

Metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo em répteis

Heavy metals and their relation with oxidative stress in reptiles

Metales pesados y su relación com el estrés oxidativo em reptiles

Recebido: 04/02/2022 | Revisado: 10/02/2022 | Aceito: 14/02/2022 | Publicado: 21/02/2022

Amanda Andersson Pereira Stark

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6926-2493>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: a.apstark@hotmail.com

Carolina Oliveira Bonfada

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5191-3115>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: carolinabonfada5@gmail.com

Gabriel da Silva Zani

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9707-8183>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: gzani27@gmail.com

Lara Silva de Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6529-8739>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: lsplara@yahoo.com

Mariana Accorsi Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8721-0312>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: mariaccteles@gmail.com

Antonio Sergio Varela Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4901-5118>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: varelajras@gmail.com

Carine Dahl Corcini

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5683-7801>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: corcinicd@gmail.com

Raquel Teresinha França

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8452-5490>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: raquelifranca@gmail.com

Resumo

Diversos metais pesados e metalóides desempenham funções vitais nos organismos vivos. Por outro lado, a exposição excessiva pode provocar possíveis efeitos morfológicos e fisiológicos negativos em répteis. A ação antrópica pode interferir diretamente no desequilíbrio fisiológico desses animais, dado que os xenobióticos presentes em resíduos de atividades humanas acabam por gerar espécies reativas de oxigênio nos organismos, essa condição é estabelecida quando a produção de radicais livres supera as barreiras antioxidantes. É possível realizar monitoramento ambiental para estudos ecotoxicológicos por meio de bioindicadores e biomarcadores moleculares, utilizando técnicas não invasivas para a amostragem, sem prejudicar a vida selvagem. O objetivo desta revisão literária foi averiguar informações sobre a influência de metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo, ações antrópicas, bioindicadores ambientais e suas relações com danos metabólicos em répteis. Para realizar essa revisão, foram utilizados artigos em bases científicas PubMed, portal de periódicos CAPES, Google acadêmico e SciELO. A partir desta pesquisa, notou-se que a ação antrópica tem impacto prejudicial tanto para os animais quanto para o homem, visto que diversos metais e metalóides são disseminados através de resíduos de atividades industriais e doméstica, e quando dispostos de forma irresponsável em biota marinha ou terrestre podem ocasionar fenômenos de bioacumulação e biomagnificação. Isto exposto, esse cenário leva a diversos danos metabólicos, resultando em lesões celulares e disfunção orgânica. O impacto que o uso abusivo de metais pesados e contaminantes no geral pode resultar em remodelagem dos ecossistemas, com efeitos diretos na conservação de répteis.

Palavras-chave: Ação antrópica; Antioxidante; Contaminantes; Danos metabólicos; Reptilia.

Abstract

Several heavy metals and metalloids perform vital functions in living organisms. On the other hand, excessive exposure can cause possible negative morphological and physiological effects in reptiles. Anthropogenic action can

directly interfere with the physiological imbalance of these animals, given that xenobiotics present in residues of human activities end up generating reactive oxygen species in the animal's organisms, this condition is established when the production of free radicals overcomes antioxidant barriers. It is possible to carry out environmental monitoring for ecotoxicological studies using bioindicators and molecular biomarkers, using non-invasive sampling techniques, without harming the species. The objective of this literature review was to research information about the influence of heavy metals and their relationship with oxidative stress, anthropic actions, environmental bioindicators and their relationship with metabolic damage in reptiles. To carry out this review, articles in the scientific databases PubMed, CAPES journals portal, Google academic and SciELO were used. From this research, it was noted that human action has a harmful impact on both animals and man, since several metals and metalloids are disseminated through residues from industrial and domestic activities, and when discarded irresponsibly in marine or terrestrial biota can cause the bioaccumulation and the biomagnification phenomena. Thus exposed, this scenario leads to several metabolic damages, resulting in cell injury and organ dysfunction. The impact of the abusive use of heavy metals and contaminants in general can result in remodeling ecosystems, with direct effects on the conservation of reptiles.

Keywords: Anthropogenic action; Antioxidant; Contaminants; Metabolic damages; Reptilia.

Resumen

Varios metales pesados y metaloides realizan funciones vitales en los organismos vivos. Por otra parte, una exposición excesiva puede provocar posibles efectos morfológicos y fisiológicos negativos en los reptiles. La acción antrópica puede interferir directamente en el desequilibrio fisiológico de estos animales, dado que los xenobióticos presentes en los residuos de las actividades humanas terminan generando especies reactivas de oxígeno en los organismos, esta condición se establece cuando la producción de radicales libres supera las barreras antioxidantes. Es posible realizar monitoreo ambiental para estudios ecotoxicológicos utilizando bioindicadores y biomarcadores moleculares, utilizando técnicas de muestreo no invasivas, sin dañar la vida silvestre. El objetivo de esta revisión bibliográfica fue investigar información sobre la influencia de los metales pesados y su relación con el estrés oxidativo, acciones antrópicas, bioindicadores ambientales y su relación con el daño metabólico en reptiles. Para realizar esta revisión se utilizaron artículos en bases de datos científicas PubMed, portal de revistas CAPES, Google académico y SciELO. De esta investigación se anotó que el acción humana tiene un impacto nocivo tanto en los animales como el hombre, ya que varios metales y metaloides se diseminan a través de los residuos de las actividades industriales y domésticas, y cuando se desechan irresponsablemente en la biota marina o terrestre pueden causar bioacumulación y fenómenos de biomagnificación. Dicho esto, este escenario conduce a varios daños metabólicos, lo que resulta en daño celular y disfunción orgánica. El impacto que el uso abusivo de metales pesados y contaminantes en general puede ocasionar en la remodelación de los ecosistemas, con efectos directos en la conservación de los reptiles.

Palabras clave: Acción antropogénica; Antioxidante; Contaminantes; Daños metabólicos; Reptilia.

