

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

**INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA**

LUANA PACHECO DE OLIVEIRA

**TOXICIDADE HEPÁTICA DE MICROFIBRAS TÊXTEIS EM *DANIO RERIO*:
UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E METABÓLICA**

**São Vicente - SP
2026**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

**INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA**

LUANA PACHECO DE OLIVEIRA

**TOXICIDADE HEPÁTICA DE MICROFIBRAS TÊXTEIS EM *DANIO RERIO*:
UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E METABÓLICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências da UNESP – Campus do Litoral Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título bacharel em Ciências Biológicas, com habilitação em Biologia Marinha.

Orientadora: Dra. Gabriela Pustiglione Marinsek
Co-Orientadora: Profa^a Dr.^a Renata de Britto Mari

Luana Pacheco de Oliveira

**São Vicente - SP
2026**

D418t

de Oliveira, Luana Pacheco

TOXICIDADE HEPÁTICA DE MICROFIBRAS TÊXTEIS EM DANIO RERIO:
UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E METABÓLICA / Luana Pacheco de
Oliveira. -- São Vicente, 2026

33 p. : il., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade
Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientadora: Gabriela Pustiglione Marinsek

Coorientadora: Renata de Britto Mari

1. Morfologia (Animais). 2. Toxicologia Ambiental. 3. Contaminantes emergentes na
água. 4. Histopatologia. 5. Marcadores bioquímicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

AGRA DECIMENTOS

Durante quatro anos da graduação, muitas vezes imaginei como começaria estes agradecimentos, que acredito ser uma parte importante, justamente por representar um pedacinho de como foi essa trajetória. Me considero ser uma pessoa de sorte por ter tanto a agradecer e ter tantas pessoas boas que foram enviadas para estar no meu caminho. Reforço que os últimos anos foram complexos, mas aprendi muito com cada obstáculo, agradeço por cada entidade e guia que me orientou e meu deu luz em momentos difíceis e muitas vezes sem saída, obrigada a todos que cuidaram de mim sem nem me conhecer, e todos que vieram antes de mim e hoje estão aqui, trazendo cada vez mais direcionamento para a minha vida.

Gostaria de começar agradecendo aos meus pais, minha mãe Luciana que me ensinou a ter força e coragem, e ao meu pai Plínio, nossa curta trajetória juntos me enche de alegria por ter compartilhado momentos tão especiais ao seu lado. Agradeço a minha irmã, Isa, você é a luz mais preciosa do mundo, obrigada por me escolher. Ao meu Avô, que me mostrou amor incondicional, te amo mais do que posso expressar e com a parte mais bonita do meu coração, obrigada por ter estado aqui durante a primeira parte da minha vida.

Minha família, por cada riso, cada choro e cada conversa, amo cada um de vocês e muito obrigada por confiarem em mim. Agradeço a minha família de coração, Elaine, Jefferson e Janaína, por abrirem as portas de seus corações e vidas para mim. Amo vocês, assim como meus irmãos que vieram junto nesse mar de presentes que a vida me deu, Fernanda, Isa, Lívia, Samu, Tati, Marina, Manuh e Gabriel.

Meus amigos mais próximos, obrigada a cada um que segurou a minha mão e não me deixou desistir, Slow, Sofia, Kássia Leri, Lia, Mépiz, Roberta, Duda e Ananda, vocês me trouxeram felicidade e sentimento de pertencimento, amo cada uma e agradeço por esses 5 anos.

Esta pesquisa não poderia existir sem minhas orientadoras, Dra. Renata de Britto Mari e Dra. Gabriela Marinsek. Obrigada Re, por abrir as portas do seu laboratório e por confiar em mim e no meu trabalho. Gabi, obrigada por aceitar me orientar, por todas as vezes que você me ouviu, me ensinou e me mostrou um pedaço dessa vida tão complexa, que é a academia. Admiro muito vocês, obrigada pelas conversas, oportunidades, conselhos e puxões de orelha, foram fundamentais para a minha formação, acredito na nossa ciência e me sinto grata por me permitirem fazer parte deste projeto.

Meus colegas de laboratório, aprendi muito observando e conversando com cada um de vocês, muito obrigada. Agradeço imensamente a Laís, por aceitar fazer parte da minha banca e por tornar o ambiente tão leve, muito obrigada.

Gostaria de estender meus agradecimentos ao meu grupo de laboratório, Manu, Gio e Liv, a rotina é mais divertida com vocês, Obrigada!

Roberto, obrigada por existir e estar aqui comigo, por me ouvir e me ensinar mais a cada dia, você foi um grande apoio para mim, amo você. Obrigada Stevie, por me escolher e sempre esperar por mim, te amo mais que tudo.

Por fim, agradeço a UNESP e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, PIBIC, primeiramente por abrir as portas da universidade pública, estar aqui foi muito importante para a minha trajetória e me abriu muitas portas, vi e experimentei coisas que seriam impossíveis se tivesse escolhido ficar onde estava. O financiamento da minha pesquisa também foi fundamental, pois me deu esperança e direcionamento.

Agradeço imensamente a todos, pelo apoio, amor, amizade e orientação, sem vocês nada disso teria sido possível. Obrigada a Deus e a todos os orixás que me guiaram até aqui, espero que este seja o primeiro passo de uma longa jornada.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2023/02394-8), pelo financiamento deste projeto e a Helen Sadauskas pelo auxílio na produção das análises bioquímicas.

Sumário

Sumário

Lista de figuras.....	7
Resumo	8
Abstract.....	9
1. Introdução.....	10
2. Materiais e Métodos	13
2.1 Organismo experimental.....	13
2.2 Extração das fibras e controle de contaminação	13
2.4 Delineamento Experimental.....	15
2.5. Biomarcadores	15
2.6 Biomarcadores Bioquímicos.....	17
2.7 Análise estatística	18
3.2 Biomarcadores Somáticos	19
3.3 Biomarcadores morfológicos.....	19
3.4 Biomarcadores Bioquímicos.....	21
4. Discussão	22
5. Conclusão	27
Referências bibliográficas	28

Lista de figuras

Figura 1. Espectros comparativos de ATR-FTIR de duas amostras de fibras — poliéster sintético e algodão orgânico — obtidos na faixa de 550–4000 cm^{-1} . As bandas de absorção características evidenciam as diferenças estruturais entre o material sintético e a fibra à base de celulose.

Figura 2. A) Fator de condição e B) índice hepatossomático de peixes da espécie *Danio rerio*, expostos a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: Controle, Poliéster, Algodão e Misto.

Figura 3. A) Índice histopatológico, C) depósito de glicogênio, D) área do núcleo do hepatócito e B) área do citoplasma do hepatócito. Análises realizadas no fígado de *Danio rerio* exposto a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: Controle, Poliéster, Algodão e Misto.

Figura 4. A esquerda o gráfico representa as patologias mais frequentes: Congestão vascular, Hemorragia, Necrose, Colestase e Inclusões Fibrilares. A direita a prancha histológica, mostrando as patologias mais frequentes. A) Grupo controle, B) Grupo exposto a microfibras de poliéster com congestão vascular (setas); C e D) Grupo exposto a poliéster com necrose e infiltrações inflamatórias (*); E) Grupo exposto a algodão com infiltrações fibrilares (setas) e F) Grupo exposto a algodão com colestase.

Figura 5. A) Grupo Controle; B) Grupo poliéster; C) Grupo Algodão; D) Grupo Misto.

Figura 6. Biomarcadores bioquímicos hepáticos de *Danio rerio*. A) Dano em DNA, B) Peroxidação lipídica e C) proteína carbonilada expostos a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: controle, poliéster, algodão e misto.

Resumo

As microfibras têxteis são contaminantes emergentes encontrados em ambientes aquáticos marinhos e de água doce, provenientes principalmente de processos de lavagem doméstica e industrial. Devido à sua persistência ambiental e ampla distribuição, essas partículas podem interagir com organismos aquáticos e provocar alterações morfofisiológicas em órgãos essenciais para a sobrevivência do organismo. Neste sentido, este estudo avaliou os efeitos hepáticos causados pela exposição a microfibras de poliéster, algodão e da mistura entre ambas em *Danio rerio*, utilizando biomarcadores somáticos, histopatológicos, morfométricos e bioquímicos. Os organismos foram expostos às microfibras e, após o período experimental, foram avaliadas alterações no fígado, incluindo índice hepatossomático, alterações histopatológicas, quantificação de glicogênio, dano ao DNA, peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas. Os resultados demonstraram que a exposição às microfibras promoveu alterações hepáticas em diferentes níveis estruturais. O grupo exposto ao poliéster apresentou maior comprometimento molecular, com aumento do dano ao DNA, peroxidação lipídica e oxidação proteica, além de alterações histológicas de maior gravidade, tais como necrose, colestase e inclusões fibrilares. O grupo misto apresentou alterações histológicas como patologias severas e respostas bioquímicas relevantes como aumento de dano em DNA e peroxidação lipídica, indicando que a combinação entre diferentes fibras pode modificar a resposta dos organismos expostos. Apesar de ser uma fibra natural, o algodão também promoveu alterações estruturais no fígado, como patologias frequentes sendo elas Congestão Vascular, Hemorragia, Necrose, colestase e Inclusões fibrilares. Assim, os resultados reforçam que as microfibras têxteis de origem sintéticas ou naturais podem afetar a homeostase hepática de organismos aquáticos, sendo necessário considerar a composição das fibras na avaliação dos riscos ambientais e sua constante presença nos ecossistemas aquáticos em avaliações de risco ambiental associados à poluição por microplásticos.

