

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação da toxicidade dos congêneres BDE-47 e BDE-99 de éter de bifenilas polibromadas (PBDEs) utilizando ensaios mitocondriais

Murilo Pazin Silva

**Ribeirão Preto
2013**

RESUMO

PAZIN-SILVA, M. **Avaliação da toxicidade dos congêneres BDE-47 e BDE-99 de éter de bifenilas polibromadas (PBDEs) utilizando ensaios mitocondriais.** 62f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Os éteres de bifenilas polibromados (PBDEs) são largamente usados como retardadores de chama e têm sido detectados no sangue humano, tecido adiposo e leite materno devido às suas propriedades físico-químicas e bioacumuladoras e à sua elevada persistência no meio ambiente. Muitos estudos têm relatado toxicidade hepática relacionada à exposição aos PBDEs. Como efeitos citotóxicos são frequentemente associados à disfunção mitocondrial, no presente estudo, investigamos a toxicidade do BDE-47 em mitocôndrias isoladas de fígado de rato. Nos seguintes parâmetros: potencial de membrana mitocondrial, consumo de oxigênio, interação com a membrana mitocondrial, liberação de cálcio, inchamento mitocondrial e os níveis de ATP da suspensão mitocondrial com a finalidade de observar a capacidade do composto em interferir com a bioenergética da organela. Avaliou-se ainda a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), dos níveis de GSH/GSSG, níveis mitocondriais de grupos sulfidríla de proteínas e níveis mitocondriais de NAD(P)H com o intuito de analisar o estado redox mitocondrial. Os congêneres BDE-47 e BDE-99 foram avaliados em concentrações que variaram entre 0,1 e 50 $\mu\text{mol/L}$. Os dois congêneres de PBDEs apresentaram toxicidade mitocondrial afetando todos os parâmetros que avaliam a bioenergética mitocondrial culminando em uma depleção do ATP. Por outro lado, nos ensaios de avaliação do estresse oxidativo os PBDEs estudados não demonstraram qualquer efeito, no entanto, afetaram a cadeia respiratória mitocondrial, o que normalmente reflete em um acúmulo de espécies reativas de oxigênio. Estes resultados são explicados pelo mecanismo de ação destes compostos como retardante de chama, pois durante a combustão os retardantes de chama bromados realizam a neutralização de radicais livres (OH^\bullet e H^\bullet). Conclui-se assim que os PBDEs podem levar à disfunção bioenergética e assim induzir a morte celular pela diminuição do ATP. Observou-se ainda que BDE-47 apresentou maior toxicidade do que o BDE-99 sobre os parâmetros estudados.

Palavras-chave: Éter de bifenilas polibromadas, Bioenergética, Mitocôndrias.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contaminantes emergentes

No mundo todo existem cerca de onze milhões de substâncias químicas, das quais aproximadamente três mil são produzidas em larga escala e poucas, aproximadamente 50, são regulamentadas pelos parâmetros de potabilidade da água na maioria dos países, incluindo o Brasil (NETO, 2010).

Atualmente, os estudos de Toxicologia Ambiental têm voltado sua atenção para compostos originados em processos antropogênicos. Dentre estes, encontramos alguns que são atualmente classificados como “contaminantes emergentes”, sendo estes compostos de amplo espectro, originados de diferentes tipos de produtos químicos (sintético ou natural). Entre os contaminantes emergentes, destacam-se os retardantes de chama, produtos farmacêuticos, plastificantes, agentes tensoativos, certos praguicidas, entre outros que não eram conhecidos ou não reconhecidos como contaminantes ambientais, sendo seus efeitos ao meio ambiente e ao homem relativamente desconhecidos (MATAMOROS et al., 2012).

Os níveis dessas substâncias têm aumentado em diversos compartimentos ambientais devido a atividades industriais, efluentes residenciais e das estações de tratamento de água e esgoto (FONTENELE et al., 2009). Portanto, uma monitorização destes compostos no ambiente se faz necessária, particularmente na água, devido a grande extensão de ação e deslocamento destes compostos, adicionalmente às preocupações ecotoxicológicas (RODIL et al., 2012). Para tal, as agências de vigilância ambiental dispõem de altos valores e muito esforço para monitorar xenobióticos presentes em águas superficiais, sedimentos, animais aquáticos e ecossistema terrestre (DIAMOND et al., 2011). Entretanto, existe uma carência de dados toxicológicos, principalmente relacionados aos efeitos nocivos aos organismos, aos biomarcadores de exposição e potenciais danos ao ambiente (DIAMOND et al., 2011).

Dentre estes contaminantes, os *retardantes de chama polibromados* (PBDEs – Polybrominated Flame Retardants) merecem uma atenção especial por possuírem uma alta resistência no meio ambiente e assim serem considerados como poluentes orgânicos persistentes (POPs) (SHE et al., 2013). Estes compostos possuem

características físicas, químicas e bioacumulativas semelhantes às amplamente estudadas Bifenilas Policloradas (PCBs) e se assemelham também com relação à capacidade de difusão no ambiente e em tecidos humanos (SIDDIQI et al., 2003; PENA-ABAURREA et al., 2013). Os PCBs foram descobertos há mais de 100 anos e diversos trabalhos também relatam sua capacidade de causar hepatotoxicidade, neurotoxicidade, imunotoxicidade e alterações endócrinas assim como os PBDEs (ZHU et al., 2009; HORTON et al., 2013).

1.2 Retardantes de chama

A utilização dos retardantes de chama serve como medida de segurança na prevenção de incêndios. Estes são utilizados em indústrias de eletroeletrônicos, têxtil, automobilística e construção civil, sendo empregados em materiais como madeira, plásticos, papéis, utensílios de cozinha, dentre outros. (CHEVRIER et al., 2010; ANGIONI et al., 2013).

Sem estes retardantes de chama os bens de consumo se queimam com muita facilidade e rapidamente, o que leva a possíveis danos materiais e à saúde. Assim, durante ou após o processo de fabricação destes bens de consumo os retardantes de chama são adicionados a fim de tornar os materiais resistentes ao fogo ou à alta temperatura, inibindo ou suprimindo o processo de combustão e reduzindo o risco de lesões em casos de incêndio (PESTANA et al., 2008).

Atualmente existem mais de 175 substâncias químicas classificadas como retardantes de chama, dos quais os maiores grupos são os halogenados (bromados e clorados), seguidos de outros como: derivados de fósforo, de nitrogênio, melaminas e cargas inorgânicas (RAVICHANDRAN et al., 2011).

Nas últimas décadas houve um grande aumento na demanda de retardantes de chama, observando-se um aumento de mais de 600% entre os anos 2000 e 2011, passando de 310.000 toneladas/ano para 2 milhões toneladas/ano (BSEF, 2000; FROL, 2013). Neste último levantamento, os retardantes de chama bromados constituíam cerca de 20% dentre todos utilizados no mundo (FROL, 2013). O consumo dos retardantes de chama bromados (RCBs) varia de acordo com a região na qual são utilizados, esta variação deve-se principalmente à legislação nacional e às preferências dos produtores, sendo a indústria de aparelhos eletro-eletrônicos um

dos campos mais importantes de consumo e demanda destes compostos (WATANABE, 2003).

1.3 Retardantes de chama polibromados

Os retardantes de chama polibromados podem ser divididos em grupos, dos quais os mais utilizados são: bifenilas polibromadas (PBBs, do inglês polybrominated biphenyl), os éteres de bifenilas polibromadas (PBDEs, do inglês polybrominated diphenyl ether), dibenzo-p-dioxinas polibromadas (PBDDs, do inglês polybrominated dibenzo-p-dioxins) entre outros. Os PBDEs (Figura 1) são os mais empregados devido a sua alta eficiência contra a propagação da chama e o baixo custo (PESTANA et al., 2008).

