



## NÍVEIS DE EXPRESSÃO GÊNICA DOS CITOCROMOS P450 NO FÍGADO DE PEIXE-ZEBRA: UMA BREVE REVISÃO

Zenon Ratzlaff Júnior<sup>1</sup>, Alexis Trott.<sup>2</sup>

### *Cytochrome p450 gene expression levels in zebrafish liver: a brief review*

**Resumo:** Os citocromos P450 (CYPs) compõem uma superfamília de proteínas envolvidas na desintoxicação e eliminação, além da ativação de uma ampla variedade de compostos. Em peixes, essas enzimas concentram-se principalmente no fígado, mas foram também detectadas no rim, trato gastrointestinal e tecido branquial. O uso de peixe-zebra em estudos biomédicos e ecotoxicológicos cresceu nos últimos anos, sendo necessário um conhecimento explícito da expressão dos citocromos P450, dado o seu papel central na biotransformação de xenobióticos. Este trabalho caracteriza-se por ser um estudo descritivo na modalidade de revisão bibliográfica com o objetivo de abordar os níveis de expressão dos genes do citocromo P450 no fígado de peixe-zebra. A pesquisa foi realizada nas bases eletrônicas de dados Lilacs, BIREME, PubMed, MedLine e Scielo, com os descritores P450 transcription liver zebrafish; expression P450 zebrafish liver e expression levels of P450 zebrafish liver. Segundo as pesquisas, foi identificado um conjunto diversificado de genes CYPs ativos em peixe-zebra, sendo que os genes CYP2AD2, CYP3A65, CYP1A, CYP2P9 e CYP2Y3 são os mais expressos, em ambos os sexos. No entanto, considerando os diferentes sexos, há diferenças significativas nos níveis de transcrição para CYP1A, CYP1B1, CYP1D1 e CYP2N13. Esses resultados indicam a regulação específica por sexo da expressão dos genes CYPs, no fígado de peixe-zebra. O fígado é um dos principais órgãos de desintoxicação, sendo que a maioria dos CYPs apresenta alta expressão hepática.

**Palavras-chave:** *Danio rerio*. CYP. Expressão transcricional. Biotransformação de xenobióticos.

**Abstract:** Cytochrome P450 enzymes (CYPs) are a superfamily of proteins involved in detoxification, elimination and activation of a wide variety of compounds. In fish, these enzymes are mainly concentrated in the liver, but have also been detected in the kidney, gastrointestinal tract and gill tissue. The use of zebrafish in biomedical and ecotoxicological studies has grown in the last years, requiring an extensive cytochrome P450 expression understanding, due its central role in xenobiotic biotransformation. This work is a descriptive study on expression levels of cytochrome P450 genes in the zebrafish liver. The research was performed in the electronic databases Lilacs, BIREME, PubMed, MedLine and Scielo, with the descriptors P450 transcription liver zebrafish; expression P450 zebrafish liver and expression levels of P450 zebrafish liver. According to the research, a diverse set of zebrafish active CYPs genes have been identified, with CYP2AD2, CYP3A65, CYP1A, CYP2P9 and

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de Ciências Biológicas, da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí, Ijuí, Brasil. E-mail: ratzlaff.zenon@gmail.com

<sup>2</sup> Professor Doutor do Departamento de Ciências da Vida - DCVida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, Orientador, alexis.trott@unijui.edu.br



CYP2Y3 being the most expressed in both sexes. However, considering the different sexes, there are significant differences in transcription levels for CYP1A, CYP1B1, CYP1D1 and CYP2N13. These results indicate gender-specific regulation of CYP gene expression in zebrafish liver. The liver is the major detoxification organ, and most CYPs have high liver expression.

