

BIOMONITORAMENTO INDICA POLUIÇÃO DO RIO GUANDU POR COMPOSTOS CANCERÍGENOS

MAYRA MANSUR REIMANN¹; NATALY MELO DOS SANTOS²; CRISTIANE ALBUQUERQUE FARINELLE³; ADRIANO ARNÓBIO⁴; CRISTIANE MARTINS CARDOSO DE SALLES⁵; JOÃO BOSCO DE SALLES⁶

¹ Laboratório de Bioquímica, Centro Setorial de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. mayrareimann.bio@gmail.com.

² Laboratório de Bioquímica, Centro Setorial de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. natalym Santos@hotmail.com

³ Laboratório de Bioquímica, Centro Setorial de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. crisfarinelle@gmail.com

⁴ Laboratório de Radiofarmácia Experimental, Departamento de Biofísica e Biometria, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. adriano.arnobio@gmail.com

⁵ Setor de Bioquímica, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. salles.cristiane@gmail.com

⁶ Laboratório de Bioquímica, Centro Setorial de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. desalles@gmail.com

RESUMO

O rio Guandu é responsável pelo fornecimento de água potável para mais de 10 milhões de pessoas da região metropolitana do Rio de Janeiro. Entretanto, diversos estudos têm demonstrado que esse rio apresenta elevados níveis de contaminação por substâncias que podem causar mutações e câncer. Portanto, é de extrema importância que providências sejam tomadas para melhorar a qualidade da água dessa bacia hidrográfica. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do uso da enzima etoxiresorufina O-desetilase (EROD) hepática de tilápias (*Oreochromis niloticus*) como biomarcadora no monitoramento da qualidade da água do rio Guandu. A atividade da enzima foi determinada através de fluorimetria em frações microsomais e pós-mitocondriais de tilápias capturadas no rio Guandu e em dois sítios controles. Nossos resultados mostraram que a EROD hepática de tilápias capturadas no rio Guandu apresentou atividade 700% maior do que daquelas capturadas nos sítios controles. Esta elevada atividade da EROD nos fígados das tilápias do rio Guandu indica grande indução da subfamília de CYP1A. Diversos autores têm demonstrado que a indução desta isoforma de citocromo P-450 está associada à presença dos contaminantes bifenilas policlорadas (PCB) e dioxinas, que apresentam atividade cancerígena. Frente a estes resultados, não recomendamos o consumo de peixes capturados no rio Guandu, e sugerimos que outras pesquisas sejam feitas para que a origem destes contaminantes ambientais seja esclarecida.

Palavras-chave: Citocromo P-450, Monitoramento, Poluição, Rio Guandu, Tilapia.

ABSTRACT

Guandu River is responsible for providing drinking water for more than 10 million people from Rio de Janeiro metropolitan region. However, several studies have shown that this river presents high levels of substances which may cause mutations and cancer. Therefore, it is extremely important measurements be taken to improve this watershed water quality. This study aimed evaluating the potential use of ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) hepatic enzyme from tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a biomarker for monitoring the Guandu River water quality. Enzyme activity was determined by fluorescence method in tilapia microsomal and post-mitochondrial fractions captured in the Guandu River and compared to two control sites. Our results showed that EROD activity was 700% higher in the Guandu River tilapias than those ones at control sites. This high EROD activity in tilapia livers from the Guandu River indicates large induction of CYP1A subfamily. Several authors have demonstrated that cytochrome P-450 isoform induction is associated to contaminants PCBs and dioxins presence, what present carcinogenic activities. Based on these results, we do not recommend fish consumption caught in the Guandu River and suggest further research must be done so these environmental contaminants origin could be clarified.

Keywords: Cytochrome P-450, Guandu River, Monitoring, Pollution, Tilapia.