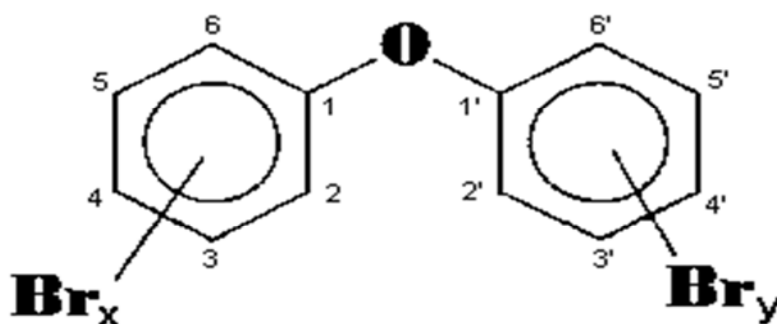


Figura 1. Estrutura química geral dos PBDEs ($x + y = 1$ a 10 átomos de bromo)
Fonte: INCHEM.

Dentre os PBDEs, os congêneres de baixo peso molecular (tri a hexa-BDE) são considerados os mais importantes do ponto de vista toxicológico, pois são absorvidos quase totalmente, lentamente excretados e apresentam alto potencial de bioacumulação (RICHARDSON; TERNES, 2005). Isto ocorre principalmente devido à baixa pressão de vapor e elevado coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$), (BRAEKEVELT; TITTEMIER; TOMY, 2003).

A resistência à chama está diretamente associada ao processo de combustão composto por pré-aquecimento, pirólise ou decomposição/volatilização, ignição e extinção (SACKS; LOHMANN, 2012). Os mecanismos de ação dos retardantes de chama se baseiam em princípios físicos (resfriamento ou diluição) ou químicos (neutralização de radicais, remoção por decomposição do polímero ou proteção

devido à carbonização). Estes mecanismos consistem essencialmente na neutralização dos radicais livres (OH^\bullet e H^\bullet) produzidos durante o processo de combustão, formados durante a ignição e responsáveis pela propagação da chama (Figura 2) (PESTANA et al., 2008).

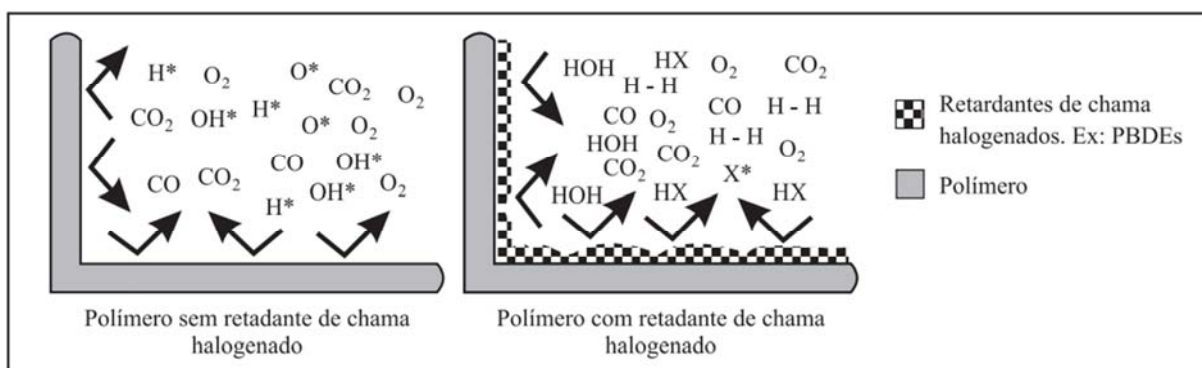


Figura 2. Mecanismo dos retardantes de chama halogenados na combustão
Fonte: PESTANA et al., 2008.

1.4 Toxicidade dos PBDEs

O contato do ser humano e do meio ambiente com os retardantes de chama pode ocorrer em diversas situações, como: na fabricação destes, na incorporação a produtos, durante o tempo de uso do produto contendo estas substâncias e também com efluentes contaminados pelo descarte inadequado (DANISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1999; UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2005).

Diversos autores têm relatado o potencial tóxico dos PBDEs. Entre seus principais efeitos estão a hepatotoxicidade (NASH; SZABO; CAREY, 2013), alterações imunológicas (FAIR et al., 2012), neurotoxicidade (SLOTKIN et al., 2013) e ações endócrinas (YU et al., 2011). Contudo, os mecanismos de ação tóxica ainda não foram bem elucidados, porém sabe-se que os compostos são resistentes a ácidos, bases, luz, calor, redução e oxidação (COSTA, 2006), com exceção do congênere BDE-209 (decabromado) que pode sofrer fotólise e formar compostos com menor número de bromos em sua estrutura (TALNESS et al., 2008). Portanto, em relação ao meio ambiente pode-se afirmar que são extremamente persistentes.

Ainda é importante ressaltar que Talness (2008) relatou que o deca-BDE poderia gerar outros congêneres por metabolismo ativo ou biotransformação, além da fotólise, com menos átomos de bromo em suas estruturas, como tetra-BDE e penta-BDE.

Koenig e colaboradores (2012) confirmaram em seu trabalho que a exposição perinatal ao BDE-47 pode ter consequências no neurodesenvolvimento e que a exposição lactacional representa um risco de exposição significativa durante o desenvolvimento de ratos. No mesmo sentido, Chen e colaboradores (2012) ao testarem o BDE-47 em *zebra-fish*, mostram que os padrões de conectividade neuronal foram alterados e isto pode contribuir para os déficits comportamentais motores.

Sjödin e colaboradores (1999) verificaram que trabalhadores suecos que atuavam desmontando manualmente equipamentos eletrônicos em jornada de trabalho de 8 horas/dia apresentaram concentrações 70 vezes maiores do congêneres BDE-183 quando comparados ao grupo controle. Outro estudo mais recente, quantificou BDE-47 em amostras de sangue de trabalhadores chineses em uma indústria de equipamentos eletrônicos e foi detectada uma presença maior deste composto em homens inférteis, relacionando este composto com esterilização (WANG et al. 2012).

Adicionalmente, um estudo realizado entre 2002 e 2003 com 157 mulheres australianas investigou a presença de PBDEs no leite materno. Em todas as amostras estudadas foram encontrados diferentes congêneres, principalmente BDEs -47, -99, -100, -153, -154 e -183 (TOMS et al., 2007). Um estudo similar avaliou o leite materno humano, verificando níveis elevados de todos os congêneres estudados (DANIELS et al., 2010).

Esses compostos são recalcitrantes no meio ambiente devido a sua alta lipofilicidade, podendo ser encontrados em diversos compartimentos ambientais, além dos vários fluidos biológicos humanos, como sangue e leite, já relatados anteriormente. A detecção destes compostos tem sido feita mesmo em locais remotos, como camadas polares, onde o lançamento não é esperado, demonstrando grande potencial de transporte (PESTANA et al., 2008; BIRNBAUM et al., 2003). Ikonomou e colaboradores (2002) constataram que se for mantida a taxa de bioacumulação de PBDEs em animais das regiões árticas, em 2050 os níveis dos retardantes de chama já será maior que o de PCBs. De acordo com este estudo, os

níveis de PBDEs aumentaram exponencialmente entre 1981 a 2000 na região ártica do Canadá.