1. Introdução

A Classe Reptilia possui quatro Ordens: Chelonia, Crocodylia, Squamata e Rhynchocephalia. Engloba um grande grupo de animais que possuem características ectotérmicas, ou seja, utilizam de fontes externas de calor para manter sua temperatura, bem como a presença de pele seca queratinizada com escamas ou escudos. Esses animais habitam diferentes ambientes e podem possuir hábitos aquáticos, terrestres, arborícolas ou semifossoriais, dessa forma são constantemente expostos a poluição ambiental através da água, solo e alimentos contaminados (Márquez-Ferrando et al., 2009; ICMBio, 2018; Simonyan et al., 2018).

Os répteis são animais ectotérmicos sensíveis a mudanças de temperatura, possuem metabolismo lento e prolongada recuperação quando expostos a agentes tóxicos e xenobióticos (Schaumburg et al., 2012). Devido sua vulnerabilidade a uma ampla gama de estressores ambientais, é importante ressaltar que as altas temperaturas induzem o desequilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e defesas antioxidantes, resultando em estresse oxidativo (Han et al., 2020).

A degradação ambiental tem impacto significativo no habitat de répteis terrestres. O avanço da fronteira agropecuária, urbanização e extrativismo afeta intrinsecamente os nichos ecológicos a eles associados e, devido a essas atividades, podem acumular diversos microelementos em seus tecidos orgânicos (Frossard et al., 2017). Os répteis presentes em ambientes aquáticos estão submetidos a condições ambientais distintas às enfrentadas pelos animais terrestres. As problemáticas mais comumente encontradas incluem: alterações climáticas, altas concentrações de compostos orgânicos degradados (como nitrato

e nitrito), variações de pH do meio e baixas concentrações de oxigênio, esses fatores são classificados como estressores ambientais, os quais refletem diretamente na saúde destes animais (Trasviña-Arenas et al., 2013).

A perda e fragmentação de habitats naturais pode ter sua origem através de exploração ou incorporação de contaminantes ambientais, tais como: arsênio (As), cádmio (Cd), cobalto (Co), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), mercúrio (Hg) e zinco (Zn), os quais estão presentes desde as atividades industriais, como o uso de fertilizantes, pesticidas e herbicidas por expansão agrícola, produção de plásticos e gás, mineração; até produções domésticas, como esgotos e resíduos, estes lançados de forma acidental em corpos d'água, favorecendo a contaminação do ambiente aquático. Por fim, devido à difusão de agentes tóxicos, em algum momento esses xenobióticos acabam entrando em contato com os animais (Rashed, 2001; Chandran et al., 2005; Arias et al., 2007; Varol, 2011; Ortiz-Santaliestra et al., 2019; Stark et al., 2021).

Os efeitos nocivos da exposição e bioacumulação de contaminantes ambientais podem induzir um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, e, por consequência, redução das defesas antioxidantes no organismo. Em virtude desse desequilíbrio, os animais podem apresentar danos morfológicos, alterações genéticas e celulares (Cortés-Gómez et al., 2018; Esposito et al., 2020; Odetti et al., 2020).

2. Metodologia

O estudo trata-se de uma revisão integrativa. Aplicou-se a metodologia de forma qualitativa (Pereira et al., 2018), disposta de maneira que buscou investigar através da literatura a etiologia do estresse oxidativo em répteis, a que versa sobre a interface da temática poluição antrópica, metais pesados e efeitos deletérios. A partir da seleção dos artigos, foram realizadas compilações, recortes, agregações e enumerações destes, permitindo a sintetização das informações, para apresentar resultados já reconhecidos como verdadeiros referentes à ação do homem, bem como buscar explicações para os diversos prejuízos nos animais, seguindo os critérios metodológicos de Cooper (1982).

Este manuscrito é respaldado por documentos científicos indexados nas bases de dados Pubmed, SciELO, portal de periódicos CAPES e Google Acadêmico, no recorte temporal de 2000 a 2022. Como critérios de inclusão, foram adotados artigos originais, completos e com acesso gratuito. Os períodos elencados contam com diversas nacionalidades, conferindo ampla divulgação internacional direcionadas às problemáticas expostas. Sendo assim, a pesquisa foi realizada utilizando termos em inglês e referências por algoritmo {"("Heavy Metal" OR "Environmental Contaminants" OR "Oxidative Stress" OR "Free radicals" OR "Wildlife" OR "Anthropic action") AND ("Reptile" OR "Marine Environment" OR "Reptile Habitat")}. Foram aplicados critérios de exclusão em resumos, monografias, dissertações e teses.

3. Resultados e Discussão

3.1 Ação antrópica e bioindicadores ambientais

Segundo o Art 1 da Resolução do CONAMA n.º 01 de 23/01/86,

Entende-se como impacto ambiental, qualquer alteração de propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a biota; as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais.

A revolução industrial de 1760 iniciada na Inglaterra foi um marco histórico para o desenvolvimento tecnológico, o qual pontuou a mudança nas atitudes humanas para com a natureza. Esse período fez com que a exploração de recursos ambientais se sobrepusesse em relação à saúde do meio ambiente, tornando-se predatória para a biodiversidade (Alcântara,

2012; Ganzala, 2018). As consequências dessas ações geram impactos significativos na vida dos animais, tais como anormalidades morfológicas (transmitidas pelos genes ou adquiridas por meio de contato com agentes nocivos - “Assimetria flutuante”) (Bagliano, 2012), o que pode afetar a reprodução da espécie, diminuir a oferta alimentar, gerar disputa por alimentos e território, extinguir espécies ou introduzir espécies invasoras, fragmentar e degradar habitats, devido principalmente a atividades agropastoris; mineradoras; poluição atmosférica, hídrica e dos solos; extrativismo; construção de barragens e represas; retificação e desvio do curso natural de rios; lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados; desmatamento e uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação e exploração de recursos (Goulart & Callisto, 2003).

Bioindicadores de qualidade ambiental são espécies, grupos de espécies ou biomas cuja presença, quantidade e distribuição indicam impactos ambientais nos ecossistemas. Seu uso permite uma avaliação abrangente dos impactos ecológicos de múltiplas fontes de poluição, principalmente antrópica (Prestes & Vincenci, 2019). Essas espécies respondem à contaminação com alterações na fisiologia ou na capacidade para acumular elementos e substâncias. A resposta de cada organismo é influenciada pelas condições fisiológicas, morfológicas, estruturais e nutricionais, assim como pelas condições físicas, químicas e biológicas do ambiente em que estão inseridos (Bagliano, 2012).