INTRODUÇÃO

O rio Guandu é responsável pelo fornecimento de 80% da água potável consumida pela população da região metropolitana do Rio de Janeiro, suprimindo cerca de 10 milhões de habitantes. Cerca de 60% da água deste rio

adquirida a partir da transposição do rio Paraíba do Sul. Esta transposição foi projetada para a produção de energia elétrica, mas hoje é de vital importância para o suprimento de água para a região metropolitana do Rio de Janeiro. A água transposta do rio Paraíba do Sul, além de manter constante a vazão do rio Guandu,

serve também para diluir a poluição que este rio recebe de seus efluentes originados dos municípios de Paracambi, Queimados, Nova Iguaçu, Japeri e Seropédica, permitindo assim o tratamento da água pela Estação de Tratamento de Água do Guandu (ETA-GUANDU) (Massena, 2007).

Apesar da vital importância do rio Guandu, ao longo das últimas décadas a sua bacia tem sofrido grande contaminação por esgotos químicos tóxicos provenientes das cidades e das diversas indústrias presentes no seu entorno. Esta excessiva poluição já motivou, inclusive, a interrupção da captação da água do rio Guandu pela ETA-GUANDU (Parente et al., 2004), a maior do ramo no mundo.

Além da poluição recebida de seus tributários naturais, com já mencionado, o rio Guandu recebe as águas já poluídas obtidas por meio da transposição do rio Paraíba do Sul. A bacia deste rio tem origem no estado de São Paulo e recebe esgotos domésticos e industriais desta região altamente industrializada do Vale do Paraíba, tanto do estado de São Paulo, quanto do estado do Rio de Janeiro (Molisani, et al., 2006; Torres et al., 2003).

No presente estudo foi avaliado o potencial do uso da enzima etoxiresorufina O-desetilase (EROD) hepática de tilápias (*Oreochromis niloticus*) como biomarcadora no monitoramento da qualidade da água do rio Guandu.

As isoformas de citocromo P-450 da subfamília 1A (CYP1A) são expressas principalmente em fígado e são responsáveis pela ativação de muitos compostos cancerígenos e genotóxicos. Além disso, alguns trabalhos têm reportado que enzimas desta subfamília são induzidas por diversos ligantes de receptores de aril hidrocarbonetos (AhR), como dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD), bifenilas policloradas (PCB), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e pesticidas organoclorados (Hahn, 2002; Oost et al., 2003). Portanto, significativos incrementos na expressão destas enzimas podem indicar a exposição de bioindicadores a seus agentes indutores.

No presente trabalho optamos em ava-

liar os níveis de atividade da etoxiresorufina O-desetilase (EROD) - uma isoforma da subfamília P-450 1A, de fígado de tilápia, como biomarcadora no monitoramento da qualidade da água do rio Guandu.

A enzima EROD, presente tanto em vertebrados quanto em invertebrados, transforma compostos lipofílicos em compostos mais hidrofílicos, auxiliando sua excreção. Porém, muitos metabólitos formados durante esse processo são extremamente reativos, podendo ser genotóxicos e causar sérios danos ao DNA e, em casos extremos, podem iniciar e promover a carcinogênese. Após a contaminação do ambiente por xenobióticos, os níveis de EROD se elevam, sendo esta a base para o uso desta enzima como biomarcadora dos efeitos da contaminação de habitats aquáticos por poluentes orgânicos (Cajaraville et al., 2000).

A utilização da enzima EROD como biomarcador é uma das mais bem estudadas, além de ser considerada extremamente eficaz na detecção de efeitos de compostos poluentes em peixes (Pacheco et al., 2005). A tilápia é uma espécie de peixe originada das bacias de rios africanos e foi introduzida em vários pontos da América do Sul (figura 1).



Figura 1 – Tilápia (*Oreochromis niloticus*); Família: Cichlidae; Subfamília: Pseudocrenilabrinae; Ordem: Perciformes.

Esta espécie foi introduzida na maioria das regiões brasileiras e é muito utilizada por pescadores e piscicultores (Graça, 2007). Alimenta-se, preferencialmente, de larvas de insetos e detritos (Beyruth et al., 2004). Embora exótica, ela representa hoje o maior número de peixes pescados na bacia do rio Guandu. Sendo assim, escolhemos trabalhar com esta espécie, primeiramente por ser muito estudada, e também por ser facilmente encontrada na bacia do rio Guandu. Finalmente, entendemos que, por ser exótica, a captura de espécimes de tilápias do rio Guandu não prejudica a biodiversidade deste ecossistema.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do uso da enzima etoxiresorufina O-desetilase (EROD) hepática de tilápias como biomarcadora no monitoramento da qualidade da água do rio Guandu.