Vários compartimentos ambientais sofrem com a ação dos PBDEs, conforme relatado por Hites (2004) em sua revisão sistemática de estudos existentes na época, na qual mostrou elevadas concentrações de PBDEs nos compartimentos ambientais e em amostras biológicas de humanos e animais. Foram relatadas concentrações de até 193 ng/g de lipídios em leites de lactantes americanas, além de 7500 ng/g em ovos de gaivota da região dos grandes lagos (EUA) e 67000 ng/g em ar de ambientes ocupacionais na Suécia.

Estudos mostraram que o PBDE-99 é capaz de induzir morte celular por apoptose, aumentando a concentração de radicais livres intracelular (SOUZA et al., 2013). Já o BDE- 47 demonstrou em outro estudo, também a capacidade de elevar a produção de radicais livres nas células, indicando a possibilidade de que a mitocôndria seja o principal alvo de toxicidade celular, levando a um aumento na produção destes radicais no interior da célula e indução de morte celular (HU et al., 2009).

1.5 Bioensaio mitocondrial em análises toxicológicas

1.5.1 Estrutura e função mitocondrial

A mitocôndria é a principal organela produtora de energia celular e possui papel fundamental na manutenção de diversas funções celulares. A maior parte das células eucarióticas possui mitocôndria e a quantidade destas pode variar de acordo com o tipo celular e necessidade de energia que o tecido nos quais se encontram requerem. Mesmo havendo variabilidade morfológica pode-se atribuir uma morfologia básica às mesmas, caracterizada por possuir um formato ovalado, comprimento de aproximadamente 0,5µm e 1µm de diâmetro, além de um sistema duplo de membranas, externa (MME) e interna (MMI), separadas pelo espaço intermembranar, sendo que a membrana interna delimita uma matriz amorfa rica em proteínas na qual está presente DNA mitocondrial (mtDNA) (OTERA; ISHIHARA; MIHARA, 2013).

A membrana mitocondrial externa é lisa, possui tamanho de área superficial fixa e contém em altas quantidades uma proteína transportadora chamada porina, a qual forma canais e torna a MME permeável às moléculas com tamanho menores que 5 kDa, cuja principal função é fazer a comunicação entre as mitocôndrias e a rede metabólica celular (STOWE; CAMARA, 2009). Além das porinas, existem outras proteínas presentes na MME, as quais realizam funções essenciais à mitocôndria, como síntese de lipídeos ou conversão de substratos lipídicos para o metabolismo (PORTER et al., 2011).

Diferentemente da membrana externa, a membrana interna apresenta várias invaginações, as quais são características por sua forma de cristas ou túbulos que contribuem para aumentar superfície de contato (DING et al., 2012). As cristas podem variar em quantidade e morfologia de acordo com demanda energética da organela (ZICK; RABL; REICHERT, 2009) e, ainda que as cristas sejam predominantes, existem formações tubulares como ocorre nas mitocôndrias de células que sintetizam esteroides (ALBERTS et al., 1997).

A permeabilidade da MMI também é diferente da presente na MME, pois a primeira é impermeável a quase todos os íons e moléculas polares e possui elevada quantidade de proteínas, sendo que muitas destas proteínas permitem o transporte de metabólitos selecionados (NICHOLLS; FERGUSON, 1982; STOWE; CAMARA, 2009). A permeabilidade diferenciada desta membrana é mediada e regulada por proteínas, as quais são associadas com as três principais funções da membrana interna, são elas: proteínas da cadeia respiratória, que transferem elétrons; proteínas do complexo enzimático denominado ATP-sintase, responsável por produzir ATP; e proteínas transportadoras específicas que regulam a passagem de metabólitos por essa membrana (LIMA; DUARTE; SÁ, 2010).

Como já citado, a mitocôndria é a principal produtora de energia celular, a qual encontra-se na forma de adenosina 5'-trifosfato, mais conhecido como ATP. Este composto é essencial em diversas funções celulares e sua síntese é realizada pela ATP-sintase acoplada à cadeia respiratória mitocondrial (Figura 3) (PEREIRA et al., 2012).

No espaço intermembranas, compreendido entre as duas membranas, há diferentes enzimas que utilizam o ATP gerado para fosforilar nucleotídeos ou sinalizar o desencadeamento de morte celular por apoptose (LIMA; DUARTE; SÁ, 2010).

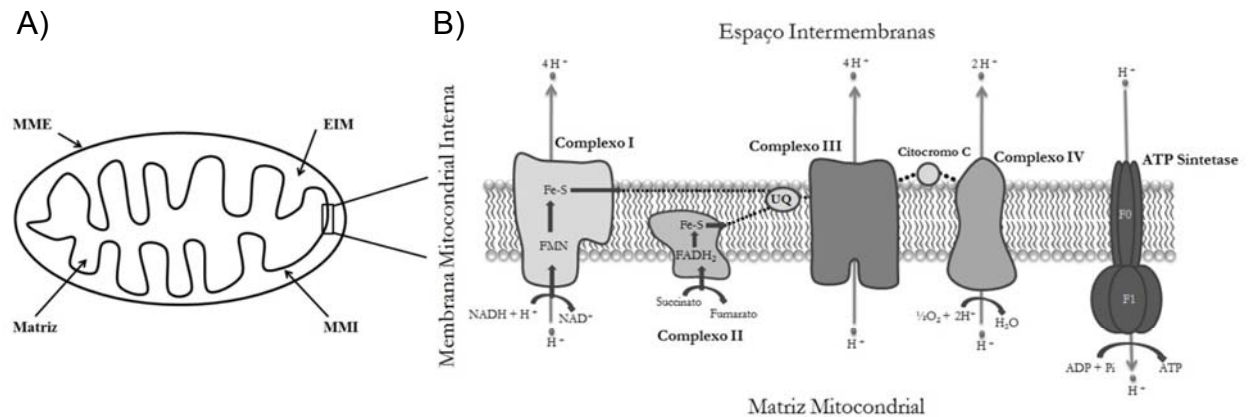


Figura 3. A) Figura representativa de uma mitocôndria com ênfase nos quatro compartimentos principais. MME – Membrana Mitocondrial Externa; EIM – Espaço Intermembranas; MMI – Membrana Mitocondrial Interna; e Matriz mitocondrial. B) Esquema representativo da cadeia respiratória (cadeia transportadora de elétrons – CTE) acoplada a ATP-Sintetase. A CTE está localizada na membrana interna MMI enquanto que o mtDNA está localizado na matriz mitocondrial, mesmo local que ocorre o ciclo do ácido cítrico (Ciclo de Krebs). A CTE é constituída por cinco complexos proteicos. Complexo I (NADH desidrogenase) e complexo II (succinato-desidrogenase), os quais recebem elétrons a partir de metabolismo intermediário, que são então transferidos para a coenzima Q e posteriormente entregues ao complexo III (citocromo c redutase). Estes elétrons são transportados do complexo III para o complexo IV (citocromo c oxidase) mediados pelo citocromo c, sendo esta a última etapa da cadeia transportadora de elétrons, o qual produto final é a formação de água através da redução do oxigênio molecular. O transporte de elétrons é acoplado ao bombeamento de prótons da matriz para o EIM, que é mediado pelos complexos I, III e IV. O gradiente eletroquímico ($\Delta\psi$) gerado pelo bombeamento de prótons durante a fosforilação oxidativa é utilizado como força motriz para o complexo V (ATP-sintase) produzir ATP (DUARTE, 2012; PEREIRA et al., 2012).

Fonte: PEREIRA et al., 2012.

