RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 16/12/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

EFEITOS MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA EXPOSIÇÃO DE PEIXES-ZEBRA (*Danio rerio*) AO SURFACTANTE ANIÔNICO DODECILBENZENO SULFONATO DE SÓDIO (DSS)

EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS

Rio Claro – SP
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

EFEITOS MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA EXPOSIÇÃO DE PEIXES-ZEBRA (*Danio rerio*) AO SURFACTANTE ANIÔNICO DODECILBENZENO SULFONATO DE SÓDIO (DSS)

EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Prof.ª Dra. Maria Izabel Souza Camargo

Rio Claro – SP
2025

S237e

Santos, Eduardo Libanio Reis
Efeitos morfofisiológicos e bioquímicos da exposição de peixes-zebra (Danio rerio) ao surfactante aniônico dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DSS) / Eduardo Libanio Reis Santos. -- Rio Claro, 2025
107 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Maria Izabel Souza Camargo

1. Biomarcadores. 2. Ecotoxicidade. 3. Histopatologia. 4. Resposta antioxidante. 5. Tensoativo aniônico. I. Título.

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeitos morfofisiológicos da exposição de peixes-zebra (*Danio rerio*) ao surfactante aniônico dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DSS)

AUTOR: EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS
ORIENTADORA: MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Maria Izabel Souza Camargo

Profa. Dra. MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO (Participaçao Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp IB Rio Claro

Jeffesson de Oliveira Lima

Prof. Dr. JEFFESSON DE OLIVEIRA LIMA (Participaçao Presencial)
Departamento de Medicina / UnirG

gov.br Documento assinado digitalmente
JOSE RIBAMAR LIMA DE SOUZA
Data: 17/12/2024 11:23:05-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. JOSÉ RIBAMAR LIMA DE SOUZA (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciências e Biológicas / Universidade Federal do Acre

gov.br Documento assinado digitalmente
WAGNER DOS SANTOS MARIANO
Data: 17/12/2024 14:45:26-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. WAGNER DOS SANTOS MARIANO (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciências Naturais / Universidade Federal do Tocantins

Rio Claro, 16 de dezembro de 2024

Título alterado para: "Efeitos morfofisiológicos e bioquímicos da exposição de peixes-zebra (Danio rerio) ao surfactante aniônico dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DSS)"

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas bênçãos recebidas.

À professora Dra. Maria Izabel Souza Camargo, minha orientadora, pela oportunidade, orientação e contribuição ao longo desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia) do IB, pelo apoio e suporte institucional.

Aos colegas do Laboratório de Histologia, principalmente Odaiza e Gerson, pela colaboração e amizade construída durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus familiares, em especial ao meu irmão Jeffesson Lima, à minha mãe Dinalva Libanio, e à minha companheira Andressa Luz, pelo apoio e incentivo contínuo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta pesquisa.

.

Obrigado!

RESUMO

O Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS) é o principal componente dos detergentes convencionais, cuja liberação frequente e em grandes quantidades por meio de águas residuais contamina o ambiente aquático, representando potenciais riscos ecotoxicológicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do DSS nas brânquias, no sangue, no fígado e no rim do peixe *Danio rerio*. Dois bioensaios de exposição ao DSS foram realizados, sendo o primeiro com duração de 96 h e o segundo de 21 dias, sendo que os peixes foram divididos em três grupos: um Controle (0,0 mg/L) e dois Tratamentos (0,25 e 0,5 mg/L de DSS). Após o término dos bioensaios, foram realizadas análises histopatológicas, hematológicas (para a diferenciação leucocitária), histoquímicas (para a avaliação de células mucosas branquiais e conteúdo de glicogênio hepático) e bioquímicas (para determinação da atividade das enzimas de defesa antioxidante superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) nos órgãos). Os resultados revelaram efeitos histopatológicos significativos, incluindo aumento nos distúrbios circulatórios e alterações progressivas e regressivas, refletidas em um índice significativo de alteração histopatológica nas brânquias, fígado e rim nos grupos Tratamento de ambos os experimentos. Alterações hematológicas também ocorreram, detectadas pelas alterações no número de leucócitos. A defesa antioxidante foi também alterada, e confirmada pelas mudanças nas atividades de SOD e CAT nas brânquias, fígado e rim dos peixes dos Tratamentos. Os resultados aqui obtidos indicaram que o surfactante DSS causa efeitos adversos e graves tanto no sangue quanto nos órgãos internos de *D. rerio*, aqui avaliados, comprometendo a saúde desses animais em decorrência da exposição, dados que vem a enfatizar a importância da busca de estratégias mais rigorosas de monitoramento, regulamentação e de controle para esse tipo de surfactante.

Palavras-chave: biomarcadores, ecotoxicidade, histopatologia, resposta antioxidante, tensoativo aniônico.

ABSTRACT

Sodium Dodecylbenzene Sulfonate (SDBS) is the main component of conventional detergents, whose frequent release in large quantities through wastewater contaminates the aquatic environment, posing potential ecotoxicological risks. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of SDBS on the gills, blood, liver, and kidney of the fish *Danio rerio*. Two SDBS exposure bioassays were conducted, the first lasting 96 hours and the second 21 days, with the fish divided into three groups: one Control (0.0 mg/L) and two Treatments (0.25 and 0.5 mg/L of DSS). After the bioassays, histopathological, hematological (for leukocyte differentiation), histochemical (for the evaluation of gill mucous cells and hepatic glycogen content), and biochemical analyses (for determining the activity of antioxidant defense enzymes SOD and CAT in the organs) were performed. The results revealed significant histopathological effects, including an increase in circulatory disturbances and progressive and regressive alterations, reflected in a significant histopathological alteration index in the gills, liver, and kidney in the Treatment groups of both experiments. Hematological changes were also observed, detected by alterations in leukocyte counts. Antioxidant defense was also affected, as confirmed by changes in SOD and CAT activity in the gills, liver, and kidney of the fish in the Treatment groups. The results obtained here indicated that the SDBS surfactant causes severe adverse effects on both the blood and internal organs of *D. rerio*, compromising their health due to exposure. These findings highlight the importance of stricter monitoring, regulation, and control strategies for this type of surfactant.

Keywords: biomarkers, ecotoxicity, histopathology, antioxidant response, detergent.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 08
1.1 Surfactantes 09
1.1.1 Surfactantes aniônicos de Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS) 09
1.1.2 Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS) 10
1.2 O peixe-zebra (*Danio rerio*) **..... 13**
1.3 Testes ecotoxicológicos e biomarcadores 14
1.3.1 Brânquia como biomarcador 15
1.3.2 Sangue como biomarcador 18
1.3.3 Fígado como biomarcador 21
1.3.4 Rim como biomarcador 21
1.3.5 Biomarcadores de estresse oxidativo 22
2 OBEJTIVOS 23
2.1 Objetivo geral 23
2.2 Objetivos específicos 23
3 MATERIAL E MÉTODOS 24
3.1 Aprovação CEUA 24
3.2 Peixes 24
3.3 Amostragem e tratamentos 24
3.4 Processamento e análises 25
3.4.1 Análise morfológica 25
3.4.2 Análise histopatológica 26
3.4.3 Análise histoquímica 28
3.4.4 Análise hematológica 28
3.4.5 Análise bioquímica da atividade SOD e da CAT 28
3.4.6 Análises estatísticas 28
4 RESULTADOS 29
CAPÍTULO 1 30
CAPÍTULO 2 45
CAPÍTULO 3 59
CAPÍTULO 4 70
5 CONCLUSÃO 98
REFERÊNCIAS 99

1 INTRODUÇÃO GERAL

A preocupação com a contaminação do ambiente aquático tem suscitado questões ecotoxicológicas sobre o uso extensivo de surfactantes, em especial do surfactante aniônico Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS). Conhecido por suas propriedades emulsificantes e tensoativas, o DSS emergiu como o aditivo principal na fabricação de detergentes e de outros produtos tensoativos desse tipo (Zhu et al., 2022).

Diariamente o DSS vem sendo utilizado como agente de limpeza residencial e industrial, e a sua liberação excessiva se dá através de efluentes e de águas residuais. Embora o DSS seja biodegradável, o descarte contínuo muitas vezes extrapola os processos naturais de biodegradação, culminando na sua detecção generalizada (Mclachlan et al., 2023; Sousa et al., 2024). Esse cenário é preocupante, pois pode resultar no aumento significativo das concentrações desse composto nos corpos d'água, ultrapassando os limites permitidos pelas agências reguladoras (Junior et al., 2023), em contravenção às normas que estabelecem um limite de até 0,5 mg/L (Conselho Nacional de Meio Ambiente, 2005). Assim, os riscos para a saúde dos organismos aquáticos não devem e nem podem ser ignorados (Arora et al., 2022).