MATERIAL E MÉTODOS:

Animais

Os animais do grupo controle foram obtidos ainda vivos, junto a pescadores de dois distintos locais: da represa Ribeirão das Lajes, principal tributário natural do rio Guandu, e de uma piscicultura comercial de Taubaté-SP. Os animais do rio Guandu foram obtidos ainda vivos, junto a pescadores, próximo à estação de tratamento de água da CEDAE (ETA-GUANDU).

Estes animais foram medidos e submetidos a eutanásia por ruptura da coluna vertebral. Os fígados foram coletados e armazenados em nitrogênio líquido. As coletas foram realizadas no inverno e no verão.

Preparo de frações pós-mitocondriais (FPM) e microsossomais

Para o preparo de FPM os fígados foram descongelados, pesados e homogeneizados em homogeneizador do tipo Potter-Elvehjem teflon/vidro, numa proporção de 1,0 g de fígado para 4,0 mL de solução tampão gelada (fosfato

de potássio 0,1 M, pH 7,0, contendo 0,25 M de sacarose). Os homogeneizados hepáticos foram então centrifugados a 9.000 x g por 30 min a 4 °C. Alíquotas do sobrenadante (FPM) foram congeladas em nitrogênio líquido até o uso. O restante das FPM foram usadas para o preparo de microsossomas. Estas frações foram centrifugadas em ultracentrífuga Hitachi, a 100.000 x g por 60 min a 4°C. Os sedimentos obtidos foram ressuspensos no mesmo tampão de homogeneização (1,0 mL de tampão/grama de tecido), re-homogeneizados manualmente em Potter e, finalmente, congelados em nitrogênio líquido.

Determinação das concentrações protéicas

As concentrações de proteínas dos microsossomas e das FPM foram determinadas conforme o método de Peterson (1977).

Determinação da atividade da 7-etoxiresorufina O-desetilase (EROD)

A atividade da EROD foi determinada basicamente conforme descrito por Burke et al. (1985), com pequenas modificações.

Em cubeta de quartzo, posicionada dentro do espectrofluorímetro (com temperatura controlada a 37°C por um banho-maria com circulação de água), foram pipetados o tampão fosfato de potássio 0,1M pH 7,8 (q.s.p. 2,0 mL), 10 µL de cloreto de magnésio (MgCl₂) 1,0 M em água destilada (5 mM final), 10 µL de 7-etoxiresorufina 1,0 mM em dimetilsulfóxido (DMSO) da Merck (5,0 µM final) e microsossoma hepático ou FPM. Após 3 min de pré-incubação para ajuste da temperatura, a reação foi disparada com a adição de 20 µL de nicotinamida adenina nucleotídeo fosfato - forma reduzida (NADPH) 25 mM em água (0,25 mM final). A velocidade da reação foi determinada pelo aumento da fluorescência devido ao acúmulo de resorufina. A fluorescência foi analisada continuamente por 90 segundos em um espectrofluorímetro com excitação a 550 nm e emissão a 582 nm, com fendas 1/1.

Curva padrão de resorufina

Inicialmente preparamos uma solução de resorufina 0,1 mM em água destilada. Esta solução foi então diluída em água até alcançar 1,0 μ M e 0,1 μ M. Adicionamos em tubos eppendorfs o tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,8 (q.s.p. 2,0 mL) e a resorufina (de 2,5 a 80 pmol), e procedemos a leitura no espectrofluorímetro com excitação a 550 nm e emissão a 582 nm, com fendas 1/1.

Estatística empregada

Os testes estatísticos foram realizados com o emprego do Software livre Bioestat 5.0. Primeiramente foi realizada a análise de variância através do teste de Kruskal-Wallis, já que as amostras não são paramétricas, em seguida foi realizado o teste de Mann-Whitney para amostras independentes, já que o número de indivíduos é diferente. Para comparar os grupos de fração microssomal e FPM foi realizada a estatística descritiva para dados quantitativos.

