

Histopatologia do fígado de *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 proveniente de área sobre influência de mineração na Amazônia Oriental, Brasil

Krystyanne Beatrix Souza Pinheiro¹, Roger Leomar da Silva Ferreira^{1,3}, Juliana Barros da Mota¹, Paulo Robson Pereira da Cunha², Marcela Nunes Videira^{1,3*}

1. Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade Animal (LABMORSA)/Universidade do Estado do Amapá (UEAP); Av. Presidente Getúlio Vargas, nº 650, Centro CEP: 68900-070, Macapá-AP-Brasil.

2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá (IFAP). Campus Laranjal do Jari-AP. Rua Nilo Peçanha, 1263 - Bairro Cajari, Laranjal do Jari - AP, CEP: 68920-000.

3. Grupo de pesquisa Sanidade de Organismos Aquáticos na Amazônia - Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade Animal (LABMORSA)/UEAP.

*Autor para correspondência: marcela.videira@ueap.edu.br

RESUMO

Objetivou-se nesse estudo avaliar o tecido hepático de espécimes de *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (tambaqui) cultivados em lago sob influência de atividade mineradora. Exemplares de tambaqui foram capturados, anestesiados e necropsiados, sendo seus fígados mantidos fixados em formol 10% até a execução da técnica histológica usual para inclusão em parafina. Cortes de 5µm de espessura foram corados em hematoxilina e eosina (HE) e analisados em microscópio óptico. Foram encontradas alterações nos fígados como: Congestão, deslocamento do núcleo, infiltrado leucocitário, esteatose, vacuolização, desarranjo de estrutura cordonal, hemossiderose e necrose. A análise da água apresentou alto teor de metais. Os resultados indicam que essas respostas biológicas podem ser caracterizadas como biomarcadores de contaminação aquática.

Palavra-chave: Alterações, hepatodistrofias, peixe.

Histopathology of liver *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 from the area of mining influence in eastern Amazonia, Brazil

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the liver tissue specimens of *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (tambaqui) grown in lake under the influence of mining activity. Tambaqui specimens were captured, anaesthetized and necropsied, and their livers kept fixed in 10% formalin until the execution of the usual histological technique for paraffin. Cuts of 5µm thick were stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and examined under an optical microscope. Changes were found in the livers as: Congestion, core displacement, leukocyte infiltration, steatosis, vacuolization, derangement cordonal structure, hemosiderosis and necrosis. The water analysis showed a high metal content. The results indicate that these biological responses may be characterized as water contamination biomarkers.

Keywords: Changes; hepato dystrophies; fish.

Introdução

As alterações provocadas pelo homem no meio ambiente superam a compreensão das implicações que estas causam sobre os organismos vivos dentro de um ecossistema, e isto se torna um desafio para a conservação dos recursos hídricos, visto a importância, principalmente que os sistemas de água doce têm para todos os seres vivos, desde o seu uso pela biota aquática até o consumo humano (SOUZA, 2012).

Alguns seres servem como bioindicadores de qualidade de água, como as plantas aquáticas, crustáceos, mamíferos, aves, peixes, entre outros, que para deterem essa característica necessitam não apenas sobreviver em ambientes límpidos, mas também deter resistência a ambientes que apresentem certa contaminação (LINS et al., 2010).

Segundo Oliveira (2013, p. 1), o fígado dos peixes possui características semelhantes a de outros vertebrados, constituindo-se em “uma glândula retículo-tubular recoberta por uma membrana serosa, que desempenha inúmeras funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados”.

Para realizar o diagnóstico tanto direto quanto indireto de possíveis efeitos tóxicos que podem afetar os tecidos animais utiliza-se a histopatologia (LINZ et al., 2010). Porém os mesmos autores sugerem associar a esse método de estudo a outros métodos uma vez que ele isoladamente apenas mostra lesões a nível tecidual, não pontuando a causa da lesão, mostrando que para que isso ocorra existe a necessidade de escolha de órgãos que estejam em contato direto com o causador da intoxicação, como é o caso do fígado.