As evidências científicas encontradas sobre estresse oxidativo têm maior enfoque em mamíferos e aves, porém notório déficit em répteis, apesar de apresentarem relevância já comprovada como bioindicadores em monitoramento de degradação ambiental (Constantini et al., 2009). O uso de répteis como bioindicadores, além de contribuir para o avanço do conhecimento ecotoxicológico neste grupo pouco estudado, pode ser útil como indicador indireto de exposição de outros grupos faunísticos que habitam áreas de mineração. A implementação, quando possível, de amostragem não invasiva para monitorar a bioacumulação de poluentes, se mostra uma ferramenta útil para utilização posterior desses animais como sentinelas da poluição ambiental crônica (Ortiz-Santaliestra et al., 2019).

A análise de bioindicadores de poluição é prejudicada em animais que apresentam intenso comportamento migratório, visto que estes podem se contaminar longe do local onde foram originalmente amostrados (Slimani et al., 2017). É possível utilizar animais de áreas impactadas (*in situ*), como bioindicadores, bem como animais expostos a compostos químicos em diferentes concentrações em laboratório (Cogo et al., 2009).

Os quelônios são animais que fazem conexões com diferentes níveis tróficos em ecossistemas aquáticos e terrestres. Dessa forma, contribuem ativamente para o ciclo de nutrientes, vegetações, fluxo de energia e manutenção da qualidade de água (Moll & Moll, 2004). Não somente quelônios semi-aquáticos ou terrestres, mas também alguns animais da ordem Squamata, que são indivíduos encontrados em grande quantidade na natureza, possuem área de deslocamento reduzida e baixa capacidade para longas migrações quando comparado a outros animais usualmente selecionados para pesquisa (Zocche et al., 2013; Slimani et al., 2017).

Populações selvagens de serpentes, especialmente *Bothrops jararaca*, são igualmente interessantes para o acompanhamento da exposição de contaminantes metálicos, em virtude de seus hábitos alimentares, sua disposição em cadeia alimentar (predadores de nível médio a superior) e sua ampla distribuição (Frossard et al., 2019). No caso do *Alligator mississippiensis*, considerado um exímio predador, está localizado em ambientes próximos à costa, que podem estar expostos a contaminantes de variadas fontes. Devido à fragmentação do território e à exposição constante a pesticidas, seu desenvolvimento pode ser prejudicado em virtude da proximidade com seu habitat (Wise et al., 2016). Os lagartos são considerados modelos ideais para estudos ecotoxicológicos quando comparados com outros vertebrados, não apenas por restritiva migração, mas em virtude da adaptabilidade da espécie, mesmo em ambientes com características áridas e mudanças climáticas (Silva et al., 2020).

As características comportamentais dos répteis, articuladas à intensidade de ações antrópicas, causam alterações fisiológicas e morfológicas. O impacto destas perturbações resulta em danos metabólicos com alteração em respostas endócrinas e aumento da produção de radicais livres em animais expostos a esses ambientes, e, em seguimento, estresse oxidativo (French et al., 2017) resultado do desequilíbrio fisiológico entre espécies reativas de oxigênio e moléculas de antioxidantes presentes no organismo. A produção de radicais livres durante atividades metabólicas pelas células é considerada fisiológica, entretanto o aumento nos níveis desses radicais gera um acúmulo no sistema biológico, com efeitos nocivos em células estruturais (Machado et al., 2009). Existe relação entre indicadores moleculares de estresse oxidativo e xenobióticos ambientais, como os metais pesados (Cortes-Gomez et al., 2018).

3.2 Radicais livres, estresse oxidativo e antioxidantes

Os radicais livres são produzidos em processos metabólicos no organismo dos seres vivos. Quando estes são produzidos em excesso, acabam causando estresse oxidativo, que ocorre em consequência do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e defesas antioxidantes nos organismos. Foi demonstrado tanto *in vivo* quanto *in vitro* o potencial danoso de EROs em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, que como consequência resultam em disfunção metabólica e apoptose. É possível identificar diversos fatores que originam o acúmulo molecular de EROs, dentre eles, exposição a estressores ambientais, como poluentes, que intensificam a instabilidade de defesa antioxidante (Halliwell & Gutteridge, 2015).

A par de alterações fisiológicas por efeito da poluição ambiental, o organismo entra em estado de alerta, sendo assim, é possível amenizar efeitos nocivos através da ativação de enzimas antioxidantes. O organismo possui um sistema antioxidante endógeno capaz de combater radicais livres através da produção enzimática de: Glutationa peroxidase (GSH-Px), Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD); e não enzimática: proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido dihidrolipoico, ácido úrico, glutaciona e peptídeos de histidina. Além da síntese endógena, ainda há moléculas antioxidantes provenientes da dieta do animal, tais como β -caroteno (pró-vitamina-A), α -tocoferol (vitamina-E), ácido ascórbico (vitamina-C) e compostos fenólicos (Barreiros et al., 2006; Salvarani et al., 2018).

O processo de desintoxicação é composto principalmente por duas etapas, sendo a primeira através da enzima SOD, que realiza a conversão de ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e, logo após, através da enzima CAT, realiza a conversão de H_2O_2 para água (H_2O) + oxigênio (O_2). O peróxido de hidrogênio não expressa grande reatividade na ausência de metais de transição, entretanto, quando há presença destes (geralmente Cu e o Fe), apresenta uma expressiva reatividade com importante potencial danoso. Dessa forma, quando não convertido em água e oxigênio, é metabolizado através da reação de Fenton e Haber-Weiss na espécie mais nociva possível: radicais hidroxila ($OH\cdot$), as quais podem reagir com lipídeos nas membranas plasmáticas das células e causar severo dano orgânico. Ainda há o sistema composto pela glutaciona (GSH) que, opera em ciclos entre forma oxidativa e reduzida, com a presença do selênio, e catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Pastor et al., 2000; Barreiros et al., 2006; Héritier et al., 2017).

Portanto, as defesas antioxidantes enzimáticas desempenhadas pela SOD, CAT e Glutationa Redutase (GR), atuam como indicadores de defesa celular contra EROs e por isso são consideradas importantes biomarcadores de exposição (Cortes-Gomez et al., 2018).