RESULTADOS

Com intuito de analisarmos a atividade da enzima EROD, fizemos uma curva padrão de resorufina (figura 2), o produto desta enzima quando usamos como substrato a 7-etoxiresorufina. Como observado, obtivemos uma curva com excelente linearidade até 80 pmols de resorufina.

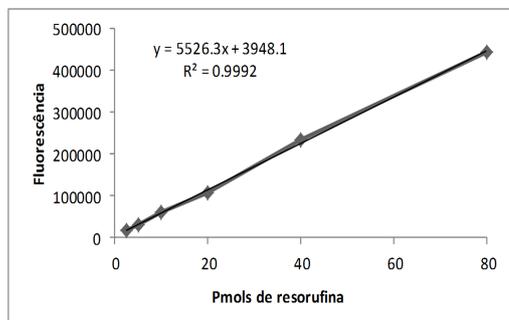


Figura 2 – Análise da variação da fluorescência versus a concentração de resorufina usada. Excitação a 550 nm e emissão a 582 nm, a 37 °C.

Na figura 3 estão comparadas as atividades da EROD microssomal hepática de tilápias de sítios controle (C1 – inverno e C2 – verão) com aquelas do rio Guandu (G1 – inverno e G2 – verão). Como pode ser claramente observado, as tilápias do rio Guandu, de ambas as coletas apresentaram atividades bem maiores que aquelas dos sítios controles.

A atividade específica média de EROD das tilápias do grupo C1, foi $6,99 \pm 3,35$ pmols.min-1.mg-1, enquanto a atividade específica média desta mesma enzima nos animais coletados no rio Guandu (G1) foi $51,13 \pm 45,30$ pmols de resorufina.min-1.mg-1. Portanto esta última apresentou atividade de EROD 700% maior que aquela do sítio controle 1.

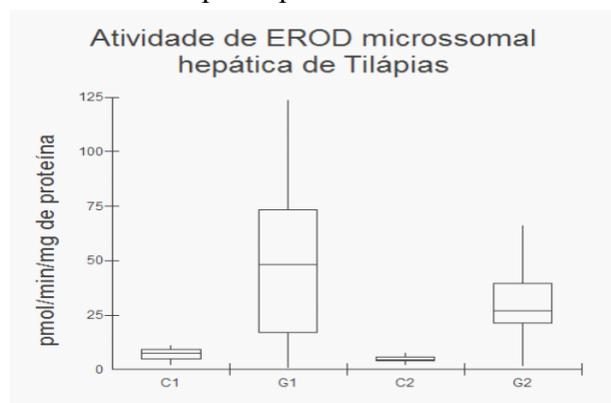


Figura 3 – Atividade da EROD em fração microssomal hepática de tilápias. Coletadas em sítio controle (C1, Represa Ribeirão das Lajes / setembro de 2011 - 8 animais contendo entre 22 a 25 cm e C2, piscicultura comercial em Taubaté-SP / março de 2012 - 8 animais contendo entre 21 a 26 cm) e no rio Guandu, próximo à captação de água da ETA - Guandu (G1 - 9 animais contendo entre 16 e 19,5 cm coletados em agosto de 2011 e G2 - 7 animais contendo entre 16 a 25 cm coletados em março de 2012). O “boxplot” mostra a mediana (linha dentro da caixa), os quartis 75% e 25% (bordas superior e inferior da caixa) e os valores mínimo e máximo dos dados (extremidades da linha vertical). Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e em seguida pelo teste U de Mann-Whitney. Foram excluídos dois resultados do grupo G1 (0,53 e 1,14 pmol de resorufina.min-1.mg-1) e um resultado do grupo G2 (1,36 pmol de resorufina.min-1.mg-1), pois apresentaram valores menores que qualquer controle, caracterizando outline (Biostatistical Analysis, 2007).

Este resultado foi comprovado quando determinamos a atividade específica média de EROD das tilápias do grupo C2, que foi $4,75 \pm 1,82$ pmols de resorufina.min⁻¹.mg⁻¹ e a atividade específica média desta mesma enzima nos animais coletados no rio Guandu (G2), que foi $30,64 \pm 21,95$ pmols de resorufina.min⁻¹.mg⁻¹. Portanto esta última também apresentou atividade de EROD 700% maior que aquela do sítio controle 2.

