

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo
desta dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 27/02/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Camila Zucchini de Souza

Avaliação hematológica e metabólica de *Phrynops geoffroanus* (Testudines:
Chelidae) submetidos à hipóxia.

São José do Rio Preto - SP
2018

Camila Zucchini de Souza

Avaliação hematológica e metabólica de *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) submetidos à hipóxia.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Profª. Dra. Claudia Regina Bonini-Domingos

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Yamakami Camilo

São José do Rio Preto - SP
2018

Souza, Camila Zucchini de.

Avaliação hematológica e metabólica de *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) submetidos à hipóxia / Camila Zucchini de Souza. – São José do Rio Preto, 2018
76 f. : il., tabs.

Orientador: Claudia Regina Bonini-Domingos

Coorientador: Rodrigo Yamakami Camilo

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia de água doce. 2. Quelônio. 3. Hematologia. 4. Hipóxia. 5. Metabolismo energético. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.
II. Título.

CDU – 598.13

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Camila Zucchini de Souza

Avaliação hematológica e metabólica de *Phrynops geoffroanus*
(Testudines: Chelidae) submetidos à hipóxia.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Profª. Dra. Claudia Regina Bonini-Domingos

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Yamakami Camilo

Comissão Examinadora:

Profª. Drª. Claudia Regina Bonini-Domingos
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Profª. Drª. Maria Isabel Afonso da Silva
Universidade Federal do Acre (UFAC) - Campus Floresta

Prof. Dr. Eduardo de Almeida Alves
Fundação Universidade Regional de Blumenau

São José do Rio Preto – SP
27 de fevereiro de 2018

Este trabalho foi desenvolvido junto ao Centro de Estudos de Quelônios (CEQ) / Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH), Departamento de Biologia, e junto ao Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática, Departamento de Química e Ciências Ambientais, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, com auxílio financeiro da CAPES e FAPERP.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Solange** e **Marquinho**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Solange e Marquinhos, por toda paciência e fé depositada em mim desde o período de graduação e que me ajudaram sem hesitar na realização dos meus sonhos profissionais.

Aos meus avós Maria e Marcos, por todo suporte, amor e confiança.

Às famílias Zucchini e Rotondo, tios e tias, primos e primas por todo auxílio e me fazer lembrar em todas as idas para Araraquara o verdadeiro significado da palavra família.

Ao meu namorado e melhor amigo, Bruno, pela paciência, companheirismo e amor em todas as situações, sejam elas boas, ruins ou até mesmo desafiadoras.

Aos meus amigos de Araraquara, em especial Ari, Ana, Gabi e Camilinha, por cada encontro acolhedor de risadas e desabafos.

As amigas da RepubiZoo que conviveram um ano comigo durante minha jornada em São José do Rio Preto, Ana Marina, Jessiquiane e Mari! Obrigada por cada choconhaque, festas, café e bolinhos de cenoura e limão.

Às minhas companheiras e parceiras, Gabi e Mini, que me aturaram desde o início do estágio no laboratório em 2011 até o fim do mestrado e hoje se tornaram mais do que parceiras de laboratório, são irmãs que posso contar em qualquer momento.

E um agradecimento em especial a Gabi, por cada desabafo e cada café filosófico que ocorria no Gil em um momento de crise, cada risada e cada ajuda em todo esse período que permaneci no CEQ.

Aos amigos e parceiros de laboratório do LHGDH/CEQ, em especial às capivaras Gabriela, Mugs, Letícia Orlandini, Letícia Sybuia, Nayara, Patrícia e Gabriel, obrigada por cada momento!

Agradeço também aos pesquisadores que se tornaram exemplos de profissionais e pessoas: Florindo, Queixo, Lari e Eduardo. Obrigada por todo o apoio, ensinamento, auxílio nas análises, conversas e cada discussão durante esse período, esses momentos foram primordiais para finalização do meu mestrado.

Ao meu orientador Rodrigo, que mais do que ninguém cultivou a paciência em me ensinar e me acompanhou e auxiliou desde o primeiro ano de graduação. Agradeço por compartilhar cada ensinamento e por me guiar quando tinha infinitas dúvidas.

A minha querida orientadora Claudia, por ter me aceitado desde 2011 em seu laboratório, por me ensinar muito do que sei e por depositar sua confiança em mim. Obrigada pelo apoio de sempre e principalmente na fase de reta final do mestrado, serei eternamente grata.

Agradeço a todos os profissionais que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal e profissional, em especial aos professores que me acompanharam durante a graduação no IF – Campus Barretos: Claudia Z., Rodrigo Yamakami, Alessandra, Anna Isabel, Marcão, Rodrigo Zieri e aos professores do IBILCE/UNESP que estiveram presentes em minha formação de mestre: Florindo, Bonilla, Classius, Lillian, Eliane, Eduardo.

À CAPES e à FAPERP pelo suporte financeiro durante o período.

E agradecer ao IBILCE/UNESP por me acolher de braços abertos e me permitir realizar o sonho de ser mestre!

Resumo

A espécie *Phrynops Geoffroanus* (Testudines: Chelidae), como outras espécies de quelônios dulcícolas, é considerada hipóxia-tolerante. Esses animais possuem diversos mecanismos que permitem tolerância a ambiente com pouca ou nenhuma oxigenação. O objetivo deste estudo consistiu em avaliar alterações na série vermelha e nas concentrações de intermediários energéticos em tecidos sanguíneo, hepático e muscular esquelético e cardíaco em hipóxia induzida. Os espécimes coletados em São José do Rio Preto-SP foram divididos em dois grupos: Normóxia, em que os animais tiveram acesso livre à superfície para respirarem e Hipóxia, no qual uma tela foi colocada abaixo do nível da água impedindo acesso dos indivíduos à superfície para respirarem, durante cinco horas. Houve diferença ($p < 0,05$) entre os grupos, no qual os valores de hematócrito, concentração de hemoglobina, VGM e HGM aumentaram em Hipóxia, o hematócrito possivelmente aumenta como consequência da desidratação ou aumento do VGM, a hemoglobina aumenta a fim de tornar o transporte de oxigênio mais efetivo aos tecidos, o VGM e HGM salientam a adaptação do animal por meio do aumento do volume celular e aumento de hemoglobina no eritrócito. Em relação ao metabolismo, houve diferença nas concentrações de glicose e lactato nos três tecidos, glicogênio muscular e aminoácidos plasmáticos, sendo as maiores concentrações na condição de hipóxia. A hipóxia reflete diretamente na baixa taxa de glicogênio e alta taxa de glicose na musculatura, realizando assim, glicogenólise, também é constatada altas concentrações de lactato, no qual devido à ausência do oxigênio, faz com que as células musculares realizem fermentação láctica para produção de ATP. Com o intuito de diminuir a acidose láctica, o alto teor de lactato é lançado no sangue, e este é direcionado às células hepáticas, sendo convertida em glicose pela gliconeogênese, lançada na corrente sanguínea para ser disponibilizada aos tecidos, constituindo o Ciclo de Cori. A alta concentração de aminoácidos plasmática pode ocorrer por hidrólise proteica, sendo utilizados como substrato de gliconeogênese ou lesão tecidual. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a espécie possui manutenção de reservas de combustíveis fermentáveis no organismo, para que seja possível realizar metabolismo anaeróbico e gliconeogênese, em privação de oxigênio.