Palavras-chave: microfibras têxteis; *Danio rerio*; fígado; histopatologia; estresse oxidativo.

Abstract

Textile microfibers are emerging contaminants found in marine and freshwater environments, originating primarily from domestic and industrial washing processes. Due to their environmental persistence and widespread distribution, these particles can interact with aquatic organisms and induce morphophysiological changes in organs essential for survival. In this context, this study evaluated the hepatic effects of exposure to polyester microfibers, cotton microfibers, and a mixture of both in *Danio rerio*, using somatic, histopathological, morphometric, and biochemical biomarkers. Following the exposure period, liver alterations were assessed, including the hepatosomatic index, histopathological changes, glycogen quantification, DNA damage, lipid peroxidation, and protein carbonylation. The results demonstrated that microfiber exposure induced hepatic alterations at various structural levels. The group exposed to polyester exhibited greater molecular impairment characterized by increased DNA damage, lipid peroxidation, and protein oxidation as well as more severe histological alterations, such as necrosis, cholestasis, and fibrillar inclusions. The mixed-fiber group displayed severe histological pathologies and significant biochemical responses, including increased DNA damage and lipid peroxidation, indicating that the combination of different fibers can modify the organisms' response. Despite being a natural fiber, cotton also induced structural liver alterations, with frequent pathologies including vascular congestion, hemorrhage, necrosis, cholestasis, and fibrillar inclusions. Thus, the results reinforce that textile microfibers whether synthetic or natural can affect the hepatic homeostasis of aquatic organisms; consequently, fiber composition must be considered when assessing environmental risks and the persistent presence of these fibers in aquatic ecosystems within the scope of microplastic pollution risk assessments.

Keywords: textile microfibers; *Danio rerio*; liver; histopathology; oxidative stress.

1. Introdução

Os ambientes aquáticos desempenham um papel fundamental na sustentação da vida na Terra, contribuindo para a manutenção da biodiversidade, regulação climática, produção de oxigênio e sequestro de carbono (Cardoso et al., 2019). Dentre estes ambientes, os sistemas aquáticos, estuarinos, marinhos e de água doce possuem grande importância ecológica (Gillson et al., 2022. Strayer & Findlay, 2010). Entretanto, esses ambientes têm sido cada vez mais impactados pela poluição de origem antrópica, decorrente de atividades industriais, agrícolas e urbanas. Entre os diversos poluentes, os resíduos plásticos surgem como uma das principais preocupações ambientais atuais devido à sua persistência e ampla ocorrência (Barnes et al., 2009).

Em particular, os microplásticos, definidos como partículas plásticas menores que 5 mm, têm sido detectados em diferentes matrizes ambientais, incluindo água, sedimentos e organismos, sendo atualmente reconhecidos como contaminantes emergentes de relevância global (De Falco, et al 2020). A poluição plástica, mesmo de forma isolada, causa efeitos adversos significativos sobre a biota aquática e o ecossistema, levando em consideração que estes ambientes são a base para a composição fundamental dos organismos vivos (Beaumont et al., 2019), incluindo toxicidade associada à ingestão destes materiais e seus aditivos, a exposição a microplásticos pode induzir respostas inflamatórias, estresse oxidativo e danos teciduais em organismos aquáticos (Thushari & Senevirathna, 2020; Li et al., 2020; Wright et al., 2013).

Os microplásticos estão presentes em maiores concentrações nos oceanos, especialmente em ambientes aquáticos e de transição do marinho para a água doce, quando comparados a outros compartimentos ambientais (Eriksen et al., 2014). Entre as diferentes classes de microplásticos, destacam-se as fibras têxteis como a forma mais frequentemente detectada no ambiente, sendo compostas tanto por materiais sintéticos quanto naturais. Os materiais têxteis podem ser produzidos a partir de diferentes matérias-primas, abrangendo tanto fibras sintéticas, naturais, bem como composições mistas (Suaria et al., 2020). O crescente papel da indústria têxtil tem intensificado a liberação de microfibras nos sistemas aquáticos, provenientes de tecidos durante processos de lavagem doméstica e industrial (Napper & Thompson, 2016; Browne et al., 2011). Devido às suas dimensões reduzidas, a maioria dessas partículas não é eficientemente retida pelas estações de tratamento de água, o que favorece sua dispersão e subsequente entrada nos ecossistemas marinhos (Murphy et al., 2016).

Dentre os materiais sintéticos mais utilizados na indústria têxtil destaca-se o poliéster, um polímero reduzido formado pelo grupo funcional éster, produto derivado do petróleo com biodegradabilidade limitada (Egan & Salmon, 2022; Karayannidis & Achilias, 2007; Pang & Li, 2020; Patel et al., 2022 Sathishkumar, 2014).

Este material possui uma relevante persistência ambiental, se desprende facilmente dos tecidos em processos de lavagem, por não serem removidos da água de forma eficaz (Santonicola, et al., 2023). Estas microfibras se acumulam em sedimentos, águas costeiras e zonas remotas como pólos. Além destes fatores, ciclos naturais de chuva e a exposição à radiação UV, geram degradação foto-oxidativa do polímero, tornando o mais quebradiço e facilitando a fragmentação em partículas ainda menores, o que facilita a ingestão pela biota (Šaravanja, et al., 2024). As microfibras de poliéster são facilmente ingeridas pela biota marinha, o que pode gerar danos físicos e fisiológicos como obstrução do trato digestivo, falsa sensação de saciedade o que leva a desnutrição dos organismos. Os danos fisiológicos se enquadram em inflamações, distúrbios no sistema imunológico, alterações metabólicas como dano oxidativo e estresse celular, redução na fecundidade e reprodução (Wiśniowska & Włodarczyk-Makula, et al., 2022).

Devido à sua natureza hidrofóbica e grande área de superfície, as fibras de poliéster atraem e retêm poluentes persistentes da água, como antibióticos, pesticidas e metais desta forma estas microfibras atuam como um "cavalo de Troia" que transporta esses contaminantes para dentro dos tecidos dos animais.

Dentre os materiais mais facilmente encontrados no ecossistema aquático, estão as microfibras de poliéster e algodão, o que mostra a relevância de observar os efeitos adversos destes materiais na biota (Dris et al., 2016; Athey & Erdle, 2022).

Nos últimos anos, a utilização de fibras naturais tem aumentado significativamente, impulsionada pela percepção de que esses materiais representam alternativas mais sustentáveis e potencialmente menos impactantes ao ambiente (Remy et al., 2015). Em contraste com as microfibras sintéticas, cuja produção ocorre por meio de processos químicos industriais, as fibras naturais apresentam composição predominantemente orgânica, sendo constituídas majoritariamente por celulose, um polímero linear, no qual cadeias de carbono, hidrogênio e oxigênio se organizam em microfibrilas, formando uma estrutura fibrosa (Klemm., 2005; Moon., 2011). Entre as principais fibras vegetais empregadas na indústria têxtil destacam-se o algodão, o linho e o rami. As fibras de algodão, especificamente, apresentam estrutura parcialmente cristalina e elevada capacidade de absorção de água, atribuída à presença de grupos hidroxila (-OH) em sua cadeia polimérica, que estabelecem ligações de hidrogênio com

moléculas de água. No caso do algodão, a fibra é composta por aproximadamente 88% a 96% de celulose, formada por cadeias de β -D-glucopiranoose, enquanto a fração restante (4% a 12%) inclui proteínas, cinzas, ceras, lipídios e pectinas (Hsieh, 2007). De forma geral, a liberação dessas microfibras têxteis ocorre principalmente por meio de processos de lavagem de roupas, onde a quantidade de fibras liberadas pode depender da composição do tecido, torção do fio e tipo de fio. Apesar destes fatores, estudos realizados estimam que durante os processos de lavagem mecânica é liberado cerca de 8.809 a 6.877.000 microfibras por lavagem, os tecidos de poliéster e algodão se enquadram nos tipos de tecido que mais liberam microfibras no ambiente (Vassilenko, et al 2021; De Falco, et al 2020). Assim, a presença deste material em ambientes marinhos acaba por gerar diversos efeitos negativos ao ambiente e seus organismos, devido a sua persistência no ambiente, adesão ao substrato, adesão a diferentes poluentes e sua própria toxicidade que gera efeitos adversos aos organismos expostos, uma vez que ingeridos (Gaylarde; Baptista-Neto; Da Fonseca, 2021).