Alguns estudos que já foram anteriormente realizados apontaram para a toxicidade desse surfactante sobre organismos aquáticos, com foco principalmente nos efeitos sobre a reprodução e a sobrevivência de crustáceos (Coelho e Silva, 2010). Embora a investigação sobre os efeitos desse composto em vertebrados aquáticos ainda seja incipiente, alguns estudos têm sugerido a ocorrência de cardiotoxicidade e de hepatotoxicidade em girinos (Jonas-Costa et al., 2016; Franco-Belussi et al., 2021).

É importante destacar que os peixes desempenham um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos, agindo como bioindicadores sensíveis de mudanças ambientais, devido a capacidade de acumular substâncias tóxicas em seus tecidos ao longo do tempo. Os poucos resultados obtidos através do desenvolvimento de pesquisas com peixes vêm sinalizando efeitos adversos do DSS no comportamento e no muco que recobre a pele da pele e as brânquias (Mustapha e Bawa-Allah, 2020; Santos et al., 2024).

Contudo, ainda existe a necessidade de se esclarecer mais detalhadamente os efeitos do DSS sobre os peixes, especialmente sobre órgãos como: brânquias, sangue e fígado, cujos resultados auxiliarão no estabelecimento e na fiscalização da gestão deste surfactante no meio ambiente, principalmente no ambiente aquático. Nesse contexto, o peixe-zebra (*Danio rerio*), pode ser considerado um modelo valioso para realização de estudos ecotoxicológicos, devido à

sua fácil criação e adaptação em ambientes laboratoriais, além de possuir uma biologia vastamente conhecida (Zhao et al., 2024). As brânquias, sangue, fígado e rim desses peixes, normalmente alvos de estudos de contaminação, são fundamentais, uma vez que desempenham papéis essenciais na respiração, troca de gases, metabolização, entre outras funções, caracterizando-os como biomarcadores extremamente úteis (Hema et al., 2023; Huang et al., 2024). Nessa direção, o presente trabalho vem trazer à luz informações que contribuirão para o entendimento do potencial desse surfactante como agente tóxico sobre a morfohistologia interna de peixes da espécie *D. rerio*, informações que também tem como objetivo auxiliar na tomada de medidas de controle e de monitoramento.

1.1 Surfactantes

Os surfactantes são moléculas anfifílicas que possuem uma região hidrofílica (cabeça polar) e uma região hidrofóbica (cauda apolar). Essa estrutura única confere aos surfactantes a capacidade de se adsorverem na interface entre fases imiscíveis, como água e óleo, reduzindo a energia de superfície e formando micelas em soluções aquosas (Kume et al., 2008). As estruturas dessas moléculas ajudam a reduzir as forças coesivas entre as moléculas de água, resultando na diminuição da tensão superficial (Ricardo et al., 2023).

Os surfactantes são comumente classificados em quatro categorias, de acordo com a carga formal presente em sua cabeça hidrofílica: aniônicos (carregados negativamente), catiônicos (carregados positivamente), não iônicos (sem carga) e anfotéricos (apresentando cargas positiva e negativa em pH intermediário) (Bhandari e Gogate, 2017). Segundo Nakama (2017), para a indústria doméstica, os surfactantes aniônicos mais comuns são aqueles com um grupo sulfato, sulfonato ou carboxilato (sabão) ligado a eles. Para os surfactantes catiônicos, os grupos de amônio quaternário são amplamente utilizados e são de longe os mais comuns. Os surfactantes não iônicos são derivados principalmente da reação de álcoois, alquilfenóis e aminas com óxido de etileno e/ou óxido de propileno. Por fim, os tensoativos anfotéricos, também conhecidos como tensoativos zwitteriônicos, estão representados principalmente por acil etilenodiaminas e alquil aminoácidos.

Embora haja essa variedade de surfactantes, os da classe dos aniônicos predominam (50%) como aditivos na fabricação mundial de agentes de limpeza (Nagtode et al. 2023).

1.1.1 Surfactantes aniônicos de Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS)

O alquilbenzeno sulfonato linear (LAS) é um surfactante aniônico que foi introduzido no mercado em 1964 como lauril sulfato de sódio (produto comercial). A molécula de LAS (Figura 1) é construída por uma porção hidrofóbica, representada por uma cadeia alquílica; e uma hidrofílica, constituída por um anel aromático sulfonado (Penteado et al., 2006). A cadeia alquílica pode variar de tamanho (10 a 14 átomos de carbono), o que caracteriza a existência de diferentes homólogos desse composto. O anel aromático pode ligar-se à cadeia alquílica em qualquer posição (exceto nos carbonos terminais), o que caracteriza a existência de diferentes isômeros de LAS. Assim, o termo LAS abrange todo o conjunto de isômeros e homólogos do alquilbenzeno linear sulfonado. O LAS comercial consiste numa mistura desses isômeros e homólogos em diferentes concentrações (Franco-Belussi et al., 2021).

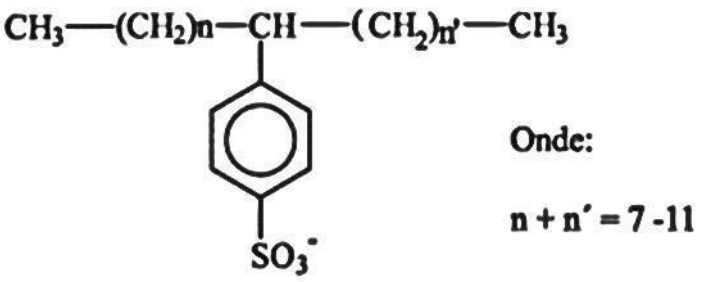

Figura 1. Estrutura molecular do Alquilbenzeno sulfonato linear (LAS). Adaptado de Taghavi et al. (2017).

A matéria prima básica para produção do LAS é o alquilbenzeno linear (LAB). O LAB sofre um processo químico denominado sulfonação, pelo qual o grupo ácido sulfúrico é introduzido no composto orgânico, dando origem ao ácido linear alquilbenzeno sulfônico, que neutralizado por uma base dá origem ao alquilbenzeno sulfonado linear (LAS) (Menezes, 2017). O LAS se tornou um dos componentes majoritários nas formulações de detergentes de uso doméstico e industrial, impulsionando anualmente no mundo todo, um consumo aproximado de 4×10^6 toneladas (Chowdhury et al., 2021).

1.1.2 Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS)

O Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS) é o tipo de LAS que contém 12 carbonos, por isso muitas das vezes é designado como LAS-C12 (Figura 2). Dentre os surfactantes pertencentes a família LAS, o DSS é o mais comumente utilizado como aditivo em agentes de limpeza por suas propriedades tensoativas e de fácil síntese (Yi et al., 2022). A síntese do DSS

envolve a reação entre o ácido dodecilbenzeno sulfônico e hidróxido de sódio (NaOH) para formar o sal de sódio do ácido dodecilbenzeno sulfônico e água (Meng et al., 2020).

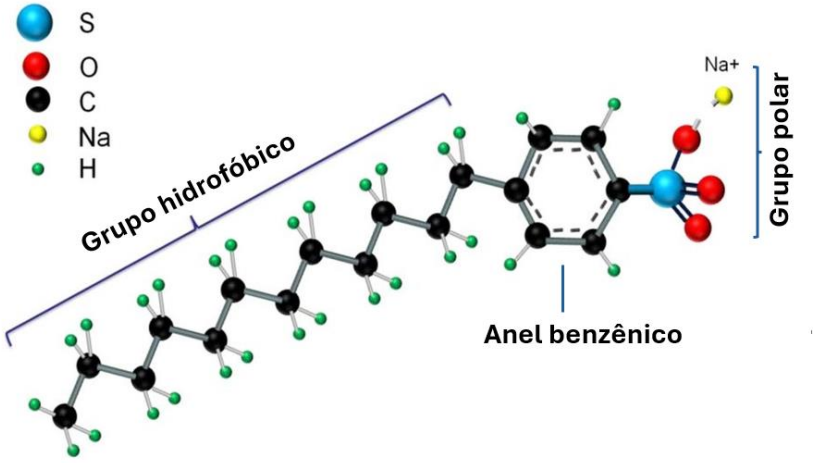

Figura 2. Estruma molecular do Dodecilbenzeno Sulfonato de Sódio (DSS). As letras indicam átomos de S: enxofre, O: oxigênio, C: carbono, Na: sódio, H: hidrogênio. Adaptado de Li et al., (2018).