PALAVRAS-CHAVE: hipóxia, hematologia, metabolismo energético, *Phrynops Geoffroanus*.

Abstract

The species *Phrynops Geoffroanus* (Testudines: Chelidae), like other species of freshwater turtle, is considered hypoxia-tolerant. These animals have several mechanisms that allow tolerance to the environment with little or no oxygenation. The objective of this study was to evaluate alterations in the blood count and the concentrations of energetic intermediates in tissues blood, hepatic and skeletal and cardiac muscle induced hypoxia. The specimens collected in São José do Rio Preto-SP were divided into two groups: Normóxia, in which the animals had free access to the surface to breathe and Hypoxia, in which a screen was placed below the water level, preventing individuals from reaching the surface to breathe for five hours. There was a difference ($p < 0.05$) between the groups, in which hematocrit, hemoglobin, VGM and HGM levels increased in Hypoxia, hematocrit possibly increased as a consequence of dehydration or increase of VGM, hemoglobin increases in order to rendering oxygen transport more effective to tissues, VGM and HGM emphasize the adaptation of the animal by increasing cell volume and increasing erythrocyte hemoglobin. Regarding metabolism, there were differences in glucose and lactate concentrations in the three tissues, muscle glycogen and plasma amino acids, with the highest concentrations in the hypoxia condition. Hypoxia directly reflects the low glycogen ratio and high glucose rate in the muscles, thus, glycogenolysis is also observed. High concentrations of lactate are also observed, due to the absence of oxygen, causing the muscle cells to perform lactic fermentation for the production of ATP. In order to decrease lactic acidosis, the high lactate content is released into the blood and is directed to the liver cells. It is converted to glucose by gluconeogenesis, which is released into the bloodstream to be made available to the tissues, constituting the Cori cycle. The high concentration of plasma amino acids can occur by protein hydrolysis, being used as substrate of gluconeogenesis or tissue injury. Based on the results obtained, it is concluded that the species has maintenance of reserves of fermentable fuels in the body, so that it is possible to perform anaerobic metabolism and gluconeogenesis, in oxygen deprivation.

KEY WORDS: hypoxia, hematology, energetic metabolism, *Phrynops Geoffroanus*.

Lista de Figuras

Figura 1: Fluxo sanguíneo através do coração de répteis não crocodilianos, destacando o desvio D-E.	19
Figura 2: Ação da enzima Glicogênio Fosforilase, que remove resíduos de glicose da extremidade não redutora da cadeia de glicogênio, obtendo como produto glicose-1-fosfato.	21
Figura 3: Reação catalisada pela fosfoglicomutase, cujo produto final é a glicose-6-fosfato.	22
Figura 4: Resumo da via da glicogenólise, em que a Glicose6fosfato pode ser encaminhada para a glicólise, ocorrendo economia de um ATP.	22
Figura 5: Esquema do Ciclo de Cori.	24
Figura 6: Espécime <i>Phrynops geoffroanus</i>	25
Figura 7: Cinco animais do grupo em normóxia com acesso livre à superfície, respirando normalmente.	31
Figura 8: Cinco animais do grupo em hipóxia com tela abaixo do nível da água, impedindo o acesso dos animais à superfície.	31
Figura 9: Bombeamento de nitrogênio gasoso nos tanques com o intuito de garantir a diminuição da concentração de O ₂ dissolvido na água.	32
Figura 10: Fluxograma com a descrição dos experimentos que foram realizados com 10 espécimes de <i>P. geoffroanus</i> , demonstrando quantos animais foram utilizados em normóxia e hipóxia e o que foi avaliado.	33
Figura 11: Local de coleta da amostra biológica sanguínea.	34
Figura 12: Fórmulas para calcular os índices hematimétricos.	35
Figura 13: Ação da enzima lactato desidrogenase (LDH) na conversão de piruvato a lactato ou o inverso conforme necessidades celulares.	46
Figura 14: Resumo do Ciclo Glicose-Alanina.	49
Figura 15: Resumo da via metabólica de <i>Phrynops geoffroanus</i> durante hipóxia induzida.	51
Figura 16: Cartão de referência microhematócrito.	63
Figura 17: Imagem macroscópica da câmara de Neubauer, onde é realizada a contagem de eritrócitos. A contagem é realizada pelo quadrante central nos cinco quadrados em destaque.	65

Lista de Tabelas

Tabela 1: Valores hematológicos da série vermelha de <i>P. geoffroanus</i> em condições de normóxia e hipóxia.	40
Tabela 2: Valores dos intermediários do metabolismo energético plasmático de <i>P. geoffroanus</i> em condições de normóxia e hipóxia.	42
Tabela 3: Valores dos intermediários do metabolismo energético plasmático de <i>P. geoffroanus</i> em condições de normóxia e hipóxia.	43

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ATP	Adenosina Trifosfato
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CHGM	Concentração da Hemoglobina Globular Média
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
dL	Decilitro
DP	Desvio Padrão
D-E	Direita-Esquerda
FAPERP	Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de São José do Rio Preto
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
fL	Fentolitro
g	grama
H⁺	Íons de Hidrogênio
HGM	Hemoglobina Globular Média
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBIO	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
KCl	Cloreto de potássio
kg	Kilograma
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
LDH	Lactato-desidrogenase
L	Litro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmoL	Milimol
mM	MiliMolar
Nº	Número
nm	Nanômetro
O₂	Oxigênio molecular
pH	Potencial Hidrogeniônico
pG	Picograma
Ref.	Referência

rpm	Rotação Por Minuto
µg	Micrograma
µmol	Micromol
V	volts
VGM	Volume Globular Médio
x10³	Número em notação científica
®	Produto registrado
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
<	valor menor

Sumário

1	Introdução	17
1.1	Hipóxia	17
1.2	Fisiologia e a condição de hipóxia.....	18
1.3	Metabolismo em condição de hipóxia	20
1.4	O quelônio dulcícola <i>Phrynops geoffroanus</i>	24
2	Objetivos	28
2.1	Objetivo geral	28
2.2	Objetivos específicos	28
3	Material e Métodos	30
3.1	Coleta e alocação dos animais	30
3.2	Experimentos em normóxia e hipóxia	30
3.3	Coleta de Sangue Periférico e Análise de Hemograma Completo.....	33
3.4	Coleta dos Tecidos e Avaliação da Atividade Metabólica	35
3.5	Análise Estatística.	38
4	Resultados e Discussão.....	40
4.1	Análises dos parâmetros hematológicos relacionados à série vermelha	40
4.2	Análise dos parâmetros metabólicos energéticos	42
5	Conclusões:.....	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
	APÊNDICES	62
	Apêndice A – Protocolos para análises hematológicas	63
	Apêndice B – Protocolos para análises metabólicas	67
	ANEXOS.....	75
	Anexo A – Autorização IBAMA/SISBIO para realização de atividade com finalidade científica	76
	Anexo B – Documento de aprovação para experimentação animal pela Comissão de Ética no Uso de Animais – IBILCE/UNESP.....	78

INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Hipóxia

Variações na disponibilidade de oxigênio são comuns em diversos ambientes, incluindo os aquáticos (RICHARDS, 2011). Um ambiente aquático pode ser considerado normóxico quando os níveis de oxigênio encontram-se em torno de 80% (aproximadamente 6 mg de O₂ L⁻¹ a 25°C), e hipóxico quando os níveis atingem aproximadamente 30%, correspondendo a 2 mg L⁻¹ de O₂ (MUUSZE et al, 1998; WELKER et al., 2013), gerando uma situação de escassez de oxigênio que, como consequência, pode ocasionar hipóxia tecidual (HILL; WYSE; ANDERSON, 2012).

Um exemplo de ambiente aquático que apresenta grande variação das concentrações de oxigênio é o rio Preto, que por receber grande quantidade de efluentes domésticos *in natura* das cidades de seu entorno é considerado um ambiente eutrofizado, apresentando elevados níveis de degradação. Estudos realizados nos corpos d'água deste rio, que pertence à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande, demonstraram que a máxima concentração de oxigênio dissolvido foi igual a 1,7mg L⁻¹, sendo insuficiente para manter a qualidade da vida aquática (MELO; MOREIRA; BISINOTI, 2009; CAMPANHA, 2010).

Diversos animais estão sujeitos a diferentes estressores ambientais que intensificam a depleção de oxigênio, como congelamento de superfícies, desidratação, estivação e eutrofização (MOREIRA et al., 2017). A grande maioria dos animais é capaz de sobreviver a certo grau de hipóxia, no entanto, alguns apresentam maior resistência à ambientes com baixa concentração de oxigênio em comparação a outros (HOCHACHKA; LUTZ, 2001). Como exemplo de animais resistentes à depleção de oxigênio podemos citar os quelônios, que assim como outros vertebrados, são animais aeróbicos que dependem do gás oxigênio para preservar seu funcionamento celular, mas que em baixas concentrações de oxigênio, conseguem manter um nível mínimo de atividade metabólica (JACKSON, 2000). Isto é possível devido a mecanismos bioquímicos, hematológicos, fisiológicos e comportamentais que permitem sua

sobrevivência em situações de baixa pressão de oxigênio (MOREIRA et al., 2017; BICKLER; BUCK, 2007), tornando-os importantes organismos de estudo.

Há um conjunto de adaptações que tornam efetivas as estratégias de defesa à hipóxia, produzindo um estado profundo de hipometabolismo (HOCHACHKA; LUTZ, 2001), que reduz a demanda de energia e limita a utilização das reservas de substrato, bem como o acúmulo de metabólitos tóxicos (HICKS; WANG, 2004).

Um exemplo de estratégia consiste no aumento da afinidade da hemoglobina pelo O₂, elevada capacidade antioxidante e níveis elevados de reservas de glicogênio (FRASER et al., 2006; CHEN et al., 2013; LUTZ; MILTON, 2004; VENANCIO et al., 2009; 2010; 2013).

1.2 Fisiologia e a condição de hipóxia.

O hemograma é um método de estudo que possibilita avaliar condições específicas do animal, como anemia, doenças inflamatórias, parasitemias e distúrbios hematopoiéticos (FALCE, 2009).

Variações sazonais e fatores como temperatura, fotoperíodo e estressores ambientais, como a eutrofização, podem afetar vertebrados ectotérmicos, modificando sua fisiologia e afetando diretamente os parâmetros hematológicos (SOUZA, 2004; PITOL et al., 2008).

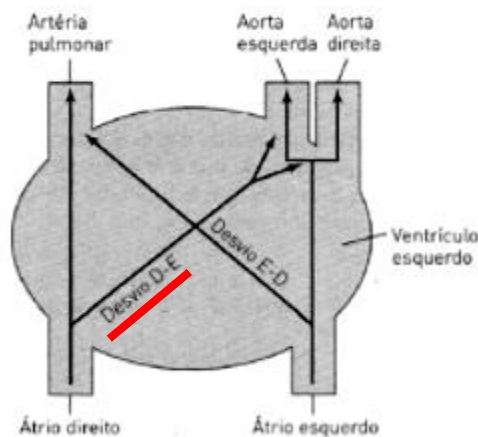
Segundo Moyes e Schulte (2010), o aumento do hematócrito e da hemoglobina elevam a concentração de oxigênio no sangue e auxiliam os espécimes a sobreviver em períodos críticos de privação de oxigênio. Vertebrados também utilizam ajustes cardiovasculares que contribuem na oxigenação adequada aos tecidos durante períodos de disponibilidade limitada de oxigênio, por meio da modulação de seu fornecimento aos tecidos (HOCHACHKA et al., 1996; HOCHACHKA; LUTZ, 2001).

Dentre os vertebrados, os répteis aquáticos comumente submetem-se à hipoxia e sofrem reduções na concentração de O₂ pulmonar e no sangue durante a respiração associada ao mergulho prolongado (HICKS; WANG, 2004). Sabe-se que, em tartarugas que mantêm suas atividades metabólicas sob condições anóxicas, a concentração de oxigênio disponível para sua sobrevivência é apenas a que se encontra dentro de seu organismo (FUSTER et al., 1997), caracterizando um estado de hipoxemia, condição

natural entre os quelônios, em que há menos oxigênio circulando na corrente sanguínea (HICKS; WANG, 1999).

Em quelônios, a hipoxemia ocorre em virtude de sua anatomia cardíaca, em que o ventrículo não dividido permite a mistura de sangue venoso sistêmico altamente regulado, denominado desvio D-E (direita para a esquerda) (Figura 1), no qual certa quantidade de sangue venoso, com pouco oxigênio, desvia da circulação pulmonar e entra novamente na circulação sistêmica, onde há sangue pouco oxigenado pelo corpo (RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 2000; MOYES; SCHULTE, 2010). Assim, o sangue pobre em oxigênio desvia dos pulmões e, por conta disso, não se torna oxigenado, resultando em hipoxemia arterial e redução no fornecimento de oxigênio aos tecidos (HICKS; WANG, 2004). Esse desvio altera a concentração de O₂ arterial sem depender dos pulmões, desviando sangue do circuito pulmonar para o circuito sistêmico durante o mergulho, evitando a perfusão do pulmão inativo (MOYES; SCHULTE, 2010; HICKS; WANG, 2012). Esse mecanismo é importante por regular e tornar efetiva a distribuição de oxigênio aos tecidos, especialmente quando se necessita de elevadas quantidades de oxigênio (HICKS; WANG, 2012). Sendo assim, os mesmos regulam a distribuição de oxigênio de acordo com suas necessidades metabólicas (WANG; KROSNIUNASI; HICKS, 1997, 2001).