Conforme Zelikoff (1998, apud REZENDE, 2011, p. 19), “os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental”.

Na Amazônia quando chega ao fim a exploração industrial de

algumas minas, como a de manganês no município de Serra do Navio, situada no estado do Amapá, torna-se necessário examinar a história do minério na região, refletindo acerca da relação entre essa atividade e os ambientais relacionados a esta (MONTEIRO, 2004).

No município de Serra do Navio, após o encerramento das escavações, em algumas áreas, a água represou, tornando-se um lago de barragem perene. A partir dessa formação, alguns moradores locais passa-ram a estabelecer nessa área a prática da piscicultura, utilizando a espécie *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (tambaqui).

A insipiência de estudos relacionados a organismos aquáticos na área incentiva a busca de informações neste contexto pós-mineração. Dessa forma, o presente estudo buscou fazer a avaliação histopatológica destes efeitos sobre o fígado dos peixes dessa área.

Material e Métodos

Coleta e processamento de material biológico

Os peixes utilizados neste estudo foram capturados no Município de Serra do Navio, em uma propriedade privada constituída por um lago perene, formado a partir de uma área escavada, onde houve extração de minério (manganês) (0°55' 32.70" N e 51°59' 33.36" W). Neste local, atualmente, foi estabelecida a prática da piscicultura do tambaqui, sendo estes comercializados em larga escala no mercado local.

Foram realizadas coletas mensais de abril a julho de 2012, sendo capturados a cada coleta 10 indivíduos, totalizando 40 espécimes. Os animais foram anestesiados com Tricafina Metano Sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50 mg/l. Em seguida os peixes foram submetidos a uma incisão ventral do poro urogenital até o opérculo, para facilitar a retirada das vísceras. Os fígados eram separados e fixados em formol a 10% por 24 horas e

transportados ao Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade Animal (LABMORSA) na Universidade do Estado do Amapá (UEAP).

Após a fixação, os órgãos coletados foram seccionados e então desidratados, passando-os por concentrações crescentes de álcoois, em seguida diafanizados com a utilização de xilol, infiltrados e incluídos em blocos de parafina. Em seguida foram encaminhados ao laboratório de Pesquisa Carlos de Azevedo na Universidade Federal Rural da Amazônia (LPCA/UFRA), obtendo-se cortes de 5 µm de espessura, corados com hematoxilina-eosina, analisados e fotografados em microscópio óptico.

Variáveis físico-químicas

O oxigênio dissolvido (OD) e a temperatura foram obtidos *in loco* com equipamentos portáteis apropriados para esta finalidade (oxímetro e termômetro). Para análise de pH e dureza total foi utilizado o kit de análise de piscicultura de água doce Alfakit®.

Para a análise de metais, amostras de água foram coletadas em frascos de vidro, adicionando-se duas gotas de ácido nítrico. Estas foram posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Espectrofotometria e absorção Atômica da Universidade Federal do Amapá, onde foram analisadas pelo método espectrofotométrico.

Para a análise dos resultados obtidos dos parâmetros físico e químicos, os dados foram comparados com resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). De acordo com essa Resolução, as águas destinadas ao cultivo de organismos aquáticos para alimentação humana pertencem à Classe 2, que deve apresentar, entre muitos outros, os parâmetros químicos e biológicos especificados.

Resultados

Macroscopicamente, os fígados dos exemplares analisados apresentaram aumento de volume, bordas arredondadas e manchas amareladas, com coloração variando de marrom clara à amarelada, em alguns casos com lesões puntiformes de coloração escurizada. O exame histopatológico revelou que 100% das amostras apresentaram algum tipo de alteração morfológica, não sendo observada a presença de centros melanomacrofágicos.