Ao realizar o teste estatístico encontramos $p < 0,05$, confirmando que obtivemos uma diferença significativa entre as atividades de EROD microssomal hepática das tilápias dos grupos controles e aquelas coletadas no rio Guandu.

Visto que observamos grande variabilidade individual na atividade de EROD em fração microssomal, mesmo no grupo controle, resolvemos analisar esta atividade também em FPM, também conhecida como fração S9.

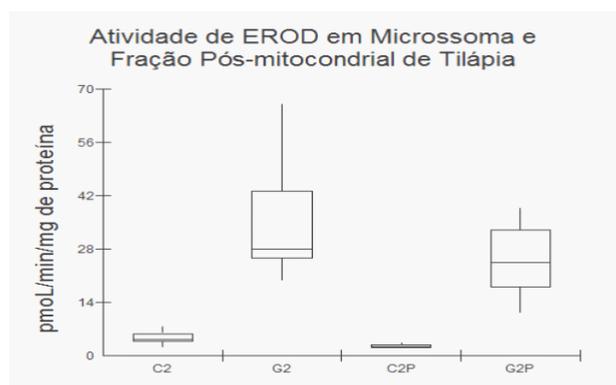


Figura 4 - Atividade da EROD em frações microssomais (C2 e G2) e FPM (C2P e G2P) hepáticas de tilápias. Coletadas em sítio controle (C2 / C2P, piscicultura comercial em Taubaté-SP – 8 animais contendo entre 21 a 26 cm) e no rio Guandu, próximo à captação de água da ETA - Guandu (G2 / G2P – 7 animais contendo entre 16 a 25 cm), em março de 2012. O “boxplot” mostra a mediana (linha dentro da caixa), os quartis 75% e 25% (bordas superior e inferior da caixa) e os valores mínimo e máximo dos dados (extremidades da linha vertical). Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e em seguida pelo teste U de Mann-Whitney. Foi excluído um resultado do grupo G2 ($1,36$ pmol de resorufina.min⁻¹.mg⁻¹) e um resultado do grupo G2P ($0,61$ pmol de resorufina.min⁻¹.mg⁻¹), pois apresentaram valores menores que qualquer controle, caracterizando outline (Biostatistical Analysis, 2007).

A figura 4 apresenta resultados comparativos entre as atividades de EROD determinadas em microssomas e FPM. Como já era de se esperar, a atividade de EROD determinada em FPM mostrou-se cerca de 50% menor que aquela determinada em fração microssomal - uma fração mais enriquecida em enzimas de membrana.

Ao realizar o teste estatístico encontramos que $p < 0,05$, confirmando a existência de uma diferença significativa de atividade de EROD determinada em FPM entre o grupo controle e o grupo de animais capturados no rio Guandu.

Como pode ser observado na tabela 1, os desvios-padrão e os coeficientes de variação obtidos através do teste de estatística descritiva foram bem menores para a atividade de EROD em FPM do que em fração microssomal. Estes resultados asseguram que a FPM é a melhor opção para realizar a determinação da atividade da enzima EROD de fígado de tilápia, por fornecer um conjunto de dados mais homogêneos. Além disso, o seu preparo é muito mais simples de realizar do que o da fração microssomal.

Tabela 1 – Comparação de variabilidade da enzima EROD em frações microssomais (C2/G2) e FPM (C2P/G2P) hepáticas de tilápia.

EROD	Média Aritmética	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
C2	4,74	1,82	38,41
G2	36,50	18,58	50,91
C2P	2,45	0,48	19,62
G2P	25,05	10,81	43,18

Resultados obtidos através do teste de estatística descritiva para dados quantitativos.

DISCUSSÃO

O principal objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de bioensaios que possam ser empregados na avaliação da qualidade de corpos d'água através da utilização da enzima EROD de tilápias como biomarcadora de exposição e efeitos subletais de poluentes. Neste sentido, realizamos uma comparação entre as

atividades enzimáticas das tilápias coletadas no rio Guandu, com aquelas coletadas em áreas supostamente livres de poluição (represa Ribeirão das Lajes e piscicultura comercial).