Figura 1: Fluxo sanguíneo através do coração de répteis não crocilianos, destacando o desvio D-E.



Fonte: MOYES; SCHULTE, 2010.

Alguns autores acreditam que a respiração bimodal em peixes surgiu como auxílio para sobrevivência em condições de hipóxia aquática (JUNK et al., 1983; CARTER, 1957; JOHANSEN, 1970). A mesma hipótese pode ser considerada para os quelônios dulcícolas resistentes a hipóxia, como é o caso de *Phrynops geoffroanus*, que possui respiração prioritariamente pulmonar, entretanto podem utilizar estruturas extrapulmonares que absorvem o oxigênio do ambiente, como por exemplo, respiração cloacal, quando necessário.

1.3 Metabolismo em condição de hipóxia

Quando animais hipóxia-tolerantes são confrontados com grave privação de oxigênio, há duas respostas possíveis em suas vias metabólicas. Uma delas consiste em diminuir as atividades metabólicas, até que seja possível o retorno de oxigênio; a outra, consiste na situação em que o animal permanece ativo e seu metabolismo é sustentado por vias anaeróbicas de transformação de energia (LUTZ; NILSSON, 1997).

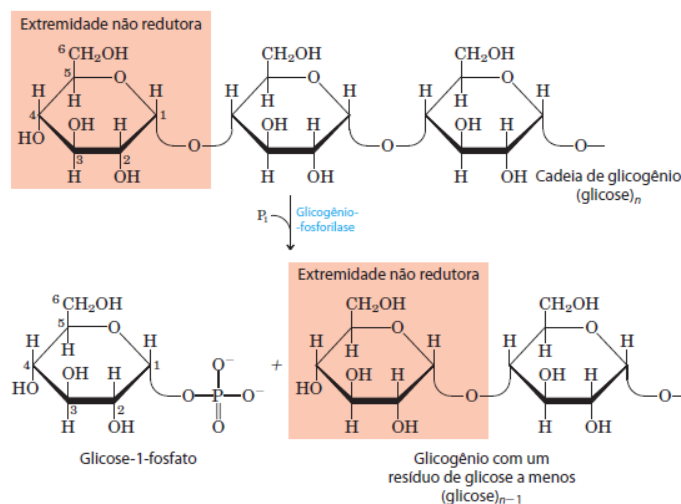
Diversas adaptações bioquímicas, como modificações epigenéticas e moleculares, alterações no metabolismo redox, hipometabolismo e utilização de vias anaeróbicas são conservadas entre animais que toleram baixa disponibilidade de oxigênio (BIGGAR; STOREY, 2015; STAPLES; BUCK, 2009; STOREY; STOREY, 2012). A utilização de vias anaeróbicas em organismos que se encontram em privação de oxigênio é uma importante estratégia, no qual os tecidos com elevada concentração de glicogênio, como os tecidos hepático, cardíaco e muscular esquelético, são utilizados como substrato para a glicólise anaeróbica (LUTZ, 1992; LUTZ; NILSSON; PRENTICE, 2003; LUTZ & MILTON, 2004).

O tecido muscular cardíaco, em condições ideais de oxigênio, oxida preferencialmente ácidos graxos e raras vezes carboidratos (DRIEDZIC; GESSER, 1994; STANLEY, et al. 2005). Entretanto, esse tecido possui alta plasticidade metabólica, e assim, utiliza o substrato metabólico para produção de ATP mais apropriado de acordo com a condição fisiológica que está submetido (TAEGTMEYER et al. 2005).

Duas importantes vias nessas condições são a glicólise e a glicogenólise. A glicólise é considerada uma via custosa de fornecimento de apenas duas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) por molécula de glicose e pode ser utilizada em condições aeróbicas e anaeróbicas (NELSON; COX, 2011), enquanto que a via da glicogenólise degrada glicogênio permitindo rápida obtenção de unidades de glicose para produção de ATP por glicólise anaeróbica (LUTZ; MILTON, 2004; NELSON; COX, 2011).

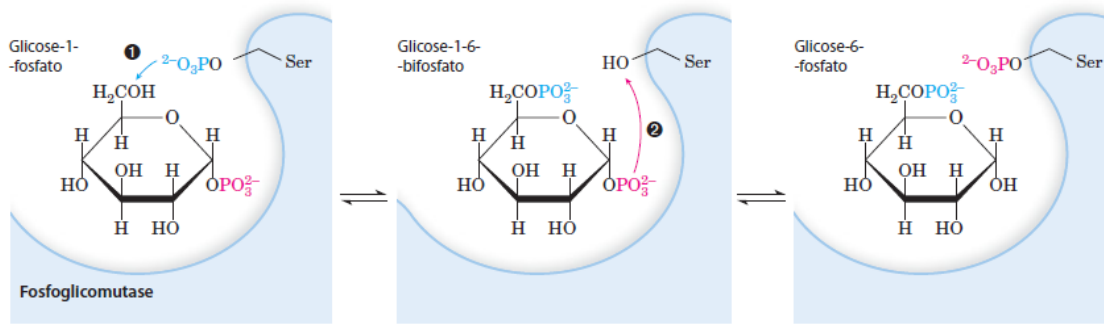
A enzima hexoquinase, pertencente à via glicolítica, necessita de uma molécula de ATP para converter glicose em glicose-6-fosfato. No entanto quando a molécula de glicose é proveniente da glicogenólise, ou seja, degradação de glicogênio tecidual, a enzima hexoquinase não é necessária, pois na glicogenólise a enzima glicogênio fosforilase remove resíduos de glicose da extremidade não redutora da cadeia de glicogênio, obtendo como produto glicose-1-fosfato (Figura 2), que posteriormente é convertida em glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase (Figura 3). A glicose-6-fosfato pode então ser direcionada para a via glicolítica (como ocorre no músculo) e poupar um ATP à via, ou ser convertida à glicose no fígado, caracterizando a gliconeogênese (NELSON; COX, 2014; VOET; VOET, 2006; MOYES; SCHULTE, 2010), para ser disponibilizadas para células de outros tecidos.

Figura 2: Ação da enzima Glicogênio Fosforilase, que remove resíduos de glicose da extremidade não redutora da cadeia de glicogênio, obtendo como produto glicose-1-fosfato.



Fonte: NELSON; COX, 2014.