A estrutura anfifílica do DSS, composta por uma parte hidrofílica e uma hidrofóbica, concede-lhe a habilidade de reduzir a tensão superficial da água e de facilitar a dispersão de substâncias insolúveis, além de promover a formação de espuma (Chen et al. 2022). Por isso, ele é habitualmente encontrado em lava-louças, lava-roupas e em produtos de higiene pessoal, como shampoos, sabonetes líquidos e cremes dentais (Li et al., 2020).

Ressalte-se que essas substâncias trazem grande comodidade à vida das pessoas e à produção industrial, mas também poluem o meio ambiente do qual os seres humanos dependem, principalmente quando se enfoca na descarga contínua de águas residuais (Wu et al., 2019). Uma das estratégias para se proteger o meio ambiente do impacto negativo dos produtos químicos (surfactantes) é o tratamento biológico da estação de tratamento de águas residuais.

No entanto, muitas vezes esses procedimentos são realizados de forma equivocada (Mungray e Kumar, 2009). A maior parte dos surfactantes que é lançada no ambiente acabaria por ser degradada por microrganismos, mas devido as emissões contínuas e em grandes volumes, esse processo torna-se impotente, pois a taxa de entrada dessas substâncias geralmente excede a taxa de sua eliminação, levando consequentemente a ocorrência de riscos à vida aquática (Bhandari e Gogate, 2017; Sakai et al., 2017; Franco-Belussi et al., 2021).

Nesse contexto, o monitoramento ambiental do DSS é imprescindível. Estudos vêm apontando que as concentrações nos corpos d'água variam, atingindo faixas na ordem de mg/L (Mungray e Kumar, 2009). Como exemplo, a Agência Ambiental do Estado de São Paulo, mostrou que as concentrações resultantes da emissão de esgoto variaram de 3 a 6 mg/L, enquanto os descartes da indústria de detergentes poderão chegar a 2.000 mg/L em efluentes líquidos (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, 2017). O fato é que esta substância tende a se acumular no ambiente aquático e resulta em concentrações muito elevadas, superando valores de 10 mg/L (Junior et al., 2023). Isto é extremamente preocupante, pois essas estatísticas excedem os limites tolerados por órgãos reguladores, como pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 357 de 2005, que permite até 0,5 mg/L (Trajano et al., 2022) e, sobretudo, pela possibilidade de trazerem problemas para esses ambientes.

Dentre as consequências decorrentes do acúmulo do DSS nos recursos hídricos destacam-se: a) diminuição da concentração de elementos necessários para a vida aquática, como o oxigênio dissolvido, devido à diminuição da tensão superficial água/ar; b) diminuição da permeabilidade da luz, por manter as partículas em suspensão (Zhou et al., 2018) e c) aumento da concentração de compostos xenobióticos, como bifenilos policlorados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes nos sedimentos por solubilização micelar (Singer e Tjerdema, 1993).

Nesse sentido, faz-se necessário analisar quais são os impactos causados diretamente aos organismos aquáticos expostos a esse tipo de surfactante, visto que o risco de redução da riqueza de espécies pode refletir na perda da biodiversidade, levando ao desequilíbrio de um ecossistema. Dados disponíveis na literatura, apontam para a sua ecotoxicidade, porém, grande parte dos estudos disponíveis restringe-se a obter resultados dos efeitos de toxicidade aguda sobre microalgas e invertebrados (Sibila et al., 2008; Baderna et al., 2015; Caracciolo et al., 2017). Além disso, a maioria dos estudos tem focado nos impactos gerados por detergentes e não pelo composto LAS e/ou pelos seus tipos de modo isolado (Sobrino-Figueroa, 2013; Mustapha e Bawa-Allah, 2020; Gouda et al., 2022), o que fomenta a necessidade de mais conhecimento sobre esses efeitos. Nos ecossistemas, os peixes têm importante papel, além de serem fonte de recursos proteicos para a alimentação humana (Ouriveis et al., 2020). Logo, suas características os tornam modelos experimentais valiosos para pesquisas ecotoxicológicas, principalmente quando direcionadas a contaminantes que oferecem riscos aos sistemas aquáticos (Yancheva et al., 2015; Santos et al., 2024).

1.2 O peixe-zebra (*Danio rerio*)

O peixe-zebra é um teleósteo da família Cyprinidae que habita água doce em regiões tropicais. Originário de Bangladesh, Nepal e Índia, é popularmente vendido como peixe ornamental (Wyl et al., 2023). Sua característica mais marcante é o padrão de listras pretas e brancas ao longo do corpo (Figura 2) (Kondo; Watanabe; Miyazawa, 2021). É uma espécie que possui nadadeiras anal e caudal e, em geral, os machos são mais delgados e escuros do que as fêmeas (Lawrence, 2007).

Segundo a classificação de Hamilton-Buchanan (1822), a espécie ocupa a seguinte classificação sistemática:

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Classe: Actinopterygii
Ordem: Cypriniformes
Família: Cyprinidae
Gênero: *Danio*
Espécie: *Danio rerio*

Figura 2. Peixes *Danio rerio*. (A) Fêmea e (B) Macho. Fonte: https://www.istockphoto.com/br.

Essa espécie vem sendo utilizada como organismo modelo em pesquisas científicas, sendo pela primeira vez estudado por George Streisinger na década de 1970, visto ser um organismo mais simples que um rato e de fácil manipulação genética. A justificativa por trás de seu uso é o fato de o peixe-zebra ter uma semelhança fisiológica e genética com os humanos (Irion e Nüssleinvolhard, 2019). Além disso: a) tem pequenos tamanhos, baixo peso corporal e

baixo custo, b) exige pouco espaço para ser mantido, c) tem rápido desenvolvimento e ciclo biológico, d) é de fácil manipulação e observação comportamental em ambiente controlado (Wyl et al., 2023).

A partir dessas informações ficou estabelecido que o peixe-zebra é um importante sistema modelo utilizado em vários campos de pesquisa, como biologia do desenvolvimento (Roper e Tanguay, 2018; Grossi et al., 2023) farmacologia e toxicologia (Zanandrea et al., 2020; Zhou et al., 2023), ecotoxicologia (Canedo e Rocha, 2021), ciências veterinárias (Fukushima et al., 2020), biologia da evolução (Parichy, 2015), nanotecnologia e nanomedicina (Cascallar et al., 2022), segurança alimentar (Bailone et al., 2019), entre outros. O peixe-zebra também é um modelo de triagem pré-clínica usado *in vivo* para medicina personalizada (Baxendale; Eeden; Wilkinson, 2017) e na resposta inflamatória (Johnston et al., 2023). Esse modelo biológico também vem sendo considerado ideal nas pesquisas conduzidas na área de toxicologia para identificar efeitos adversos em modelos animais expostos a produtos químicos (Wyl et al., 2023). Seu uso foi recomendado pela *Environmental Protection Agency* para testes de toxicidade aguda com embriões e peixes adultos (EPA, 1996).

O peixe-zebra vem ganhando atenção nos ensaios toxicológicos devido à sua resposta fisiológica e às características histológicas semelhantes àquelas dos mamíferos, reduzindo potencialmente o número de animais (roedores) utilizados na rotina laboratorial. A sensibilidade dos órgãos do peixe-zebra aos compostos tóxicos torna possível avaliar através da análise histopatológica a segurança de substâncias potencialmente bioativas (Porretti et al., 2022). Portanto, as alterações teciduais (histopatológicas) são uma ferramenta útil para se avaliar como um composto pode exercer seu potencial tóxico no animal (Santos et al., 2020), porém, ressalte-se a importância em se escolher os órgãos mais adequados para se obter as corretas respostas ecotoxicológicas.

1.3 Testes ecotoxicológicos e biomarcadores

Os testes ecotoxicológicos que fazem uso de peixes, e particularmente da espécie *D. rerio*, desempenham um papel crucial no contexto das regulamentações de substâncias químicas, pois fornecem “insights” valiosos para a formulação de políticas apropriadas, considerando as respostas ecológicas desencadeadas por essas substâncias (Padilla e Glaberman, 2020; Penha et al., 2021; Zulfahmi et al., 2023). Tais testes compreendem procedimentos de exposição padronizados que podem ser realizados em múltiplos níveis

tróficos para testar hipóteses sobre o impacto de contaminantes, obtendo dados que poderão ser aplicados também para outras espécies e para o ecossistema como um todo (Segner e Baumann, 2016).

Os procedimentos de exposição geralmente requerem testes de toxicidade aguda e testes crônicos ou subcrônicos. O primeiro permite identificar os danos morfofuncionais em um grupo de organismos expostos a condições controladas a agentes provavelmente tóxicos por um período relativamente curto, tipicamente avaliados em 96 horas. O teste de toxicidade crônica ou subcrônica, como o próprio nome indica possibilita avaliar os danos morfofuncionais a longo prazo, desde que sejam utilizadas concentrações subletais (Thoré et al., 2021). Esta exposição pode não resultar em mortalidade imediata, mas pode induzir distúrbios morfofisiológicos e/ou comportamentais (Toussaint et al., 1995).