A crescente liberação de microfibras têxteis nos ecossistemas aquáticos tem aumentado a disponibilidade desses contaminantes para organismos de diferentes níveis tróficos (Vassilenko et al., 2021). Devido ao seu reduzido tamanho, essas partículas podem ser facilmente ingeridas por organismos aquáticos, seja por serem confundidas com alimento ou por estarem associadas ao material particulado em suspensão. A ingestão de microfibras pode ocasionar diversos efeitos adversos, como emaranhamento de apêndices alimentares, obstrução intestinal, redução da ingestão de alimento e desnutrição, comprometendo o equilíbrio da cadeia trófica e a sobrevivência dos organismos expostos (Vassilenko et al., 2021). Após a exposição, as microfibras podem interagir com diferentes tecidos e desencadear mecanismos de toxicidade relacionados ao estresse oxidativo, à resposta inflamatória e às alterações metabólicas (Walker et al., 2012).

O fígado destaca-se como um dos principais órgãos-alvo desses contaminantes por desempenhar papel central na biotransformação e desintoxicação de xenobióticos, toxinas e poluentes ambientais (Van der Oost et al., 2003; Schlenk et al., 2008). Compostos presentes no ambiente aquático podem ser absorvidos por ingestão ou respiração e, após sua distribuição pelo organismo, promover bioacumulação em tecidos, desencadeando respostas metabólicas associadas ao estresse oxidativo, lesões celulares e distúrbios funcionais hepáticos (Walker et al., 2012). Quando persistentes, esses processos podem comprometer a integridade dos hepatócitos, levando à perda parcial ou total da função hepática e ao desenvolvimento de alterações morfológicas e bioquímicas (Van der Oost et al., 2003). Embora os efeitos dos microplásticos tenham sido amplamente investigados, ainda existem lacunas quanto ao

potencial tóxico de microfibras têxteis de diferentes composições, especialmente na comparação entre fibras sintéticas e naturais e na compreensão dos mecanismos responsáveis pelas alterações hepáticas em organismos aquáticos (Collard et al., 2017). Nesse contexto, a utilização de biomarcadores morfológicos e bioquímicos em peixes constitui uma abordagem sensível para detectar alterações decorrentes da exposição a contaminantes ambientais, permitindo uma avaliação integrada dos efeitos em diferentes níveis de organização biológica (Van der Oost et al., 2003; Marinsek et al., 2024; Paula et al., 2024).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações morfológicas e bioquímicas no fígado de *Danio rerio* expostos a microfibras têxteis de origem sintética (poliéster), natural (algodão) e à mistura de ambas, visando compreender o potencial ecotoxicológico desses contaminantes e os diferentes padrões de resposta hepática induzidos pela composição das fibras.

2. Materiais e Métodos

2.1 Organismo experimental

Para este estudo, utilizou-se peixes da espécie *Danio rerio*, um peixe tropical de água doce amplamente empregado em estudos ecotoxicológicos, por representar um indicador ideal para avaliar biomarcadores de toxicidade relacionados ao impacto de contaminantes em múltiplos níveis biológicos (Paula et al., 2024). O fígado desta espécie possui todos os tipos celulares semelhantes aos de mamíferos, desempenhando funções essenciais como armazenamento de glicogênio, metabolismo de xenobióticos, secreção de bile e produção de proteínas séricas, características que contribuíram para a elucidação das análises propostas (Bailone et al, 2020).

2.2 Extração das fibras e controle de contaminação

As microfibras de poliéster e algodão foram obtidas a partir da lavagem de tecidos 100% poliéster e algodão orgânico, por processo mecânico em uma máquina de lavar. As amostras foram filtradas por um filtro de membrana de 0,22 µm e aliquotadas conforme Napper e Thompson (2016) e a partir da coleta, foram utilizadas concentrações de 531 MF/L de microfibras de poliéster e 531 MF/L de algodão. A concentração de microfibras utilizada baseia-se em dados da literatura onde são considerados os limites superiores do total de microfibras detectadas no afluente de estações de tratamento de águas residuais (Pedrotti et al, 2021). O uso do valor global de fibras justifica-se pelo fato de muitos artigos abordarem a composição das microfibras apenas em termos percentuais. Os valores de densidade,

dimensões da fibra (raio e comprimento) foram baseadas nos estudos de e Kolbe (2003) e Cesa et al (2020). Onde os cálculos indicam que $531 \text{ MFs} \cdot \text{L}^{-1}$ corresponde a aproximadamente $0,276 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de microfibras de poliéster, levando em consideração o diâmetro mais fino deste material (Napper e Thompson, 2016), enquanto as microfibras de algodão foram correspondentes a aproximadamente $0,3615 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pois o algodão é um material de maior densidade (Maluf e Kolbe, 2003).

Em seguida, as microfibras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar para garantir a pureza dos contaminantes e evitar interferência de materiais externos, levando em consideração a facilidade de transporte deste material. Para evitar possível contaminação por deposição aérea de microfibras, uma série de medidas preventivas foi implementada durante o período experimental. Todos os materiais, incluindo os aquários, foram lavados com detergente neutro, acetona e ácido nítrico, enxaguados com água destilada filtrada e mantidos cobertos com papel-alumínio durante todo o experimento.

As superfícies de trabalho foram higienizadas com etanol puro antes e após cada procedimento. O controle de deposição atmosférica seguiu o protocolo de Covernton et al. (2022), utilizando recipientes abertos contendo previamente filtrada por osmose reversa para capturar fibras presentes no ar. Esse tipo de branco é essencial, uma vez que fibras estão comumente presentes em ambientes laboratoriais (Athey & Erdle, 2022). Para garantir a integridade dos dados, todos os instrumentos de amostragem foram enxaguados com água destilada filtrada entre os tratamentos, e o acesso à área experimental foi restrito a dois operadores, a fim de reduzir a contaminação cruzada (Walkinshaw et al., 2023).

2.3 Caracterização das fibras

A caracterização molecular das amostras foi realizada por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), utilizando um espectrofotômetro Spectrum Two (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA), equipado com um módulo universal de refletância total atenuada (UATR). O equipamento operou com detector de tantalato de lítio (LiTaO_3), fonte de radiação no infravermelho médio (MIR) e software de controle Spectrum 10.

Todos os espectros foram obtidos em modo de transmitância, com 24 varreduras por amostra, em uma faixa espectral de 550 a 4000 cm^{-1} . Cada material foi analisado em triplicata, e os espectros obtidos foram corrigidos utilizando uma rotina de subtração da linha de base, a fim de minimizar interferências de fundo. Essa análise teve como objetivo confirmar a identidade química dos materiais.

2.4 Delineamento Experimental

Indivíduos adultos de *Danio rerio*, os quais foram adquiridos de um produtor local de peixes, foram aclimatados em condições de laboratório por 15 dias, antes do início dos experimentos, em um tanque contendo 250 L de água deionizada reconstituída, filtrada com bomba a vácuo para diminuir os riscos de exposição de microfibras não associadas ao estudo. Após o período de aclimação, cinquenta peixes foram distribuídos entre oito aquários de 10 L (duas réplicas por grupo experimental), sendo cada peixe considerado uma unidade experimental. Os aquários foram mantidos sob aeração constante, com os parâmetros físico-químicos da água monitorados durante todo o experimento.

Os grupos experimentais utilizados foram: Controle, Poliéster, Algodão e Misto (Fibras de Poliéster e Algodão). Assim, os indivíduos foram expostos à 531MF/L por um período de 14 dias, havendo troca da água total dos aquários a cada 3 dias. Após o tempo de exposição, os animais foram eutanasiados a partir do uso da solução de benzocaína de 0.5 ppm em solução aquosa até a interrupção do movimento opercular. Em seguida, os indivíduos foram dissecados, seus fígados coletados e conservados em formaldeído para as análises histológicas e em ultra freezer (-80°C) para as análises bioquímicas. Os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com as normas legais e diretrizes institucionais vigentes, com aprovação prévia do comitê de ética competente para a realização do estudo (CEUA nº 04/2024).

2.5. Biomarcadores

2.5.1 Biomarcadores Somáticos

A condição de saúde dos animais foi avaliada através do cálculo do fator de condição relativo (Kn) e do índice hepatossomático (IHS), ferramentas biométricas que contribuem com a avaliação do estado fisiológico, reserva energética, bem-estar e impacto de estressores ambientais em peixes (Le Cren, 1951). O fator de condição (Kn) é uma análise da relação entre o comprimento e o peso do peixe, servindo como um indicador do estado nutricional do animal. O peso total e o comprimento total foram obtidos e calculados através da equação de Vazzoler (1996), onde Kn representa o peso total, Lt o comprimento, α = intercepto da relação peso-comprimento e b o coeficiente alométrico (Vazzoler, 1996).

$$Kn = Wt / \alpha L^b$$

O índice hepatossomático (HSI) relaciona o peso do fígado com o peso total do corpo. Esta forma de análise é um biomarcador fundamental para avaliar a saúde metabólica e a toxicidade orgânica levando em consideração possíveis processos de estresse químico. É determinado por L_w , que indica o peso do fígado e T_w o peso total do peixe (Al-Ghais, 2013).

$$HSI = L_w / T_w \times 100$$

2.5.2 Biomarcadores Morfológicos

Após a coleta, as amostras de fígado foram armazenadas em solução aquosa de formaldeído a 10% e submetidas à rotina histológica padrão. As amostras foram hidratadas em concentrações crescentes de álcool (70%, 80%, 90%, 100) e diafanizadas em xilol P.A. e embebidas em parafina histológica seguida por microtomia. As lâminas histológicas foram confeccionadas na espessura de 5µm com 3 cortes por lâmina, com a distância também de 20µm. Em seguida as lâminas foram coradas pela técnica de Hematoxilina Eosina (H.E) e Ácido Peródico de Schiff (PAS), para as análises histopatológicas e morfométricas.