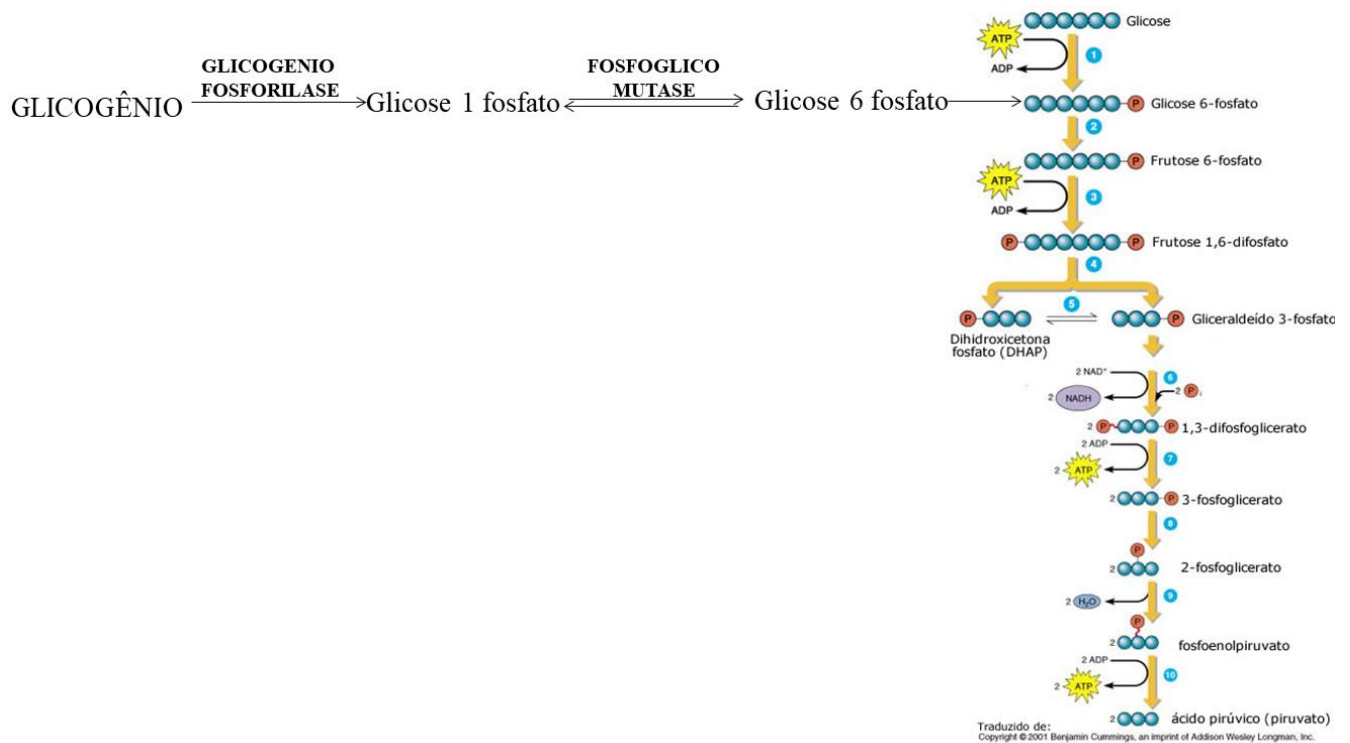
Figura 3: Reação catalisada pela fosfoglicomutase, cujo produto final é a glicose-6-fosfato.



Fonte: Fonte: NELSON; COX, 2014.

Sendo assim, a glicose obtida a partir dos estoques de glicogênio produz três ATP, diferentemente da glicose obtida por outras vias que produz dois ATP por conta da ação da enzima hexoquinase que requer utilização de um ATP (Figura 4) (NELSON; COX, 2011; VOET; VOET, 2006; MOYES; SCHULTE, 2010).

Figura 4: Resumo da via da glicogenólise, em que a Glicose6fosfato pode ser encaminhada para a glicólise, ocorrendo economia de um ATP.



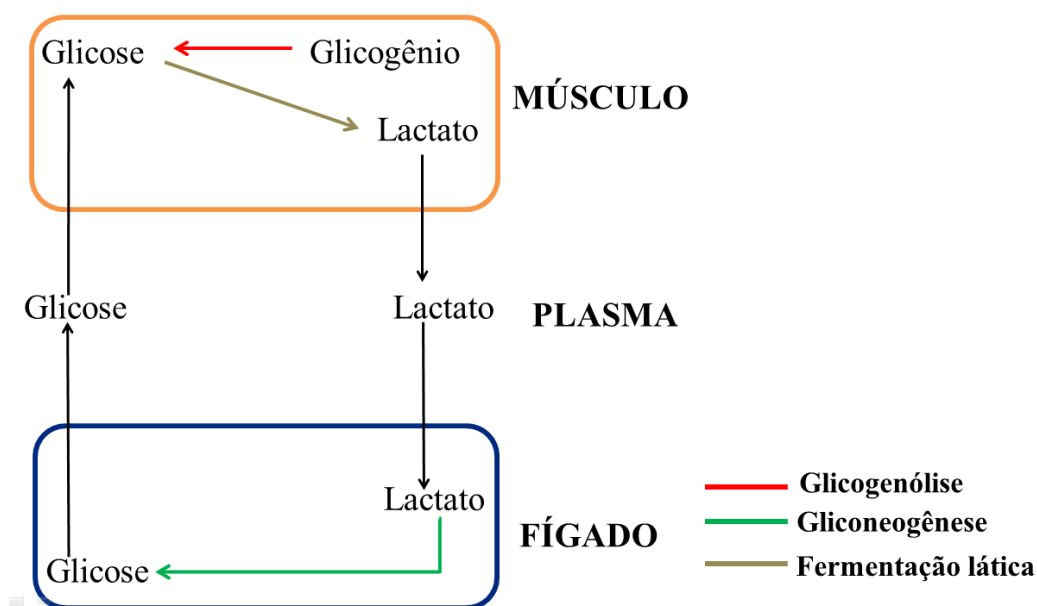
Fonte: adaptado de Benjamin Cummings.

Evidencia-se assim, que a enzima glicose-6-fosfatase, que converte glicose-6-fosfato em glicose na gliconeogênese, é exclusiva de fígado e rins, sendo tais órgãos responsáveis por suprir a glicose para os demais tecidos (NELSON; COX, 2011; VOET; VOET, 2006)

Tartarugas norte-americanas do gênero *Trachemys* são consideradas hipóxia-tolerantes, e as mesmas utilizam o emprego da glicólise como sendo a única fonte de energia quando enfrentam situações de anóxia (LUTZ; NILSSON, 1997). Para manter os níveis de ATP na ausência de oxigênio, aumentam a taxa de glicólise, utilizando a chamada estratégia glicolítica (LUTZ; NILSSON, 1997), a qual traz como consequências altas concentrações de acidose láctica nas células.