Foram encontradas várias alterações no tecido hepático, sendo que a patologia mais evidenciada foi à degeneração gordurosa, que esteve presente em todos os exemplares, durante todo o período de coleta. As alterações teciduais que mais se destacaram foram: congestão, necrose, hemossiderose, esteatose, vacuolização e deslocamento do núcleo dos hepatócitos, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Percentual de alterações hepáticas encontradas em tambaquis distribuídos por meses. / **Table 1.** Percentage of liver abnormalities found in tambaquis spread over months.

PATOLOGIA	ABRIL	MAIO	JUNHO	JULHO
Congestão	20%	10%	10%	30%
Deslocamento do núcleo	40%	40%	50%	70%
Infiltrado leucocitário	10%	30%	20%	20%
Esteatose	100%	100%	100%	100%
Vacuolização	90%	80%	80%	90%
Desarranjo de Estrutura Cordonal	80%	90%	90%	90%
Hemossiderose	30%	40%	40%	60%
Necrose	20%	20%	20%	40%

A esteatose hepática foi caracterizada pela presença de vacúolos citoplasmáticos arredondados e claros, sendo que em alguns casos os hepatócitos apresentaram-se aumentados e com núcleo deslocado para a periferia da célula (Figura 1A, B).

Nos fígados em princípio de necrose, prevaleceram hepatócitos com o citoplasma claro, vacuolizados, núcleo deslocado para a

periferia da célula e desarranjo da estrutura cordonal. Em tecidos com necrose severa, destacou-se regiões do tecido em que os núcleos exibiam picnose e/ou cariólise, com membranas celulares descontínuas (Figura 1C).

Nos fígados com congestão, os capilares sinusóides mostraram-se bem delimitados e as veias dilatadas. Nesses fígados, foram observadas células pancreáticas em torno de arteríola, vênula e do ducto biliar. Em alguns animais, o tecido hepático apresentou infiltrado leucocitário com localização difusa e multifocal (Figura 1D). Observou-se também, a presença de pigmentos de hemossiderina (Figura 1E, F) dispersos no parênquima hepático, que se destacavam ao microscópio óptico como grânulos de cor marrom escura, tamanho variável e aspecto refringente.

O manganês estava acima da concentração permitida ao atingir 0,3 mg/L. O ferro também apresentou uma concentração elevada de 2,3 mg/L. O cobre e o cromo apresentaram-se dentro do padrão permitido. Com relação ao oxigênio dissolvido, pH e dureza total, os resultados demonstraram que os níveis estavam bem inferiores ao recomendável segundo a resolução 357 CONAMA para cultivo de organismos aquáticos.