A membrana interna delimita um compartimento denominado matriz, na qual se encontram diversas enzimas, entre elas as envolvidas no ciclo dos ácidos tricarbóxicos e na β -oxidação, além do mtDNA (LIMA; DUARTE; SÁ, 2010). Este material genético exclusivo, o mtDNA é diferente do DNA nuclear, sendo que o primeiro é caracterizado por um duplo filamento circular, compacto e sem íntrons. O mtDNA contém 37 genes que codificam 2 RNAs ribossômicos, 22 RNAs transportadores e 13 RNAs mensageiros (RNAm), que são traduzidos em 13 polipeptídeos envolvidos na fosforilação oxidativa. Enquanto que o DNA nuclear é conhecido por possuir longas fitas, constituídas cada uma por dupla hélice e que contém aproximadamente 100.000 genes (SCHEFFLER, 2001). O mtDNA codifica aproximadamente 10% das proteínas mitocondriais que são componentes essenciais de 4 dos 5 complexos responsáveis pela fosforilação oxidativa

mitocondrial, com exceção do complexo II que é formado, exclusivamente, por subunidades codificadas pelo DNA nuclear (nDNA). Portanto, para um bom funcionamento desta organela, uma boa cooperação entre o DNA nuclear e o DNA mitocondrial se faz necessária (SOUZA; GIUGLIANI, 2001).

1.5.2 Ação de xenobióticos sobre a mitocôndria

Conforme explicado anteriormente, a mitocôndria é a principal organela responsável por transformar a energia retirada dos alimentos em energia em uma forma útil às células, devido a isto, esta organela possui um papel fundamental na manutenção de várias funções celulares. Para ocorrer esta manutenção, a mitocôndria obtém oxigênio e substratos derivados de glicose, aminoácidos e ácidos graxos e como produto final há conversão destes substratos em moléculas de ATP (SRINIVASAN; AVADHANI, 2012). Assim, é de vital importância que se mantenha a integridade morfológica e funcional da organela, sendo esta um dos principais alvos de toxicantes (WALLACE; STARKOV, 2000). Portanto, espera-se encontrar um equilíbrio entre a geração e utilização de energia, avaliados a partir dos níveis de ATP e este equilíbrio assegura aos tecidos energia suficiente para que não ocorra dano celular (PEREIRA et al., 2012).

Quando xenobióticos agem como inibidores da cadeia respiratória, o O_2 disponível para a mitocôndria pode sofrer redução incompleta, isto gera o radical superóxido por meio da reação catalisada pela NADH-desidrogenase ou pelo ciclo da Ubiquinona (coenzima Q) (TURRENS, 1997). O aumento na formação de superóxido ou deficiência no sistema antioxidante levam à formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e este se acumula ocorrendo uma condição conhecida como estresse oxidativo. Nesta condição, juntamente com a presença de Fe^{2+} , há produção do radical hidroxil via reação de Fenton e Haber-Weiss (Figura 4). Este radical é capaz de induzir citotoxicidade por meio dos danos oxidativos, sendo que para este tipo de radical, não existe nenhum sistema antioxidante enzimático (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

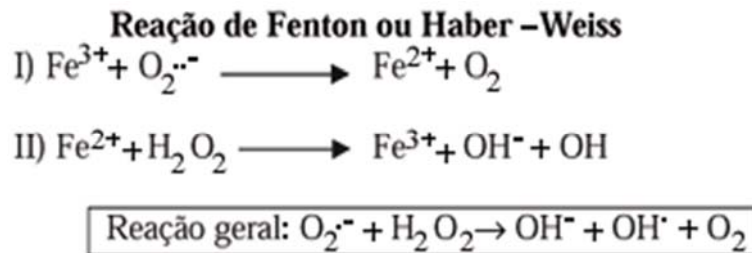


Figura 4. Esquema da Reação de Fenton e Haber-Weiss explicando a formação de radicais livres na presença de ferro livre.
Fonte: RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003.

Disfunções mitocondriais têm sido relacionadas a algumas doenças degenerativas, como a doença de Parkinson, e com a toxicidade de diversos compostos (RANA; RERA; WALKER, 2013; PEREIRA; SOUZA; DORTA, 2013; HUANG et al., 2011). Esta associação ocorre, pois como supracitado, alguns xenobióticos podem causar deficiências na funcionalidade da cadeia respiratória o que leva a uma diminuição na produção de ATP, à formação de radicais livres e a alterações nos mecanismos de regulação do cálcio intracelular. Todos estes eventos celulares podem induzir oxidação no DNA, de proteínas e de lipídeos, além de induzir a abertura do poro de transição de permeabilidade, um acontecimento que está correlacionado com os mecanismos de apoptose e morte celular (LEMASTERS, 1999).

1.5.3 Formação de poro de transição de permeabilidade

Caso haja um dano mitocondrial, várias mudanças podem ocorrer em sua fisiologia e estrutura, comprometendo assim diversas das funções mitocondriais já citadas. Adicionalmente pode ocorrer prejuízo no sistema de sinalização celular, pois esta organela também é responsável por vários destes processos, como o de sinalização de morte celular programada (apoptose) através de sistemas integrados de reações bioquímicas (BERNARDI; RASOLA, 2007).

Quando mitocôndrias isoladas entram em contato com elevadas concentrações de Ca^{2+} e/ou ocorre um desequilíbrio no estado oxidativo, pode haver um aumento de temperatura – devido à liberação de energia originada na CTE que não foi convertida em ATP. Já, quando a mesma entra em contato com alguns

xenobióticos podem sofrer o fenômeno descrito como Transição de Permeabilidade Mitocondrial (TPM). A TPM é um fenômeno mediado pela abertura de poros de natureza proteica na membrana interna mitocondrial, sendo que esta abertura de poros que gera uma alteração na permeabilidade mitocondrial é chamada de Poro de Transição de Permeabilidade (PTP) (RAO; CARLSON; YAN, 2013).

Três principais proteínas compreendem a formação PTP, são elas: o canal de ânion dependente de voltagem (VDAC) presente na membrana exterior; o translocador de nucleotídeo de adenina (ANT) localizado na membrana interna; e Ciclofilina D (CypD) encontrado na matriz (TSUJIMOTO; SHIMIZU, 2007). Quando agentes externos agem sobre a mitocôndria a CypD pode se ligar ao ANT causando a abertura do poro, seguido de um inchamento das mitocôndrias. Este processo pode ser inibido na presença de Ciclosporina A (CsA), devido ao fato de que a CsA inibe a ligação da CypD com a membrana interna mitocondrial, porém pode ocorrer a formação do PTP mesmo na ausência de CypD (PEREIRA et al., 2012; RAO; CARLSON; YAN, 2013).

Este processo é caracterizado por um aumento súbito da permeabilidade da membrana interna mitocondrial, podendo permitir a entrada de solutos que antes eram bloqueados (<1,5kDa), devido à abertura de um canal de alta condutância, sensível a Ciclosporina A e Ca^{+2} dependente (BERNARDI; RASOLA, 2007; TSUJIMOTO; SHIMIZU, 2007). A ocorrência da TPM causa vários distúrbios na mitocôndria, podendo levar a uma dissipação do potencial de membrana mitocondrial o que culmina em uma redução da produção de ATP (BERNARDI; RASOLA, 2007).