**Keywords:** *Danio rerio*. CYP. Transcriptional expression. Xenobiotic biotransformation.

## 1 INTRODUÇÃO

Os citocromos P450 (CYPs) são uma família multigênica diversa de proteínas contendo grupo heme que oxidam, hidrolisam ou reduzem compostos através da inserção de um átomo de oxigênio atmosférico ao substrato durante o ciclo de reação (NEBERT *et al.*, 1993; NELSON *et al.*, 1996). Muitos CYPs têm papéis importantes nos processos fisiológicos básicos, como os CYP1, CYP2 e CYP3, os quais desempenham papéis críticos principalmente na catalisação da biotransformação de xenobióticos e, portanto, podem determinar a persistência e as ações de muitos medicamentos e substâncias tóxicas (KUBOTA *et al.*, 2019).

Em média, as enzimas CYPs são responsáveis pelo metabolismo de 70-80% de todos os medicamentos em uso clínico, sendo o CYP3A4 (+ 3A5) a principal enzima envolvida, seguido pelo CYP2D6, CYP2C9 e CYP1A2 (ZANGER; SCHWAB, 2013). Existem associações óbvias entre as ações de alguns CYPs e a toxicidade de alguns produtos químicos, por meio da ativação ou inativação destas moléculas (biotransformação de xenobióticos).

Diferentes estratégias podem ser adotadas na catalisação da biotransformação de xenobióticos. A biotransformação é feita principalmente no fígado e consiste em carregar eletricamente a substância xenobiótica de modo que, ao passar pelos túbulos renais, ela não seja reabsorvida. Sendo assim, os mecanismos de biotransformação envolvem uma série de reações químicas dependentes de enzimas hepáticas. Biomarcadores em peixes podem indicar tanto a exposição de organismos a contaminantes (biomarcadores de exposição) quanto a magnitude do distúrbio causado em resposta a poluentes (biomarcadores de efeito) (CAJARAVILLE *et al.*, 2000).

O peixe-zebra (*Danio rerio* Hamilton, 1822) principalmente em seus estágios embrionários e larvais, tem sido cada vez mais utilizado como organismo modelo para descoberta de medicamentos, testes de toxicidade no desenvolvimento e ecotoxicologia, sendo que um conjunto completo de genes CYP e a expressão gênica dos mesmos durante o desenvolvimento inicial do peixe-zebra já foram examinados. A facilidade de análises



genéticas e de manipulação torna o peixe-zebra altamente adequado para uma compreensão dos efeitos químicos nos organismos.

Em peixe-zebra, como nos peixes em geral, essas enzimas concentram-se principalmente no fígado, mas foram detectadas no rim, trato gastrointestinal e tecido branquial (VARANASI, 1989). O fígado é um dos maiores órgãos da cavidade abdominal e é crucial para a homeostase e a proteção dos indivíduos contra os xenobióticos. Embora a organização estrutural do fígado de peixe-zebra seja diferente comparando-se a roedores e seres humanos, com ênfase particular na falta de um arranjo lobular típico, as propriedades metabolizadoras de fármacos são geralmente semelhantes em peixe-zebra, roedores e humanos (VLIEGENTHART *et al.*, 2014).

O aumento do uso de peixe-zebra em estudos biomédicos, ecotoxicológicos e de desenvolvimento requerem conhecimento explícito dos citocromos P450, dado o papel central dos CYPs na biotransformação de xenobióticos e de muitas moléculas reguladoras. Deste modo, entender a suscetibilidade dos organismos aos efeitos de drogas e agentes tóxicos, bem como de sua fisiologia básica, depende dos conhecimentos acerca das funções dos CYPs. Sendo assim, esta revisão aborda o perfil transcricional dos genes dos citocromos P450 no fígado de peixe-zebra, bem como, seus aspectos mais importantes.

## 2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Este é um estudo de revisão bibliográfica descritiva, desenvolvido através de pesquisa de artigos científicos indexada nas bases eletrônicas de dados Lilacs, BIREME, PubMed, MedLine e Scielo. A revisão respondeu ao tema específico: níveis de expressão dos genes dos citocromos p450 no fígado de peixe-zebra. Sendo assim, nas bases eletrônicas, foram inseridos os seguintes descritores: p450 transcription liver zebrafish; expression p450 zebrafish liver; expression levels of p450 zebrafish liver.