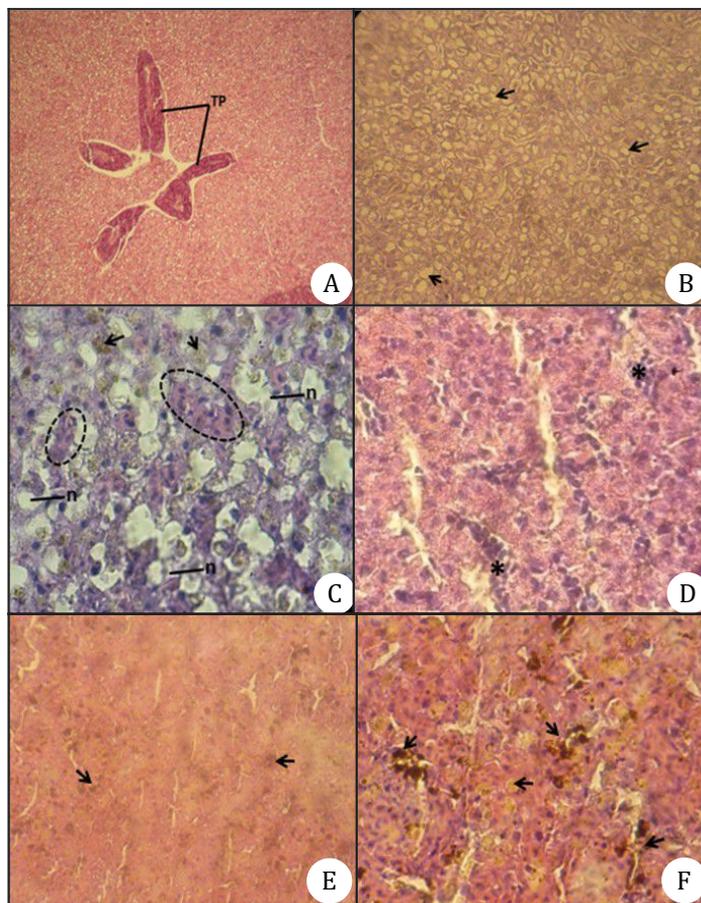


Figura 1. A- Aspecto geral do fígado de *C. macropomum* com esteatose, onde se observa um aspecto esponjoso, presença de vacúolos de gordura, destacando-se a presença do tecido pancreático exócrino (TP). HE. Objetiva 20X. B- Esteatose (setas) nos hepatócitos de *C. macropomum*. HE. Objetiva 40X. C- Parênquima hepático com presença multifocal de necrose (n). Além disso pode-se observar a congestão dos capilares sinusóides (linha tracejada) e pigmentos de hemossiderina (setas). HE. Objetiva 100X. D- Fotomicrografias de fígado em que se observa a presença de infiltrado leucocitário. HE. Objetiva 100X. E, F- Tecido hepático de *C. macropomum*, em que se observa o desarranjo cordonal e a presença de pigmentos de hemossiderina (hemossiderose) (setas). HE. Objetiva 10X. (E) Objetiva 40X. (F) / **Figure 1.** A- General aspect of *C. macropomum* liver with steatosis, which is observed a spongy appearance, presence of fat vacuoles, highlighting the presence of exocrine pancreatic tissue (TP). HE. Objective 20X. B- Steatosis (arrows) in *C. macropomum* hepatocytes. HE. Objective 40X. C- Hepatic parenchyma with multifocal presence of necrosis (n). Furthermore it can be seen congestion of the capillary sinusoids (dashed line) and hemosiderin (arrows). HE. Objective 100X. D- Photomicrographs liver where there is the presence of leukocyte infiltrate. HE. Objective 100X. E, F- Liver tissue *C. macropomum*, in which there is a breakdown cordonal and the presence of hemosiderin (hemossiderosis) (arrows). HE. Objective 10X. (E) Objective 40X. (F).

Discussão

Anatomicamente, o fígado dos tambaquis analisados apresentou características semelhantes à de outros teleósteos em condições normais (BRUSLÉ; ANADON, 1996; VICENTINI et al., 2005) sendo a maior glândula observada dentro da cavidade celomática com as divisões de três lobos hepáticos (direito, esquerdo e lobo ventral) (COSTA et al., 2012).

No presente estudo, foram evidenciadas alterações estruturais no fígado, que são conhecidas como hepatodistrofias (hipertrofia de hepatócitos, congestão esteatose e necrose), que, em parte, foram determinadas pelo acúmulo de gorduras, caracterizando a esteatose, bem como pela presença de células sanguíneas do parênquima hepático, sendo diagnosticada como congestão (HIBIYA, 1982).

Segundo Coelho (2002) essas alterações ocorrem quando a gordura transportada para o fígado não é oxidada e fica retida, podendo ocorrer devido intoxicação por arsênio, clorofórmio, tetracloreto de carbono e micotoxinas e também por insuficiência de fatores lipotróficos como colina e metionina. Estas hepatodistrofias também foram descritas por Rodrigues et al. (2010) em *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850 (piapara) e *Eugerres brasiliensis* Cuvier, 1830 (carapeba).