3.3 Estresse oxidativo causado por metais pesados

A bioacumulação de metais pesados em répteis é afetada por diversos fatores, dentre eles destaca-se o hábito alimentar da espécie, como por exemplo, *Caretta caretta* tende a apresentar maiores concentrações de metais que *Chelonia mydas* tendo em vista que *C. caretta* é uma espécie carnívora de maior nível trófico, o que favorece a biomagnificação desses

elementos (Souza et al. 2018). Em contraponto, Quintela et al. (2019) demonstraram que em répteis da região do Taim (sul do Brasil), o acúmulo de arsênio (As) é maior em espécies de níveis tróficos menores. Referente aos níveis de chumbo (Pb), observaram uma correlação positiva com o tamanho corporal em algumas espécies (como por exemplo *Caiman latirostris*), o qual sugere que as concentrações de Pb e tamanho corporal estão relacionadas às exposições contínuas e de longo prazo, mesmo quando há baixas doses do metal.

Em um estudo realizado por Cortes-Gomez et al. (2018) que avaliaram tartarugas *Lepidochelys olivacea* por um período de dois anos, foi constatado que a presença de metais pesados (As, Cd, Cu, Ni, Pb, Se e Zn) reduziu a atividade da SOD nos rins. Tratando-se da exposição ao cádmio (Cd) em *Chinemys reevesii*, Huo et al. (2018) demonstraram que os animais expostos a esse elemento apresentaram atividade da SOD, CAT e de GSH-Px plasmáticas diminuídas, além de aumento de malondialdeído (MDA). Dessa forma, é possível concluir que o Cd tem capacidade de causar estresse oxidativo e diminuir a atividade antioxidante do organismo, visto que o Cd se liga nos grupamentos sulfidríla da SOD e nos sítios de ação da GSH-Px, inibindo ou diminuindo suas atividades. Como consequência, ocorre aumento das EROs, que podem bloquear as vias de síntese da CAT. Além disso, o aumento de H₂O₂ leva a produção de MDA. Segundo Ortiz-Santaliestra et al. (2019), altas concentrações de MDA em eritrócitos também podem ser decorrentes do acúmulo de Pb, levando ao estresse oxidativo.

3.4 Amostras biológicas

Usualmente estudos relacionados a pesquisa e quantificação de contaminantes podem levar à eutanásia dos indivíduos envolvidos. Contudo, é necessário prudência devido aos riscos de extinção de diversas espécies criticamente ameaçadas, bem como, utilização de espécies raras. Por esse motivo, tornam-se indispensáveis técnicas fiáveis e não letais. As análises menos invasivas, com a obtenção de tecidos queratinizados, como carapaça, escama e garras, pode ser uma das opções como bioindicador não letal devido a resultados favoráveis encontrados em espécies de répteis (Schneider et al., 2010; Rodriguez et al. 2019).

Em relação a espécies ameaçadas, como tartarugas marinhas, a eutanásia não pode ser feita para coleta de amostras. Os resultados de alterações enzimáticas antioxidantes podem ser encontrados no fígado, isso devido ao seu papel de metabolização. Em contraste, esses dados podem ser influenciados pelo momento da coleta e condição do animal (Cortes-Gomez et al., 2018). Entretanto, a técnica de eutanásia, geralmente por aprofundamento anestésico, é utilizada para mensurar estresse oxidativo devido exposição a xenobióticos. Em fragmento hepático é possível avaliar expressão gênica de CAT e SOD por ação de herbicidas em exemplares de *Trachemys scripta elegans* (Héritier et al., 2017); para avaliação de metais pesados, coleta através da extração de rim, fígado e carapaça de *Emys orbicularis persica* (Namroodil et al., 2017), todos da Ordem Chelonia. Entretanto, algumas espécies são facilmente encontradas encalhadas ou desfalecidas à beira mar, sendo viável coletar tecidos hepáticos, renais e musculares para fornecer informação biológica destes animais (Da Silva et al., 2014; Nisa et al., 2019).

Em relação aos animais da ordem Squamata, é possível estimar a presença de metais através da eutanásia. Em *Bothrops jararaca*, o fígado e rins são os órgãos de predileção quando comparado a coleta de coração, vesícula biliar, gordura, glândula de veneno e cauda (Frossard et al., 2019). Em adição, os dados correspondentes a estresse oxidativo em *Eremias multiocellata*, podem ser coletados por meio de fragmentos hepáticos. A confirmação do aumento de MDA é feita através do teste de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (Han et al., 2020).

Técnicas não invasivas para pesquisa de disfunções orgânicas ou acúmulo de xenobióticos podem ser utilizadas a fim de buscar minimizar o estresse, como também inferir o tempo de exposição. Destas, é possível citar coleta de pequena porção de escamas ou pele, carapaça, garras e sangue em animais das Ordens Chelonia, Crocodylia e Squamata (Reich et al., 2008; Márquez-Ferrando, 2009; Dzul-Caamal et al., 2016; Quintela et al., 2020). Garras em tartarugas aquáticas são indicativas de

exposição de médio a longo prazo, enquanto a mensuração de metais através de amostras de sangue e fezes, pode estimar uma exposição de curto prazo (Hopkins et al., 2013; Schneider et al., 2015; Slimani et al., 2017; Beau et al., 2019; Ortiz-Santaliestra et al., 2019).

Amostras biológicas podem ser coletadas de células sanguíneas periféricas com a finalidade de mensurar EROs, enzimas antioxidantes e biomarcadores de dano oxidativo, tais como Capacidade Antioxidante Total Contra Radicais Peroxil (ACAP), TBARS, Proteína Carbonilada (PC), Glutathione-s-transferase (GST) e GR, como também em esfregaço sanguíneo para contagem de micronúcleos (Dzul-Caamal et al., 2016; Da Silva et al., 2016; Héritier et al., 2017; Salvarani et al., 2018).