Nossos resultados obtidos com a EROD demonstraram que houve uma indução significativa na atividade desta enzima em fígado de tilápia capturadas no rio Guandu. Sendo esta atividade 700% maior nas tilápias capturadas no rio Guandu, do que aquela das tilápias provenientes de sítios controles.

Estes resultados fornecem forte indício da exposição das tilápias do rio Guandu a contaminantes indutores de CYP1A, corroborando os estudos de Parente e colaboradores (Parente et al., 2004; Parente et al., 2008) que também asseguram que a bacia hidrográfica do rio Guandu está contaminada por substâncias químicas indutoras de CYP1A.

Nossos resultados mostraram que o uso de FPM para a determinação da atividade de EROD hepática de tilápias é mais favorável do que o uso de microsomas. As FPM fornecem resultados mais homogêneos e são mais fáceis de preparar. Estes dados validam os resultados descritos por Parente e colaboradores (Parente et al., 2008) que também obtiveram resultados favoráveis com FPM.

Dois afluentes do rio Guandu passam pelo distrito industrial de Queimados (rio Poços e rio Queimados), onde diversas indústrias se estabeleceram durante as últimas décadas. Também está localizado neste distrito, próximo ao rio Queimados, um depósito de resíduos químicos perigosos, uma mistura de hidrocarbonetos clorados que tem como base óleo de asfeto, usado como fluido isolante para transformadores elétricos. Infelizmente quando a utilização deste óleo foi interrompida, o depósito foi abandonado com uma quantidade substancial de resíduos ambientalmente persistentes. Em condições inapropriadas de armazenamento, os recipientes foram corroídos e seu conteúdo vazou, contaminado solo e água (Pinto, 2001).

Baseados nestas informações, concordamos com Parente e colaboradores (Parente et al., 2008) que PCBs e dioxinas são os mais pro-

prováveis indutores de CYP1A presentes dentre os contaminantes do rio Guandu.

Apesar de o rio Guandu receber grandes quantidades de resíduos industriais, o despejo de esgoto doméstico parece ser a principal fonte de contaminação desta bacia hidrográfica (Parente et al., 2008). de esgoto doméstico parece ser a principal fonte de contaminação desta bacia hidrográfica (Parente et al., 2008).

Vale ressaltar que a tilápia provou ser uma boa espécie sentinela para realização do monitoramento de corpos d'água nas áreas metropolitanas do Brasil, por ser uma espécie muito resistente e possuir uma alta taxa de crescimento. Esta espécie, originária da África, foi introduzida no Brasil a fim de servir como fonte de proteína animal em reservatórios nas regiões áridas e semi-áridas do nordeste do Brasil em 1970 (Bizerril & Primo, 2001). Entretanto a espécie se popularizou e passou a ser utilizada para cultura de peixes e tem se espalhado por todo país, está hoje entre os peixes de água doce mais consumidos nas regiões sul e sudeste do Brasil, onde além de serem criadas em fazendas, são também encontradas em reservatórios, rios, lagos e barragens (Parente et al., 2008). A tilápia é uma das espécies mais interessantes para a realização de programas de monitoramento ambiental no Brasil. Uma de suas vantagens é o fato de essa espécie ser amplamente utilizada em pisciculturas, sendo estes empreendimentos contínuos fornecedores de grupos controles para a análise de mananciais hídricos supostamente contaminados (Parente et al., 2008).

CONCLUSÕES

Em conclusão, nossos dados demonstram que a EROD pode ser usada como excelente biomarcadora de contaminação de corpos hídricos. Pois ela apresentou-se intensamente induzida em fígado de tilápias no rio Guandu, quando comparada com fígado de tilápias de sítios controles. O rio Guandu apresenta-se contaminado com indutores de CYP1A, provavelmente hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Concluímos também que a FPM hepática de tilápia