A esteatose observada pode ser consequência de distúrbios metabólicos decorrentes da ação de produtos tóxicos e, em vários processos antecede a necrose (ROBBINS; COTRAN, 2005) esse distúrbio se dá pelas altas concentrações de metais na água (manganês e ferro). Esta patologia também foi observada por Francisco (2006) e Campos et al. (2006) em peixes mantidos em locais contaminados por pesticidas agrícolas, mas diferem dos achados por Thomas (1990), Silva (2004), Santos et al. (2004) e Camargo e Martinez (2007), que mesmo em ambientes poluídos os peixes não desenvolveram esse tipo de lesão.

Neste estudo a prevalência de necrose variou de 20% a 30% e a presença de infiltrado leucocitário de 10% a 30%. Bernet et al. (1999) e Azevedo (2008), em seus estudos histopatológicos de fígado também encontraram prevalências destas patologias em organismos zonas estuarinas sendo estas: necrose (71%) e infiltrado de leucocitário (41%). A mesma prevalência foi descrita por Rocha (2009) na ictiofauna do sistema estuarino de Santos (SP). Além das diferenças entre as espécies, provavelmente isso seja um indicativo de que os contaminantes responsáveis por estas lesões sejam comuns, se tornando uma resposta fisiológica a eles.

A ocorrência de necrose também foi observada por Silva (2004) e Camargo e Martinez (2007) em peixes do ribeirão Cambé (RN) poluído por esgotos domésticos e efluentes rurais, e por Francisco (2006) e Campos et al. (2006) em peixes de locais contaminados por pesticidas agrícolas.

Rocha et al. (2010) destaca que a necrose pode ter várias causas, como a conversão de um contaminante em um metabólito tóxico que pode incluir radical livre ou oxigênio reativo. Estes levam a lesão peroxidativa dos lipídios da membrana e consequentemente a necrose.

Chang et al. (1998) ao monitorarem linguado (*Pleuronectes americanus* Walbaum, 1792) nos estuários da costa nordeste dos Estados Unidos, estimaram alta associação positiva entre lesões necróticas no fígado e contaminantes, como alguns congêneres de PCBs (bifenilas policloradas) e alguns metais como arsênio, zinco, níquel e mercúrio. Também, lesões inflamatórias tiveram associação positiva com hidrocarbonetos policíclicos aromático (HPAs) PCBs, pesticidas e elementos como cromo, chumbo e selênio.

Souza et al. (2001) e Fujimoto et al. (2008) descreveram alterações nos hepatócitos de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, que estavam revestidos com células endoteliais, e

apresentavam citoplasma claro com o núcleo central, no entanto, em outras regiões se pode observar que havia deslocamento do núcleo para a periferia das células. Estas descrições também foram realizadas por Grizzle e Rogers (1985) em *Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818.

Em relação ao infiltrado leucocitário pode-se dizer que é uma resposta inespecífica, produzida tanto por agentes químicos como por patógenos. Sua função é manter a integralidade do tecido infectado quando estímulos físicos, químicos ou por parasitos, afetam fortemente o tecido (ROCHA et al., 2010). Portanto a presença de uma extensa área de infiltração leucocítica nos fígados analisados indica que o tecido em questão estava sofrendo grande influência de um agente externo, neste caso comparando com os resultados obtidos a partir da análise de metais, proveniente das elevadas concentrações de manganês e ferro.

Rocha et al. (2010) relata que em *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758 o ferro também aparece equitativamente distribuído por todo o órgão. Além disso a acumulação de grânulos férricos observada nos hepatócitos, provavelmente está sob a forma de ferritina intracelular. Após ser transportado na corrente sanguínea, o ferro deposita-se nos órgãos com capacidade armazenadora (PEREIRA et al., 1999).

Rocha (2010) destaca, assim como neste estudo que embora o fígado de robalo não apresente Centros melanomacrofágicos (CMM), foi observado que este tecido apresentava sobrecarga de ferro. Os CMM são elementos críticos do sistema imune de peixes, sendo descritos em inúmeros peixes teleósteos, sendo responsáveis pela resposta imune contra materiais de origem externa (BOMBONATO et al. 2007; HARTLEY et al., 1996; LEKNES 2002; MANERA et al., 2000).