Em um ambiente experimental controlado, mitocôndrias isoladas de ratos podem sofrer uma transição de permeabilidade devido a três principais fatores: aumento do cálcio intracelular, t-butilhidroperóxido e fosfato (Pi) que agem por diferentes mecanismos. O cálcio entra na mitocôndria por meio de um canal uniporter eletroforético e desencadeia a transição por meio de uma ligação em sítio ainda desconhecido, podendo gerar produção de radicais livres. O t-butilhidroperóxido pode causar a abertura de poro, pois o mesmo é metabolizado pelo sistema glutatona peroxidase com oxidação do NAD(P)H que está associado à ocorrência de transição, mas também pode ser devido à supressão que o mesmo causa no sistema antioxidante. Por fim, o fosfato pode desencadear o evento de transição diminuindo a concentração de ADP na matriz mitocondrial (LAPIDUS; SOKOLOVE, 1994; RAO; CARLSON; YAN, 2013). Portanto, a formação de PTP leva

a um desequilíbrio homeostático mitocondrial, podendo levar a uma redução nos níveis de ATP e culminar em morte celular.

Outro ponto importante é que desde 1955 já era correlacionado o inchamento mitocondrial com a presença de xenobióticos como o fosfato, arsenato, arsenito e vários outros íons metálicos, assim descritos por Hunter e Ford (1955).

6. CONCLUSÃO

Conclui-se no presente trabalho que o BDE-47 e o BDE-99 interferem sobre a bioenergética mitocondrial, afetando parâmetros como o consumo de oxigênio, o potencial de membrana mitocondrial, a homeostase cálcica e a produção de energia, contudo não interferem com o estado redox desta organela. O BDE-47, tetra-BDE, apresentou maior toxicidade frente aos parâmetros bioenergéticos quando comparado com o BDE-99, penta-BDE, sendo que este maior efeito tóxico está relacionado com a menor quantidade de átomos de bromos presente na estrutura do tetra-BDE. Além disso, deve-se levar em consideração a posição destes átomos de bromo, pois esta também interfere nos mecanismos de ação tóxica destes compostos, tornando importante também o estudo de estrutura-atividade destas substâncias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDOVA, S.S.; KHOROSHAEV, V.A.; LEONOV, F.V. Morphofunctional characteristics of the heart mitochondria during adrenergic stimulation and blockade under ketamine anesthesia. **Anesteziol. Reanimatol.**, v. 6, p. 12-15, 1990.

AKERMAN, K.E.O.; WIKSTROM, M.K.F. Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential. **Febs Lett.**, v. 68, p. 191-197, 1976.

ALBERTS, B.; BRAY D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. *Biologia Molecular da Célula*. 3ªed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1549p, 1997.

AMACHER, D.E. Drug-associated mitochondrial toxicity and its detection. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 16, p. 1829-1839, 2005.

ANGIONI, S.A.; SCORTICHINI, G.; DILETTI, G.; PERLETTA, F.; CECI, R.; FERRI, N. Study of the toxic effects of flame retardant PBDE-47 on the clam *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758). **Veterinaria Italiana**, v. 49, n. 1, p. 69-77, 2013.

BAZIL, J.N.; BLOMEYER, C.A.; PRADHAN, R.K.; CAMARA, A.K.; DASH, R.K. Modeling the Calcium sequestration system in isolated guinea pig cardiac mitochondria. **J Bioenerg Biomembr**, v. 45, n. 3, p. 177-188, 2013.

BERNARDI, P.; RASOLA, A. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis. **Apoptosis**, v. 12, p. 815-833, 2007.

BERNARDI, P.; SCORRANO, L.; COLONNA, R.; PETRONILLI, V.; DI LISA, F. Mitochondria and cell death: Mechanistic aspects and methodological issues. **European Journal Biochemistry**, v. 264, p. 687-701, 1999.

BHATHENA, S.J. Comparison of effects of decapitation and anesthesia on metabolic and hormonal parameters in Sprague-Dawley rats. **Life Sciences**. v. 50, n. 21, p. 1649, 1992.

BIRNBAUM, L.S.; STASKAL, D.F.; DILIBERTO, J.J. Health effects of polybrominated dibenzo-p-dioxins (PBDDs) and dibenzofurans (PBDFs). **Environment International**, v. 29, p. 855-860, 2003.

BRACHT, A.; IWAMOTO, E.L.I. O estudo do metabolismo energético em mitocôndrias isoladas de tecido animal. In: Métodos de laboratório em bioquímica. 1ª Ed, São Paulo, cap. 9, p. 227-246, 2003.

BRAEKEVELT, E.; TITTEMIER, S.A.; TOMY. Direct measurement of octanol–water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. **Chemosphere** v. 51, n. 7, p. 563-567, 2003.

BRANCA, D.; VAROTTO, M.L.; VINCENTI, E.; SCUTARI, G. The inhibition of calcium efflux from rat liver mitochondria by halogenated anesthetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 155, n. 2, p. 978-83, 1988.

BSEF - Brominated Science and Environmental Forum. European regulation and brominated flame retardants. Disponível em: <http://www.bsef.com/regulation/europe/an-overview-of-european-legislation>. Acessado em: 30/11/2013, 10:35. 2013.

BSEF. Bromine Science and Environmental Forum, Brussels, Belgium, 2000. Disponível em: <http://www.ebfrip.org/>. Acessada em novembro de 2013.

CAIN, K.; SKILLETER, D.N. Preparation and use of mitochondria in toxicological research. In: SNELL, K.; MULLOCK, B. (Eds.). **Biochemical Toxicology**. Oxford: IRL Press, p. 217-254, 1987.

Cal/EPA - California Environmental Protection Agency Sacramento, California. Polybrominated diphenyl ethers: recommendations to reduce exposure in California. A Report of the Cal/EPA PBDE Workgroup. 2006.

CÁLGARO-HELENA, A.F.; DEVIENNE, K.F.; RODRIGUES, T.; DORTA, D.J.; RADDI, M.S.; VILEGAS, W.; UYEMURA, S.A.; SANTOS, A.C.; CURTI, C. Effects of isocoumarins isolated from *Paepalanthus bromelioides* on mitochondria: Uncoupling, and induction/inhibition of mitochondrial permeability transition. **Chemico-Biological Interactions**, v. 161, p. 155-164, 2006.

CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; AMES, B.N. Detection of picomole levels of hydroperoxides using a fluorescent dichlorofluorescein assay. **Analytical Biochemistry**, v. 134, p. 111-116, 1983

CEPA - Canadian environmental protection act. Polybrominated Diphenyl Ethers Regulations Canada Gazette Part II, v.142, n.14. p.1665-1682. 2008.

CHANCE, B.; WILLIAMS; G.R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. **Adv. Enzymol.**, v. 17, p. 65-134, 1956.

CHEN, X.; HUANG, C.; WANG, X.; CHEN, J.; BAI, C.; CHEN, Y.; CHEN, X.; DONG, Q.; YANG, D. BDE-47 disrupts axonal growth and motor behavior in developing zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 15, p. 35-44. 2012.

CHEVRIER, J.; HARLEY, K.G.; BRADMAN, A.; GHARBI, M.; SJÖDIN, A.; ESKENAZI, B. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants and thyroid hormone during pregnancy. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 10, 2010.

COBURN, C.G.; CURRÁS-COLLAZO, M.C.; KODAVANTI, P.R. In vitro effects of environmentally relevant polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners on calcium buffering mechanisms in rat brain. **Neurochemical Research**. v. 33, n. 2, p. 355-364, 2008.

COSTA, V.Q. Ocorrência de éteres difenilicos polibromados em sedimentos, peixes e mexilhões da Baía de Guanabara. Rio de Janeiro, 2006. **Relatório Anual de Iniciação Científica** – Pontifícia Universidade Católica (PUC-RJ).