Análises relacionadas ao depósito de glicogênio nos hepatócitos foram realizadas através da coloração de PAS. Quatro campos aleatórios foram escolhidos por corte e, em cada campo, foi aplicado um sistema teste, onde foram obtidos dois quadrantes por área, resultando em oito unidades de amostragem por animal. Em cada um dos quadrantes, foi considerado a intensidade da coloração citoplasmática dos hepatócitos, recebendo uma pontuação semiquantitativa com base na intensidade da coloração: 0 (ausência de coloração), 1 (baixa intensidade), 2 (intensidade moderada) e 3 (alta intensidade). Um índice foi calculado para cada indivíduo como a pontuação média de coloração em todos os quadrantes amostrados, de acordo com a seguinte equação:

$$= \sum / N$$

onde $\sum$ representa as pontuações 0, 1, 2 ou 3 e N o total de quadrantes analisados por indivíduo. Os valores obtidos resultaram numa unidade arbitrária (u.a) e foram usados para uma estimativa do conteúdo de glicogênio hepático.

O índice histopatológico (IHP) foi realizado seguindo o protocolo proposto por Bernet (1999), onde as anomalias encontradas nos órgãos foram classificadas de acordo com um score (a), variando de 0 a 6 e dependendo do grau e da frequência da lesão, onde 0 representa frequência negativa e 6 considera-se uma frequência alta. O fator de importância foi calculado num valor de 1 a 3, sendo classificado, quantitativamente, a severidade da patologia e prejuízo gerado ao órgão: 1 classifica patologias suaves, 2 patologias com certo grau de importância, porém reversíveis e 3, patologias severas e sem reversibilidade. Assim é possível entender o

quanto aquele órgão está sendo prejudicado pelo contaminante de forma física. Para o cálculo foi utilizada uma equação, na qual o fator de importância (fc) foi multiplicado pelo score (a), para representar o índice de alteração. O índice histopatológico (IHP) foi calculado a partir da soma do fator de importância x (alteração total= $\sum(w * a)$).

Em relação às análises morfológicas, foi estipulado um número experimental de 5 indivíduos de cada grupo, utilizando o sistema de medida ImageJ. Em cada corte (3 cortes por lâmina) foram determinados 2 quadrantes aleatórios através de um sistema teste onde foram mensurados 30 hepatócitos. Dessa forma, foi obtida a área do citoplasma e do núcleo de cada uma das 30 células, para que fosse estipulado a diminuição ou o aumento da área dos hepatócitos.

2.6 Biomarcadores Bioquímicos

Os biomarcadores de dano utilizados foram dano em DNA, peroxidação lipídica (LPO) e Proteínas Carboniladas. Todas as análises foram normalizadas pelas concentrações de proteína total que foram determinadas por espectrofotometria a 595nm (Bradford, 1976) onde foi utilizado proteína albumina do soro bovino (BSA) como padrão da quantidade de proteína das amostras. As leituras foram realizadas utilizando o leitor de microplacas (Biotek-Synergy™ HT). Aproximadamente 100mg de fígado de amostras congeladas foram homogeneizados em tampão fosfato de potássio pH 7,3. O homogenato não centrifugado foi utilizado para as análises.

Os danos ao DNA foram avaliados pelo método de precipitação alcalina descrito por Olive (1998), com adaptações para tecidos de peixes. As amostras (25 µl) foram incubadas em 200 µl de solução de SDS 2% (composta por SDS 2%, EDTA 10 mM, Tris-base 10 mM e NaOH 40 mM). Após repouso por 1 minuto à temperatura ambiente, foram adicionados 200 µl de KCl 0,12 M para promover a precipitação das proteínas e do DNA genômico. Na sequência, o material foi incubado em banho-maria a 60 °C por 10 minutos e, por fim, mantido a 4 °C por 30 minutos antes de seguir para a centrifugação. Posteriormente, foi adicionado KCl 0,12 M para precipitação do DNA de alto peso molecular. As amostras foram centrifugadas a 8.000 × g por 10 min e a quantidade de DNA presente no sobrenadante foi determinada fluorimetricamente utilizando brometo de Hoechst.

A peroxidação lipídica foi determinada pelo método das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), segundo Wills (1987), com adaptações. As amostras foram incubadas com ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67%, ácido tricloroacético (TCA) 20% e aquecida a 70°C

por 30 min. Após resfriamento em banho de gelo, as amostras foram centrifugadas a $8.000 \times g$ por 10 min. A absorbância do sobrenadante foi determinada utilizando espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como nmol de malondialdeído (MDA) por mg de proteína, utilizando coeficiente de extinção molar de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

O conteúdo de proteínas carboniladas foi determinado segundo Levine et al. (1994), utilizando 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). As amostras foram incubadas com DNPH 10 mM dissolvido em HCl 2 M durante 90 minutos à temperatura 37°C, sob agitação periódica. As proteínas foram precipitadas com TCA 20%, lavadas três vezes com mistura etanol:acetato de etila (1:1) para remoção do excesso de reagente e ressuspensas em guanidina-HCl 6 M. A absorbância foi determinada em 370 nm. A concentração de proteínas carboniladas foi calculada utilizando coeficiente de extinção molar de $22.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e os resultados expressos como nmol de grupos carbonila por mg de proteína.

2.7 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando o software SIGMAPlot 12.5. Inicialmente, a normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de igualdade de variâncias. Quando os dados atenderam aos pressupostos paramétricos, foi realizada a análise de variância de uma via (One-Way ANOVA), sendo obtidos os valores de F e p, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ou Dunnett, conforme o objetivo das comparações entre os grupos experimentais. Nos casos em que os dados não apresentaram homogeneidade das variâncias, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis de uma via foi aplicado, sendo as diferenças entre os grupos avaliadas por testes de comparações múltiplas adequados. Todas as análises consideraram nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3. Resultados

3.1 Caracterização das fibras

A análise por ATR-FTIR confirmou a identidade química das fibras utilizadas no estudo, revelando bandas vibracionais características de celulose e poliéster (Figura 1).

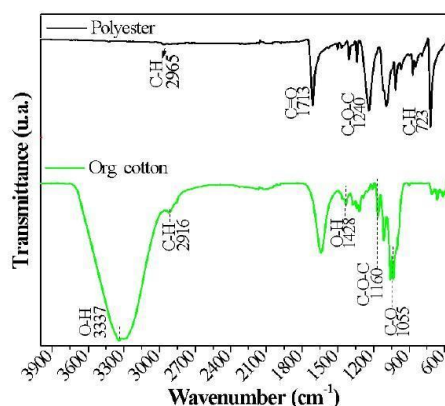


Figura 1. Espectros comparativos de ATR-FTIR de duas amostras de fibras — poliéster sintético e algodão orgânico — obtidos na faixa de 550–4000 cm^{-1} . As bandas de absorção características evidenciam as diferenças estruturais entre o material sintético e a fibra à base de celulose.

3.2 Biomarcadores Somáticos

Não foram observadas diferenças significativas para o fator de condição entre os grupos experimentais (Figura 2A). Em relação ao índice hepatossomático, houve diferença estatística apenas entre o grupo algodão e misto (Kruskal-Wallis, $H = 9,000$; $gl = 3$; $p = 0,029$), onde foi possível observar redução do IHS nos organismos do grupo misto (Figura 2B).

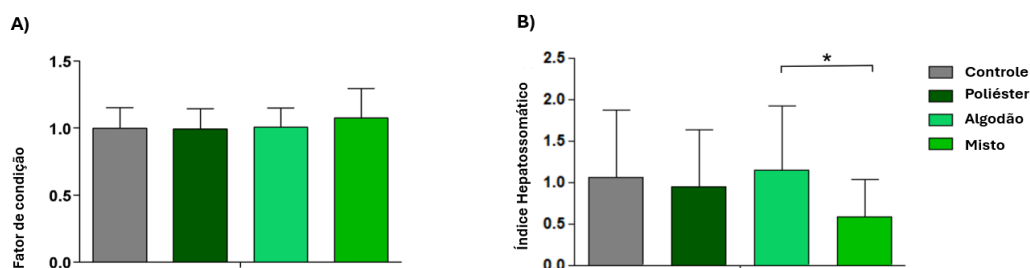


Figura 2. A) Fator de condição e B) índice hepatossomático de peixes da espécie *Danio rerio*, expostos a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: Controle, Poliéster, Algodão e Misto.