Segundo Rocha et al. (2010) os CMMs foram pouco evidenciados nos fígados de *Brachyplatystoma rousseauxii* Castelnau, 1855. É relatado que as variações do tamanho e do número de CMM podem estar relacionadas com a idade, o estado nutricional, a doença e as condições ambientais. O pigmento melanina pode ter um efeito protetor contra os poluentes, e níveis elevados de melanina e lipofuscina presente nestas estruturas podem proteger contra danos celulares, pois absorvem radicais livres (BOMBONATO et al., 2007; HARTLEY et al., 1996).

Pereira (2004) relata que estas estruturas não foram observadas em *D. labrax* em seus estudos provenientes de instalação aquícola localizada no norte de Portugal, semelhante ao observado no presente estudo.

O fato de não se ter encontrado CMM nos fígados analisados, especialmente os fígados mais alterados, sugere um dano tecidual agudo, que segundo Rocha et al. (2010), compromete o mecanismo de defesa e pode até levar à morte do peixe.

A qualidade da água é um dos fatores mais importantes para o sucesso do cultivo de organismos aquáticos (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994; VINATEA ARANA, 2003). De todos os fatores químicos indicadores da qualidade da água, o oxigênio é o mais importante. Ele é essencial à vida dos organismos aquáticos (KUBITZA, 2003; ROCHA et al., 2004) e, quando em baixa concentração, pode atrasar o crescimento, reduzir a eficiência alimentar e aumentar a incidência de doenças e de morte. Segundo Boyd (1990) valores de OD acima de 4 mg/L são adequados para o cultivo de peixes. Sendo assim, o ambiente estudado apresentou concentrações impróprias para o cultivo de peixes.

Sipaúba-Tavares (1995) afirma que as variações de pH podem ser mais acentuadas caso não haja estabilidade no teor de carbonato no meio. Tem sido reportado que os pontos letais de pH alto e pH baixo são de 4 e 11, respectivamente. Valores abaixo de 6,0 e acima de 9,5 atrapalham o crescimento e a reprodução dos organismos aquáticos (KUBITZA, 2003). O pH exerce um profundo

efeito sobre o metabolismo e os processos fisiológicos de peixes, camarões e outros organismos aquáticos, além de exercer forte influência sobre a toxicidade de certos parâmetros químicos, pois as águas ácidas apresentam maior concentração de metais (WOYNAROVICH, 1988; VINATEA ARANA, 2004).

Nas águas naturais, os metais podem se apresentar na forma de íons hidratados de complexos estáveis que se mantêm em suspensão, absorvidos em partículas em suspensão que se mantêm na massa líquida, ou se misturam nos sedimentos do fundo, podendo também ser incorporados por organismos vivos (PIVELI; KATO, 2005).

Gul et al. (2004) relatam que caminhos preferenciais pelos quais os metais são transportados na água dependem de diversos fatores de naturezas físicas, químicas e biológicas.

Os dados encontrados não confrontam a literatura e demonstram que os peixes de ambientes de exploração de minério, embora aparentemente saudáveis, podem ter a saúde comprometida particularmente pelo alto grau de poluentes químicos encontrado na região. No caso das hepatodistrofias o problema é de certo modo prejudicial uma vez que o efeito no peixe colabora para alarmar a presença de metais, pois a intoxicação pode colocar em risco a saúde dos consumidores mediante os dados apresentados nessa pesquisa.

Conclusão

As alterações apresentadas pelos espécimes de tambaqui são compatíveis à intoxicação por metais como o ferro e o manganês sendo similares a outros teleosteos, levando-se em consideração que os mesmos habitam uma zona de influência mineradora, inclusive por estes elementos estarem difusos no meio aquático, podendo sofrer efeitos cumulativos, sendo bons bioindicadores ambientais.

Faz-se necessário estudos posteriores da concentração desses e de outros metais nos músculos desses peixes para que se possa verificar a influência de doenças em decorrência do consumo humano, já que este produto é muito comercializado na região, sendo este um dado importante à saúde pública.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Espectrometria e Absorção Atômica da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) e ao Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) pelo auxílio e utilização da infraestrutura e sua equipe.