Nesse cenário, os biomarcadores têm sido considerados ferramentas úteis na quantificação de reações causadas por poluentes, possibilitando após a exposição, a mensuração das respostas adaptativas dos variados parâmetros biológicos, enfatizando ainda que os principais órgãos relacionados com a absorção de contaminantes, transporte e metabolização nos peixes são as brânquias, o sangue, o fígado e o rim (Dey et al., 2016).

1.3.1 Brânquias como biomarcadores

As brânquias são consideradas biomarcadores chave, uma vez que devido ao alto teor de perfusão permitem, via epitélio, a absorção de poluentes, os quais chegam até a corrente sanguínea (Paulino et al., 2012). Esses órgãos estão compostos por quatro arcos branquiais bilaterais e podem ser vistos na orofaringe ventral (Figura 3). Os arcos branquiais são sustentados por tecido ósseo e cartilaginoso, além de músculo esquelético. Eles são ricamente inervados pelos nervos craniano facial, glossofaríngeo e vago; são cobertos por um epitélio mucinoso contínuo com o da orofaringe (Zawisza et al., 2024). Estendendo-se de cada arco branquial estão dois filamentos branquiais primários emparelhados denominados de lamelas primárias (Laurent e Dunel, 1980; Dalum et al., 2021). Os distúrbios morfológicos e funcionais no epitélio branquial, os quais são relativamente frequentes, devido seu contato direto com água poluída, o tornam um modelo apropriado para estudar o impacto de estressores ambientais (Dar et al., 2022).

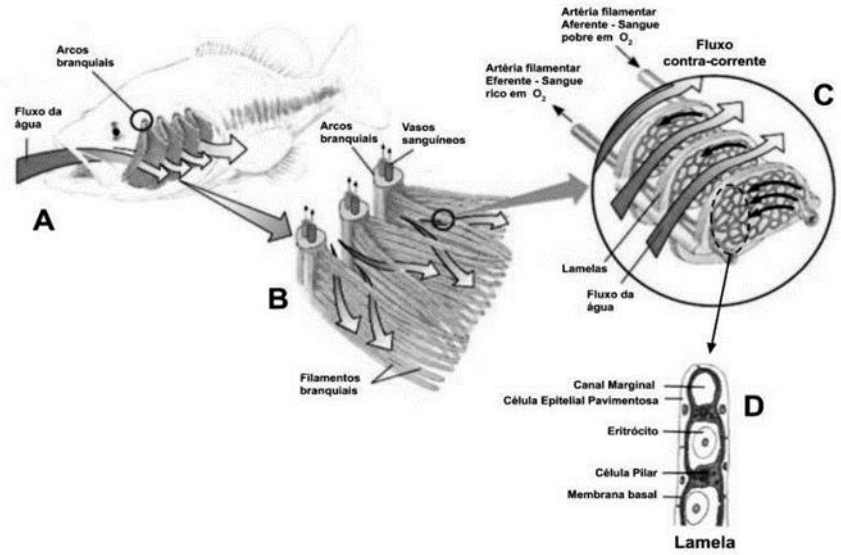

Figura 3. Desenho esquemático da estrutura das brânquias. (A) Presença de 4 pares de arcos faríngeos em cada lado da cavidade faríngea. (B) De cada arco branquial partem perpendicularmente duas fileiras de filamentos branquiais. (C) Setas representam o fluxo d'água em A e B; Em C as setas representam o fluxo sanguíneo contracorrente para trocas gasosas. Fonte: Machado (1999).

As lamelas primárias estão sustentadas por cartilagem, que muitas vezes é chamada de raio cartilaginoso, facilmente visualizados nas lamelas primárias, além dos grandes seios venosos centrais. Perpendicular a cada lamela primária estão as lamelas secundárias que aumentam a área de superfície e representam um local para a captação de oxigênio e para a liberação de dióxido de carbono e amônia. As lamelas secundárias estão revestidas por células escamosas/pavimentosas (Carmona et al., 2004; Dalum et al., 2021). Estas representam 90% do total celular do epitélio, enquanto as células pilares, células cloreto (ricas em mitocôndrias) e as células mucosas, juntas representam apenas 10% do total (Xiang et al., 2018). As células pavimentosas localizadas sob o rastro branquial têm microssulcos densos e arredondados e características semelhantes a hastes ásperas que aumentam a capacidade de bloquear a água (Chen et al., 2023). As células pilares geralmente desempenham sustentação e manutenção da circulação sanguínea nesta lamela secundária.

As células cloreto possuem muitas mitocôndrias, que são fundamentais para o fornecimento de energia utilizada no transporte ativo de íons, e um grande número de Na+/K+-ATPases localizados no sistema de microtúbulos da célula, conforme descrito por Chen et al. (2023). Essas células desempenham um papel crucial na regulação do equilíbrio ácido-base (Dahle et al., 2020).

Em relação as células mucosas, estas têm como função a produção de muco, mecanismo de defesa natural, tendo como produto de sua secreção a mucina, uma glicoproteína contendo um ou mais domínios proteicos com extensos sítios de ligação O-glicana. Além disso, as secreções mucosas contêm uma complexa mistura de proteínas, íons e lipídios que fornece proteção contra patógenos (Chen et al., 2023).

Vale enfatizar que a análise histopatológica se torna importante na avaliação de alterações morfológicas das brânquias (Tlenshieva et al., 2022). Dentre os principais tipos de alterações que ocorrem nesses órgãos podem ser destacados: a) descolamento do epitélio, b) necrose, c) fusão lamelar, d) hipertrofia das células epiteliais, e) hiperplasia ou fusão lamelar por crescimento celular, diminuindo a área de superfície respiratória, f) ruptura das células epiteliais, g) hipersecreção de muco, h) aneurisma lamelar, i) congestão vascular, j) proliferação de células secretoras de muco e de células de cloreto, conforme ilustrado na Figura 4.