3.3 Biomarcadores morfológicos

O índice histopatológico apresentou aumento considerável em relação ao controle em todos os grupos experimentais, sendo que o grupo poliéster demonstrou maior valor entre os grupos, seguido pelos grupos misto e algodão (Kruskal-Wallis, $H = 18,733$; $gl = 3$; $p < 0,001$). (Figura 3 A). Além disso, as principais patologias apresentadas em todos os grupos experimentais foram: congestão vascular, hemorragia, necrose, colestase e inclusões fibrilares,

sendo grupo que apresentou as patologias mais frequentes foi o grupo exposto ao poliéster, onde a frequência foi calculado de acordo com o protocolo de Bernet (1999) (Figura 4).

A quantificação de glicogênio, por sua vez, foi relevante em todos os grupos com exceção do grupo misto, que apresentou resultados similares e diferença estatística com o grupo controle (One way ANOVA, $F = 4,274$, $P = 0,021$) (Figura 3 B). No grupo algodão foi possível observar aumento substancial do depósito de glicogênio, seguido pelo grupo poliéster (Figura 3 B), sendo evidenciado a partir da análise histológica de quantificação de glicogênio (Figura 5 C). A análise morfométrica realizada a partir da medida da área dos hepatócitos não demonstrou diferenças significativas entre os grupos, porém é possível observar um leve aumento na área do citoplasma e núcleo do grupo exposto ao poliéster (Figura 3 C e D).

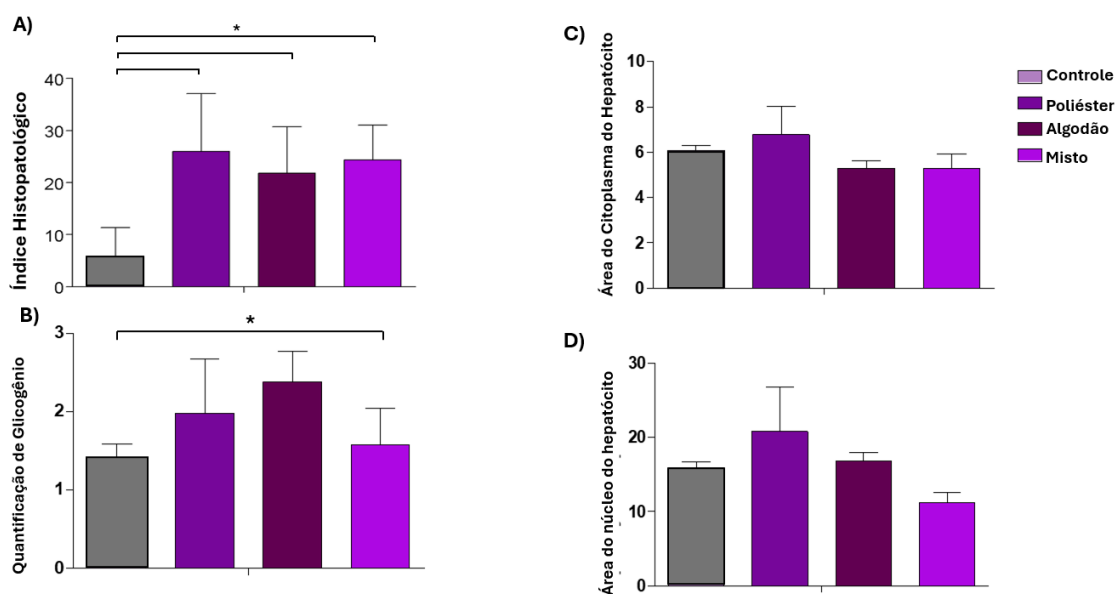


Figura 3: A) Índice histopatológico, B) depósito de glicogênio, C) área do citoplasma do hepatócito e D) área do núcleo do hepatócito. Análises realizadas no fígado de *Danio rerio* exposto a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: Controle, Poliéster, Algodão e Misto.

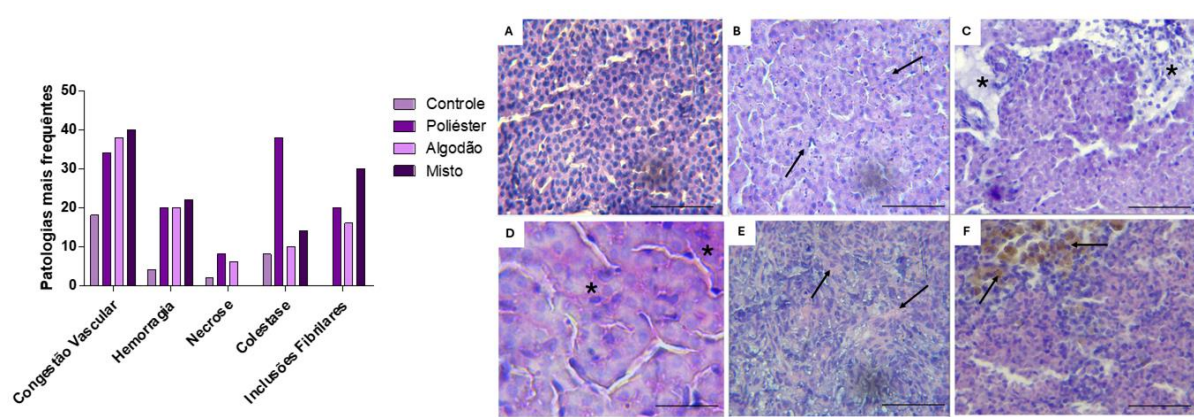


Figura 4. A esquerda, gráfico representando as patologias mais frequentes encontradas nos grupos experimentais: Congestão vascular, Hemorragia, Necrose, Colestase e Inclusões Fibrilares. A direita, prancha histológica demonstrando as patologias mais frequentes. A) Grupo controle, B) Grupo exposto a microfibras de poliéster com congestão vascular (setas); C e D) Grupo exposto a poliéster com necrose e infiltrações inflamatórias (*); E) Grupo exposto a algodão com infiltrações fibrilares (setas) e F) Grupo exposto a algodão com colestase.

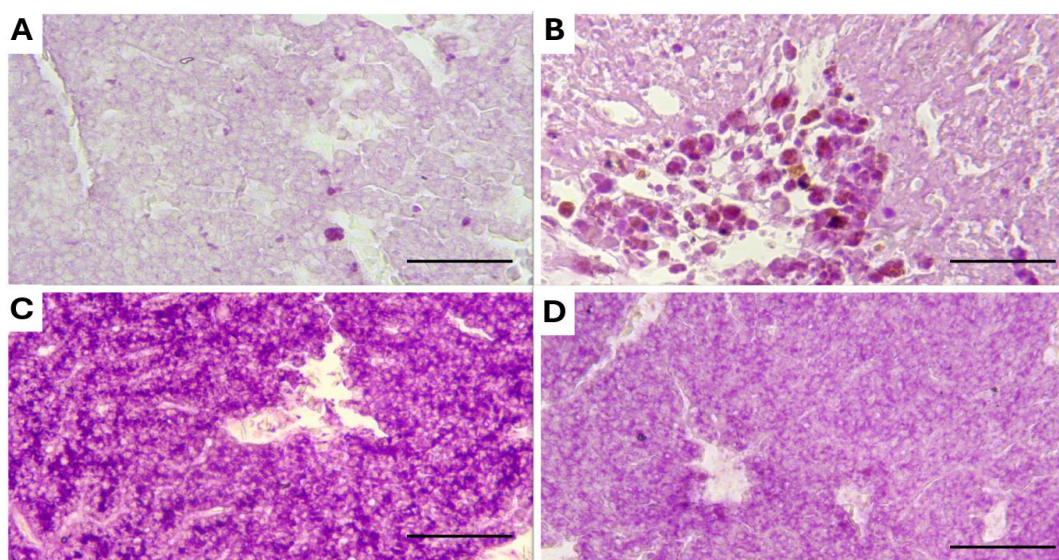


Figura 5. Depósitos de glicogênio no fígado de *Danio rerio*: A) Grupo Controle; B) Grupo poliéster; C) Grupo Algodão; D) Grupo Misto.

3.4 Biomarcadores Bioquímicos

A análise de dano ao DNA não demonstrou diferença estatística em nenhum grupo, com aumento significativo do dano em DNA nesses tratamentos em relação ao controle (Figura 6A). Em relação a carbonilação protéica, foi possível observar aumento no grupo exposto ao

poliéster em relação aos demais grupos, indicando diferença estatisticamente significativa entre poliéster e misto (One Way ANOVA, $F = 3,85$; $P = 0,033$) (Figura 6B). A análise de peroxidação lipídica não demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Figura 6C).