DABADIE, P.; BENDRISS, P.; ERNY, P.; MAZAT, J.P. Uncoupling effects of local anesthetics on rat liver mitochondria. **FEBS Letters**. v. 226, n. 1, p. 77-82, 1987.

DANIELS, J.L.; PAN, I.; JONES, R.; ANDERSON, S.; PATTERSON Jr., D.G.; NEEDHAM, L.L.; SJÖDIN, A. Individual characteristics associated with PBDE levels in U.S. human milk samples. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 1, 2010.

DANISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Brominated flame retardants substance flow analysis and assessment of alternatives. Environment Project Rep. n. 494, Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, 1999.

DEKUTOVICH, G.V.; KARGAPOLOV, A.V. Characteristic effect of local anesthetics on the phospholipid composition of mitochondria. **Vopr. Med. Khim.**, v. 32, n. 6, p. 38-41, 1986.

DIAMOND, J.M.; LATIMER, H.A.2ND.; MUNKITTRICK, K.R.; THORNTON, K.W.; BARTELL, S.M.; KIDD, K.A. Prioritizing Contaminants of Emerging Concern for Ecological Screening Assessments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 30, n. 11, p. 2385-2394, 2011.

DING, W.X.; LI, M.; BIAZIK, J.M.; MORGAN, D.G.; GUO, F.; NI, H.M.; GOHEEN, M.; ESKELINEN, E.L.; YIN, X.M. Electron microscopic analysis of a spherical mitochondrial structure. **J Biol Chem**, v. 287, n. 50, p. 42373-42378, 2012.

DORTA, D.J.; PIGOSO, A.A.; MINGATTO, F.E.; RODRIGUES, T.; PRADO, I.M.; HELENA, A.F.; UYEMURA, S.A.; SANTOS, A.C.; CURTI, C. The interaction of flavonoids with mitochondria: effects on energetic processes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 152, p. 67-78, 2005.

DRIESSEN, J. J. Neuromuscular and mitochondrial disorders: what is relevant to the anaesthesiologist? **Current Opinion in Anaesthesiology**. v. 21, n. 3, p. 350, 2008.

DUARTE, F.V. Dibenzofuran exposure: cellular and mitochondrial damage. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. 178p. 2012.

EMAUS, R.K.; GRUNWALD, R.; LEMASTERS, J.J. Rhodamine 123 as a probe of transmembrane potential in isolated rat liver mitochondria: spectral and metabolic properties. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 850, p. 436-448, 1986.

FAIR, P.A.; STAVROS, H.C.; MOLLENHAUER, M.A.; DEWITT, J.C.; HENRY, N.; KANNAN, K.; YUN, S.H.; BOSSART, G.D.; KEIL, D.E.; PEDEN-ADAMS, M.M. Immune function in female B(6)C(3)F(1) mice is modulated by DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether mixture. **Journal of Immunotoxicology**. v. 9, n. 1, p. 96-107, 2012.

FONTENELE, E.G.P.; MARTINS, M.R.A.; QUIDUTE, A.R.P.; JÚNIOR, R.M.M. Contaminantes Ambientais e os Interferentes Endócrinos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 54, n. 1, p. 6-16, 2009.

FROL. Flame Retardants Online. Disponível em: <http://www.flameretardants-online.com/web/en/106/7ae3d32234954e28e661e506e284da7f.htm>. Acessado em: 16/11/2013 as 19:18.

HAJNOCZKY, G.; MADESH, M. Calcium signaling and apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 304, p. 545-554, 2003.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine, 3ª ed. **Oxford University Press**, New York., 1999.

HARJU, M.; HAMERS, T.; KAMSTRA, J.H.; SONNEVELD, E.; BOON, J.P.; TYSKLIND, M.; ANDERSSON, P.L. Quantitative structure-activity relationship modeling on in vitro endocrine effects and metabolic stability involving 26 selected brominated flame retardants. **Environ Toxicol Chem**. v. 26, n. 4, p. 816-26, 2007.

HAUGAARD, N. Reflections on the role of the thiol group in biology. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, p. 148-158, 2000.

HERTSENS, R.; JACOB, W.; VAN BOGAERT, A. Effect of hypnorm, chloralose and pentobarbital on the ultrastructure of the inner membrane of rat heart mitochondria. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v. 769, n. 2, p. 411-418, 1984.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, p. 214-226, 1976.

HITES, R. A. Polybrominated Diphenyl Ethers in the Environment and in people: A Meta-Analysis of Concentrations. **Environmental Science e Technology**, v. 38, p. 945-956, 2004.

HORTON, M.K.; BOUSLEIMAN, S.; JONES, R.; SJODIN, A.; LIU, X.; WHYATT, R.; WAPNER, R.; FACTOR-LITVAK, P. Predictors of serum concentrations of polybrominated flame retardants among healthy pregnant women in an urban environment: a cross-sectional study. **Environmental Health**, v. 12, n. 1, p. 23, 2013.

HU, X.; HU, D. XU, D. Effects of tetrabrominated diphenyl ether and hexabromocyclododecanes in single and complex exposure to hepatoma HepG2 cells. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, p. 327-337, 2009.

HUANG, P.; LI, J.; ZHANG, S.; CHEN, C.; HAN, Y.; LIU, N.; XIAO, Y.; WANG, H.; ZHANG, M.; YU, Q.; LIU, Y.; WANG, W. Effects of lanthanum, cerium, and neodymium on the nuclei and mitochondria of hepatocytes: accumulation and oxidative damage. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v. 31, n. 1, p. 25-32, 2011.

HUANG, S.C.; GIORDANO, G.; COSTA, L.G. Comparative cytotoxicity and intracellular accumulation of five polybrominated diphenyl ether congeners in mouse cerebellar granule neurons. **Toxicol Sci**, v. 114, n. 1, p. 124-132, 2010.

HUNTER Jr., F.E.; FORD, L. Inactivation of oxidative and phosphorylative system in mitochondria by preincubation with phosphate and others ions. **The Journal of biological chemistry**. v. 216, p. 357-369, 1955.

IKONOMOU, M.; RAYNE, S.; ADDISSON, R. Exponential Increases of the Brominated Flame Retardants, Polybrominated Diphenyl Ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. **Environmental Science e Technology**, v. 36, p. 1886-1892, 2002.

JAESCHKE, H.; GORES, G.J.; CEDERBAUM, A.I.; HINSON, J.A.; PESSAYRE, D.; LEMASTERS, J.J. Mechanisms of hepatotoxicity. **Toxicology Science**, v. 65, p. 166-176, 2002.

JOCELYN, P.C. Spectrophotometric assay of thiols. **Methods in Enzymology**, v. 143, p. 44-67, 1987.

KATER, J.M. Sodium amytal for anesthesia in studies on mitochondria. **Science**, v. 82, n. 2124, p. 256, 1935.

KOENIG, C.M.; LANGO, J.; PESSAH, I.N.; BERMAN, R.F. Maternal transfer of BDE-47 to offspring and neurobehavioral development in C57BL/6J mice. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 34, n. 6, p. 571-580. 2012.

KOWALTOWSKI, A.J.; CASTILHO, R.F.; VERCESI, A.E. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. **FEBS Letters**, v. 495, p. 12-15, 2001.

LA PIANA, G.; FRANSVEA, E.; MARZULLI, D.; LOFRUMENTO, N.E. Mitochondrial membrane potential supported by exogenous Cytochrome c oxidation Mimics the Early stages of apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 246, p. 556-561, 1998.