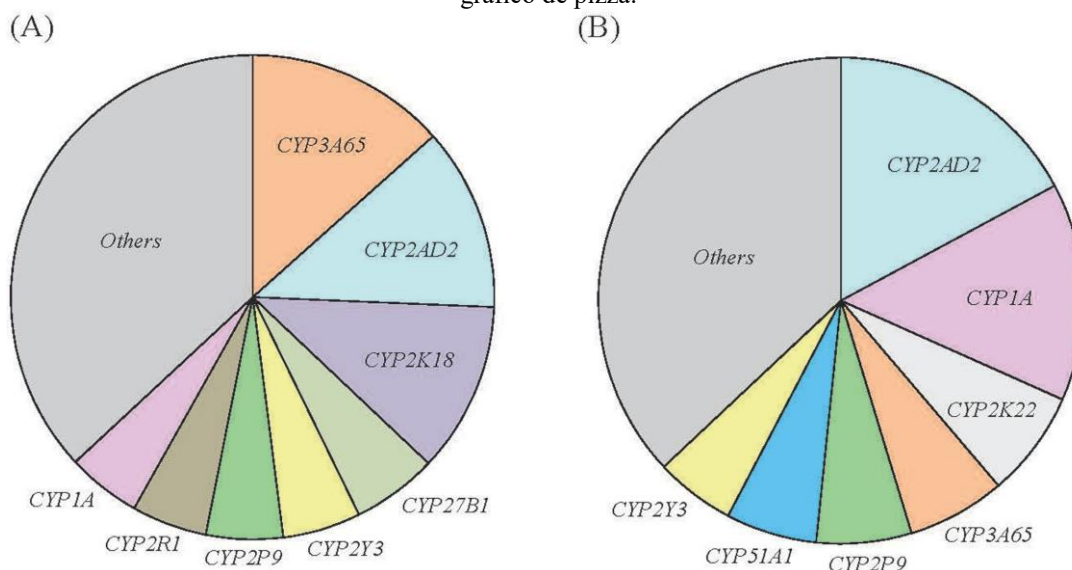
O recorte temporal envolveu o período compreendido entre 1989 e 2019, abrangendo as publicações dos últimos 30 anos. O requisito para inclusão dos artigos na pesquisa considerou os resultados acerca dos níveis de expressão dos genes dos citocromos p450 no fígado de peixe-zebra.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Diante das pesquisas realizadas, podemos destacar o trabalho de Kubota *et al.*, (2019), realizado através de uma única amostra de RNA por sexo, que consistia em RNA reunido de 4 peixes para análise de sequência de alto rendimento. As bibliotecas preparadas a partir de 1.000 ng de RNA total reunido (250 ng cada) e amplificadas por PCR com 12 ciclos foram sequenciadas em uma plataforma Illumina Next-Seq 500 com leituras de extremidade emparelhada de 76 pb. Segundo os resultados do mesmo, foi identificado um conjunto diversificado de genes CYP que são expressos em peixe-zebra adulto. As ordens de classificação dos níveis de expressão que representaram > 5% do total de transcritos dos CYPs foram as seguintes (Figura 1): CYP3A65 (13,4%) > CYP2AD2 (12,2%) > CYP2K18 (11,4%) > CYP27B1 (5,7%) > CYP2Y3 (5,2%) > CYP2P9 (5,1%) > CYP2R1 (5,0%) > CYP1A (5,0%) para fêmeas e CYP2AD2 (17,2%) > CYP1A (14,5%) > CYP2K22 (7,1%) > CYP3A65 (6,5%) > CYP2P9 (6,4%) > CYP51 (6,1%) > CYP2Y3 (5,3%) para machos. Também foi observado que a expressão hepática do CYP2K22 foi altamente específica para os machos, enquanto a expressão do transcrito do CYP2K18 parece ser alta nas fêmeas, segundo os dados do estudo.

Figura 1 - Perfil de transcrição de um conjunto completo de genes CYP em fêmeas (A) e machos (B) de peixe-zebra adulto. Os genes CYP com uma contribuição > 5% no total dos transcritos do CYP são destacados com os nomes das isoformas, enquanto os genes CYP com uma contribuição < 5% são indicados como "outros". Os mesmos genes em fêmeas e machos compartilham a mesma cor no gráfico de pizza.