Referências Bibliográficas

- ALBINATI, A. C. L., et al. Biomarcadores histológicos – toxicidade crônica pelo Roundup em piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 621-627, 2009.
- AZEVEDO, J. S. **Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/ São Vicente e Cananéia, São Paulo, Brasil**. 2008. 219 f. In: Tese (Doutorado em oceanografia química e geológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 2008.
- BERNET, D. H., et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.
- BOMBONATO, M. T. S.; ROCHEL, S. S.; VICENTINI, C. A.; VICENTINI, I. B.F. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum - Biological Science**, v. 29, p. 81-85, 2007.
- BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing, 1990.
- BRUSLÊ, J.; ANADON, G.G. The Structure and function of fishliver. In: MUNSHI, J.S.D.; DUTTA, H.M. (Ed.). **Fish morphology horizon of new research**. Lebanon: Science Publishers Inc., 1996. p. 77-93.
- CAMARGO, M.M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.
- CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**,

- v. 17, n. 4, p. 200-205, 2006.
- CHANG, S.; ZDANOWICZ, V. S.; MURCHELANO, R. A. Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north – east United States estuaries. **ICES Journal of Marine Science**, v. 55, p. 954-969, 1998.
- COELHO, H.E. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2002. P
- COSTA, G. M.; ORTIS, R. C.; LIMA, M. G.; CASALS, J. B.; LIMA, A. R.; KFOURY, J.R. Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 947-950, 2012.
- FRANCISCO, C. J. **Fauna parasitária e alterações teciduais em peixes oriundos de pisciculturas com mono ou policultivo do médio vale do Itajaí, SC**. 49f. 2006. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- FUJIMOTO, R. Y.; CRUZ, C.; MORAES, F. R. Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 1, p. 117-124, 2008.
- GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the Tambaqui, (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, p. 107-133, 1982.
- GRIZZLE, J. M.; ROGERS, W. A. **1985 Anatomy and Histology of the Channel Catfish**, ed Auburn University, Auburn, Alabama, 94p.
- GUL, S.; BELGE-KURUTAS, E.; YILDIZ, E.; SAHANC, A.; DORAN, F. Pollution correlated modifications of liver antioxidant system and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. **Environmental International**, v. 30, n. 5, p. 605-609, 2004.
- HARTLEY, W. R., et al. Liver Lesions in Gar Fish (Lepisosteidae) as Biomarkers of Exposure. **Marine Environmental Research**, v. 42, p. 217-221, 1996.
- HIBIYA, T. **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. New York: Kodansha Tokyo, 1982. 147 p.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6a ed. São Paulo: Editora Manole, 2000. p. 75.
- KÖHLER, A.; DEISEMANN, H.; LAURITZEN, B. Histological and cytochemical indices of toxic injury in the liver of dab *Limanda limanda*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 91, p. 141-153, 1992.
- KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. São Paulo, 2003.
- KUMAR, V.; PERKINS, J.A. **Robbins e Cotran patologia: bases patológicas das doenças**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.
- LEKNES, I. L. Uptake of foreign ferritin in platy *Xiphophorus maculatus* (Poeciliidae: Teleostei). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 51, n. 3, p. 233-237, 2002.
- MANERA, M.; SERRA, R.; ISANI, G.; CARPENÈ, E. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. **Journal of Fish Biology**, v. 57, p. 457-465, 2000.
- MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. Caracterização morfológica e ultrastrutural do epitélio branquial de peixes teleosteos. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. XI, p.13-36, 2004.
- MONTEIRO, M.A.; **Meio século de mineração industrial na Amazônia e suas implicações para o desenvolvimento regional**, Belém, 2005, p 187 -207.
- OLIVEIRA, D. M. F. **Caracterização morfológica do fígado de Oscar (*Astronotus ocellatus*)**. Disponível em: <www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R1170-1.pdf>. Acessada em 16/02/2016.
- PEREIRA, M. C.; PEREIRA, M. L.; SOUSA, J. P. Histological effects of iron accumulation on mice liver and spleen after administration of a metallic solution. **Biomaterials**, v. 20, p. 2193-2198, 1999.
- PEREIRA, F. A. M. **O papel do Fe na interação peixe/ Agente patogênico**. In: Dissertação (mestrado) Instituto Ciências do Mar Universidade do Porto, 2004.
- PIVELI, R. P.; KATO, M. T. **Qualidade das Águas e Poluição: Aspectos Físico-Químicos**. 01. ed. São Paulo/SP: ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005. v. 01. 285p
- PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994.
- REZENDE, K. F. O. **Alterações morfológicas de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) exposta às águas da Represa Billings**. 60f. 2011. Dissertação (Mestrado Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2011.
- ROBBINS, S.; COTRAN, R.S. **Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. (Eds) Elsevier: Rio de Janeiro. 2005. 1592p.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à química ambiental**. Porto Alegre Bookman, 2004.
- ROCHA, M. L. C. F. **Indicadores ecológicos e biomarcadores de contaminação ambiental na ictiofauna da baía de Santos e no Canal de Bertilonga, São Paulo, Brasil**. In Tese(Doutorado) Oceanografia Biológica. Universidade de São Paulo 2009.
- ROCHA, R. M.; COELHO, R. P.; MONTES, C. S.; SANTOS, S.S.D.; FERREIRA, M. A. P. Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (castelnau, 1855) da baía do Guajará, Belém, Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 101-109, 2010.