LAPIDUS, R.G.; SOKOLOVE, P.M. The mitochondrial permeability transition: Interactions of Spermine, ADP, and Inorganic Phosphate. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 29, p. 18931-18936, 1994.

LEE, R.V; SILBERBERG, H.; HARDY, M.; STEDEFORD, T. Fecundability and serum PBDE concentrations in women. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 8, 2010.

LEMASTERS, J.J. Mechanisms of hepatic toxicity V. Necrapoptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to necrosis and apoptosis. **American Journal of Physiology**, v. 276, n. 1, p. 1-6, 1999.

LEMASTERS, J.J.; DIGIUSEPPI, J.; NIEMINEM, A.L.; HERMAN, B. Blebbing. free calcium and mitochondrial membrane potential preceding cell death hepatocytes. **Nature**, v. 325, p. 78-81, 1987.

LENAZ, G.; CURATOLA, G.; MAZZANTI, L.; PARENTI-CASTELLI, G.; BERTOLI, E. Effects of general anesthetics on lipid protein interactions and ATPase activity in mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 27, n. 24, p. 2835-2844, 1978.

LIMA, T.F.O.; DUARTE, D.A.; SÁ, A.L.B. Mitocôndria Revisada. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 1, p. 94-107, 2010

LOOP, T.; DOVI-AKUE, D.; FRICK, M.; ROESSLEIN, M.; EGGER, L.; HUMAR, M.; HOETZEL, A.; SCHMIDT, R.; BORNER, C.; PAHL, H.L.; GEIGER, K.K.; PANNEN, B.H. Volatile anesthetics induce caspase-dependent, mitochondria-mediated apoptosis in human T lymphocytes in vitro. **Anesthesiology**, v. 102, n. 6, p. 1147, 2005.

MATAMOROS, V.; SALA, L.; SALVADÓ, V. Evaluation of a biologically-based filtration water reclamation plant for removing emerging contaminants: a pilot plant study. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 243-249, 2012.

MAZZANTI, L.; CURATOLA, G.; ZOLESE, G.; BERTOLI, E.; LENZA, G. Lipid protein interactions in mitochondria. VIII. Effect of general anesthetics on the mobility of spin labels in lipid vesicles and mitochondrial membranes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 11, n. 1-2, p. 17-32, 1979.

MINGATTO, F.E.; RODRIGUES, T.; PIGOSO, A.A.; UYEMURA, S.A.; CURTI, C.; SANTOS, A.C. The critical role of mitochondrial energetic impairment in the toxicity of nimesulide to hepatocytes. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 303, n. 2, p. 601-607, 2002.

MIRÓ, O.; BARRIENTOS, A.; ALONSO, J.R.; CASADEMONT, J.; JARRETA, D.; URBANO-MÁRQUEZ, A.; CARDELLACH, F. Effects of general anaesthetic procedures on mitochondrial function of human skeletal muscle. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 55, n. 1, p. 35-41, 1999.

NAKAGAWA, Y.; SUZUKI, T.; ISHII, H.; OGATA, A. Biotransformation and cytotoxicity of a brominated flame retardant, tetrabromobisphenol A, and its analogues in rat hepatocytes. **Xenobiotica**, v. 37, n. 7, p. 693-708, 2007.

NASH, J.T.; SZABO, D.T.; CAREY, G.B. Polybrominated diphenyl ethers alter hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase enzyme kinetics in male Wistar rats: implications for lipid and glucose metabolism. **Journal of Toxicological Environmental Health**, v. 76, n. 2, p. 142-156, 2013.

NETO, M.L.F. Norma Brasileira de Potabilidade de Água: Análise dos parâmetros agrotóxicos numa abordagem de avaliação de risco. Rio de Janeiro, 2010. Tese de Doutorado, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ.

NICHOLLS, D.G.; FERGUSON, S.J. Bioenergetics 2. **Academic Press Inc.**: London, 1982.

OLIVEIRA, H.C.; COSSO, R.G.; ALBERICI, L.C.; MACIEL, E.N.; SALERNO, A.G.; DORIGHELLO, G.G.; VELHO, J.A.; DE FARIA, E.C.; VERCESI, A.E. Oxidative stress in atherosclerosis-prone mouse is due to low antioxidant capacity of mitochondria. **The FASEB Journal**, v. 19, p. 278-280, 2005.

OTERA, H.; ISHIHARA, N.; MIHARA, K. New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1833, n. 5, p. 1256-1268, 2013.

PARDO-ANDREU, G.L.; NUÑEZ-FIGUEREDO, Y.; TUDELLA, V.G.; CUESTA-RUBIO, O.; RODRIGUES, F.P.; PESTANA, C.R.; UYEMURA, S.A.; LEOPOLDINO, AM.; ALBERICI, L.C.; CURTI C. The anti-cancer agent nemorosone is a new potent protonophoric mitochondrial uncoupler. **Mitochondrion**, v. 11, n. 2, p. 255-263. 2011.

PEDERSEN, P.L.; GREENAWALT, J.W.; REYNAFARJE, B.; HULLIHEN, J.; DECKER, G.L.; SOPER, J.W.; BUSTAMENTE, E. Preparation and characterization of mitochondria and submitochondrial particles of rat liver and liver-derived tissues. **Methods in Cell Biology**, v. 20, p. 411-481, 1978.

PENA-ABAURREA, M.; RAMOS, J.J.; GONZALEZ, M.J.; RAMOS, L. Miniaturized selective pressurized liquid extraction of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers from feedstuffs. **Journal of Chromatography A**, v. 1273, p. 18-25, 2013.

PEREIRA, L.C.; SOUZA, A.O.; DORTA, D.J. Polybrominated Diphenyl Ether Congener (BDE-100) Induces Mitochondrial Impairment. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 112, n. 6, p. 418-424, 2013.

PEREIRA, L.C.; SOUZA, A.O.; PAZIN, M. DORTA, D.J. Mitocôndria como alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 25, n. 1, p. 1-14, 2012.

PESTANA, C. R.; BORGES, K. B.; FONSECA, P.; OLIVEIRA, D. P. Risco ambiental da aplicação de éteres de difenilaspolibromadas como retardantes de chama. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 21, n. 2, p. 41-48, 2008.

PETRONILLI, V.; COSTANTINI, P.; SCORRANO, L.; COLONNA, R.; PASSAMONTI, S.; BERNARDI, P. The voltage sensor of the mitochondrial permeability transition pore is tuned by the oxidation-reduction state of vicinal thiols. Increase of the gating potential by oxidants and its reversal by reducing agents. **J Biol Chem**, v. 269, n. 24, p. 16638-41662, 1994.

PORTER Jr., G.A.; HOM, J.; HOFFMAN, D.; QUINTANILLA, R.; BENTLEY, K.M.; SHEU, S.S. Bioenergetics, mitochondria, and cardiac myocyte differentiation. **Progress in Pediatric Cardiology**, v. 31, n. 2, p. 75-81, 2011.

RAFAŁOWSKA, U. Transport of malate and citrate into rat brain mitochondria under hypoxia and anesthesia. **Neurochemical Research**, v. 4, n. 3, p. 355-364, 1979.

RAJDEV, S.; REYNOLDS, I.J. Calcium green-5N, a novel fluorescent probe for monitoring high intracellular free Ca²⁺ concentrations associated with glutamate excitotoxicity in cultured rat brain neurons. **Neuroscience Letters**, v. 162, p. 149-152, 1993.