Fonte: Kubota *et al.*, (2019).

Kubota *et al.*, (2019) afirmam ainda que os perfis de expressão obtidos a partir de RNA-seq e qPCR mostram similaridade próxima com relatos anteriores

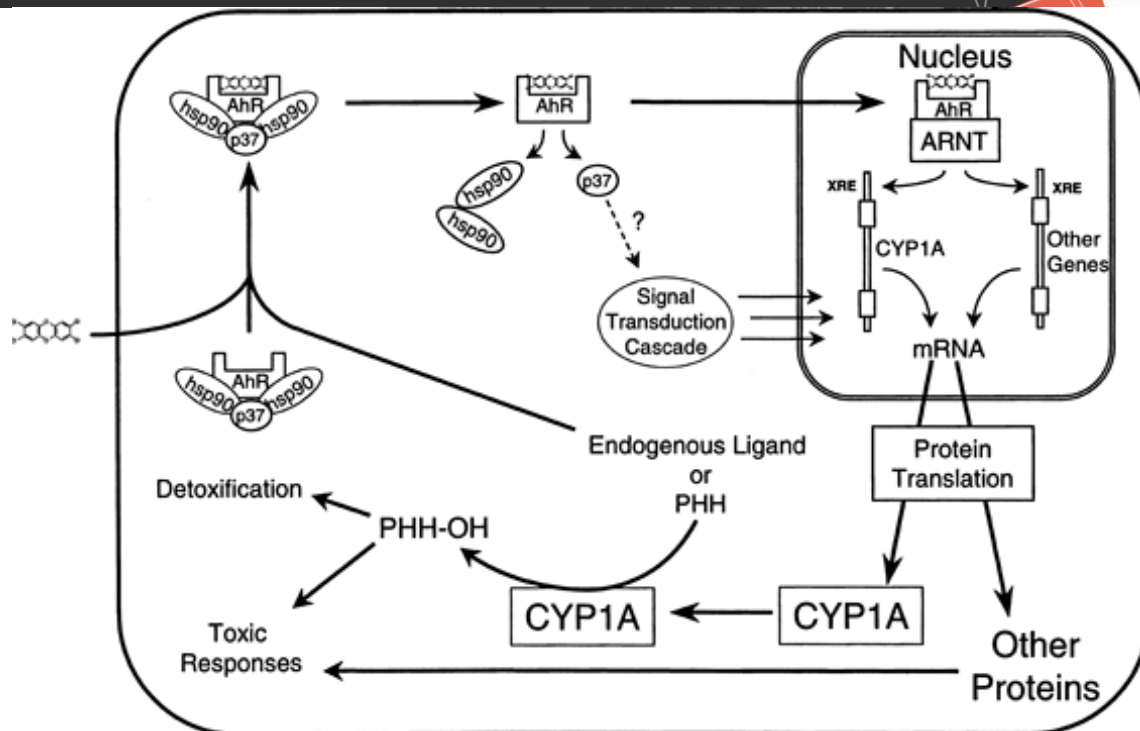


(CHANDRAMOHAN *et al.*, 2013; EVERAERT *et al.*, 2017). No entanto, foi observada uma diferença substancial nos níveis de expressão para o CYP1D1 (ambos os sexos) e CYP2K18 (somente feminino).