3.5 Biomarcadores de estresse oxidativo e sistema antioxidante

É possível mensurar biomarcadores de estresse oxidativo em répteis através de frações sanguíneas para quantificar EROs ($O_2\cdot^-$ e H_2O_2), avaliar a oxidação de proteínas e a atividade de enzimas antioxidantes envolvidas SOD, CAT e GSH-Px. Outra forma utilizada para mensurar o estresse oxidativo é em amostras de células sanguíneas, que possibilita a avaliação da biotransformação de Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (Dzul-Caamal et al., 2016).

Indivíduos habitantes de áreas de mineração com Pb apresentaram aumento nas concentrações de MDA e maior atividade de SOD, enquanto nas áreas com Hg, ocorreu aumento em atividade de GSH-Px e menores concentrações de GSH (Ortiz-Santaliestra et al., 2019). O acúmulo de Pb pode ser uma possível razão para a maior incidência de estresse oxidativo, devido às altas concentrações de MDA nos eritrócitos. A geração de EROs pode ser induzida pela exposição ao Pb, que por consequência afeta a função e integridade das membranas celulares (Ahamed & Siddiqui, 2007).

A avaliação de estresse oxidativo pode ser feita através da pesquisa de PC e o TBARS que tem potencial para marcadores indiretos de danos oxidativos a proteínas e lipídeos. As proteínas que sofrem oxidação por EROs formam derivados carbonílicos, a dosagem pode ser feita através da mensuração por métodos sensíveis de dosagem de proteína carbonilada, como aqueles que utilizam o 2,4- dinitrofenilhidrazina (DNPH) (Levine et al., 1994). A pesquisa em TBARS tem como base a capacidade do ácido tiobarbitúrico de ligação com lipídeos oxidados (Buege & Aust, 1978).

Há uma variedade de testes que podem ser utilizados para avaliar a eficácia do sistema antioxidante no sangue perante estresse oxidativo nos répteis. A capacidade antioxidante não enzimática é um exemplo, esta pode ser mensurada através do teste OXY-adsorbent French et al. (2017). Já a atividade de enzimas como GSH-Px, CAT e SOD pode ser avaliada, respectivamente, pelos métodos de Flohé e Gunzler (1984), Aebi (1984) e Misra & Fridovich (1971). Embora estes testes apresentam alta confiabilidade no que se referem a capacidade antioxidante, existem possíveis vieses à erro de leitura, tais como variações em atividades de enzimas antioxidantes devido a interrupção de alimentação, impossibilidade para nadar devido a baixos níveis de água, ausência de locais para se aquecer e manuseio em tartarugas de água doce *Trachemys scripta elegans* (Héritier et al., 2017).

3.6 Danos metabólicos

A poluição tem relação diretamente proporcional com danos em ar, água, solo, fauna, flora e em organismos, devido às contaminações. É possível qualificar os agravos em relação a estes danos na biosfera, tais como toxicidade de emissão, alteração da capacidade do uso da terra, destruição do monumento ambiental, transformação dos nichos ecológicos com danos individuais e impacto na dinâmica da comunidade de animais. Diversos desses ambientes têm características singulares que podem prejudicar diretamente o organismo dos animais que ali habitam (Mendonça & Ferreira, 2019).

Os contaminantes em ambientes marinhos são relacionados diretamente ao estresse oxidativo, causando efeitos biológicos nocivos, sendo estes, em sua maioria, morfológicos e bioquímicos (Da Silva et al., 2016). Alguns metais e

metalóides estão presentes na forma orgânica e inorgânica em oceanos e mares. O mercúrio, por exemplo, está presente em sua forma metilada, sendo esta a mais tóxica e predominante na cadeia alimentar (Hernández-Fernández et al., 2020).

Existe um vínculo entre a capacidade do sistema imunológico dos répteis e a atividade antrópica. Han et al. (2020) demonstraram a existência de uma correlação entre o aquecimento ambiental e o estresse oxidativo em espécies ectotérmicas, o que resulta em imunossupressão devido a redução na concentração total de leucócitos e expressão de imunoglobulina M (IgM). No que se refere a outros estressores ambientais, os metais Fe e Pb geram subprodutos tóxicos (peróxidos, álcoois, aldeídos, cetonas e óxido de colesterol) para as células sanguíneas (linfócitos e macrófagos). Assim, os animais imunodeprimidos podem ficar suscetíveis a adquirir infecções sistêmicas (Da Silva et al., 2016; French et al., 2017).

De acordo com Da Silva et al. (2016), o aumento de espécies reativas de oxigênio em bioma marinho está fortemente relacionado com fatores ambientais, radiação UV e metais pesados. Logo, uma das possíveis consequências é a proliferação celular com desenvolvimento de tumores. Este estudo demonstrou elevadas concentrações de Cu, Fe e Pb em *Chelonia mydas* com fibropapilomatose. Outro achado foi a diminuição da concentração de colesterol sérico nestes animais, menor atividade de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMGR) e elevados níveis de peroxidação lipídica, possivelmente relacionado com a enfermidade.

Além de alterações imunológicas, é possível observar expressivas alterações a nível reprodutivo. Em um estudo de quantificação de metais pesados em *Caretta caretta* e *Chelonia mydas*, Souza et al. (2018) correlacionaram os níveis de metais como Zn, Cu e Cd encontrados em filhotes com o sucesso de incubação e eclosão de ovo. Os autores apontam que o Cd, elemento não essencial, pode competir com Cu, elemento essencial que participa da formação de ovos, transporte de oxigênio, produção de energia e atividades enzimáticas, reduzindo as chances de nascimento. Além de alterações embrionárias, os metais ainda afetaram o desenvolvimento das tartarugas, concluindo que há uma correlação negativa entre o tamanho das tartarugas e os metais encontrados, principalmente Cu e Cd. Isto ocorre porque os juvenis se alimentam de zooplâncton (água-viva e pólipos de coral, por exemplo) enquanto os adultos são herbívoros. Assim sendo, há uma maior disponibilidade de metais na dieta dos juvenis. Logo, espera-se uma exposição maior no início do ciclo de vida (Da Silva et al., 2016).