RANA, A.; RERA, M.; WALKER, D.W. Parkin overexpression during aging reduces proteotoxicity, alters mitochondrial dynamics, and extends lifespan. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.**, v. 110, n. 21, p. 8638-8643, 2013.

RAO, V.K.; CARLSON, E.A.; YAN, S.S. Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for neurodegeneration. **Biochim. Biophys. Acta. In Press** <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.09.003>, 2013.

RAVICHANDRAN, S.; BOULDIN, R.M.; KUMAR, J.; NAGARAJAN, R. A renewable waste material for the synthesis of a novel non-halogenated flame retardant polymer. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, p. 454-458, 2011.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Reactive oxygen species on plant defense responses to pathogens. **Fitopatol. Bras.** v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

RICHARDSON, S. D.; TERNES, T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. **Analytical Chemistry**, v. 77, p. 3807-3838, 2005.

ROBERTS, D.L.; GOPING, I.S.; BLEACKLEY, R.C. Mitochondrial at the heart of the cytotoxic attack. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 304, p. 513-518, 2003.

RODIL, R.; QUINTANA JB.; CONCHA GRANÃ E.; LÓPEZ-MAHÍA P.; MUNIATEGUI-LORENZO S.; PRADA-RODRIGUEZ D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, p. 1040-1049, 2012.

ROTTENBERG, H. Uncoupling of oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria by general anesthetics. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.** v. 80, n. 11, p. 3313-3317, 1983.

SACKS, V. P.; LOHMAN, R. Freely dissolved PBDEs in water and porewater of an urban estuary. **Environmental Pollution**, v. 162, p. 287-293, 2012.

SCHEFFLER, I.E. Mitochondria: make a come back. **Adv Drug Deliv Ver**, v. 49, p. 3-26, 2001.

SHE, Y.Z.; WU, J.P.; ZHANG, Y.; PENG, Y.; MO, L.; LUO, X.J.; MAI, B.X. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers and several alternative halogenated flame retardants in a small herbivorous food chain. **Environmental Pollution**, v. 174, p. 164-170, 2013.

SIDDIQI, M.A.; LAESSIG, R.H.; REED, K.D. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): New Pollutants–Old Diseases. **Clinical Medicine and Research Marshfield**, v. 1, n. 4, p. 281-290, 2003.

SJÖDIN, A.; HAGMAR, L.; WEHLER, E. K.; DIAB, K. K.; JAKOBSSON, E.; BERGMAN, A. Flame retardant exposure: polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 643-648, 1999.

SLOTKIN, T.A., CARD, J.; INFANTE, A.; SEIDLER, F.J. BDE99 (2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether) suppresses differentiation into neurotransmitter phenotypes in PC12 cells. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 37, p. 13-17, 2013.

SOUZA, A.F.M.; GIUGLIANI, R. Doenças Mitocondriais. In: Carakushanski E. Doenças Genéticas em Pediatria. **Ed. Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, p. 189-195, 2001.

SOUZA, A.O.; PEREIRA, L.C.; OLIVEIRA, D.P.; DORTA, D.J. BDE-99 congener induces cell death by apoptosis of human hepatoblastoma cell line - HepG2. **Toxicology in vitro**, v. 27, n. 2, p. 580-587, 2013.

SRINIVASAN, S.; AVADHANI, N.G. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. **Free Radic Biol Med**, v. 53, p. 1252-1263, 2012.

STAPLETON, H.M.; KELLY, S.M.; PEI, R.; LETCHER, R.J.; GUNSCH, C. Metabolism of Polibrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) by Human Hepatocytes in Vitro. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 2, p. 197-202, 2009.

STOWE, D.F.; CAMARA, A.K. Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production in Excitable Cells: Modulators of Mitochondrial and Cell Function. **Antioxid Redox Signal**, v. 11, n. 6, p. 1373-1414, 2009.

TALNESS, C.E. Overview of toxicological aspects of polybrominated diphenyl ethers: A flame-retardant additive in several consumer products. **Environmental Research**, v. 108, p. 158-167, 2008.

THORE, A. Technical aspects of bioluminescent firefly luciferase assay of ATP. **Science Tools**, v. 26, n. 2, p. 30-34, 1979.

TOMS, L. M. L.; HARDEN, F. A.; SYMONS, R. K.; BURNISTON, D.; FURST, P.; MULLER, J. F. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human milk from Australia. **Chemosphere**, v. 68, p. 797-803, 2007.

TSUJIMOTO, Y.; SHIMIZU, S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. **Apoptosis**, v. 12, p. 835-840, 2007.

TSYGANIĬ, A.A.; MEDVINSKAIA, N.A. Characteristics of the change in oxidative phosphorylation in the mitochondria of various organs under nitrous oxide anesthesia. **Farmakologija i toksikologija**, v. 47, n. 4, p. 30-33, 1984.

TURRENS, J. F. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. **Bioscience Reports**, v. 17, p. 3-8, 1997.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Furniture flame retardancy partnership: Environmental profiles of chemical flame-retardant alternatives for low-density polyurethane foam. Rep. n.742-R-05-002A, USEPA, Washington, D.C., 2005.

VRBA, J.; KREN, V.; VACEK, J.; PAPOUSKOVA, B.; ULRICHOVA, J. Quercetin, quercetin glycosides and taxifolin differ in their ability to induce AhR activation and CYP1A1 expression in HepG2 cells. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 11, p. 1746-1752, 2012.

WALLACE, K.B.; STARKOV, A.A. Mitochondrial targets of drug toxicity. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 40, p. 353-388, 2000.

WANG, C.; LIN, Z.; DONG, Q.; LIN, Z.; LIN, K.; WANG, J.; HUANG, J.; HUANG, X.; HE, Y.; HUANG, C.; YANG, D.; HUANG, C. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from Southeast China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 206-211, 2012.

WANG, Y.; PERCHELLET, E.M.; WARD, M.M.; LOU, K.; HUA, D.H.; PERCHELLET, J.P. Rapid collapse of mitochondrial transmembrane potential in HL-60 cells and isolated mitochondria treated with anti-tumor 1,4-anthracenediones. **Anticancer Drugs**, v. 16, n. 9, p. 953-967, 2005.

WATANABE, I.; SAKAI, S.I. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. **Environment International**, v. 23, p. 665-682, 2003.

YU, L.; LAM, J.C.W.; GUO, Y.; WU, R.S.S.; LAM, P.K.S.; ZHOU, B. Parental transfer of polybrominated diphenyl ethers (pbdes) and thyroid endocrine disruption in zebrafish. **Environmental Science e Technology**, v. 45, p. 10652-10659, 2011.

ZHANG, Z.; ZHANG, X.; SUN, Z.; DONG, H.; QIU, L.; GU, J.; ZHOU, J.; WANG, X.; WANG, S.L. Cytochrome P450 3A1 mediates 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether-induced reduction of spermatogenesis in adult rats. **PLoS One**. v. 8, n. 6, p. e66301, 2013.

ZHU, Y.; KALEN, A.L.; LI, L.; LEHMLER, H.J.; ROBERTSON, L.W.; GOSWAMI, P.C.; SPITZ, D.R.; AYKIN-BURNS, N. Polychlorinated-biphenyl-induced oxidative stress and cytotoxicity can be mitigated by antioxidants after exposure. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 47, p. 1762-1771, 2009.

ZICK, M.; RABL, R.; REICHERT, A.S. Cristae formation linking ultrastructure and function of mitochondria. **Biochim Biophys Acta**, v. 1793, p. 5-19, 2009.

ZORATTI, M.; SZABO, I. The mitochondrial permeability transition. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1241, p. 139-176, 1995.