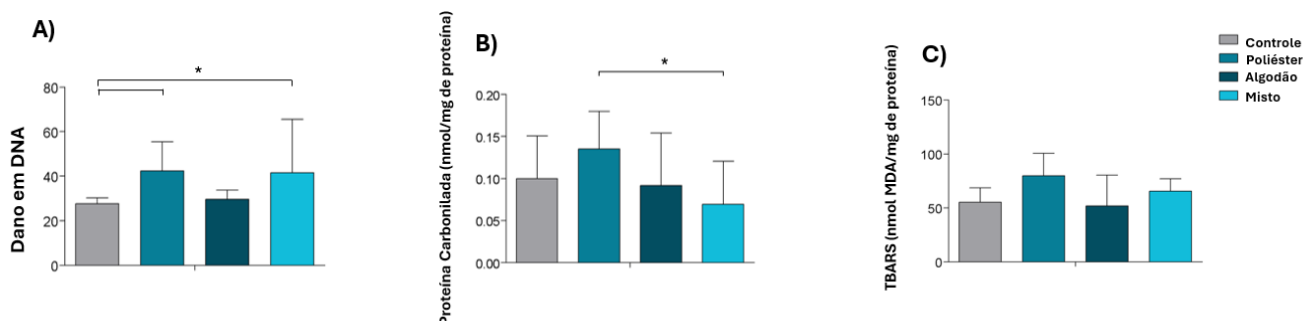


Figura 6. Biomarcadores bioquímicos hepáticos de *Danio rerio* expostos a microfibras têxteis de origem sintética e natural, grupos: controle, poliéster, algodão e misto. A) Dano em DNA, B) proteína carbonilada e C) peroxidação lipídica

4. Discussão

Para compreender os efeitos decorrentes da exposição a microfibras têxteis de origem sintética e natural, este estudo avaliou alterações hepáticas em *Danio rerio* expostos a fibras frequentemente liberadas em efluentes aquáticos, especialmente provenientes de processos de lavagem doméstica. As análises histopatológicas demonstraram alterações estruturais no fígado, evidenciando respostas celulares associadas ao estresse causado pela exposição às microfibras. Além das alterações morfológicas, as análises bioquímicas permitiram avaliar possíveis impactos metabólicos decorrentes da exposição, indicando alterações na homeostase hepática e ativação de mecanismos adaptativos frente à presença contínua desses contaminantes.

O fator de condição e o índice hepatossomático foram utilizados como indicadores gerais das condições fisiológicas dos organismos após o período de exposição (Nunes, 2011). Os resultados do fator de condição indicaram que os peixes permaneceram em condições adequadas de peso corporal, sugerindo ausência de alterações significativas no estado nutricional geral dos indivíduos. Entretanto, o índice hepatossomático apresentou diferença estatística entre os grupos algodão e misto, sendo misto o grupo que apresentou IHS mais reduzido. O índice hepatossomático está relacionado ao metabolismo energético,

armazenamento de reservas e alterações fisiológicas decorrentes do estresse ambiental (Adams & McLean, 1985). Dessa forma, a redução observada pode estar associada a alterações metabólicas hepáticas ou mobilização de reservas energéticas como resposta à exposição às microfibras, para a homeostase do organismo, esta diminuição tende a ser muito danosa, podendo causar dano tecidual, danos à peroxidação lipídica, inativação de enzimas, morte celular e danos no ciclo de vida, como queda na capacidade reprodutiva (Du *et al*, 2019; Lushchack, 2011; Querol *et al*, 2002; Sloof *et al*, 1983).

A avaliação histopatológica revelou diferentes padrões de resposta entre os grupos experimentais. As patologias mais frequentes foram congestão vascular, hemorragia, necrose, colestase e inclusões fibrilares, encontradas em todos os grupos, o diferencial foi a frequência das patologias. O grupo poliéster apresentou maior índice histopatológico, indicando maior comprometimento do tecido hepático, evidenciado pela frequência maior de patologias mais severas como necrose e colestase. A presença de pontos necróticos indica uma alteração degenerativa irreversível caracterizada pela perda da integridade celular, podendo comprometer a função do tecido hepático (Bernet, 1999), enquanto a colestase pode indicar alterações na secreção e eliminação da bile, sugerindo possíveis prejuízos metabólicos decorrentes da exposição aos contaminantes (Heath, 1995). O maior índice histopatológico observado no grupo exposto às microfibras de poliéster sugere que esse material exerceu efeito hepatotóxico significativo. Após a exposição, as microfibras podem desencadear estresse oxidativo e resposta inflamatória, levando ao comprometimento da integridade dos hepatócitos (Livingstone, 2001; Lushchak, 2011). O excesso de espécies reativas de oxigênio promove danos às membranas celulares, proteínas e DNA, favorecendo processos degenerativos como a necrose, enquanto a inflamação e o comprometimento funcional dos hepatócitos podem prejudicar a síntese e a excreção da bile, resultando em colestase (Lushchak, 2011). Além disso, as propriedades físico-químicas do poliéster, como sua elevada persistência e capacidade de interagir com moléculas presentes no meio, podem potencializar seus efeitos tóxicos, contribuindo para o maior comprometimento do tecido hepático observado neste estudo (Lu *et al*, 2016; Rochman *et al*, 2013).

Elevada frequência de necrose observada no grupo exposto às microfibras de poliéster sugere que a exposição promoveu danos celulares irreversíveis aos hepatócitos (Bernet *et al*, 1999; Wolf & Wolfe, 2005). O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio pode desencadear peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e comprometimento da função mitocondrial, reduzindo a produção de ATP e levando à perda da integridade das membranas celulares (Livingstone, 2001; Lushchak, 2011). Como consequência, os hepatócitos evoluem

para necrose, caracterizada pela ruptura da membrana plasmática e morte celular, contribuindo para o aumento do índice histopatológico e para o comprometimento da função hepática observado neste estudo (Lu et al., 2016; Rochman et al., 2013).

O grupo exposto ao algodão apresentou menor frequência e intensidade de alterações, sugerindo menor impacto hepático quando comparado aos grupos expostos às microfibras de origem sintética. Nesse grupo foram observadas hemorragia, congestão vascular e necrose, embora em frequência inferior à observada no grupo poliéster. A hemorragia e a congestão vascular podem estar associadas a alterações circulatórias e processos inflamatórios locais, sendo consideradas lesões potencialmente reversíveis quando o estímulo lesivo é interrompido ou apresenta baixa intensidade (Bernet et al., 1999; Schwaiger et al., 1997). Por outro lado, a ocorrência pontual de necrose sugere que, mesmo em menor intensidade, a exposição às microfibras de algodão foi capaz de promover dano celular irreversível em alguns hepatócitos, possivelmente em decorrência de estresse oxidativo localizado e da resposta inflamatória desencadeada pela presença das fibras no organismo (Lushchak, 2011; Wolf & Wolfe, 2005).

O grupo misto apresentou maior frequência de inclusões fibrilares e hemorragias, indicando uma resposta intermediária. Alterações como congestão vascular, hemorragia, colestase e inclusões fibrilares são frequentemente associadas a processos inflamatórios, alterações vasculares e desequilíbrios metabólicos em peixes expostos a contaminantes ambientais (Bernet et al., 1999; Wolf & Wolfe, 2005). A presença dessas alterações sugere que a exposição às microfibras pode induzir uma resposta progressiva no tecido hepático, envolvendo desde alterações circulatórias até danos celulares mais severos, como necrose (Pazos, 2017; Roberts, 2012; Sun et al., 2024; Van der Oost et al., 2003). É possível que danos em diferentes categorias indiquem um processo lento e gradativo, onde o tecido foi afetado diretamente pela presença destes contaminantes (Pazos, 2017; Roberts, 2012; Sun, 2024; Van der Oost, 2003;).

A quantificação de glicogênio evidenciou aumento nos grupos expostos ao algodão e ao poliéster, indicando possíveis alterações no metabolismo energético hepático. O acúmulo de glicogênio pode representar uma resposta celular frente ao estresse ambiental, refletindo alterações na regulação metabólica do fígado e tentativa de manutenção da homeostase energética. O glicogênio está associado diretamente ao metabolismo do órgão, fundamental para a manutenção da homeostase sistêmica da glicose, o aumento de glicogênio neste caso, pode ser um indicativo de processos inflamatórios ocasionados por estresse oxidativo, o que pode ter alterado o metabolismo energético hepático (Hinton, 1990; Soon & Torbenson, 2023).

A análise morfométrica dos hepatócitos, considerando as áreas citoplasmática e nuclear, permitiu avaliar alterações estruturais associadas à exposição às microfibras. O grupo exposto ao poliéster teve aumento discreto na área citoplasmática e nuclear, sugerindo possíveis alterações adaptativas associadas à exposição às microfibras. A expansão citoplasmática pode estar relacionada a maior demanda por processos de manutenção e resposta ao estresse, enquanto o aumento nuclear pode indicar modificações na atividade celular, incluindo maior demanda por transcrição e síntese de proteínas relacionadas à resposta a agentes estressores (Kumar et al. 2021). Estudos demonstram que a exposição a microplásticos pode induzir alterações celulares em peixes, incluindo modificações morfológicas, alterações no metabolismo energético, estresse oxidativo e respostas de detoxificação, refletindo a tentativa do organismo de manter a homeostase diante da exposição a contaminantes ambientais (Félix, 2023; Lu *et al.* 2016).