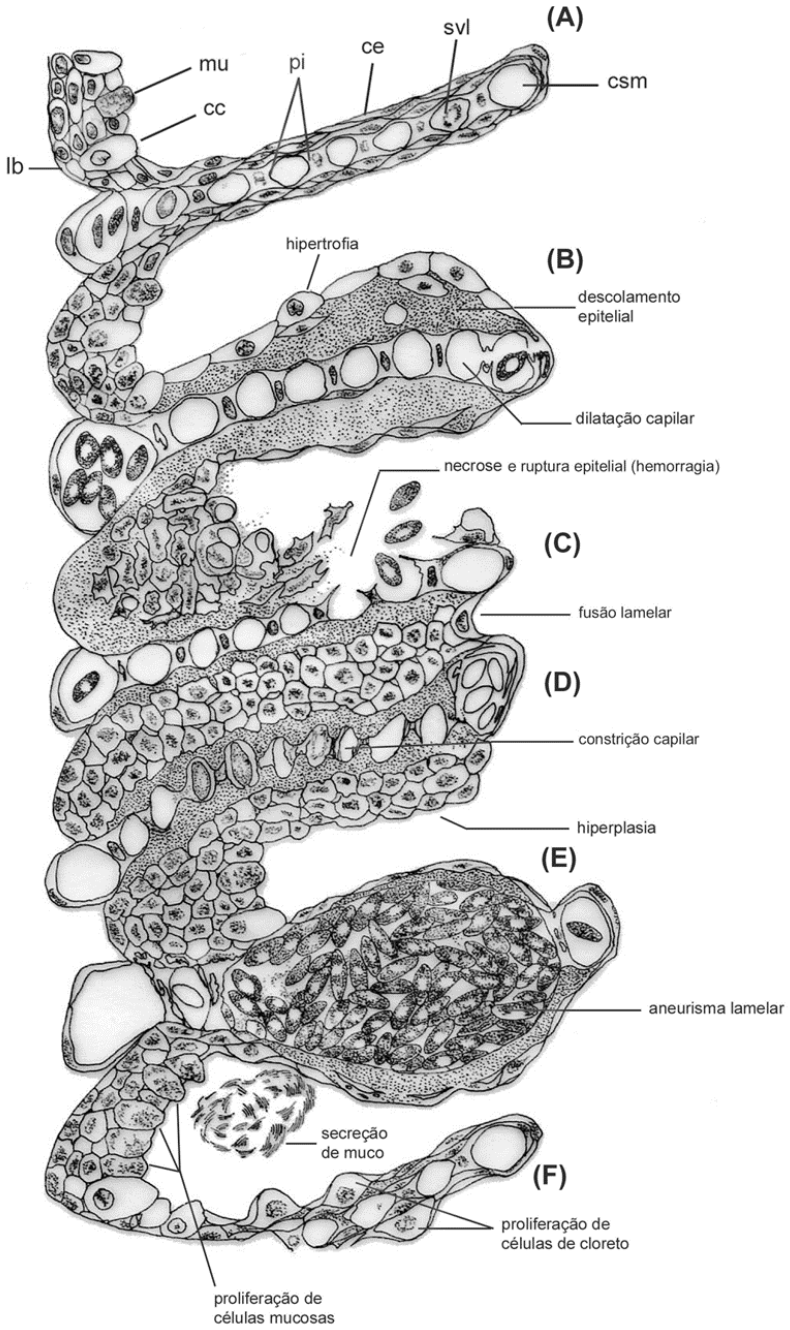

Figura 4. Esquema obtido a partir de imagens histológicas mostrando as principais patologias que podem ser observadas nas brânquias, segundo Machado (1999 com modificações). A: lamela normal apresentando, lâmina basal (lb), célula mucosa (mu), célula-cloreto (cc), célula pilar (pi), célula epitelial da lamela (ce), sistema de circulação na lamela (svl), canal sanguíneo marginal (csm). B-F: lamelas apresentando alterações (descritas na própria figura).

1.3.2 Sangue como biomarcador

O sangue também pode fornecer informações precisas sobre o efeito de contaminantes quando estes estão presentes no ambiente. Na maioria dos casos, os parâmetros hematológicos fornecem um sinal de alarme inicial que é indicativo de condição fisiológica alterada em peixes devido ao estresse e a exposição a agentes tóxicos (Sinha et al., 2022).

Ao contrário dos mamíferos, os ossos do peixe-zebra não possuem cavidade medular. O tecido hematopoiético está localizado no estroma do baço e no interstício do rim (Mahjoub et al., 2022). No peixe-zebra adulto, a hematopoiese ocorre principalmente nos interstícios das regiões anterior e posterior do rim. As células-tronco hematopoiéticas ficam situadas no interior de um estroma de tecido retículo endotelial, semelhante ao da medula óssea em mamíferos (Menke et al., 2011). As células endoteliais revestem numerosos seios, através dos quais o sangue da veia porta renal passa para filtração de células efêmeras e para a adição de novas células sanguíneas à circulação (Ellet e Lieschke, 2010).

As células sanguíneas no peixe-zebra classificam-se em: eritrócitos, leucócitos e trombócitos, e são vitais no desempenho das funções de transporte de gás, defesa imunológica e coagulação (Grzelak et al., 2017; Megarani et al., 2020). Especificamente os eritrócitos são o principal veículo de transporte de oxigênio e, em menor escala, de dióxido de carbono (Liang et al., 2023). Em contraste com o eritrócito de mamífero, o eritrócito do peixe-zebra é oval e nucleado e usa metabolismo aeróbico em vez de metabolismo anaeróbico para gerar trifosfato de adenosina (ATP) (Menke et al., 2011; Megarani et al., 2020).

Os trombócitos desempenham um papel importante na coagulação do sangue (Mohandass et al., 2022). Ao contrário do que ocorre nos mamíferos, os trombócitos do peixe-zebra são nucleados, mas compartilham características estruturais e funcionais com as plaquetas (Huarng e Shavit, 2015; Zhu e Su, 2022).

O peixe-zebra possui tipos de células imunes inatas, como macrófagos e granulócitos, que se assemelham funcionalmente às suas contrapartes de mamíferos (Stream e Madigan 2022). Como nos mamíferos, os leucócitos no peixe-zebra desempenham um papel importante na defesa contra doenças infecciosas e materiais estranhos. Dois tipos de granulócitos foram identificados, a saber, os neutrófilos e os eosinófilos (Lieschke et al. 2001), sendo o neutrófilo mais abundante e caracterizado por possuir citoplasma pálido e núcleo multilobado, além de segmentado. Esta célula tem morfologia semelhante à dos neutrófilos dos mamíferos (Menke et al., 2011).

O eosinófilo é caracterizado por possuir citoplasma eosinófilo e um núcleo pequeno, não segmentado e localizado perifericamente (Lieschke et al., 2001). Sua aparência difere consideravelmente da dos eosinófilos de mamíferos, e ainda precisa ser elucidado se o eosinófilo do peixe-zebra tem função semelhante à do eosinófilo de mamífero (Bennett et al., 2001), tendo inclusive sido sugerido que esta célula fosse análoga a uma combinação de eosinófilos/mastócitos.

Os monócitos formam cerca de 5-15% da população de leucócitos circulantes no peixe-zebra (Murtha et al., 2003). Morfologicamente, são muito semelhantes aos monócitos de mamíferos e sob circunstâncias apropriadas, se diferenciarão em macrófagos maduros. Os macrófagos são mais evidentes nas secções de rim e de baço do peixe-zebra adulto (Bennett et al., 2001; Lieschke et al., 2001). São células grandes com grandes fagossomos, alta relação citoplasma-núcleo, citoplasma agranular/vacuolizado e cromatina nuclear difusa (Menke et al., 2011).

Nos peixes são encontradas células fisiologicamente equivalentes aos linfócitos B e T, estando presentes no sangue circulante, sistema linfático, timo, rim e baço. No peixe zebra, os linfócitos representam cerca de 71-92% da população de leucócitos circulantes (Murtha et al., 2003).

Para detecção de alterações aplicam-se testes hematológicos que fornecem uma riqueza de informações sobre o estado de saúde do animal (Megarani et al., 2020). A contagem diferencial de leucócitos circulantes no sangue está entre os parâmetros hematológicos mais utilizados, pois desempenham funções imunológicas e auxiliam na descrição das exigências homeostáticas (Roriz et al., 2015). Dentre os principais leucócitos atuantes na defesa do indivíduo, os neutrófilos agem contra infecções, os monócitos são migratórios e vão até o foco inflamatório, enquanto os linfócitos desempenham resposta imune após o reconhecimento de antígenos (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Siwicki e Kubes, 2023).

Os trombócitos nos peixes são multifuncionais, uma vez que participam primariamente no processo de coagulação e, secundariamente, no mecanismo de defesa (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Nagasawa et al., 2015) de forma que estão em constante movimentação entre os órgãos hematopoiéticos e a circulação. Em peixes, está demonstrado que os trombócitos podem realizar fagocitose quando estimulados por fatores relacionados aos leucócitos (Nagasawa et al., 2015) e apresentam alterações quando expostos a contaminantes.

1.3.3 Fígado como biomarcador

O fígado é a maior glândula do corpo dos vertebrados, sendo basicamente formado por cordões de hepatócitos, células com alto potencial mitótico cujas funções são a de síntese, secreção, armazenamento, biotransformação e metabolismo (Costa et al., 2012).

No peixe-zebra o fígado localiza-se na região mediana da cavidade celomática com aspecto denso, homogêneo, levemente amarronzado e muito vascularizado. Está dividido em três lobos, sendo dois laterais e um ventral (Menke et al., 2011; Ota e Shiojiri, 2022). Na porção ventral se localiza a vesícula biliar, alongada, em forma de saco e de coloração esverdeada. As células epiteliais biliares transportam a bile produzida pelos hepatócitos para a vesícula biliar e para o intestino (Oderberg e Goessling, 2023).

O hepatócito é a unidade funcional do fígado e está organizado na forma de cordões celulares anastomosados entre si, e separados por capilares sanguíneos do tipo sinusóide. Os hepatócitos são células poliédricas com um ou dois núcleos esféricos. As funções dessas células incluem: hemostasia, ligação lipídica, redução da oxidação, metabolismo de aminoácidos, armazenamento de energia, síntese e transporte de ácidos biliares (Oderberg e Goessling, 2023). Presença de hepatócitos binucleados é comum no fígado do peixe-zebra (Menke et al., 2011) e relata-se também a presença de vacúolos no citoplasma.

O fígado é um dos órgãos que têm recebido atenção especial em estudos ecotoxicológicos relacionados à contaminação por agentes químicos orgânicos e inorgânicos em diferentes espécies de peixes devido a sua sensibilidade e a sua função no metabolismo de poluentes (Hinton et al., 1992; Tlenshieva et al., 2022). Para a identificação das alterações de caráter morfológico e estrutural no fígado, a histopatologia é amplamente utilizada, pois permite que os tecidos sejam analisados microscopicamente, obtendo respostas importantes sobre o nível de contaminação (Sharma; Chadha; Borah, et al., 2018).