O peixe-zebra tem cinco genes CYP1, incluindo CYP1A, CYP1B1, CYP1C1, CYP1C2 e CYP1D1. Alguns estudos comprovam que principalmente a isoforma do citocromo CYP1A tende a desintoxicar químicos xenobióticos correlacionados ao meio ambiente. O fígado é o órgão principal da expressão do transcrito do CYP1A no peixe-zebra adulto (JÖNSSON *et al.*, 2007). Segundo Whyte *et al.*, (2000), o aspecto mais útil do CYP1A para fins de biomonitoramento é o aumento da produção nas células após exposição química, ou seja, por indutibilidade. As atividades do CYP1A são frequentemente indetectáveis em peixes não expostos ou de controle, mas tornam-se elevadas após exposição a PHHs / PAHs (hidrocarbonetos halogenados planares / hidrocarbonetos aromáticos policíclicos) (STEGEMAN; LECH, 1991), por exemplo. Os eventos que levaram à indução dessa enzima por produtos químicos xenobióticos foram estudados extensivamente em sistemas de mamíferos (POLAND; BRADFIELD, 1992; NEBERT *et al.*, 1993; OKEY *et al.*, 1994), e acredita-se que esse mecanismo funcione da mesma forma em peixes (HAHN; KARCHNER, 1995).

A indução do CYP1A é mediada pela ligação de xenobióticos a um receptor de hidrocarboneto de arilo citosólico (AhR) (WHYTE *et al.*, 2000) (Figura 2).

Figura 2 - Mecanismo proposto de toxicidade mediada por AhR. A transdução de sinal por ligantes tipo dioxina é mediada pelo AhR, que forma um fator de transcrição complexo com uma proteína translocadora nuclear de hidrocarboneto de arilo (ARNT). Este heterodímero se liga a sequências de DNA específicas chamadas elementos responsivos à dioxina (DRE). A ligação do heterodímero leva à indução de vários genes (a bateria do gene Ah), que por sua vez produzem uma variedade de produtos proteicos.



Fonte: Whyte *et al.*, (2000).

Segundo Jönsson *et al.*, (2007), a exposição de peixe-zebra adultos ao PCB126 causou a indução de quatro dos cinco genes no fígado e outros órgãos da cavidade abdominal, sendo eles: CYP1A, CYP1B1, CYP1C1 e CYP1C2, sendo que Goldstone *et al.*, (2009) complementa a não indução, neste mesmo caso, do CYP1D1. A indução desses quatro genes CYP1 por agonistas de Ahr também foi encontrada em peixes-zebra larval, com a vasculatura sendo o tecido primário de indução (ANDREASEN *et al.*, 2002; DONG *et al.*, 2002; KUBOTA *et al.*, 2011; BUGIAK; WEBER 2009).

Os estudos de Kubota *et al.*, (2019) demonstraram ainda que os níveis de transcrição do CYP2AD2 foram altos em ambos os sexos, sendo mais abundantes no sexo masculino e o segundo mais alto no sexo feminino, sendo um pouco maiores no sexo masculino. Em um estudo anterior de microarranjo, no qual os níveis de transcrição de CYP foram examinados durante o desenvolvimento inicial de peixes-zebra de 3 a 48 hpf (horas pós-fertilização) (GOLDSTONE *et al.*, 2010), os níveis de transcrição de CYP2AD2 mostraram-se relativamente altos em 3 hpf, seguidos de uma tendência decrescente até 48 hpf. O genoma do peixe-zebra inclui os genes CYP2AD, CYP2AD2, CYP2AD3 e CYP2AD6 em um cluster contendo 11 genes CYP2, dispostos no cromossomo 20 (6 CYP2Ps, 3 CYP2ADs, CYP2N13, CYP2V1), sendo que tais genes compartilham sinergia com o CYP2J2 humano (GOLDSTONE *et al.*, 2010).



Por fim, o trabalho de Shaya *et al.*, (2014), o qual teve como objetivo compreender a expressão padrão dos genes CYP3C e CYP3B no fígado de peixe-zebra e comparar com outros órgãos, nos apresenta que o tamanho da biblioteca de marcadores de sequência expressa (MSE) em peixe-zebra para o fígado foi moderado (17.232), e o CYP3C1 foi sequenciado a 116 transcritos por milhão, mostrando assim, que o CYP3C1 é expresso principalmente no fígado, em comparação com os outros órgãos estudados.