Assim, animais hipóxia-tolerantes também devem ser capazes de resistir ao acúmulo de lactato (NILSSON, 2001). A adaptação para controlar essa carga ácida elevada é um complexo existente entre o cálcio, presente no tecido esquelético, e o lactato, o qual funciona como mecanismo tamponador (JACKSON, 2000), sendo assim consegue diminuir a elevada taxa de lactato e permite que o tempo de hipóxia desses animais seja estendido (JACKSON, 2000). Além disto, uma parte do lactato produzido pelos diversos tecidos pode ser encaminhado até o fígado do animal para servirem como substrato para a produção de glicose novamente pela via da gliconeogênese, denominado Ciclo de Cori (NELSON; COX, 2011) (Figura 5).

Figura 5: Esquema do Ciclo de Cori.



Estudos realizados por Duncan e Marcon (2009) sugerem que a ativação da glicólise anaeróbica e as altas taxas de lactato desempenham importante papel no metabolismo de carboidratos, e podem estar relacionados à sobrevivência em apneia e resistência ao mergulho prolongado, situações em que há oscilação da concentração de oxigênio.

1.4 O quelônio dulcícola *Phrynops geoffroanus*.

A espécie *Phrynops geoffroanus* pertence à família de quelônios aquáticos Chelidae (Figura 6). Sua distribuição ocorre em regiões neotropicais, como Venezuela, Uruguai, Norte da Argentina e regiões Norte e Sul do Brasil (VIZOTTO; SILVA, 2017; McCORD; JOSEPH-OUNI; LAMAR, 2001), sendo facilmente encontrada na bacia hidrográfica do Turvo/Grande, que abrange a região Noroeste do estado de São Paulo, onde está localizado o município de São José do Rio Preto.

Figura 6: Espécime *Phrynops geoffroanus*



Fonte: Rafael Valadão, ICMBIO.

A elevada quantidade desses quelônios no rio Preto pode ser atribuída à facilidade de forrageio, visto que a espécie usufrui de diversas fontes alimentícias, incluindo resíduos orgânicos encontrados no rio, bem como a escassez de outros organismos competidores diretos. Apesar de o ambiente ser considerado inóspito para diversos organismos, o mesmo é favorável para *P. geoffroanus*, que cresce em densidade populacional (SOUZA; ABE, 2000).

Como muitas espécies de quelônios dulcícolas, *P. geoffroanus* pode ser considerada uma espécie hipóxia-tolerante, devido à capacidade de sobreviver em ambientes com disponibilidade variável de oxigênio, assim como os rios poluídos, altamente eutrofizados, que intensificam a depleção de oxigênio (COELHO; GAMITO; PÉREZ-RUZAFÁ, 2007).

Devido a sua história de vida natural e adaptações bioquímicas e fisiológicas, *P. geoffroanus* pode ser considerado um bom modelo animal para estudos de tolerância à hipóxia (VENANCIO et al., 2013), pois apresenta diversas características com alto valor adaptativo, como aumento da capacidade antioxidante e suporte ao dano oxidativo, resultantes de adaptações dos mesmos durante milhões de anos (VENANCIO et al., 2009; 2010; 2013).

Jackson (2000) defende que condições em que há diminuição na síntese e utilização de ATP em períodos críticos de privação de oxigênio em relação aos mecanismos metabólicos, ainda não são bem compreendidas. O conhecimento relacionado aos animais silvestres brasileiros é escasso, portanto, são necessárias pesquisas com finalidade de conhecer aspectos morfofuncionais do processo de transformação de energia destes animais (ARAÚJO et al., 2015), contribuindo para maior entendimento a respeito da depleção de oxigênio em animais considerados hipóxia-tolerantes. Em razão dessas premissas, o presente trabalho contribui para a avaliação de aspectos hematológicos, bioquímicos energéticos de *P. geoffroanus* e para a ciência acerca dos ajustes fisiológicos desse quelônio à privação de oxigênio, assim como a influência dessa condição em sua fisiologia.

Enfatiza-se que há uma importante linha de pesquisa no Centro de Estudo de Quelônios referente a estudos bioquímicos e metabolismo oxidativo de quelônios dulcícolas. O grande interesse em *P. geoffroanus* ocorre devido à escassez de informações sobre sua história de vida e biologia. Nosso enfoque em suas adaptações hematológicas e compensações fermentativas, quando em privação de oxigênio, se deu pelo fato de que não há relatos na literatura.

CONCLUSÕES

5 Conclusões:

- O hematócrito possivelmente aumenta como consequência da desidratação e perda de volume plasmático, uma vez que o animal não se hidrata durante a hipóxia ou pela hemoconcentração. A concentração de hemoglobina aumenta durante a hipóxia a fim de provavelmente tornar o transporte de oxigênio mais efetivo aos tecidos, evitando possíveis lesões teciduais. Além disso, o VGM e HGM salientam a adaptação do animal por meio do aumento do volume celular e aumento do peso da hemoglobina no eritrócito, indicando que durante a hipóxia os animais investem na produção de hemoglobina. Sendo assim, o organismo possui adaptações que tornam o transporte de oxigênio para os tecidos mais eficazes quando submetidos a condições de depleção de oxigênio;
- A preferência energética do glicogênio está relacionada ao fornecimento de compostos glicosídicos que são utilizados para a via da glicólise anaeróbica, uma vez que o organismo realiza glicogenólise e gliconeogênese constantemente com intuito de manter a glicemia do animal. Altas concentrações de lactato são observadas devido à ausência do oxigênio, demonstrando que o organismo realiza fermentação láctica para a produção de ATP. Sendo assim, possui manutenção de reservas de combustíveis fermentáveis no organismo, possibilitando o metabolismo anaeróbico e gliconeogênese em condições de privação de oxigênio.
- Conclui-se que a espécie altera sua fisiologia quando em condição de hipóxia, demonstrando que possui ajustes para sobreviver por determinado período nessa condição crítica de privação de oxigênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-BADRY, K. S.; NUZHY, S. Hematological and biochemical parameters in active and hibernating sand vipers. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 74, n. 1, p. 137-141, 1983.
- ARAÚJO, J. C. et al. Lipoproteínas de répteis: estrutura, metabolismo e aspectos comparativos. **Artigo em periódico indexado (ALICE)**. Embrapa Amapá, 2015.
- BANERJE, V.; BANERJE, M. Seasonal variations of erythrocyte number and hemoglobin content in a common Indian lizard (*Varanus monitor*). **Zool Anz**, v. 182, p. 203-207, 1969.
- BICKLER, P.E.; BUCK, L.T. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: life with variable oxygen availability. **Annu. Rev. Physiol**, v.69, p.145-170, 2007.
- BIDINOTTO, P. M. et al. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. **Bol. Tec. Cepta**, v. 1, p. 53-60, 1997.
- BIGGAR, K. K.; STOREY, K. B. Insight into post-transcriptional gene regulation: stress-responsive microRNAs and their role in the environmental stress survival of tolerant animals. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, n. 9, p. 1281-1289, 2015.
- BRANDÃO, F. R.; DE CARVALHO GOMES, L.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 349, 2006.
- CAMPANHA, M. B. et al. Variabilidade espacial e temporal de parâmetros físico-químicos nos rios Turvo, Preto e Grande no estado de São Paulo, Brasil. **Química Nova**, p. 1831-1836, 2010.
- CARTER, G.S. Air breathing. In: Brown, M. (ed) **Physiology of fishes**. New York: Academic Press, 1957. p 65-79.
- CHEN, K.; COLE, R.B.; REES, B.B. Hypoxia-induced changes in the zebrafish (*Danio rerio*) skeletal muscle proteome. **J. Proteomics**. v. 78, p. 477-485, 2013.
- CIESLA, B. **Hematology in practice**. 1 ed. Philadelphia: F. A. Davis Company, 2007.
- COELHO, S.; GAMITO, S.; PÉREZ-RUZAFÁ, A. Trophic state of Foz de Almargem coastal lagoon (Algarve, South Portugal) based on the water quality and the phytoplankton community. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 71, p. 218-231, 2007.
- CONTARTEZE, R. V. L. et al. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. **Rev Bras Med Esporte**, v. 13, n. 3, p. 169-74, 2007.
- COPLEY, N. G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst**, v. 66, p. 492-493, 1941.
- SILVA, R. D. da et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. 2010.