Quando a concentração de substâncias tóxicas aumenta, a capacidade de desintoxicação do fígado fica comprometida e surgem alterações histopatológicas (Vali et al., 2022) como: perda da integridade citoplasmática, perda do limite celular, deformação nuclear, vacuolização citoplasmática, congestão, desorganização do tecido e degeneração hidrópica, necrose, presença de núcleos picnóticos, acúmulo lipídico no citoplasma, decréscimo de glicogênio e inflamação (Oliveira-Lima et al., 2021; Nataraj et al., 2023; Hamed et al., 2024).

1.3.4 Rim como biomarcador

Em peixes, o rim é considerado um órgão alvo dos poluentes em casos de exposição, pois recebe grande fluxo sanguíneo e compõem a principal rota de excreção dos metabólitos derivados dos xenobióticos (Chaudhary; Javaid; Bughio, 2023). Esse órgão em peixes de água doce, elimina produtos químicos durante o curso de formação da urina, por meio da filtração glomerular ou pela reabsorção ou pelos processos de secreção tubular (Martinez, 2017).

As características morfológicas do rim de teleósteos são marcadas pela posição dorsal e por suas divisões em porções anterior e posterior. A porção anterior está integrada ao tecido hematopoiético, tecido linfoide e ao sistema endócrino dirigente das respostas ao estresse. A porção posterior é constituída por néfrons, para a realização da excreção e a manutenção homeostática (Martinez, 2017).

As substâncias tóxicas presentes no sangue devem ser removidas pela filtração glomerular, entretanto, esses compostos podem se ligar a proteínas plasmáticas e ficarem retidas no glomérulo durante o processo de eliminação (Pritchard e Bend, 1984). As lesões renais podem seguir diversos padrões dependendo do agente químico envolvido no processo, por isso, esse órgão tem se tornado importante nos estudos histopatológicos em peixes, mesmo que em menor frequência (Faheem; Jahan; Lone, 2016).

Vários estudos relataram que a exposição a poluentes causa uma série de deformidades em várias partes do rim (Zaman et al., 2023; Chaudhary; Javaid; Bughio, 2023; Hamed et al., 2024). Portanto, qualquer anormalidade no tecido renal dos peixes pode ser usada para indicar contaminação ambiental.

Dentre as alterações histopatológicas descritas no rim de peixes, causadas pelos efeitos de contaminantes, estão incluídas: dilatação dos capilares dos glomérulos, redução do espaço de Bowman, vacuolização das células tubulares, degeneração granular, hipertrofia das células tubulares, aumento do lúmen dos túbulos, túbulos neonefrogênicos, infiltração de células sanguíneas no espaço de Bowman, presença de melanomacrofágos, agregados de melanomacrofágos, tecido fibroso, necrose (Chaudhary et al., 2023; Hamed et al., 2024).

1.3.5 Biomarcadores de estresse oxidativo

Os biomarcadores de estresse oxidativo são usados para se avaliar os efeitos causados por diversos tipos de contaminantes (Porretti et al., 2022). Estímulos externos levam ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), que perturbam o equilíbrio dos sistemas

oxidativo e antioxidante, causando estresse oxidativo e dano celular (Song et al., 2023; Liu et al., 2022).

O nível de estresse oxidativo pode ser medido pelo nível de ERO ou de enzimas antioxidantes, representados pela diminuição na capacidade antioxidante total (T-AOC), nível de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), indicando um nível elevado de oxidação no organismo, e o aumento do teor de malonaldeído (MDA) (Wang et al., 2022).

Dentre as enzimas antioxidantes, tem destaque a SOD, que catalisa a quebra dos radicais superóxido (O^{2-}) e fornece a primeira linha de defesa contra a toxicidade do oxigênio (Rosa et al., 2021; Li et al., 2024). A SOD catalisa a conversão do radical livre do ânion superóxido (O^{2-}) em peróxido de hidrogênio (H_2O) e oxigênio molecular O_2. Subsequentemente, H_2O_2 é reduzido a água pela enzima catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx) e/ou enzimas peroxiredoxina (Prx) dependentes de tiorredoxina (Trx). O H_2O_2 também pode gerar ERO, o íon hidróxido (HO) via reação de Fenton na presença de Fe^{2+} (Rosa et al., 2021).

Embora os dados sobre os efeitos na defesa antioxidante de peixes expostos ao DSS ainda sejam incipientes na literatura, alguns estudos relatam fortes indícios de estresse oxidativo, evidenciado pela peroxidação lipídica observada em peixes expostos a detergentes comerciais à base de surfactantes LAS (Álvarez-Muñoz et al., 2009; Sobrino-Figueroa, 2013). Portanto, a avaliação da atividade dessas enzimas nas brânquias, fígado e rim brânquias emerge como um aspecto essencial em pesquisas que investigam os efeitos de substâncias com alto potencial toxicológico.

5 CONCLUSÃO

- O dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DSS) provoca alterações morfofisiológicas significativas, evidenciadas pelas respostas branquiais, sanguíneas, hepáticas e renais de *D. rerio* mesmo com exposições a curto prazo, realçando sua toxicidade aguda.
- A histopatologia revelou danos expressivos nesses órgãos, com potencial para comprometer funções vitais, sublinhando a gravidade dos impactos que essa substância pode causar, mesmo em concentrações consideradas seguras.
- As respostas das atividades de SOD e CAT demonstraram o potencial do DSS de afetar as defesas antioxidantes.
- Portanto, a exposição ao DSS coloca em risco a integridade dos ecossistemas aquáticos. Esses achados destacam a necessidade de regulamentação mais rigorosa e controle sobre o descarte dessa substância, a fim de salvaguardar a vida aquática, como também a humana.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. In: **Methods in Enzymology**. Academic press, p. 121-126, 1984.

ÁLVAREZ-MUÑOZ, D. et al. Oxidative stress and histopathology damage relatedto the metabolism of dodecylbenzene sulfonate in *Senegalesesole*. **Chemosphere**, v. 74, n. 9, p. 1216-1223, 2009.

ARORA, J. et al. Surfactant pollution, an emerging threat to ecosystem: Approaches for effective bacterial degradation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 3, p. 1229-1244, 2022.

BADERNA, D. et al. Chemical characterization and ecotoxicity of three soil foaming agents used in mechanized tunneling. **Journal of Hazardous Materials**, v. 296, p. 210-220, 2015.

BAILONE, R. L. et al. Zebrafish as an animal model for food safety research: trends in animal research. **Food Biotechnology**, v. 33, p. 283-302, 2019.

BAXENDALE, S.; VANEEDEN, F.; WILKINSON, R. The power of zebrafish in personalized medicine. **Personalized Medicine: Lessons from Neurodegeneration to Cancer**, p. 179-197, 2017.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. **Methods of Biochemical Analysis**, p. 279-312, 1987.

BENNETT, C. M. et al. Myelopoiesis in the zebrafish, *Danio rerio*. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 98, n. 3, p. 643-651, 2001.

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

BHANDARI, P. S., GOGATE, P. R. Kinetic and thermodynamic study of adsorptive removal of sodium dodecyl benzene sulfonate using adsorbent based on thermo-chemical activation of coconut shell. **Journal of Molecular Liquids**, v. 252, p. 495-505, 2018.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, 72:248–254, 1976.

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

CARACCIOLO, A. B. et al. Characteristics and environmental fate of the anionic surfactant sodium lauryl ether sulphate (SLES) used as the main component in foaming agents for mechanized tunnelling. **Environmental Pollution**, v. 226, p. 94-103, 2017.

CARMONA, R. et al. Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenser naccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. **Journal of Fish Biology**, v. 64, n. 2, p. 553-566, 2004.

CASCALLAR, M. et al. What zebrafish and nanotechnology can offer for cancer treatments in the age of personalized medicine. **Cancers**, v. 14, n. 9, p. 2238, 2022.

CETESB (2017). Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2016. Série Relatórios/ CETESB, São Paulo, Cetesb companhia ambiental do Estado de São Paulo, p. 287.

CHAUDHARY, A.; JAVAID, K. G.; BUGHIO, E. Toxic effects of chromium chloride on hematology and histopathology of major carp (*Labeo rohita*). **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 49, n. 3, p. 291-296, 2023.

CHEN, S. et al. Experimental evaluation of non-ionic mixed surfactant formulations at high-temperature and high-salinity conditions. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 219, p. 111084, 2022.

CHEN, X. et al. Research advances in the structure, function, and regulation of the gill barrier in teleost fish. **Water Biology and Security**, v. 2, n. 2, p. 100139, 2023.

CHOWDHURY, S. et al. Biodegradability and biocompatibility: Advancements in synthetic surfactants. **Journal of Molecular Liquids**, v. 324, p. 115105, 2021

COELHO, K. S., ROCHA, O. Assessment of the potential toxicity of a linear alkylbenzene sulfonate (LAS) to freshwater animal life by means of cladoceran bioassays. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 812-818, 2010.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 375, de 17 de março de 2005.– In: Resoluções, 2005.

