aquaculture**, v. 6, n. 4, p. 209-240, 31 jul. 2013.

RODGERS, Kathryn M. et al. Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. **Environmental research**, v. 160, p. 152-182, 2018.

ROPER, Courtney; TANGUAY, Robert L.. Zebrafish as a Model for Developmental Biology and Toxicology. Handbook Of Developmental **Neurotoxicology**, p. 143-151, 2018.

REED, Barney; JENNINGS, Maggy. Guidance on the housing and care of zebrafish (*Danio rerio*). Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care

International (AAALAC International). **Research Animals Department**, Science Group, RSPCA, nov. 2011.

RICHARDSON, Susan D.; KIMURA, Susana Y. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 1, p. 546-582, 2016.

SAXENA, Vivek. Water Quality, Air Pollution, and Climate Change: Investigating the Environmental Impacts of Industrialization and Urbanization. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 236, n. 2, p. 1-40, 2025.

SANTOS, Mauricius Marques dos et al. Occurrence and risk assessment of parabens and triclosan in surface waters of southern Brazil: a problem of emerging compounds in an emerging country. **Rbrh**, v. 21, n. 3, p. 603-617, set. 2016.

SHAHJAHAN, Md et al. Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. **Science of the Total Environment**, v. 843, p. 156910, 2022.

SILVESTRE, Frédéric. Signaling pathways of oxidative stress in aquatic organisms exposed to xenobiotics. *Journal Of Experimental Zoology Part A: **Ecological and Integrative Physiology***, v. 333, n. 6, p. 436-448, 2020.

SILVA, Daniele C. et al. Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 162, p. 85-91, 2018.

SILVESTRE, Frédéric. Signaling pathways of oxidative stress in aquatic organisms exposed to xenobiotics. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 333, n. 6, p. 436-448, 2020.

SADIQ, Idris Z. Free radicals and oxidative stress: Signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. **Current molecular medicine**, v. 23, n. 1, p. 13-35, 2023.

SIES, Helmut (Ed.). Oxidative stress: eustress and distress. **Academic Press**, 2019.

THEERTHAGIRI, J.; et al. Application of advanced materials in sonophotocatalytic processes for the remediation of environmental pollutants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 412, p. 125245, 2021.

TOMÁS-BARBERAN, Francisco A., CLIFFORD, Michael N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. **J. Sci. Food Agric.**, v. 80, p. 1024-1032, 2000.

TRAN-LAM, Thanh-Thien et al. Occurrence, biomagnification, and risk assessment of parabens and their metabolites in marine fish: The case study of Vietnam.

Chemosphere, v. 344, p. 140221, 2023.

TRAN, Tri Manh et al. Occurrence of phthalate diesters (phthalates), p-hydroxybenzoic acid esters (parabens), bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and their derivatives in indoor dust from Vietnam: implications for exposure. **Chemosphere**, v. 144, p. 1553-1559, 2016.

TEW, Kenneth D.; RONAI, Ze'ev. GST function in drug and stress response. **Drug Resistance Updates**, v. 2, n. 3, p. 143-147, 1999.

VAN DER OOST, Ron et al. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.

VO, Thuy TB et al. Potential estrogenic effect (s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. **Reproductive toxicology**, v. 29, n. 3, p. 306-316, 2010.

VENDITTI, Paola; NAPOLITANO, Gaetana; DI MEO, Sergio. Role of mitochondria and other EROS sources in hyperthyroidism-linked oxidative stress. **Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine and Metabolic Agents)**, v. 15, n. 1, p. 5-36, 2015.

WANG, Wei; KANNAN, Kurunthachalam. Fate of parabens and their metabolites in two wastewater treatment plants in New York State, United States. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 3, p. 1174-1181, 2016.

WOLF, Jeffrey C.; WHEELER, James R. A critical review of histopathological findings associated with endocrine and non-endocrine hepatic toxicity in fish models. **Aquatic Toxicology**, v. 197, p. 60-78, 2018.

WARD JR, Jonathan B.; HENDERSON, Rogene E. Identification of needs in biomarker research. **Environmental health perspectives**, v. 104, n. suppl 5, p. 895-900, 1996.

WANG, Jun et al. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113024, nov. 2019.

WANG, Man et al. Methylparaben alters community composition, structure and assembly processes of free-living bacteria, phytoplankton and zooplankton. **Environmental Research**, v. 262, p. 119944, 2024.

WILKINSON, John et al. Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: an overarching review of the field. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 954-970, dez. 2017.

XUE, Jingchuan; KANNAN, Kurunthachalam. Accumulation profiles of parabens and their metabolites in fish, black bear, and birds, including bald eagles and albatrosses. **Environment International**, v. 94, p. 546- 553, set. 2016.

XUE, Xiaohong et al. Trophic Magnification of Parabens and Their Metabolites in a Subtropical Marine Food Web. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 2, p. 780-789, 5 jan. 2017.

YANG, Xiaoxi et al. Synthetic phenolic antioxidants cause perturbation in steroidogenesis in vitro and in vivo. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 2, p. 850-858, 2018.

YE, Zhi-Wei et al. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1850, n. 8, p. 1607-1621, 2015.

YIN, Yaru et al. Effect of butyl paraben on oxidative stress in the liver of *Mauremys sinensis*. **Toxics**, v. 11, n. 11, p. 915, 2023.

YANCHEVA, V. et al. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. **Applied ecology and environmental research**, v. 14, n. 1, p. 47-75, 2016.

YAMAMOTO, H. Y. et al. Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: individual and additive approach. **Science of the Total Environment**, v. 410, p. 102 – 111, 2011.

ZHANG, Yongkang et al. Full sexual maturity-cycle exposure to environmentally relevant concentrations of 17 β -estradiol decreases reproductive capacity of zebrafish. **Journal of Environmental Sciences**, v. 137, p. 580-592, 2024.

BROWN, Sarah E. et al. Pancreatic beta cells are a sensitive target of embryonic exposure to butylparaben in zebrafish (*Danio rerio*). **Birth defects research**, v. 110, n. 11, p. 933-948, 2018.

DE SOUZA, Tugstênio Lima et al. Exploring the endocrine disrupting potential of a complex mixture of PAHs in the estrogen pathway in *Oreochromis niloticus* hepatocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 273, p. 107002, 2024.