- DA SILVA-CASTIGLIONI, D. et al. Adaptações metabólicas dos crustáceos ao déficit de oxigênio ambiental. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 1, p. 114, 2012.
- DA SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; DA CONCEIÇÃO PONTES, E. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 1, p. 817-836, 2009.
- DAW, J. C.; WENGER, D. P.; BERNE, Robert M. Relationship between cardiac glycogen and tolerance to anoxia in the western painted turtle, *Chrysemys picta bellii*. **Comparative biochemistry and physiology**, v. 22, n. 1, p. 69-73, 1967.
- DRABKIN, D. The standardization of hemoglobin measurement. **American Journal Medical Science**. v. 215, n. 1, p. 110,-111, 1948.
- DESSER, S. S. Morphological, cytochemical, and biochemical observations on the blood of the tuatara, *Sphenodon punctatus*. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 5, n. 3, p. 503-508, 1978.
- DRIEDZIC, W. R.; GESSER, H. Energy metabolism and contractility in ectothermic vertebrate hearts: hypoxia, acidosis, and low temperatures. **Physiological Reviews**, v. 74, n.1, p.221-258, 1994;
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v. 28, p. 350-358, 1956.
- DUNCAN, W. P.; MARCON, J. L. Enzymes of energy metabolism in hatchlings of amazonian freshwater turtles (Testudines, Podocnemididae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 2. p. 319-325, 2009.
- FALCE, M.C.L.B. **Hematologia de répteis - revisão bibliográfica**. Monografia de conclusão do curso de Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos. Universidade Castelo Branco. Instituto Quallitas de pós graduação. Campinas, 2009.
- FUSTER, J. F.; PAGES, T.; PALACIOS, L. Effect of temperature on oxygen stores during aerobic diving in the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*. **Physiological zoology**, p. 7-18, 1997.
- FRASER, J.; MELLO, L.V.; WARD, D.; REES, H.H.; WILLIAMS, D.R.; FANG,Y.; BRASS, A.; GRACEY, A.Y.; CROSSINS, A.R. Hypoxia-inducible myoglobin expression in nonmuscle tissues. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 103, n. 8, p. 2977-2981, 2006.
- FRYE, F. L. **Reptile Care: an Atlas of Diseases and Treatments**. Neptune City: T. F. H. Publications, v. 1, p. 209-224, 1991.
- GOULART, C. E. S. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis**. Ed L.F. Livros de Veterinária Ltda, 1.ed. p. 21-56, 99-108, 131-144. 2004
- HAGGAG, G.; RAHEEM, K. A.; KHALIL, F. Hibernation in reptiles—II. Changes in blood cell glucose, haemoglobin, red blood cell count, protein and non-protein nitrogen. **Comparative biochemistry and physiology**, v. 17, n. 1, p. 335-339, 1966.

HICKS, J. W.; WANG, T. The functional significance of the reptilian heart: new insights into an old question. **Ontogeny and Phylogeny of the Vertebrate Heart**. p. 207-227, 2012.

_____. Hypometabolism in reptiles: behavioural and physiological mechanisms that reduce aerobic demands. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 141, n. 3, p. 261-271, 2004.

_____. Hypoxic hypometabolism in the anesthetized turtle, *Trachemys scripta*. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, n. 1, p. R18-R23, 1999.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. **Fisiologia Animal**. 2. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2012.

HOCHACHKA, P. W. Oxygen—a key regulatory metabolite in metabolic defense against hypoxia. **American zoologist**, v. 37, n. 6, p. 595-603, 1998.

HOCHACHKA, P. W. et al. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 93, n. 18, p. 9493-9498, 1996.

HOCHACHKA, P. W.; GUPPY, M. **Metabolic arrest and the control of biological time**. Harvard University Press, 1987.

HOCHACHKA, P.W.; LUTZ, P.L. Mechanism, origin and evolution of anoxia tolerance in animals. **Comp. Biochem. Physiol**, v.130B, p.435 - 459, 2001.

JACKSON, D. C. Living without oxygen: lessons from the freshwater turtle. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 125, n. 3, p. 299-315, 2000.

_____. How a turtle's shell helps it survive prolonged anoxic acidosis. **Physiology**, v. 15, n. 4, p. 181-185, 2000.

JOHANSEN, K.; Air breathing in fishes. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (eds). **Fish Physiology**. vol IV. San Diego: Academic Press, 1970. p.361- 411.

JUNK, W.J.; SOARES, G.M.; CARVALHO, F.M. Distribution of fish species in a lake of the Amazon river floodplain near Manaus (lago do Camaleão), with special reference to extreme oxygen conditions. **Amazoniana**. v. 7, p. 397, 1983.

KAM, Y. Physiological effects of hypoxia on metabolism and growth of turtle embryos. **Respiration physiology**, v. 92, n. 2, p. 127-138, 1993.

KRIVORUCHKO, A.; STOREY, K.B. Forever young: mechanisms of natural anoxia tolerance and potential links to longevity. **Oxid. Med. Cell. Longev**, v.3., p.186 - 198, 2010.

LUTZ, P. L. Mechanisms for anoxic survival in the vertebrate brain. **Annual Review of Physiology**, v. 54, n. 1, p. 601-618, 1992.