COSTA, P. M. et al. Can the integration of multiple biomarkers and sediment geochemistry aid solving the complexity of sediment risk assessment? A case study with a benthic fish. **Environmental Pollution**, v. 161, p. 107-120, 2012.

DEY, S. et al. Integrative assessment of biomarker responses in teleostean fishes exposed to glyphosate-based herbicide. **Emerging contaminants**, v. 2, p. 191- 203, 2016.

DAR, O. I. et al. Biomolecular alterations in the early life stages of four food fish following acute exposure of Triclosan. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 91, p. 103820, 2022.

DALUM, A. S. et al. High-resolution, 3D imaging of the zebrafish gill-associated lymphoid tissue (GIALT) reveals a novel lymphoid structure, the amphibranchial lymphoid tissue. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 769901, 2021.

DAHLE, Stine Wiborg et al. Production of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) in RAS with distinct water treatments: Effects on fish survival, growth, gill health and microbial communities in rearing water and biofilm. **Aquaculture**, v. 522, p. 735097, 2020.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, U. S. Fish Acute Toxicity Test, Freshwater and Marine. Ecological effects Test Guidelines. EPA 712-C- 96-118, 1996.

ELLET, F.; LIESCHKE, G. J. Zebrafish as a model for vertebrate hematopoiesis. **Current opinion in pharmacology**, v. 10, n. 5, p. 563-570, 2010.

FRANCO-BELUSSI, L. et al. Hepatotoxicity of the anionic surfactant linear alkylbenzene sulphonate (LAS) in bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v. 266, p. 129014, 2021.

FUKUSHIMA, H. et al. Potential uses of the animal model Zebrafish *Danio rerio* in veterinary medicine researches. **Revista MV&Z**, v.18, n.1, 2020.

GOUDA, A. M. et al. Influence of the Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) on hematological and biochemical parameters of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, p. 1006-1013, 2022.

GROSSI, Ilaria et al. The Biological Role and Translational Implications of the Long Non-Coding RNA GAS5 in Breast Cancer. **Cancers**, v. 15, n. 13, p. 3318, 2023.

GRZELAK, A. K. et al. Stress leukogram induced by acute and chronic stress in zebrafish (*Danio rerio*). **Comparative Medicine**, v. 67, n. 3, p. 263-269, 2017.

HAMED, M. et al. Oxidative stress, antioxidant defense responses, and histopathology: Biomarkers for monitoring exposure to pyrogallol in *Clarias gariepinus*. **Journal of Environmental Management**, v. 351, p. 119845, 2024.

HEMA, T. et al. Developmental toxicity of the emerging contaminant cyclophosphamide and the integrated biomarker response (IBRv2) in zebrafish. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 25, n. 8, p. 1391- 1406, 2023.

HINTON, D.E. et al. Histopathologic biomarkers. In: Hugget, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman, H.L. (Eds.), **Biomarkers. Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress**. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 155–209, 1992.

HUARNG, M. C., SHAVIT, J. A. Simple and rapid quantification of thrombocytes in zebrafish larvae. **Zebrafish**, v. 12, n. 3, p. 238-242, 2015.

HUANG, M. et al. Tissue-specific accumulation, depuration and histopathological effects of 3, 6-dichlorocarbazole and 2, 7-dibromocarbazole in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 266, p. 106803, 2024.

IRION, U., NÜSSLEIN-VOLHARD, C. The identification of genes involved in the evolution of color patterns in fish. **Current Opinion in Genetics and Development**, v.57, 31-38. 2019.

JOHNSTON, H. J. et al. Application of transgenic zebrafish for investigating inflammatory responses to nanomaterials: Recommendations for new users. **F1000Research**, v.12, 2023.

JONES-COSTA, M. et al. Cardiac biomarkers as sensitive tools to evaluate the impact of xenobiotics on amphibians: the effects of anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonate (LAS). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 151, p. 184-190, 2016.

JUNIOR, R. M. et al. Assessment of Surfactant Removal Capacity and Microbial Community Diversity in a Greywater-Treating Constructed Wetland. **Resources**, v. 12, n. 3, p. 38, 2023.

KONDO, S.; WATANABE, M.; MIYAZAWA, S. **Studies of Turing pattern formation in zebrafish skin**. Philosophical Transactions of the Royal Society A, v. 379, n. 2213, p. 20200274, 2021.

KUME et al. Review on anionic/cationic surfactant mixtures. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 11, p.1-11, 2008.

LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 1-20, 2007.

LAURENT, P., DUNEL, S. Morphology of gill epithelia in fish. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 238, n. 3, p. R147-R159, 1980.

LI, Y. et al. Investigation of sodium phosphate and sodium dodecylbenzenesulfonate as electrolyte additives for AZ91 magnesium-air battery. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 165, n. 9, p. A1713, 2018.

LI, S. G. et al. Molecular simulation of the effect of SDBS on coal wettability. **China Safety Science Journal**, v. 30, n. 03, p. 21-27, 2020.

LI, J. et al. Effects of combined extreme cold and drought stress on growth, photosynthesis, and physiological characteristics of cool-season grasses. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 116, 2024.

LIANG, N. et al. Mature Red Blood Cells Contain Long DNA Fragments and Could Acquire DNA from Lung Cancer Tissue. **Advanced Science**, v. 10, n. 7, p. 2206361, 2023.

LIESCHKE, G. J. et al. Morphologic and functional characterization of granulocytes and macrophages in embryonic and adult zebrafish. Blood, The **Journal of the American Society of Hematology**, v. 98, n. 10, p. 3087-3096, 2001.

LIU, J. B. et al. Glyphosate damages blood-testis barrier via NOX1-triggered oxidative stress in rats: Long-term exposure as a potential risk for male reproductive health. **Environment International**, v. 159, p. 107038, 2022.

MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **UNOPAR Científica, Ciência. Biológica. Saúde**, v. 1, n. 1, p. 63-76, out. 1999.

MAHJOUB, T. et al. Silver nanoparticle-induced lymphocyte activation in zebrafish. **Nanomedicine Research Journal**, v. 7, n. 2, p. 195-204, 2022.

MCLACHLAN, M. S. et al. A framework for understanding the bioconcentration of surfactants in fish. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 25, n. 7, p. 1238-1251, 2023.

MENKE, A. L. et al**.** Normal anatomy and histology of the adult zebrafish.

Toxicologic pathology, v. 39, n. 5, p. 759-775, 2011.

MEGARANI, D. V. et al. Comparative morphology and morphometry of blood cells in zebrafish (*Danio rerio*), common carp (*Cyprinus carpio carpio*), and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 59, n. 6, p. 673-680, 2020.

MENEZES, S. P. Degradação do linear alquilbenzeno sulfonado (LAS) em reator batelada sulfetogênico e metanogênico. Dissertação de mestrado. Uberlândia, 2017.

MENG, Junqing et al. Effect of SDBS solution on the surface potential properties of the Zhaozhuang coal. **Surface and Interface Analysis**, v. 52, n. 7, p. 442-453, 2020.

MOHANDASS, K. et al. Molecular closeness of zebrafish and human platelets. In: **Aquaculture Science and Engineering. Singapore: Springer Nature Singapore**, 2022.

MUNGRAY, A., KUMAR, P. Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: a review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 8, p. 981-987, 2009.

MURTHA, J. M. et al. Hematologic and serum biochemical values for zebrafish (*Danio rerio*). **Comparative medicine**, v. 53, n. 1, p. 37-41, 2003.

MUSTAPHA, D. S., BAWA-ALLAH, K. A. Differential toxicities of anionic and nonionic surfactants in fish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 14, p. 16754-16762, 2020.

NAGASAWA, T. et al. Carp thrombocyte phagocytosis requires activation factors secreted from other leukocytes. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 52, n. 2, p. 107-111, 2015.

NAGTODE, V. S. et al. Green Surfactants (Biosurfactants): A petroleum-free substitute for sustainability comparison, applications, market, and future prospects. **ACS omega**, v. 8, n. 13, p. 11674-11699, 2023.

NAKAMA, Y., 2017. Surfactants. In: **Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications**. Elsevier Inc, pp. 231–244.

NATARAJ, B. et al. “Fishcide” effect of the fungicide difenoconazole in freshwater fish (*Labeo rohita*): A multi-endpoint approach. **Science of The Total Environment**, v. 857, p. 159425, 2023.

OECD, 2019. Organization for Economic Cooperation and Development. Test No. 203: Fish Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems. OECD Publishing, Paris.