Sendo assim, Shaya *et al.*, (2014) sugerem que o fígado seria o local de maior expressão de CYP3C e CYP3B. A expressão de CYP3C1 e CYP3C2 foi maior no fígado de machos, CYP3B4 foi maior em fêmeas e CYP3B5 foi maior no fígado de ambos os sexos, em comparação com outros órgãos. Da mesma forma, estudos sobre o CYP3A mostram que o gene é altamente expresso no fígado de peixe-zebra (BRESOLIN; DE FREITAS REBELO; CELSO DIAS BAINY, 2005; TSENG *et al.*, 2005). Alguns estudos funcionais sugerem que o CYP3A interage e metaboliza vários xenobióticos (TSENG *et al.*, 2005; CHRISTEN *et al.*, 2010; WASSMUR *et al.*, 2010; MORTENSEN *et al.*, 2011; SUN *et al.*, 2013). Semelhante à expressão do CYP3A, a maior expressão dos genes CYP3C e CYP3B no fígado de peixe-zebra é indicativa de um papel no metabolismo xenobiótico.

#### **4 CONCLUSÃO**

De acordo com as pesquisa aqui realizada, os estudos de expressão dos genes CYP revelaram que CYP2AD2, CYP3A65, CYP1A, CYP2P9 e CYP2Y3 são os principais genes CYP expressos no fígado de peixe-zebra adulto em ambos os sexos. No entanto, houve diferenças significativas de sexo nos níveis de transcrição para CYP1A, CYP1B1, CYP1D1 e CYP2N13, com os machos apresentando níveis de expressão mais altos do que os das fêmeas, em todos os casos. Uma tendência semelhante no nível de transcrição, isto é, masculino > feminino, foi observada para CYP2AD2 e CYP2P9. Esses resultados indicam a regulação específica, por sexo, da expressão dos genes CYP, no fígado de peixe-zebra.

O fígado é um dos principais órgãos de desintoxicação do corpo, sendo esperado que a maioria dos CYPs de metabolização de drogas e outros xenobióticos, como CYP1A, CYP2AD2, e CYP3A, tenham alta expressão hepática.

De fato, diferentes estratégias podem ser adotadas na catalisação da biotransformação de xenobióticos. Em nível da organização biológica, as ferramentas de análise são chamadas de biomarcadores, os quais possibilitam a correlação da intensidade da exposição com o efeito



biológico da substância. Várias são as vantagens do uso de biomarcadores, tais como detectar as primeiras alterações nas respostas biológicas, evitando que os efeitos da intoxicação dos organismos cheguem a um ponto irreversível. Dentre alguns biomarcadores de metabolização de xenobióticos, destacam-se as enzimas induzida por CYPs. Sendo assim, esta revisão compila as últimas informações referentes à expressão dos genes dos citocromos P450 no fígado de peixe-zebra, possibilitando assim uma base para estudos de ecotoxicologia com peixe-zebra.

## REFERÊNCIAS

- ANDREASEN, E. A. et al. Tissue-specific expression of AHR2, ARNT2, and CYP1A in zebrafish embryos and larvae: effects of developmental stage and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure. **Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology**, v. 68, n. 2, p. 403–419, ago. 2002.
- BRESOLIN, T.; DE FREITAS REBELO, M.; CELSO DIAS BAINY, A. Expression of PXR, CYP3A and MDR1 genes in liver of zebrafish. **Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP**, v. 140, n. 3–4, p. 403–407, abr. 2005.
- BUGIAK, B.; WEBER, L. P. Hepatic and vascular mRNA expression in adult zebrafish (*Danio rerio*) following exposure to benzo-a-pyrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)**, v. 95, n. 4, p. 299–306, 13 dez. 2009.
- CAJARAVILLE, M.P. et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **Science of the Total Environment**, v. 247, p. 295-311, 2000.
- CHANDRAMOHAN, R. et al. Benchmarking RNA-Seq quantification tools. **Conference proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference**, v. 2013, p. 647–650, 2013.
- CHRISTEN, V. et al. Identification of a CYP3A form (CYP3A126) in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and characterisation of putative CYP3A enzyme activity. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 2, p. 585–595, jan. 2010.
- DONG, W. et al. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in the zebrafish embryo: local circulation failure in the dorsal midbrain is associated with increased apoptosis. **Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology**, v. 69, n. 1, p. 191–201, set. 2002.
- EVERAERT, C. et al. Benchmarking of RNA-sequencing analysis workflows using whole-transcriptome RT-qPCR expression data. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1559, 08 2017.