- RODRIGUES, E. P.; SILVA, M. R. M.; PALHETA, D. C.; COSTA, D. A.; PEREIRA, W. L. P. **Aspectos histopatológicos em peixes de água doce (*Leporinus elongatus* e *Eugerres brasiliensis*) capturados em área de mineração da Amazônia brasileira 2010**. Disponível em <www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/844.pdf>. Acessada em 17/02/2016.
- SANTOS, A. A, et al. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.
- SANTOS, F. N.; PEREIRA, C. W.; LIMA, B. L. S.; MENESES, T. S. Riscos para a saúde no consumo de carne de tubarão contaminado por metilmercúrio, **Cadernos de Pós-graduação**, v. 1, n. 1, p. 83-94, 2005.
- SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores de contaminação aquática**. 2004. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2004.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995.
- SOUZA, V. L.; LUNARDI, L. O.; VASQUES, L. H.; CASALETTI, L.; NAKAGHI, L. S. O.; URBINATI, E. C. Morphometric alterations in hepatocytes and ultrastructural distribution of liver glycogen in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) during food restriction and refeeding. **Brasiliam São Paulo**, 18(1): 15-20.2001.
- SOUZA, R. **Guariso de Peixes como bioindicadores na microbacia do córrego Tarumã (Naviraí-MS): influência da qualidade ambiental na biologia de espécies dos gêneros *Astyanax* (Characiformes) e *Hypostomus* (Siluriformes)** / Rosangela Guariso de Souza. Dourados, MS: UEMS, 2012.
- THE, S. J.; ADAMS, S. M.; HINTON, D. E. **Histopathological biomarkers in feral freshwater fish water fish populations exposed to different types of contaminant stress**. *Aquatic Toxicology*, Amsterdam, v. 37, p. 51-70, 1997.
- THOMAS, P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. **American Fisheries Society Symposium**, v. 8, p. 9-28, 1990.
- VICENTINI, C. A. et al. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v. 23, n. 3, p. 211-216, 2005.
- VINATEA ARANA, L. **Fundamentos de aquicultura**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2003.
- _____. **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. 2.ed. Florianópolis: UFSC, 2004.
- WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1988. 220p.
- ZELIKOFF, J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals *Toxicology*, **Limerick**, v. 129, n. 1, p. 63-71, 1998.