- LUTZ, P. L. et al. Relationships between aerobic and anaerobic energy production in turtle brain in situ. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 247, n. 4, p. R740-R744, 1984.
- LUTZ, P. L.; MILTON, S. L. Negotiating brain anoxia survival in the turtle. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 18, p. 3141-3147, 2004.
- LUTZ, P. L.; NILSSON, G. E. Contrasting strategies for anoxic brain survival-glycolysis up or down. **Journal of Experimental Biology**, v. 200, n. 2, p. 411-419, 1997.
- LUTZ, P. L.; NILSSON, G. E.; PRENTICE, H. The brain without oxygen: Causes of failure molecular and physiological mechanisms for survival. **Kluwer Academic Press, Dordrecht, Netherlands**, 2003.
- MCCORD, W. P.; JOSEPH-OUNI, M.; LAMAR, W. W. A taxonomic reevaluation of *Phrynops* (Testudines Chelidae) with the description of two new genera and a new species of Batrachemys. **Revista de Biología Tropical**, v. 49, n. 2, 715-764, 2001.
- MELO, C. A.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C.. Perfil espacial e temporal de poluentes nas águas da represa municipal de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, p. 1436-1441, 2009.
- MOON, T. W.; MOMMSEN, T. P. Enzymes of intermediary metabolism in tissue of the little skate, *Raja erinacea*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 244, n. 1, p. 9-15, 1987.
- MOREIRA, D. C. et al. Current Trends and Research Challenges Regarding “Preparation for Oxidative Stress”. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 702, 2017.
- MOTT, J. C. The ability of young mammals to withstand total oxygen lack. **British medical bulletin**, v. 17, n. 2, p. 144-147, 1961.
- MOYES, C. D; SCHULTE, P. M. **Princípios de Fisiologia Animal**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- MURPHY, B. J. et al. Hypoxic coordinate regulation of mitochondrial enzymes in mammalian cells. **Science**, v. 223, p. 707-710, 1984.
- MUUSZE, B., et al. Hypoxia tolerance of Amazon fish. Respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v.120, p. 151–156, 1998
- NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2014.
- _____. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- NILSSON, G. E. Surviving anoxia with the brain turned on. **Physiology**, v. 16, n. 5, p. 217-221, 2001.
- PENNEY, D. G. Effects of prolonged diving anoxia on the turtle, *Pseudemys scripta elegans*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 47, n. 3, p. 933-941, 1974.

- PITOL, D.L. et al., Radioautographic study of the seasonal distribution of leukocytes in turtles *Phrynopshilarii* (CheloniaChelidae). **Micron**, v. 39, n. 8, p. 1381-1386, 2008.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia Animal - Mecanismos e Adaptações**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 448-550.
- RICHARDS, J.G. Physiological, behavioral and biochemical adaptations of intertidal fishes to hypoxia. **J. Exp. Biol**, v. 214, p. 191–199, 2011.
- SCHWERTE, T.; ÜBERBACHER, D.; PELSTER, B. Non-invasive imaging of blood cell concentration and blood distribution in zebrafish *Danio rerio* incubated in hypoxic conditions in vivo. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 8, p. 1299-1307, 2003.
- SILVA, T.L. et al. Blood sampling in Testudinidae and Chelidae. **Herpetological Review**, v.43, p. 64-65, 2012.
- SOUZA, F. L. Uma revisão sobre padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidae). **Phyllomedusa**, v. 3, n. 1, p. 15-27, 2004.
- SOUZA, F. L.; ABE, A. S. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. **Journal of Zoology**, v. 252, n. 04, p. 437-446, 2000.
- STANLEY, W. C., RECCHIA, F. A.; LOPASCHUK, G. D. Myocardial substrate metabolism in the normal and falling heat. **Physiological Reviews**, v. 85, p.1093-1129, 2005.
- STAPLES, J. F.; BUCK, L. T. Matching cellular metabolic supply and demand in energy-stressed animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 153, n. 2, p. 95-105, 2009.
- STOREY, K. B. Oxidative stress: animal adaptations in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, p. 1715-1733, 1996.
- STOREY, K. B.; STOREY, J. M. Aestivation: signaling and hypometabolism. **Journal of Experimental Biology**, v. 215, n. 9, p. 1425-1433, 2012.
- TAEGETMEYER, H.; WILSON C. R; RAZEGHI, P.; SHARMA, S. Metabolic energetics and genetics in the heart. **The New York Academy of Sciences**, v. 1047, p.208-218, 2005.
- TIUNOV, L. A. et al. Correlation between hematologic and biochemical parameters in *Testudo horsfieldi*. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 92, n. 1, p. 910-912, 1981.
- TROIANO, J. C.; GOULD, E. G.; GOULD, I. Hematological reference intervals in argentine lizard *Tupinambis meriana* (Sauria—Teiidae). **Comparative Clinical Pathology**, v. 17, n. 2, p. 93, 2008.
- ULTSCH, G. R. Blood gases, hematocrit, plasma ion concentrations, and acid-base status of musk turtles (*Sternotherus odoratus*) during simulated hibernation. **Physiological zoology**, v. 61, n. 1, p. 78-94, 1988.

VENANCIO, L.P.R., et al. Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 2013.

_____. Assessment of phase I and II of xenobiotic detoxification and somatic index associated with environmental interferences in *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) in the northwest region of Sao Paulo state, Brazil. In: **XI Congresso Luso-Español de Herpetologia/ XV Congreso Español de Herpetologia**, v.1, p.184-184, 2010.

_____. Assessment of condition factor and hepatosomatic index in *Phrynops geoffroanus* of the urban and controlled area. In: 1st Ibero-American Meeting on Toxicology and Environmental Health, 2009.

VIEIRA, V. P.; INOUE, L. A. K.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã (*Bryconcephalus*) to dietary protein level. **Comp. Biochem. Physiol.**A, v. 140, n. 3, p. 337-342, 2005.

VIZOTTO, L. D.; SILVA, T. L. ***Phrynops geoffroanus*: Quelônios no Brasil**. São José do Rio Preto: HN Editora, 2017.

VOET, D; VOET, J. G. **Bioquímica**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

WANG, T.; KROSNIUNASI, E. H.; HICKS, J. W. Vagal control of heart rate and cardiac shunts in reptiles: relation to metabolic state. **Experimental Physiology**, v. 86, n. 6, p. 777-784, 2001.

_____. The role of cardiac shunts in the regulation of arterial blood gases. **American zoologist**, v. 37, n. 1, p. 12-22, 1997.

WEBSTER, K. A. et al. Coordinate reciprocal trends in glycolytic and mitochondrial transcript accumulations during the in vitro differentiation of human myoblasts. **Journal of cellular physiology**, v. 142, n. 3, p. 566-573, 1990.

WELKER, A.F. et al. Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 165, p. 384-404, 2013.

WILLMORE, W.G.; STOREY, K.B. Glutathione systems and anoxia tolerance in turtles. **Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.**, v.273, p.219 - 225, 1997.