é mais prática e segura que o microssoma para o monitoramento da qualidade de corpos hídricos, usando-se a enzima EROD como biomarcadora. Finalmente, de posse destes resultados, não recomendamos o consumo de peixes capturados no rio Guandu, e sugerimos que outras pesquisas sejam feitas para que a origem destes contaminantes ambientais seja esclarecida. pesquisas sejam feitas para que a origem destes contaminantes ambientais seja esclarecida.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio financeiro concedido pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) que possibilitou a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEYRUTH Z, MAINARDES-PINTO CSR, FUSCO SM, FARIA FC AND SILVA AL. 2004. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçamento. *B Inst Pesca, São Paulo* 30(1): 9 - 24.
- BIZERRIL CRSF AND PRIMO PBS. 2001. Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro. *FEMAR – SEMADS*, Rio de Janeiro, 417p
- BURKE MD, THOMPSON S, WEAVER RJ, WOLF CR AND MAYER RT. 1985. Ethoxy-, pentoxy and benziloxypheoxazones and homologues: a series of substrates to distinguish between different induced cytochrome P-450. *Biochem Pharm* 34: 3337-3345.
- CAJARAVILLE MP, BEBIANNO M, BLASCO J, PORTE C, SARASQUETE C AND VIARENGO A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *The Science of the Total Environment*. En: *Science of the Total Environment*. Special issue on Towards an integrative approach in Environmental Contamination and Toxicology. M.P. CAJARAVILLE (guest ed.), Elsevier Science, Oxford 247: 295-311.
- GRAÇA WJ AND PAVANELLI CS. 2007. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. 2007. EDUEM, Maringá. 241p.
- HAHN ME. 2002. Aryl hydrocarbons receptor: diversity and evolution. *Chemico-biol Interac* 141: 131-160.
- MASSENA EP, PEREIRA M, TORRES JPM AND MALM O. 2007. Avaliação da água potável da estação de tratamento de água do rio Guandu (ETA – Guandu) da Cidade do Rio de Janeiro, Brasil: Uma análise preliminar de poluentes orgânicos persistentes e metais poluentes. *Oecol Bras* 11(2): 213-218.
- MOLISANI MM, ROCHA R, MACHADO W, BARRETO RC AND LACERDA LD. 2006. Mercury contents in aquatic macrophytes from two reservoirs in the Paraíba do Sul: Guandú River system, SE Brazil. *Braz J Biol* 66(1A): 101-107.
- OOST RVD, BEYER J AND VERMEULEN NPE. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharm* 13: 57-149.
- PARENTE TEM, DE-OLIVEIRA ACAX, SILVA IB, ARAUJO FG AND PAUMGARTTEN FJR. 2004. Induced alkoxyresorufin-O-dealkylases in tilapias (*Oreochromis niloticus*) from Guandu river, Rio de Janeiro, Brazil. *Chemosphere* 54: 1613-1618.
- PARENTE TEM, DE-OLIVEIRA ACAX AND PAUMGARTTEN FJR. 2008. Induced cytochrome P450 1A activity in cichlid fishes from Guandu River and Jacarepaguá Lake, Rio de Janeiro, Brazil. *Environ Pollut* 152: 233-238.
- PACHECO M, SANTOS MA, TELES M,

OLIVEIRA M, REBELO JE AND POMBO L. 2005. Biotransformation and genotoxic biomarkers in mullet species (*Liza* sp.) from a contaminated coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Environ Monit Assess* 107(1-3): 133-153.

PETERSON GL. 1977. A Simplification of the Protein Assay Method of Lowry et al. Which is More Generally Applicable. *Anal Biochem* 83: 346-356.

PINTO EM. 2001. Principais dificuldades de gerenciamento de resíduos industriais no estado do Rio de Janeiro. O caso CENTRES - Centro Tecnológico de Resíduos, localizado no município de Queimados. MSc thesis, Federal Fluminense University, Niteroi, Rio de Janeiro, Brazil. 133 pp.

SAFE S AND PHIL D. 1990. Polychlorinated biphenils (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic consideration which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol* 21: 51-88.

TORRES JPM, MALM O, PFEFFER WC, PEREIRA MS AND JAPENGA. 2003. Determination of organochlorines contaminants on river sediments and bottom feeding fish from Paraíba do Sul - Guandu River system - Brazil. *Organohal Comp* 62: 25-28.

ZAR JH. 2007. *Biostatistical Analysis*, 5th ed., Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ, USA, 960p.