A exposição às microfibras têxteis também promoveu alterações nos biomarcadores bioquímicos, indicando desequilíbrio celular e ativação de respostas associadas ao estresse oxidativo. Não foi identificado aumento significativo em relação ao dano em DNA, sugerindo que a produção excessiva de EROs pode causar danos oxidativos em diferentes componentes celulares, incluindo lipídios, proteínas e material genético, porém neste caso não causou danos relevantes ao DNA (Onder et al., 2025). Em condições fisiológicas normais, as EROs são continuamente produzidas durante processos metabólicos, principalmente na respiração mitocondrial, sendo neutralizadas por sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Entretanto, a exposição a contaminantes ambientais, como microfibras têxteis, pode aumentar a geração dessas moléculas, levando ao desequilíbrio entre a produção de agentes oxidantes e a capacidade antioxidante do organismo, condição conhecida como estresse oxidativo (Livingstone, 2001). No fígado, esse processo é particularmente relevante devido à intensa atividade metabólica e participação desse órgão na biotransformação e detoxificação de xenobióticos. O aumento das EROs pode promover a peroxidação lipídica das membranas celulares, comprometendo sua integridade; induzir a oxidação de proteínas, alterando enzimas e estruturas celulares; além de causar danos ao DNA, afetando processos de reparo e funcionamento celular (Lushchak, 2011). Quando esses danos ultrapassam a capacidade de reparação dos hepatócitos, podem ocorrer alterações metabólicas, perda da função celular e progressão para lesões histológicas, como degeneração e necrose (Roberts, 2012).

Apesar de não ter sido observada diferença estatisticamente significativa, os valores médios sugerem uma possível tendência de aumento da peroxidação lipídica, que merece investigação em estudos futuros. A peroxidação lipídica ocorre quando espécies reativas de

oxigênio interagem com os ácidos graxos das membranas celulares, comprometendo sua estrutura e funcionalidade (Catala, 2009; Juan *et al.*, 2021). Estudos com espécies de *Danio rerio* e *Oncorhynchus mykiss* (truta arco-íris) expostos a microfibras de poliéster e algodão indicam que essas partículas podem induzir estresse oxidativo no fígado e alterar sistemas antioxidantes, favorecendo danos celulares (Erdle *et al.* 2025; Félix *et al.*, 2023; Qualhato *et al.* 2023).

Em relação às proteínas carboniladas, o aumento observado no grupo exposto ao poliéster, quando comparado aos demais tratamentos, indica maior dano oxidativo proteico nesse grupo (Dalle-Donne, 2003). Esse resultado sugere que as microfibras de poliéster apresentam maior potencial de indução de alterações moleculares, possivelmente devido às suas características físico-químicas, como composição sintética, maior persistência ambiental e baixa biodegradabilidade (Geyer, 2017; Egan & Salmon, 2022).

Embora o grupo misto tenha apresentado alto índice histopatológico, o grupo poliéster apresentou evidências de maior comprometimento molecular, principalmente em relação à carbonilação protéica e peroxidação lipídica. Esse resultado indica que a frequência de alterações morfológicas nem sempre está diretamente relacionada à intensidade do dano celular, uma vez que diferentes tipos de microfibras podem desencadear respostas biológicas distintas (Van der Oost *et al.*, 2003; Bernet *et al.*, 1999; Hinton & Lauren, 1990).

O grupo algodão, por sua vez, apresentou menor resposta nos biomarcadores bioquímicos avaliados, sugerindo menor potencial de indução de estresse oxidativo nas condições experimentais analisadas. Entretanto, a presença de alterações histológicas demonstra que fibras naturais também podem causar efeitos adversos em organismos aquáticos, reforçando que sua origem natural não implica ausência de impacto biológico (Collard *et al.*, 2017). Esse resultado evidencia que a toxicidade das microfibras depende não apenas de sua composição, mas também de características como tamanho, forma, persistência e interação com os tecidos, podendo resultar em respostas distintas entre biomarcadores bioquímicos e histopatológicos (Van der Oost *et al.*, 2003).

Os resultados demonstram que a exposição às microfibras têxteis foi capaz de promover alterações em diferentes níveis de organização biológica em *Danio rerio*, incluindo alterações metabólicas, moleculares, morfológicas e estruturais. A resposta observada variou de acordo com a composição das fibras, evidenciando que microfibras sintéticas e naturais podem apresentar potenciais tóxicos distintos sobre os organismos aquáticos (Collard *et al.*, 2017; Athey & Erdle, 2022).

Embora o algodão seja uma fibra de origem natural, sua exposição promoveu alterações estruturais no fígado de *Danio rerio*. Entretanto, a ausência de alterações relevantes nos biomarcadores bioquímicos sugere uma resposta diferente daquela observada para as fibras contendo poliéster, indicando menor potencial de indução de dano oxidativo nas condições avaliadas.

Em comparação, o poliéster apresentou maior comprometimento molecular, evidenciado pelas alterações nos biomarcadores de estresse oxidativo e dano ao material genético, além de alterações histopatológicas mais severas. Por outro lado, o grupo misto apresentou maior frequência de alterações histológicas, juntamente com alterações bioquímicas relevantes, sugerindo que a combinação entre fibras sintéticas e naturais pode modificar a resposta biológica dos organismos expostos. Dessa forma, os resultados reforçam que diferentes tipos de microfibras podem desencadear padrões distintos de toxicidade, sendo necessária uma avaliação integrada dos efeitos dessas partículas nos ecossistemas aquáticos.

5. Conclusão

A exposição às microfibras têxteis de poliéster, algodão e à mistura de poliéster e algodão promoveu alterações hepáticas em *Danio rerio*, evidenciadas por danos morfológicos e bioquímicos. Os resultados demonstram que essas partículas são capazes de interferir na homeostase hepática, desencadeando respostas celulares associadas ao estresse ambiental e comprometendo a integridade estrutural e funcional do fígado. A composição das fibras influenciou o padrão de resposta dos organismos expostos. O poliéster apresentou maior potencial de indução de danos oxidativos e genotóxicos, evidenciado pelo aumento da peroxidação lipídica, da carbonilação de proteínas e do dano ao DNA, acompanhado por lesões histopatológicas mais severas, como necrose e colestase, indicando comprometimento da morfologia e do metabolismo hepático. O grupo misto apresentou alterações teciduais expressivas associadas a respostas bioquímicas relevantes, sugerindo que a interação entre fibras de diferentes composições pode modificar os mecanismos de toxicidade e influenciar a intensidade dos efeitos observados.

Embora o algodão seja uma fibra de origem natural, sua exposição também promoveu alterações estruturais no tecido hepático, demonstrando que fibras naturais não são isentas de efeitos adversos e podem representar risco à biota aquática quando presentes em concentrações ambientalmente relevantes. Em conjunto, os resultados

evidenciam que microfibras sintéticas e naturais desencadeiam padrões distintos de resposta hepática em *Danio rerio*, indicando que a composição das fibras desempenha papel determinante na natureza e na intensidade dos efeitos tóxicos. Além disso, o estudo demonstra que a avaliação integrada de biomarcadores bioquímicos, genotóxicos e histopatológicos permite uma compreensão mais abrangente dos mecanismos de toxicidade, uma vez que alterações moleculares e celulares nem sempre se refletem diretamente na intensidade das lesões teciduais.

Dessa forma, esta pesquisa amplia o conhecimento sobre os efeitos ecotoxicológicos de microfibras têxteis em organismos aquáticos e reforça a necessidade de incluir tanto fibras sintéticas quanto naturais em programas de monitoramento ambiental e avaliações de risco. Considerando a crescente liberação dessas partículas nos ecossistemas aquáticos, os resultados obtidos fornecem subsídios para futuras investigações sobre os mecanismos de toxicidade das microfibras e para o desenvolvimento de estratégias de gestão e mitigação da poluição têxtil, contribuindo para a conservação da biodiversidade e para a proteção da qualidade dos ambientes aquáticos.

Referências bibliográficas

AU, D. W. T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin*, v. 48, n. 9–10, p. 817–834, 2004. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2004.02.032.

BAILONE, R. L. et al. Zebrafish as an alternative animal model in human and animal vaccination research. *Laboratory Animal Research*, v. 36, 2020.

BARBOZA, L. G. A. et al. (sugestão de incluir caso use) Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks. *Science of the Total Environment*, v. 635, p. 1026–1036, 2018.

BARBOZA, L. G. A., et al. (2018). Microplastics cause neurotoxicity, oxidative damage and energy-related changes and interact with the bioaccumulation of mercury in European seabass. *Aquatic Toxicology*, 195, 49–57.