O acúmulo de contaminantes ambientais contribui expressivamente para a diminuição de defesas antioxidantes, com acentuado dano oxidativo em moléculas de lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas, os quais resultam em disfunção metabólica e lesão celular (Da Silva et al., 2016). Os eritrócitos servem como excelentes modelos para avaliação ecotoxicológica devido à capacidade de expressar grande quantidade de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que agem no excesso de radicais livres (Hernández-Fernández et al., 2020). O efeito mutagênico e citotóxico causado por nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) foi relatado por Araújo et al. (2019), onde indivíduos de *Podocnemis expansa* submetidos ao composto apresentaram alterações celulares como eritrócitos micronucleados, binucleados e anucleados, o qual pode causar danos cromossômicos indiretamente durante o processo de divisão celular, visto que os autores correlacionaram esse processo com o efeito do ZnO na formação de espécies reativas de oxigênio.

Tal qual previamente exposto, essas alterações celulares são originárias do acúmulo em diversos órgãos, como em rins, fígado, músculo, cérebro, tecido adiposo e outros, os quais têm como consequência alterações morfológicas e bioquímicas (Da Silva et al., 2014; Nisa et al., 2019; Hernández-Fernández et al., 2020; Frossard et al., 2021). A análise realizada por Frossard et al., (2019) sobre contaminação por Cd em *Bothrops jararaca*, demonstrou que esse elemento tende a ser acumulado em altas concentrações, preferencialmente no fígado, mas pode ser encontrado também nos rins, aparelho glandular de veneno, gordura, vesícula biliar, coração e nas fezes. O Cd também tem ação em células gliais de diversos animais, tendo alterações de acordo com a dose e tempo de exposição. Em répteis, especialmente lagartos, o Cd tende a se acumular em rins e ovários, e depois aumenta gradualmente no fígado, mas também no cérebro, com danos na integridade e funções da barreira hemato-encefálica, acúmulo intracelular cerebral, disfunção celular e edema cerebral (Favorito et al., 2017).

4. Considerações Finais

A oxidação é um processo necessário para a vida aeróbica, seja por forma natural ou por exposição a poluentes ambientais. O estresse oxidativo é uma condição gerada pelo desequilíbrio entre compostos oxidantes e sistema de defesa antioxidante. Essa condição é estabelecida quando a produção de radicais livres supera as barreiras antioxidantes.

É possível realizar o acompanhamento ecotoxicológico através do biomonitoramento de diversas espécies, entretanto répteis possuem características singulares que fornecem resultados superiores e fidedignos, quando comparado a outros bioindicadores. Nesse contexto, é possível realizar a coleta de dados de forma não invasiva e resultados precisos.

A degradação ambiental, presença de contaminantes, uso de pesticidas, representam alguns pontos de origem para a manifestação do estresse oxidativo nos animais, em especial os répteis, que acabam sendo frequentemente prejudicados. As adversidades ocasionadas devido ao estresse oxidativo, causam toxicidade sistêmica em diversos órgãos, tais como fígado, rim, coração, além de causarem supressão do sistema imunológico, desenvolvimento de tumores, alterações morfológicas e danos a nível de DNA. Sendo assim, há um expressivo aumento da suscetibilidade à doenças, sendo então um importante fator na conservação de espécies. À vista disso, a dosagem faz-se necessária para melhor monitoramento da qualidade ambiental. A análise enzimática, permite o controle do habitat e funciona como sinalizador para a contaminação, e esse monitoramento não somente aplica-se aos répteis. Essas informações permitem à vigilância sobre atividade antrópica, diferentes ações prejudiciais ao ambiente e espécies que ali habitam, bem como o ser humano, com possibilidade de atividades preventivas.

Perante a poluição ambiental como fator de risco à saúde, esse monitoramento reflete nos seres humanos, especialmente em populações ribeirinhas. As características comportamentais e reprodutivas de alguns quelônios, como jabutis e tartarugas-da-Amazônia, os tornam alvos fáceis para captura e consumo nestas regiões. Portanto, populações mais carentes ou com hábitos culturais de consumo desta iguaria por pesca indiscriminada, estão mais propensas à bioacumulação de xenobióticos quando não há efetiva biomonitoração. Conclui-se que os répteis ainda refletem a exposição que diversas populações humanas podem sofrer, ciente de múltiplas fontes de poluição intimamente relacionadas à rotina do homem.

Conforme o exposto, o levantamento bibliográfico indica que os dados da pesquisa acabaram por trazer visibilidade às problemáticas presentes ao redor do mundo, a partir dos cenários de expansão e invasão nas comunidades biológicas e, com isso, a remodelagem dos ecossistemas. Como sugestão para trabalhos futuros, envolvendo a saúde animal e do ser humano, os autores propõem estudos com uma correlação direta de marcadores bioquímicos à nível hepático, renal e muscular com o estresse oxidativo. Bem como, estudos que quantifiquem e qualifiquem os danos antrópicos, e sua correlação com estresse oxidativo e possíveis enfermidades em répteis e seu habitat em longo prazo.

Referências

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121–126
- Ahamed, M. & Siddiqui, M. K. (2007). Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 383(1-2), 57–64.
- Alcantara, V. (2012). Sociedade de consumo e impactos ambientais. *Revista Sociedade de Consumo e Impacto Ambiental*.
- Araújo, A. P. C., Lima, V. S., Vieira, J. E. A., Mesak, C. & Malafaia, G. (2019). First report on the mutagenicity and cytotoxicity of ZnO nanoparticles in reptiles. *Chemosphere*, 235, 556–564.
- Arias, A. R. L., Buss, D. F., Alburquerque, C. de, Inácio, A. F., Freire, M. M., Egler, M., Mugnai, R. & Baptista, D. F. (2007). Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 12(1), 61–72.
- Bagliano, R. V. (2012). Principais organismos utilizados como bioindicadores relacionados com uso de avaliadores de danos ambientais. *Revista Meio Ambiente E Sustentabilidade*, 2(1), 24 - 40.
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M. & David, J. P. (2006). Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. *Quimica Nova*, 29(1), 113–123.

- Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B. & Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental Research*, 172, 338-344.
- Buege, J. A. & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310.
- Chandran, R., Sivakumar, A. A., Mohandass, S. & Aruchami, M. (2005). Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and physiology Part C*, 140, 422-426.
- Cogo, A. J. D., Siqueira, A. F., Ramos, A. C., Cruz, Z. M. A. & Silva A. G. (2009). Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. *Natureza on line*, 7(1), 37-42.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. (1986). Resolução CONAMA nº 1, de 23 de janeiro de 1986. *Publicada no DOU, de 17 de fevereiro de 1986*, Seção 1, 2548-2549.
- Cooper, H. M. (1982) Scientific guidelines for conducting integrative research reviews. *Rev Educ Res*, 52(2), 291-302.
- Cortés-Gómez, A. A., Morcillo, P., Guardiola, F. A., Espinosa, C., Esteban, M. A., Cuesta, A., Girondot M. & Romero, D. (2018). Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations. *Environmental Pollution*, 233, 156-167.
- Costantini, D. & Verhulst, S. (2009). Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress? *Functional Ecology*, 23(3), 506-509.
- Da Silva, C. C., Klein, R. D., Barcarolli, I. F. & Bianchini, A. (2016). Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 170, 42-51.
- Da Silva, C. C., Varela, A. S., Jr, Barcarolli, I. F. & Bianchini, A. (2014). Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. *The Science of the total environment*, 466-467, 109-118.
- Dzul-Caamal, R., Hernández-López, A., Gonzalez-Jáuregui, M., Padilla, S. E., Girón-Pérez, M. I. & Vega-López, A. (2016). Usefulness of oxidative stress biomarkers evaluated in the snout scraping, serum and Peripheral Blood Cells of *Crocodylus moreletii* from Southeast Campeche for assessment of the toxic impact of PAHs, metals and total phenols. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 200, 35-46.
- Espósito, M., De Roma, A., Sansone, D., Capozzo, D., Iaccarino, D., di Nocera, F. & Gallo, P. (2020). Non-essential toxic element (Cd, As, Hg and Pb) levels in muscle, liver and kidney of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) stranded along the southwestern coasts of Tyrrhenian sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 231, 108725.
- Favorito, R., Monaco, A., Grimaldi, M. C. & Ferrandino, I. (2017). Effects of cadmium on the glial architecture in lizard brain. *European Journal of Histochemistry*, 61(1).
- Flohé, L. & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in enzymology*, 105, 114-121.
- French, S. S., Neuman-Lee, L. A., Terletzky, P. A., Kiriazis, N. M., Taylor, E. N. & DeNardo, D. F. (2017). Too much of a good thing? Human disturbance linked to ecotourism has a “dose-dependent” impact on innate immunity and oxidative stress in marine iguanas, *Amblyrhynchus cristatus*. *Biological Conservation*, 210, 37-47.
- Frossard, A., Carneiro, M. T. W. D., Silva, E. L. de F. da, Camargo Filho, C. B. & Rossi Júnior, J. L. (2017). Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do Espírito Santo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(10), 1146-1152.
- Frossard, A., Coppo, G. C., Lourenço, A. T., Heringer, O. A. & Chippari-Gomes, A. R. (2021). Metal bioaccumulation and its genotoxic effects on eggs and hatchlings of giant Amazon river turtle (*Podocnemis expansa*). *Ecotoxicology*, 30(4), 643-657.
- Frossard, A., Leite, F. L. G., Silva, E. L. F., Carneiro, M. T. W. D., Júnior, J. L. R., Gomes, L. C. & Endringer, D. C. (2019). The snake *Bothrops jararaca* (Squamata: Viperidae) is a suitable bioindicator of environmental exposure to cadmium: An experimental study. *Ecological Indicators*, 104, 166-171.
- Ganzala, G. G. (2018). A industrialização, impactos ambientais e a necessidade de desenvolvimento de políticas ambientais sustentáveis no século XXI. <https://repositorio.uninter.com/handle/1/295>
- Goulart, M. & Callisto, M. (2003). Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, ano 2, 1, 156-164.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Han, X., Hao, X., Wang, Y., Wang, X., Teng, L., Liu, Z., Zhang, F. & Zhang, Q. (2020). Experimental warming induces oxidative stress and immunosuppression in a viviparous lizard, *Eremias multiocellata*. *Journal of Thermal Biology*, 90, 102595.
- Hernández-Fernández, J., López-Barrera, E. A., Mariño-Ramírez, L., Rodríguez-Becerra, P. & Pinzón-Velasco, A. (2020). Oxidative Stress Biomarkers in Erythrocytes of Captive Pre-Juvenile Loggerhead Turtles Following Acute Exposure to Methylmercury. *Applied Sciences*, 10(10), 3602.
- Héritier, L., Duval, D., Galinier, R., Meistertzheim, A.-L. & Verneau, O. (2017). Oxidative stress induced by glyphosate-based herbicide on freshwater turtles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3343-3350.
- Hopkins, B. C., Hepner, M. J., & Hopkins, W. A. (2013). Non-destructive techniques for biomonitoring of spatial, temporal, and demographic patterns of mercury bioaccumulation and maternal transfer in turtles. *Environmental Pollution*, 177, 164-170.
- Huo, J., Dong, A., Niu, X., Dong, A., Lee, S., Ma, C. & Wang, L. (2018). Effects of cadmium on oxidative stress activities in plasma of freshwater turtle *Chinemys reevesii*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 8027-8034.

- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2018). *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume IV - Répteis*. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: ICMBio. 252.
- Levine, R. L., Williams, J. A., Stadman, E. P. & Shacter, E. (1994). Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*, 233, 346–357.
- Machado, L. P., Kohayagawa, A., Saito, M. E., Silveira, V. F. da & Yonezawa, L. A. (2009). Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 8(1), 84-94.
- Márquez-Ferrando, R., Santos, X., Pleguezuelos, J. M. & Ontiveros, D. (2009). Bioaccumulation of heavy metals in the lizard *Psammotromus algirus* after a tailing-dam collapse in Aznalcóllar (Southwest Spain). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 56(2), 276–285.
- Mendonça, M. F. & Ferreira, M. L. (2019). O Uso do Solo Próximo à Reservatórios de Abastecimento Hídrico e suas Implicações com a Prestação por Serviços Ambientais: Uma Abordagem Baseada em Valoração Monetária. Zabotto, A. R. Estudos Sobre Impactos Ambientais: Uma Abordagem Contemporânea. *FEPAP*. Botucatu, Brasil, 25-57.
- Misra, H. P. & Fridovich, I. (1971). The generation of superoxide radical during the autoxidation of ferredoxins. *The Journal of biological chemistry*, 246(22), 6886–6890.
- Moll, D. & Moll, E. O. (2004). *The ecology, exploitation and conservation of river turtles*. Oxford University Press, 393.
- Namroodil, S., Zaccaroni, A., Rezaei, H. & Hosseini, S. M. (2017). European pond turtle (*Emys orbicularis persica*) as a biomarker of environmental pollution in Golestan and Mazandaran provinces, Iran. *Veterinary research forum : an international quarterly journal*, 8(4), 333–339.
- Nisa, Z., Sultana, S., Sultana, T., Al-Ghanim, K. A., Al-Ghanem, M. K., Al-Misned, F. & Mahboob, S. (2019). Environmental Exposure to Metals and Bioaccumulation in the Liver of Three Freshwater Species of Turtles from Two Different Rivers. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(5), 3299-3306.
- Odetti, L. M., López González, E. C., Romito, M. L., Simoniello, M. F. & Poletta, G. L. (2020). Genotoxicity and oxidative stress in *Caiman latirostris* hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110312.
- Ortiz-Santaliestra, M. E., Rodríguez, A., Pareja-Carrera, J., Mateo, R. & Martínez-Haro, M. (2019). Tools for non-invasive sampling of metal accumulation and its effects in Mediterranean pond turtle populations inhabiting mining areas. *Chemosphere*, 231, 194-206.
- Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E. & Brenowitz, M. (2000). A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *Journal of Molecular Biology*, 304(1), 55–68.
- Pereira, A. S., Parreira, F. J., Shitsuka, D. M., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.
- Prestes, R. M. & Vincenci, K. L. (2019). Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 2(4), 1473-1493.
- Quintela, F. M., Lima, G. P., Silveira, M. L., Costa, P., Bianchini, A., Loebmann, D. & Martins, S. E. (2019). High arsenic and low lead concentrations in fish and reptiles from Taim wetlands, a Ramsar site in southern Brazil. *Science of The Total Environment*, 660, 1004-1014.
- Quintela, F. M., Pino, S. R., Silva, F. C., Loebmann, D., Costa, P. G., Bianchini, A. & Martins, S. E. (2020). Arsenic, lead and cadmium concentrations in caudal crests of the yacare caiman (*Caiman yacare*) from Brazilian Pantanal. *The Science of the total environment*, 707, 135479.
- Rashed, M. (2001). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*, 27(1), 27–33.
- Reich, K. J., Bjorndal, K. A. & Martínez Del Rio, C. (2008). Effects of growth and tissue type on the kinetics of ¹³C and ¹⁵N incorporation in a rapidly growing ectotherm. *Oecologia*, 155(4), 651–663.
- Rodriguez, C., Bezerra, M. F., Rezende, C. E., Bastos, W. R. & Lacerda, L. D. (2019). Mercury and methylmercury in carapace of the marine turtle *Caretta caretta*, in northeastern Brazil and its potential for environmental monitoring. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(2).
- Salvarani, P. I., Vieira, L. R., Ku-Peralta, W., Morgado, F. & Osten, J. R. (2018). Oxidative stress biomarkers and organochlorine pesticides in nesting female hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* from Mexican coast (Punta Xen, Mexico). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 23809–23816.
- Schaumburg, L. G., Poletta, G. L., Siroski, P. A. & Mudry, M. D. (2012). Baseline values of micronuclei and comet assay in the lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae, Squamata). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 99–103.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J., Vogt, R. C., Jeitner, C. & Peleja, J. R. P. (2010). Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93:2, 238-250.
- Schneider, L., Eggins, S., Maher, W., Vogt, R. C., Krikowa, F., Kinsley, L., Eggins, S. M. & Da Silveira, R. (2015). An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. *Chemosphere*, 119, 163–170.
- Silva, J. M., Navoni, J. A. & Freire, E. M. X. (2020). Lizards as model organisms to evaluate environmental contamination and biomonitoring. *Environ Monit Assess*, 192, 454.
- Simonyan, A., Hovhannisyanyan, G., Sargsyan, A., Arakelyan, M., Minasyan, S. & Aroutiounian, R. (2018). DNA damage and micronuclei in parthenogenetic and bisexual *Darevskia* rock lizards from the areas with different levels of soil pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154, 13–18.
- Slimani, T., El Hassani, M. S., El Mouden, E. H., Bonnet, M., Bustamante, P., Brischoux, F., Brault-Favrou, M. & Bonnet, X. (2017). Large-scale geographic patterns of mercury contamination in Morocco revealed by freshwater turtles. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2350–2360.

Souza, N. L. N., Carneiro, M. T. W. D., Pimentel, E. F., Frossard, A., Freire, J. B., Endringer, D. C. & Ferreira Júnior, P. D. (2018). Trace elements influence the hatching success and emergence of *Caretta caretta* and *Chelonia mydas*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 117–122.

Stark, A. A. P., Bonfada, C. O., Paula, L. S. de, Teles, M. A., Varela Junior, A. S., Corcini, C. D. & França, R. T. (2021). Lead intoxication: environmental conflicts in South America and perspective under the conservation of wild birds. *Research, Society and Development*, 10(2), e42510212701.

Trasviña-Arenas, C. H., Garcia-Triana, A., Peregrino-Uriarte, A. B. & Yepiz-Plascencia, G. (2013). White shrimp *Litopenaeus vannamei* catalase: Gene structure, expression and activity under hypoxia and reoxygenation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 164(1), 44–52.

Varol, M. (2011). Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. *Journal of Hazardous Materials*, 195, 355–364.

Wise, S. S., Wise, C., Xie, H., Guillette, L. J., Zhu, C., Wise, J. P. & Wise, J. P. (2016). Hexavalent chromium is cytotoxic and genotoxic to American alligator cells. *Aquatic Toxicology*, 171, 30–36.

Zocche, J. J., Damiani, A. P., Hainzenreder, G., Mendonça, R. Á., Peres, P. B., Santos, C. E. I. dos, Debastiani, R., Diaz, J. F. & Andrade, V. M. de. (2013). Assessment of heavy metal content and DNA damage in *Hypsiboas faber* (anuran amphibian) in coal open-casting mine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(1), 194–201.