ODERBERG, I. M.; GOESSLING, W. Biliary epithelial cells are facultative liver stem cells during liver regeneration in adult zebrafish. **JCI insight**, v. 8, n. 1, 2023.

OLIVEIRA-LIMA, J. et al. Effects of trichlorfon organophosphate on the morphology of the gills and liver of *Pseudoplatystoma corruscans*. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 56, n. 12, p. 1057-1065, 2021.

OURIVEIS, N. F. et al. Fatores relacionados ao consumo da carne de peixe pela população de Campo Grande, MS, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 1861-1872, 2020.

OTA, N.; SHIOJIRI, N. Comparative study on a novel lobule structure of the zebrafish liver and that of the mammalian liver. **Cell and Tissue Research**, v. 388, n. 2, p. 287-299, 2022.

PADILLA, S., GLABERMAN, S. The zebrafish (*Danio rerio*) model in toxicity testing. In **An introduction to interdisciplinary toxicology**. Academic Press. p. 525-532, 2020.

PAULINO, M. G. et al. Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 80, p. 6-13, 2012.

PAULETE, J.; BEÇAK, W. Técnicas de Citologia e Histologia. 2 Vols. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos, 1976.

PARICHY, David M. Advancing biology through a deeper understanding of zebrafish ecology and evolution. **Elife**, v. 4, p. e05635, 2015.

PENHA, L. C. et al. Toxicity and sublethal effects of methylparaben on zebrafish (*Danio rerio*) larvae and adults. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 45534-45544, 2021.

PENTEADO, J. C. P. et al. Alquilbenzeno sulfonato linear: uma abordagem ambiental e analítica. **Química nova**, v. 29, p. 1038-1046, 2006.

PORRETTI, M. et al. Impact of pharmaceutical products on zebrafish: An effective tool to assess aquatic pollution. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 261, p. 109439, 2022.

RICARDO, F. et al. Estimation and prediction of the air–water interfacial tension in conventional and peptide surface-active agents by random Forest regression. **Chemical Engineering Science**, v. 265, p. 118208, 2023.

ROPER, Courtney; TANGUAY, Robert L. Zebrafish as a model for developmental biology and toxicology. In: **Handbook of developmental neurotoxicology**. Academic press, 2018. p. 143-151.

RORIZ, B. et al. Efeitos do estresse de exposição ao ar sobre parâmetros sanguíneosuineos de juvenis de caranha, *Piaractus brachypomus*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, 2015.

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

SAKAI, N. et al. Occurrence, fate and environmental risk of linear alkylbenzene sulfonate in the Langat and Selangor River basins, Malaysia. **Chemosphere**, v. 172, p. 234-241, 2017.

SANTOS, E. L. R. et al. Sodium dodecylbenzene sulphonate (SDBS) present in detergents: action on the gills, skin, and blood of *D. rerio* fish. **Xenobiotica**, p. 1- 10, 2024.

SANTOS, E. L. R. et al. Stress-related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. **Aquaculture**, v. 523, p. 735164, 2020.

SHARMA, M.; CHADHA, P.; BORAH, M. K**.** Histological alterations induced by 4-Nonylphenol in different organs of fish, *Channa punctatus* after acute and sub chronic exposure. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 4, p. 492-499, 2018.

SEGNER, H.; BAUMANN, L. What constitutes a model organism in ecotoxicology?. **Integrated Environmental Assessment & Management**, v. 12, n. 1, p.199-200, 2016.

SIWICKI, M.; KUBES, P. Neutrophils in host defense, healing, and hypersensitivity: Dynamic cells within a dynamic host. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 151, n. 3, p. 634-655, 2023.

SIBILA, M. A. et al. Ecotoxicity and biodegradability of an alkyl ethoxysulphate surfactant in coastal waters. **Science of the total environment**, v. 394, n. 2-3, p. 265-274, 2008.

SINHA, B. K. et al. Effects of pesticides on haematological parameters of fish: Recent updates. **Journal of Scientific Research**, v. 66, p. 269-283, 2022.

SINGER, M. M.; TJERDEMA, R. S. Fate and effects of the surfactante sodium dodecyl sulfate. **Reviews of Environmental Contamnations & Toxicology**, p.133, 185, 1993.

SOBRINO-FIGUEROA, A. S. Evaluation of oxidative stress and genetic damage caused by detergents in the zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 165, n. 4, p. 528-532, 2013.

SONG, C. et al. Oxidative Stress in Aquatic Organisms. **Antioxidants**, v. 12, n. 6, p. 1223, 2023.

SOUZA, A. C. et al. Advantages of biosurfactants over petroleum-based surfactants. In: **Industrial Applications of Biosurfactants and Microorganisms**. Academic Press, 2024. p. 371-393.

STREAM, A., MADIGAN, C. A. Zebrafish: an underutilized tool for discovery in host-microbe interactions. **Trends in Immunology**, 2022.

TAGHAVI, K. et al. Combined fenton-like oxidation and aerobic MBBR biological processes for treatment of the wastewater of detergent industries. **Desalin Water Treat**, v. 77, p. 206-214, 2017.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto - SP, 2004.

THORÉ, E. S. et al. Towards improved fish tests in ecotoxicology-efficient chronic and multi-generational testing with the killifish *Nothobranchius furzeri.* **Chemosphere**, v. 273, p. 129697, 2021.

TLENSHIEVA, A. M. et al. Genotoxic and histopathological effects of the Ili River (Kazakhstan) water pollution on the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Environmental Pollutants and Bioavailability**, v. 34, n. 1, p. 297-307, 2022.

TRAJANO, G. T. et al. Anionic Surfactants Monitoring In: Healthcare Facilities-A Case of Belo Horizonte City, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research.** 2022.

TOUSSAINT, M. W. et al. A comparison of standard acute toxicity tests with rapid-screening toxicity tests. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 1, n. 5, p. 907–915, 1995.

VALI, S. et al. Effects of Diazinon on the survival, blood parameters, gills, and liver of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844; Teleostei: Cyprinidae). **Water**, v. 14, n. 9, p. 1357, 2022.

XIANG, Q. Q. et al. Histology and ultrastructure of the gill in the teleost *Schizothorax nukiangensis*. **Journal of Fishery Sciences of China**, v. 25, n. 6, p. 1183-1193, 2018.

WANG, H. et al. Procyanidin B2 alleviates heat-induced oxidative stress through the Nrf2 pathway in bovine mammary epithelial cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 14, p. 7769, 2022.

WITESKA, M. et al. Hematological methods in fish–Not only for beginners. **Aquaculture**, v. 547, p. 737498, 2022.

WYL, M. V. V. et al. Different developmental insecticide exposure windows trigger distinct locomotor phenotypes in the early life stages of zebrafish. Chemosphere, v. 317, p. 137874, 2023.

WU, Q. et al. Research progress of surfactant biodegradation. In *IOP* **Conference Series***: Earth and Environmental Science*, v. 227, No. 5, p. 052023, 2019.

YAMAMOTO, F. Y. et al. Earlier biomarkers in fish evidencing stress responses to metal and organic pollution along the Doce River Basin. **Environmental Pollution**, v. 329, p. 121720, 2023.

YI, X. et al. Effects of three surfactants on the degradation and environmental risk of metolachlor in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 300, p. 134295, 2022.

YANCHEVA, V. et al. Fish in ecotoxicological studies. **Ecologia balkanica**., v. 7, p. 149-169, 2015.

ZANANDREA, R., BONAN, C. D., CAMPOS, M. M. Zebrafish as a model for inflammation and drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 12, 2201- 2211, 2020.

ZAWISZA, M. et al. Gill disorders in fish: Lessons from poxvirus infections. **Reviews in Aquaculture**, v. 16, n. 1, p. 234-253, 2024.

ZHAO, Y. et al. Combined toxic effects of polyethylene microplastics and lambda- cyhalothrin on gut of zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 276, p. 116296, 2024.

ZHOU, J. et al. Environmentally relevant concentrations of antidepressant mirtazapine impair the neurodevelopment of zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 262, p. 115335, 2023.

ZHU, W.; SU, J. Immune functions of phagocytic blood cells in teleost. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 630-646, 2022.

ZULFAHMI, I. et al. Acute toxicity of palm oil mill effluent on zebrafish (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822): Growth performance, behavioral responses and histopathological lesions. **Chemosphere**, v. 340, p. 139788, 2023.

ZHOU, J. et al. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate to aquatic plant *Potamogeton perfoliatus* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25 n. 32, p. 32303-32311, 2018.

ZHU, T. et al. Separation performance of ultrafiltration during the treatment of algae-laden water in the presence of an anionic surfactant. **Separation and Purification Technology**, v. 281, p. 119894, 2022.