BARNES, D. K. A.; GALGANI, F.; THOMPSON, R. C.; BARLAZ, M. Plastic debris in the marine environment: history and future challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, v. 364, n. 1526, p. 1985–1998, 2009.

BEAUMONT, N. J. et al. Global ecological, social and economic impacts of marine plastic. *Marine Pollution Bulletin*, v. 142, p. 189–195, 2019.

BERNET, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25–34.

BHIKKO, R. et al. Marine outfall discharges contribute to coastal microplastic pollution and the spread of antimicrobial resistance. *PLOS ONE*, v. 20, n. 8, e0329599, 2025.

BROWNE, M. A. et al. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environmental Science & Technology*, v. 45, n. 21, p. 9175–9179, 2011.

CARDOSO, S. J.; QUADRA, G. R.; RESENDE, N. S.; ROLAND, F. The role of sediments in the carbon and pollutant cycles in aquatic ecosystems. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 31, e18, 2019.

CATALA, Angel. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 157, n. 1, p. 1–11, 2009. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2008.09.004.

COCCA, M.; Dorigato, G.; Giaccone, V.; Colavita, G. Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., Das, K., & Parmentier, E. (2017). Microfibres in marine organisms: A review of occurrence and effects. *Environmental Pollution*, 230, 837–850.

COX, K. D. et al. Human consumption of microplastics. *Environmental Science & Technology*, v. 53, n. 12, p. 7068–7074, 2019.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 7, n. 4, p. 377–398, 2003.

DE FALCO, F. et al. Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environmental Pollution*, v. 236, p. 916–925, 2020.

DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds.). *The Toxicology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press, 2008.

DING, J. et al. Histopathological alterations and lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to polystyrene microplastics. *Environmental Pollution*, v. 243, p. 21–29, 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.08.032.

ERIKSEN, M. et al. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLOS ONE*, v. 9, n. 12, e111913, 2014.

FÉLIX, L. M.; CARREIRA, P.; PEIXOTO, F. Effects of chronic exposure of naturally weathered microplastics on oxidative stress level, behaviour, and mitochondrial function of adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, v. 310, p. 136895, 2023. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.136895.

GAYLARDE, C. C.; BAPTISTA-NETO, J. A.; FONSECA, E. M. Microplastics in the marine environment: a review of their sources, fate and effects on biota. *Marine Pollution*

Bulletin, v. 170, 112660, 2021. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2021.112660. Health: A Review. Animals 2023, 13,

HIDALGO-RUZ, V. et al. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. Environmental Science & Technology, v. 46, n. 6, p. 3060–3075, 2012.

HINTON, D. E.; LAUREN, D. J. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. In: Biomarkers of Environmental Contamination. 1990. <https://doi.org/10.3390/>

HUTTON, S. J. et al. Behavioral and molecular effects of micro and nanoplastics across three plastic types in fish: weathered microfibers induce a similar response to nanosized particles. Frontiers in Toxicology, v. 6, 2024. Impact. Polymers 2024, 16, 3238

JIN, Y., et al. (2018). Polystyrene microplastics induce microbiota dysbiosis and inflammation in zebrafish. Environmental Pollution, 235, 322–329.

JUAN, Carlos A.; PÉREZ DE LA LASTRA, José M.; PLAZA-DÍAZ, Julio; et al. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. International Journal of Molecular Sciences, v. 22, n. 9, p. 4642, 2021. DOI: 10.3390/ijms22094642

KLEMM, D. et al. Cellulose: molecular and structural biology, biocompatibility, and industrial applications. Angewandte Chemie International Edition, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.

KUMAR, V.; ASTER, J. C.; ABBAS, A. K. Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2021.

LI, C.; BUSQUETS, R.; CAMPOS, L. C. Assessment of microplastics in freshwater systems: a review. Science of the Total Environment, v. 707, 135578, 2020.

LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Marine Pollution Bulletin, v. 42, n. 8, p. 656–666, 2001.

LU, Y. et al. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. Environmental Science & Technology, v. 50, n. 7, p. 4054–4060, 2016.

LU, Y., et al. (2016). Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. Environmental Science & Technology, 50(7), 4054–4060.

LU, Y., et al. (2016). Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. Environmental Science & Technology, 50, 4054–4060.

LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquatic Toxicology, v. 101, n. 1, p. 13–30, 2011.

MURPHY, F. et al. Wastewater treatment works as a source of microplastics in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*, v. 50, n. 11, p. 5800–5808, 2016.

NAPPER, I. E.; THOMPSON, R. C. Release of synthetic microplastic fibres from domestic washing machines: effects of fabric type and washing conditions. *Marine Pollution Bulletin*, v. 112, n. 1–2, p. 39–45, 2016.

PANG, H.; LI, Y. Thermosetting polymers: chemistry, processing and applications. *Polymer International*, v. 69, n. 9, p. 877–889, 2020.

PAULA, A., Rosa, L., Gabriela, M., Jaqueline Matos Cruz, Cristina, A., Mariana Santos Costa, Lucia, V., & Maria Aparecida Marin-Morales. (2024). The Zebrafish as an Alternative Animal Model for Ecotoxicological Research and Testing. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 67. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2024220968>

PEDROTTI, M.L., Petit, S., Eyheraguibel, B., Kerros, M.E., Elineau, A., Ghiglione, J.F., Loret, J.F., Rostan, A., Gorsky, G., 2021. Pollution by anthropogenic microfibers in North West Mediterranean Sea and efficiency of microfiber removal by a wastewater treatment plant. *Sci Total Environ.* 758:144195. Polyester Fabrics—Environmental polym16233238

QUEROL, E.; QUEROL, M. V. M.; GOMES, N. N. A.; GOMES, V.; ARAÚJO, F. G. Condição corporal, índice hepatossomático e reprodutivo de *Loricariichthys platymetopon* (Siluriformes, Loricariidae) no reservatório de Barra Bonita, rio Tietê, SP. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 19, n. 3, p. 891–902, 2002.

REMY, F., Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., & Lepoint, G. (2015). When microplastic is not plastic: the ingestion of artificial cellulose fibers by macrofauna living in seagrass habitats. *Environmental Science & Technology*.

ROBERTS, R. J. *Fish Pathology*. 4. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012. Rochman, C. M., et al. (2013). Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Scientific Reports*, 3, 3263.

ŠARAVANJA, A.; PUŠIĆ, T.; VOLMAJER VALH, J.; DEKANIĆ, T. Aging and modified washing process for polyester fabrics—environmental impact. *Polymers*, v. 16, n. 23, p. 3238, 2024. DOI: 10.3390/polym16233238.

SCHEIRS, J.; LONG, T. E. (Eds.). *Modern Polyesters: Chemistry and Technology of Polyesters and Copolyesters*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2003.

SCHLENK, D. et al. Biotransformation in fishes. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds.). *The Toxicology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press, 2008.

SENATHIRAJAH, K. et al. Estimation of the mass of microplastics ingested: a pivotal first step towards human health risk assessment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 404, 124004, 2021.

SLOOFF, W.; DE ZWART, D.; MARQUENIE, J. M. Toxicity, bioaccumulation and lethal body burden of four chlorobenzenes and two chlorophenols to fish. *Aquatic Toxicology*, v. 4, n. 2, p. 113–128, 1983.

SUARIA, G. et al. Microfibers in oceanic surface waters: a global characterization. *Science Advances*, v. 6, n. 23, eaay8493, 2020.

VALAVANIDIS, A. et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 64, n. 2, p. 178–189, 2006.

VAN DER OOST, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57–149.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 13, n. 2, p. 57–149, 2003.

VAN DYK, J. C.; PIETERSE, G. M. A histological study of the liver of *Oreochromis mossambicus* as a biomarker of aquatic pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 69, p. 269–276, 2008.

VASSILENKO, E. et al. Domestic laundry and microfiber pollution: a review of factors influencing microfiber release. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 47758–47773, 2021.

VISAKH, P. M.; LIANG, M. (Eds.). *Poly(ethylene terephthalate) Based Blends, Composites and Nanocomposites*. Oxford: William Andrew Publishing, 2015.

WESTER, P. W.; CANTON, J. H. The usefulness of histopathology in aquatic toxicity studies. *Aquatic Toxicology*, v. 20, p. 247–256, 1991.

WOLF, J. C., & Wolfe, M. J. (2005). A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicologic Pathology*, 33, 75–85.

WRIGHT, S. L.; THOMPSON, R. C.; GALLOWAY, T. S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: LUANA PACHECO DE OLIVEIRA

Título: "TOXICIDADE HEPÁTICA DE MICROFIBRAS TÊXTEIS EM DANIO RERIO: UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E METABÓLICA"

Orientador: Dra. Gabriela Pustiglione Marinsek

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Dra. Gabriela Pustiglione Marinsek	Aprovada
MSC. Laís Adrielle de Oliveira Santos	Aprovada

PARECER:

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Luana Pacheco de Oliveira** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 03 de julho de 2026.



Dra. Gabriela Pustiglione Marinsek



MSC. Laís Adrielle de Oliveira Santos