- GOLDSTONE, J. V. et al. Cytochrome P450 1D1: a novel CYP1A-related gene that is not transcriptionally activated by PCB126 or TCDD. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 482, n. 1–2, p. 7–16, fev. 2009.
- GOLDSTONE, J. V. et al. Identification and developmental expression of the full complement of Cytochrome P450 genes in Zebrafish. **BMC genomics**, v. 11, p. 643, 18 nov. 2010.
- HAHN, M. E.; KARCHNER, S. I. Evolutionary conservation of the vertebrate Ah (dioxin) receptor: amplification and sequencing of the PAS domain of a teleost Ah receptor cDNA. **The Biochemical Journal**, v. 310 ( Pt 2), p. 383–387, 1 set. 1995.
- JÖNSSON, M. E. et al. Basal and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl-induced expression of cytochrome P450 1A, 1B and 1C genes in zebrafish. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 221, n. 1, p. 29–41, 15 maio 2007.
- KUBOTA, A. et al. Role of zebrafish cytochrome P450 CYP1C genes in the reduced mesencephalic vein blood flow caused by activation of AHR2. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 253, n. 3, p. 244–252, 15 jun. 2011.
- KUBOTA, A. et al. Transcriptional profiling of cytochrome P450 genes in the liver of adult zebrafish, *Danio rerio*. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 44, n. 5, p. 347–356, 2019.
- MORTENSEN, A. S. et al. Tissue bioaccumulation patterns, xenobiotic biotransformation and steroid hormone levels in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a diet containing perfluoroactane sulfonic or perfluorooctane carboxylic acids. **Chemosphere**, v. 83, n. 8, p. 1035–1044, maio 2011.
- NEBERT, D. W.; PUGA, A.; VASILIOU, V. Role of the Ah receptor and the dioxin-inducible [Ah] gene battery in toxicity, cancer, and signal transduction. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 685, p. 624–640, 23 jun. 1993.
- NELSON, D. R. et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. **Pharmacogenetics**, v. 6, n. 1, p. 1–42, fev. 1996.
- OKEY, A. B.; RIDDICK, D. S.; HARPER, P. A. The Ah receptor: mediator of the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds. **Toxicology Letters**, v. 70, n. 1, p. 1–22, jan. 1994.
- POLAND, A.; BRADFIELD, C. A brief review of the Ah locus. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 168, n. 2, p. 83–87, out. 1992.
- SHAYA, L.; DEJONG, C.; WILSON, J. Y. Expression patterns of cytochrome P450 3B and 3C genes in model fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 166, p. 115–125, 1 nov. 2014.
- STEGEMAN, J. J.; LECH, J. J. Cytochrome P-450 monooxygenase systems in aquatic species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 90, p. 101–109, jan. 1991.



SUN, A. et al. Molecular cloning and expression analysis of cytochrome P450 3A gene in the turbot *Scophthalmus maximus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 1239–1251, out. 2013.

TSENG, H.-P. et al. Constitutive and xenobiotics-induced expression of a novel CYP3A gene from zebrafish larva. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 205, n. 3, p. 247–258, 15 jun. 2005.

VARANASI, U. **Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment**. CRC Press, Boca Raton (FL), p. 341, 1989.

VLIEGENTHART, A. D. B. et al. Zebrafish as model organisms for studying drug-induced liver injury. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 78, n. 6, p. 1217–1227, dez. 2014.

WASSMUR, B. et al. Interactions of pharmaceuticals and other xenobiotics on hepatic pregnane X receptor and cytochrome P450 3A signaling pathway in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)**, v. 100, n. 1, p. 91–100, 1 out. 2010.

WHYTE, J. J. et al. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 347–570, jul. 2000.

ZANGER, U. M.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 138, n. 1, p. 103–141, abr. 2013.